

ISSN 2448-3877



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 49 - Nº 02 | Ano 2017



CONHEÇA O CENTRO DE ENSINO E PESQUISA EM ANÁLISES CLÍNICAS DA SBAC

Referência nacional na área laboratorial, o CEPAC fornece aos profissionais o que há de melhor em ensino e pesquisa nas áreas relevantes para o setor de Análises Clínicas.

Inscreva-se pelo site: www.sbac.org.br



Editor-chefe/Editor-in-Chief
Paulo Murillo Neufeld (RJ)

Editores Eméritos/Honorary Editors
Mateus Mandu de Souza (RJ)

Editores Associados/Associate Editors
Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)
Paulo Jaconi Saraiva (RS)



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Publicação oficial da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC
Official Publication of Brazilian Society of Clinical Analyses

Volume 49 - Nº 2 - 2017
Edição online - ISSN 2448-3877

Produção Editorial/Publisher
Trasso Comunicação Ltda
www.trasso.com.br



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA/EXECUTIVE BOARD

Luiz Fernando Barcelos (RS)
Presidente/President

Maria Elizabeth Menezes (SC)
Vice-Presidente/Vice-President

Lenira da Silva Costa (RN)
Secretário-Geral/General Secretary

Mauren Isfer Anghebem (PR)
Secretário/Secretary

Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/Treasurer

Marcos Kneip Fleury (RJ)
Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

Conselho Fiscal/Fiscal Board Titulares/holders

Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Alverne Passos Barbosa (GO)
Jurandi David da Silva (PE)

Suplentes/Alternates

Nilson Lima Lopes (BA)
Tereza Neuma de Souza Brito (RN)
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

Endereço para correspondência/Editorial Office

Rua Vicente Licínio, 99 - Tijuca
Rio de Janeiro, RJ - Brasil
20270-902 – Fone: 21 2187-0800 – Fax: 21
2187-0805 E-mail: rbac@sbac.org.br

Afiliações/Affiliations



Asociación Mercosur de Normalización



Comitê Editorial/Editorial Board

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

Álvaro Largura (PR), Marcelo Quintão Mendes (MG), Geraldo Picheth (PR), Marileia Scartezini (PR), Arício Treitinger (SC), Paolo Mocarelli (ITA), Dulcineia Saes Parra Abdalla (SP), Ary Henrique Filho (GO), Daniel Mazziota (AR), Antenor Henrique Pinto Pedrazzi (SP), Jane Maciel Almeida Baptista (MG), Marinez Oliveira Sousa (MG), José Edson P. da Silva (RS), Rafael Noal Maresco (RS)

Citologia Clínica/Clinical Cytology

Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Carlos Eduardo de Queiroz Lima (PE), Rita Gorete Amaral (GO), Alexandre Sherley Casimiro Onofre (SE), Sílvia Helena Rabelo Guimarães (GO)

Controle de Qualidade/Quality Control

José Abol Corrêa (RJ), Luís Fernando Barcelos (RS), Mateus Mandu de Souza (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Gabriel de Souza Lima Oliveira (SP)

Endocrinologia/Endocrinology

Carlos Alberto Camargo (SP), Ana Maria Menezes (SP)

Toxicologia/Toxicology

Regina Helena Queiroz (SP), Maria da Graça Almeida (RN)

Microbiologia Clínica/Clinical Microbiology

Antônio Márcio Lopes (MG), Raimundo Diogo Machado (RJ), Estevão José Colnago (RJ), Amauri Braga Simionetti (RS), Cássia Maria Zoccoli (SC), Carmen Paz Oplusti (SP), Raissa Mayer R. Catão (PB)

Imunologia Clínica/Clinical Immunology

Mateus Mandu de Souza (RJ), Paulo Jaconi Saraiva (RS), Antônio Walter Ferreira (SP), Adelaide José Vaz (SP), Sílvia Fernandes R. da Silva (CE), Manuela Berto Pucca (SP)

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

Antônio Pedro Soares (MG), Geraldo Atilio de Carli (RS), Jerolino Lopes Aquino (MT), Alverne Passos Barbosa (GO), Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)

Micologia Clínica/Clinical Micology

Paulo Murillo Neufeld (RJ), Maria José Gianini (SP), Regina Célia Candido (SP), Rosane Rhan (MT)

Biologia Molecular/Molecular Biology

Mario Hiroyuki Hirata (SP), Rosário Dominguez Crespo Hirata (SP), Marcelo Ávilla Mascarenhas (RS), Kelly Melo (SP), Maria Elizabeth Menezes (SC)

Hematologia Clínica/Clinical Hematology

Jorge Fernando Teixeira Soares (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Celso Spada (SC), Paulo César Naoum (SP), Julio Cezar Merlin (PR), Paulo Henrique da Silva (PR), Robson Ferreira Ferraz Santos (RJ), José Edson Paz da Silva (RS)

Entidades mantidas pela SBAC Entities maintained by the SBAC

PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade/National Program of Quality Control

Coordenador/Coordinator: Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ)

SNA / DICQ – Sistema Nacional de Acreditação/ National System of Accreditation

Coordenador/Coordinator: André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)

CEPAC – Centro de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas

Post Graduation Center
Coordenadora/Coordinator: Maria Elizabeth Menezes (SC)

CB-36 – ABNT

Superintendente/Superintendent: Humberto Marques Tiburcio (MG)

CSM-20

Coordenador Técnico/Technical Coordinator
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Comissões Institucionais/ Institutional Comissions

Coordenador Geral/General Coordinator

Jerolino Lopes Aquino (MT)

Comissão de Congressos/Congress Comission

Coordenador Geral de Congressos/
General Congress Coordinator: Irineu K. Grinberg (RS)
Assessoria Científica/Scientific Advice:
Jerolino Lopes Aquino (MT); Luiz Fernando Barcelos (RS);
Marcos Kneip Fleury (RJ)

Normas e Habilitação/Norms and Qualification

Coordenação/Coordination:
Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)
Membros/Members: Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ),
Mateus Mandu de Souza (RJ), Estevão José Colnago (RJ),
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Ensino/Education

Paulo Murillo Neufeld (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Mateus Mandu de Souza (RJ)

Ética/Ethics

Henrique Tommasi Netto (ES), Francisco Einstein do Nascimento (CE), Maria da Conceição L. Oliveira (SE)

Sumário/Contents

CARTA DO PRESIDENTE/LETTER FROM THE PRESIDENTE

- 117** *Testes rápidos: Uma grande solução ou um grande risco?*
Rapid Tests: a great solution or a great risk?
Barcelos LF

EDITORIAL/EDITORIAL

- 118** *Sobre a Febre do Mayaro: uma emergente arbovirose*
About Mayaro Fever: an emerging arbovirus
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 120** Aspectos fisiopatológicos da dislipidemia aterogênica e impactos na homeostasia
Pathophysiological aspects of atherogenic dyslipidemia and impact on homeostasis
Gondim TM, Moraes LEP, Fehlberg I, Brito VS
- 127** Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma
Chronic Myeloid Leukemia: clinical aspects, diagnosis and main changes observed in complete blood count
Sossela FR, Zoppas BCA, Weber LP

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/UPDATE

- 131** Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura
Sickle Cell Disease and laboratory approach: a brief literature review
Almeida RA, Beretta ALRZ
- 135** O impacto da fase pré-analítica na qualidade dos esfregaços cervicovaginais
The impact of the pré-analytical phase on the cervical smears quality
Silva GPF, Cristovam PC, Vidotti DB

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 141** Resultados do eritrograma em crianças com anemias do município de Tupanciretã, RS, Brasil
Results of eritrogram in children with anemia in the municipality of Tupanciretã, RS, Brazil
Silva GB, Parisi MM
- 146** Investigação da ocorrência de infecção respiratória aguda causada pelo vírus sincicial respiratório (RSV) pela técnica da PCR
Occurrence investigation of acute respiratory infection caused by respiratory syncytial virus (RSV) using the PCR technique
Pedrosa FC
- 152** Lesão de alto grau e carcinoma escamoso: um estudo de prevalências em pacientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) na cidade de Anápolis, GO, Brasil
High-grade lesions and squamous cell carcinoma: a study of prevalence in patients attended by the unified health systems (SUS) in Anápolis municipality, GO, Brazil
Lemos ARM, Silva MS, Segati KD
- 158** Perfil de resultados de hemoculturas positivas e fatores associados
Results profile of positive blood cultures and associated factors
Ruschel DB, Rodrigues AD, Formolo F

Sumário/Contents

- 164** Padronização da qualidade: alinhando melhorias contínuas nos laboratórios de análises clínicas
Quality standardization: aligning continuous improvements in the clinical analysis laboratories
Dias VS, Barquette FRS, Bello AR
- 170** Efeito do consumo de quitosana nos parâmetros lipídicos, glicêmicos e microbiota intestinal em ratos Wistar
Effect of chitosan consumption in lipidic parameters, glycemics and intestinal microflora in rats Wistar
Giroto C, Battiston FG, Vivan L, Fracasso M
- COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION**
- 176** Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes atendidas em um laboratório de município do litoral do estado do Paraná
Seropositivity prevalence of toxoplasmosis in pregnant women attended in a laboratory of the Paraná state coastal municipality
Muller EV, Torquetti JD
- 181** Análise da temperatura, do tempo e da relação sangue/anticoagulante no hemograma
Analysis of temperature, time and blood/anticoagulant ratio in the complete blood count
Seniv L, Simionatto M, Cruz BR, Borato DCK
- 189** Interdisciplinaridade como instrumento educativo em saúde: um estudo sobre o câncer de colo do útero
Interdisciplinarity as educational tool in health: a study of cervical cancer
Andrade VRM, Santos AV, Staudt KJ, Mallmann CW
- 195** Incidência de enteroparasitoses em pacientes atendidos por um hospital universitário da cidade de Goiânia, GO, Brasil
Incidence of enteroparasitosis in patients admitted to a university hospital in Goiania, GO, Brazil
Damaceno NS, Costa TL
- 200** Indicadores do monitoramento interno da qualidade dos exames citopatológicos do Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO)
Internal quality monitoring indicators of citopathological exams of Clinical Laboratory of Goiás Pontifical Catholic University (PUC-GO)
Paula AC, Souza BG, Prado TC, Ribeiro AA
- 206** Análise qualitativa e quantitativa da microbiota das mãos dos funcionários de um posto de saúde
Qualitative and quantitative analysis of the hands microbiota from the employees of a health center
Gauer D, Silva GK
- CARTA AO EDITOR/LETTER TO EDITOR**
- 213** Meningite eosinofílica: relato de caso
Eosinophilic meningitis: Case report
Cunha MCR, Salgado VP, Rezende D, Noronha T, Fock RA
- 216** **INSTRUÇÕES AOS AUTORES / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**



Luiz Fernando Barcelos

Testes rápidos: Uma grande solução ou um grande risco?

Rapid tests: a great solution or a great risk?

A tecnologia dos testes rápidos tem recebido vultosos investimentos da indústria de diagnóstico mundial, e por isso estão se multiplicando na diversidade de parâmetros disponíveis e na melhoria da qualidade dos resultados. Mas ainda apresentam limitações que devem ser consideradas quando são estabelecidas as estratégias de seu uso. São testes que devem ser utilizados no conjunto de tecnologias disponíveis e que, de forma racional, buscam o diagnóstico laboratorial definitivo.

Não estamos discutindo a qualidade dos testes rápidos, mas a forma com que são ou podem ser usados. É extremamente perigoso, oneroso e inadequado utilizá-los sem pessoal habilitado, sem controle da qualidade (a letra "C" do teste não é controle da qualidade), sem registros adequados, sem encaminhamento seguro e correto do paciente para a complementação do diagnóstico laboratorial e sem a rastreabilidade dos processos.

É muito preocupante que um procedimento laboratorial possa ser banalizado dando a entender que se trata de um teste simples e que qualquer um pode realizá-lo. Existem os autotestes que são produzidos e embalados de forma individualizada com o objetivo de serem manuseados por pessoas leigas e com objetivos bem definidos. Mas o que estamos tratando são de testes rápidos, que são procedimentos laboratoriais e, portanto, devem ser operados atendendo a todos os requisitos técnicos previstos nas normas vigentes.

Em nome do acesso mais facilitado não se pode desconsiderar a necessidade de garantir a qualidade do procedimento e a segurança do paciente. Estes testes, sendo utilizados dentro de um processo de triagem e havendo o encaminhamento correto e seguro do paciente para a busca do diagnóstico laboratorial mais conclusivo, tratar-se-ia de uma estratégia ótima para a saúde pública. Porém, usados de forma isolada, insegura e dispersiva, apenas será conveniente para os fabricantes e fornecedores. Além disso, os recursos destinados à saúde, que já são insuficientes, não podem ser desperdiçados com políticas públicas que não possuem foco na otimização dos processos.

Portanto, a execução dos testes rápidos convém que permaneça vinculada a um laboratório clínico. Se realizados em outros locais, como farmácias e unidades de saúde, devem cumprir com os mesmos requisitos exigidos dos laboratórios. Não é aceitável que exames sejam feitos fora de um laboratório com segurança inferior. A sociedade tem o direito de receber a mesma qualidade de atendimento, seja qual for o local ou pretexto para a realização do exame.

Com certeza, as Sociedades Científicas estão à disposição das autoridades governamentais para, juntos, construírem políticas públicas com qualidade e segurança, permitindo que os recursos sejam aplicados de forma criteriosa, eficiente e eficaz.

Dr. Luiz Fernando Barcelos

Presidente da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC)

Sobre a Febre do Mayaro: uma emergente arbovirose

About Mayaro Fever: an emerging arbovirus

Desde que foi descoberto, em 1954, em Trinidad y Tobago, que o vírus Mayaro (MAYV), agente etiológico da febre do Mayaro, vem sendo identificado em várias regiões de floresta tropical e áreas rurais de países localizados na América Central e do Sul, como a Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guatemala, Guiana, Guiana Francesa, México, Panamá, Perú, Suriname e Venezuela.^(1,2) Esse vírus, formado por RNA de cadeia simples, o que lhe confere grande adaptabilidade para hospedeiros e infecção, em decorrência de elevadas taxas de mutação, pertence à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, que inclui também outras 29 espécies, entre elas os agentes causais da encefalite equina do leste, encefalite equina venezuelana, encefalite equina do oeste e a febre Chikungunya.^(3,4)

O vírus Mayaro é um arbovírus (*arthropod-borne virus*), tendo em vista ser transmitido por artrópodes hematófagos, que se mantém na natureza a partir de um ciclo zoonótico ecoepidemiologicamente complexo, que inclui, com frequência, primatas não humanos e mosquitos vetores da família *Culicidae*, em especial o gênero *Hemagogus*, à semelhança do que ocorre com a febre amarela silvestre.^(3,5) Resumidamente, ao fazer o repasto sanguíneo sobre um animal virêmico (aves, répteis e mamíferos), o artrópode se contamina (período de incubação extrínseco) e se torna capaz de transmitir, em novo repasto sanguíneo, o vírus a um animal saudável. Importa mencionar que, ao infectar o artrópode, o vírus se aloja em sua glandular salivar, contaminando, por conseguinte, a saliva, que, no momento da ingestão de sangue, é liberada na circulação vascular periférica do hospedeiro.^(3,6) Uma transmissão vertical parece ser também possível através de uma via transovariana, onde o artrópode parental transmite o arbovírus à sua progênie.⁽⁷⁾

Os seres humanos que vivem ou ingressam em áreas rurais endêmicas podem também ser infectados pelo vírus Mayaro, desenvolvendo uma condição clínica inespecífica caracterizada por febre, calafrios, *rash* cutâneo, mialgia, dor retro-orbital, fotofobia, enxaqueca, dores nas articulações, náuseas e diarreia.^(3,8,9) As erupções na pele acometem, principalmente, a região torácica, braços e pernas e, com menos frequência, a face. A artralgia é um aspecto conspicuo e pode persistir por meses ou anos.^(1,3) Dores abdominais, faringite, congestão nasal, tosse, icterícia e manifestações hemorrágicas podem ser observadas. Leucopenia e plaquetopenia podem também ocorrer.^(3,8) A doença apresenta um período de incubação intrínseco de 3 a 11 dias, mas os sintomas, normalmente, estão presentes entre 5 a 7 dias.⁽¹⁾ O diagnóstico de febre de Mayaro com base em suas manifestações clínicas é difícil de ser realizado, em decorrência de outros quadros clínicos similares produzidos por diferentes agentes virais.⁽³⁾ A sorologia é preferível, sendo mais efetiva quanto procedida na fase aguda da doença. Na fase de convalescência, reações cruzadas com o vírus Chikungunya têm sido descritas. A biologia molecular pode apresentar algumas limitações quanto à detecção viral, em função do período em que o vírus está presente no organismo.^(3,8,9)

Classicamente, o ciclo de transmissão do vírus Mayaro está associado a áreas silvestres e a condições climáticas. No Brasil, a Febre do Mayaro está mais restrita à região amazônica, que é a área de endemicidade da doença no país.^(2,4,9) Mudanças ambientais introduzidas pelos seres humanos, contudo, têm produzido alterações nas características ecológicas das arboviroses. As ingerências sobre os ecossistemas podem levar, de fato, ao aumento da prevalência dos artrópodes vetores, à criação de novos reservatórios ou à adaptação a novos ou alternativos ciclos de manutenção na natureza.⁽⁷⁾ O crescimento populacional é um outro fator que tem contribuído para a emergência ou re-emergência das arboviroses. O adensamento e a degradação das áreas urbanas e periurbanas favorecem o contágio viral.^(3,7) O deslocamento de pessoas infectadas em veículos com grande autonomia permitem ainda aos arbovírus atravessarem longas distâncias, disseminando-se dentro e entre continentes, o que confere um importante potencial para espalhamentos epidêmicos.^(7,10,11) Igualmente, o deslocamento geográfico dos arbovírus pode se dar pela movimentação do reservatório animal ou do artrópode vetor. A migração dos arbovírus para áreas urbanas oportuniza a transmissão do agente por outros artrópodes, notadamente aqueles antropofílicos, levando a importantes alterações e riscos epidemiológicos e de saúde pública.^(9,10,11) Nesse sentido, a transmissão em áreas urbanas, num ciclo homem-mosquito-homem, pode ocorrer fora dos focos enzoóticos pelo *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Aedes scapularis* e determinar, potencialmente, grandes epidemias, à semelhança do que vem ocorrendo com a Dengue, Febre Amarela e Chikungunya, nas principais cidades brasileiras.^(1,2,3,11) Importa reiterar que todos esses fatos combinados colocam, claramente, o vírus Mayaro em um contexto de alerta sanitário, tendo em vista representarem um risco epidemiológico de iminente transmissão urbana desse arbovírus.⁽³⁾

REFERÊNCIAS

1. Esposito DLA, Fonseca BALD. Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? *Braz J Infect Dis*. 2017; pii: S1413-8670(17)30163-0. [Epub ahead of print].
2. Auguste AJ, Liria J, Forrester NL, Giambalvo D, Moncada M, Long KC, et al. Evolutionary and Ecological Characterization of Mayaro Virus Strains Isolated during an Outbreak, Venezuela, 2010. *Emerg Infect Dis*. 2015 Oct;21(10):1742-50.
3. Muñoz M, Navarro JC. Mayaro: a re-emerging Arbovirus in Venezuela and Latin America. *Biomedica*. 2012 Jun;32(2):286-302. [Article in Spanish]
4. Terzian AC, Auguste AJ, Vedovello D, Ferreira MU, da Silva-Nunes M, Sperança MA, et al. Isolation and characterization of Mayaro virus from a human in Acre, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2015 Feb;92(2):401-4.
5. Lwande OW, Obanda V, Bucht G, Mosomtai G, Otieno V, Ahlm C, Evander M. Global emergence of Alphaviruses that cause arthritis in humans. *Infect Ecol Epidemiol*. 2015 Dec 18;5:29853.
6. Serra OP, Cardoso BF, Ribeiro AL, Santos FA, Shessarenko RD. Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016 Jan;111(1):20-9.
7. Figueiredo LT. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007 Mar-Apr;40(2):224-9.
8. Brunini S, França DDS, Silva JB, Silva LN, Silva FPA, Spadoni M, Rezza G. High Frequency of Mayaro Virus IgM among Febrile Patients, Central Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2017 Jun;23(6):1025-1026.
9. Figueiredo ML, Figueiredo LT. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014 Nov-Dec;47(6):677-83.
10. Marcondes CB, Contigiani M, Gleiser RM. Emergent and Reemergent Arboviruses in South America and the Caribbean: Why So Many and Why Now? *J Med Entomol*. 2017 May 1;54(3):509-32
11. Goulda E, Pettersson J, Higgse S, Charrela R, Lamballerie X. Emerging arboviruses: Why today? *One Health*. 2017;4:1-13.

Paulo Murillo Neufeld, PhD

Editor-Chefe da Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC)

Aspectos fisiopatológicos da dislipidemia aterogênica e impactos na homeostasia

Pathophysiological aspects of atherogenic dyslipidemia and impact on homeostasis

Taiane de Macêdo Gondim¹

Laise Eduarda Paixão de Moraes¹

Italaney Fehlbeg²

Vanessa da Silva Brito²

Resumo

A dislipidemia aterogênica em sinergismo com a existência de transtornos metabólicos como *diabetes mellitus* tipo 2, síndrome metabólica, hipertensão arterial sistêmica e obesidade, e outros fatores como tabagismo, hábitos alimentares e estresse é reconhecida como um quadro associado a doenças cardiovasculares. Embora o papel da alteração do perfil lipídico neste processo esteja a certo ponto estabelecido, ilustrado por uma elevação das concentrações de CT, triglicerídeos e LDL-C, e da diminuição da HDL-C, os mecanismos pelos quais há a intervenção na homeostasia ainda não estão completamente elucidados, limitando questões clínicas e terapêuticas. No presente trabalho foi realizada uma revisão não sistemática acerca das possíveis alterações hemostáticas associadas à dislipidemia aterogênica descritas atualmente na literatura, o que permitiu uma sumarização dos achados descritos até então.

Palavras-chave

Aterosclerose. Dislipidemias. Homeostasia. Lipoproteínas

INTRODUÇÃO

As dislipidemias são causadas por alterações metabólicas que ocorrem em resposta a distúrbios nas etapas do metabolismo lipídico. Como resultado, o perfil lipídico sérico sofrerá alterações e estas podem incluir aumento do colesterol total (CT), do triglicérides (TG), do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e diminuição do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c).⁽¹⁾ De acordo com a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2013), as dislipidemias podem ser classificadas em primárias quando existem bases genéticas, e em secundárias quando associadas a outras doenças, ao uso de medicamentos e/ou ao estilo de vida do indivíduo. A dislipidemia primária pode ainda ser classificada fenotipicamente de acordo com os componentes lipídicos que se apresentam alterados, compreendendo quatro grupos bem definidos: (i) hipercolesterolemia isolada, (ii) hipertrigliceridemia isolada, (iii) hiperlipidemia mista e (iv) diminuição isolada do HDL, com associação ao aumento do LDL e/ou dos TG. Este último

perfil se destaca por ilustrar a condição da dislipidemia aterogênica, a qual ainda é geralmente associada a tolerância à glicose prejudicada, resistência à insulina, excesso de peso e/ou gordura corporal, e comorbidades como *diabetes mellitus* tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica. A união destes fatores exerce um efeito sinérgico para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.⁽²⁾ Esta revisão tem como objetivo discutir possíveis associações entre a fisiopatologia da dislipidemia aterogênica e alterações na homeostasia.

LIPÍDEOS E LIPOPROTEÍNAS

Os lipídios são moléculas orgânicas insolúveis em água resultantes da associação entre ácidos graxos, de cadeias curtas, médias ou longas; e glicerol, estando distribuídos por todos os tecidos do organismo. Entre as principais formas existentes podemos destacar os triglicerídeos e fosfolipídios. Estas formas são as mais abundantes no corpo humano e desempenham funções cruciais para o metabolismo energético. O triglicerídeo é o lipídeo

¹Especialista em Análises Clínicas pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – Salvador, BA, Brasil.

²Mestre em Imunologia Clínica pela Universidade Federal da Bahia – UFBA – Salvador, BA, Brasil.

³Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – Salvador, BA, Brasil.

Instituição: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – Salvador, BA, Brasil.

Artigo recebido em 23/01/2016

Artigo aprovado em 31/03/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600462

mais comum na alimentação, empregado como fonte de energia para o corpo, enquanto que os fosfolípidios atuam como componente estrutural das membranas celulares. Devido à sua natureza hidrofóbica, os lipídeos são incapazes de circular livremente pelo sangue, sendo necessário um meio de transporte que permita sua distribuição aos órgãos e tecidos. Ácidos graxos de cadeias curta e média podem circular pelo sangue quando ligados à albumina, uma vez que são mais solúveis comparados aos ácidos graxos de cadeia longa. Estes últimos carecem de conversão em triglicerídeos para serem transportados pelas lipoproteínas.⁽¹⁾ As lipoproteínas são moléculas solúveis organizadas de

modo a possibilitar o transporte de lipídios entre os tecidos periféricos e a corrente sanguínea.⁽³⁾ São formadas basicamente por um núcleo hidrofóbico, composto por triglicerídeos e ésteres de colesterol, recobertas por uma membrana anfipática formada por fosfolípidios, colesterol livre e apolipoproteínas (ou apoproteínas), as quais serão discutidas em seguida.⁽¹⁾ Existem quatro classes de lipoproteínas plasmáticas: (i) quilomícrons, (ii) lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), (iii) lipoproteína de densidade baixa (LDL) e (iv) lipoproteína de densidade alta (HDL).⁽¹⁾ Na Tabela 1, é possível observar algumas das características bioquímicas de cada lipoproteína.

Tabela 1 - Características bioquímicas das lipoproteínas

Lipoproteína	Densidade	Principal Componente	Apolipoproteínas	Diâmetro
Quilomícrons	<0.95 kg/L	Triglicerídeos	apoB48, apoA1, apoC, apoE2, apoE3 e apoE4	75-1.200 µM
VLDL	0.95-1.006 kg/L	Triglicerídeos	apoB100, apoC, apoE2, apoE3, apoE4, apoA1 e apoD	30-800 µM
LDL	1.019-1.063 kg/L	Colesterol	apoB100, apoA1, apoAIV e apoD	18-25 µM
HDL	1.063-1.210 kg/L	Proteínas	apoA1, apoAII, apoC, apoE2, apoE3, apoE4 e apoD	5-122 µM

QUILOMÍCRONS

Os quilomícrons são as lipoproteínas de maior diâmetro e menor densidade. São responsáveis pelo transporte dos triglicerídeos provenientes da alimentação. A composição consiste em triglicerídeos, colesterol livre, fosfolípidios e uma pequena fração proteica. Os quilomícrons são gerados por células intestinais e secretados na linfa, através da qual alcançam a corrente sanguínea. No sangue, sofrem ação da lipoproteína lipase (LPL), enzima responsável pela degradação dos triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos podem ser oxidados no músculo ou armazenados no tecido adiposo, enquanto que os quilomícrons remanescentes, menores e mais densos, são captados pelo fígado, onde são metabolizados pela ação das enzimas lisossomais dos hepatócitos.^(1,3)

LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE MUITO BAIXA (VLDL)

As lipoproteínas de densidade muito baixa (do inglês, *Very Low Density Lipoprotein*), são sintetizadas no fígado por células parenquimatosas hepáticas e responsáveis pelo transporte do triglicerídeo endógeno para os tecidos periféricos. Logo após a finalização do transporte, estas partículas são hidrolisadas pela ação da LPL e produzem os remanescentes da VLDL, também conhecidos como lipoproteínas de densidade intermediária (IDL). As IDL possuem

dois destinos: podem ser captadas e reabsorvidas pelo fígado, ou passar por mais estágios de hidrólise e formar lipoproteínas de baixa densidade (LDL) pela ação da triacilglicerol lipase hepática (HTGL).^(1,3)

LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE BAIXA (LDL)

As lipoproteínas de baixa densidade (do inglês, *Low Density Lipoprotein*) são geradas no estágio final da metabolização das VLDL remanescentes, e representam o principal carreador de colesterol do organismo. São capazes de permanecer por períodos mais longos na corrente sanguínea, sendo por fim captadas pelo fígado via endocitose mediada por receptor, ou pelas células periféricas. É importante destacar que, devido à sua densidade baixa proporcionada pelo alto teor de colesterol, há o favorecimento de sua entrada e alojamento na túnica íntima dos vasos, local no qual sofrem oxidação e podem desencadear o processo de aterogênese pela via *scavenger*, um evento degenerativo do endotélio vascular.^(1,3)

LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE ALTA (HDL)

As lipoproteínas de alta densidade (do inglês *High Density Lipoprotein*) são sintetizadas no fígado e intestino e responsáveis pelo transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado. As HDL nascentes são construídas em parte pelo excesso de fosfolípidios oriundos da hidrólise da VLDL, e pelo colesterol, que retira das

células através da ação de uma proteína de membrana que controla de forma limitada a transferência do colesterol livre para a HDL. Após adquirir o colesterol livre, ele é esterificado pela ação da enzima lecitina colesterol acetiltransferase (LCAT), que, por sua vez, será transferido para VLDL, quilomícrons e seus remanescentes em troca de triglicerídeos. Este processo permite que o colesterol retorne à via VLDL-IDL-LDL. Por fim, a HDL, agora rica em triglicerídeos, se liga ao receptor *scavenger* da membrana dos hepatócitos para transferir o colesterol ao fígado, o que reduz o diâmetro da partícula de HDL e dá origem a uma nova partícula de HDL, a qual participará do próximo ciclo de transporte.^(1,3)

APOLIPOPROTEÍNAS

As apolipoproteínas representam a fração proteica das lipoproteínas. Elas se encontram em constante processo de síntese e degradação e são peças fundamentais na regulação do metabolismo lipídico. Exercem funções específicas na regulação do metabolismo lipídico como cofatores enzimáticos, ligantes para os receptores nas células e tecidos pelo organismo, ou através da manutenção estrutural das partículas de lipoproteínas.⁽³⁾ As apolipoproteínas são divididas em classes (A, B, C, D e E) quanto à composição, o que consequentemente determina função distinta para cada uma das lipoproteínas.^(1,3)

APOPROTEÍNA A (APOA)

A apoproteína A (apoA) se apresenta nas isoformas apoA1, apoA2 e apoA4. A apoA1 está presente no sangue principalmente como componente da HDL, nos quilomícrons, e raramente no VLDL, LDL e seus remanescentes.⁽³⁾ A apo1 é sintetizada no intestino, originalmente como componente dos quilomícrons, e posteriormente transferida para as HDL durante o processo de hidrólise, ou na síntese de novas partículas de HDL.^(4,5) Como protetor, a apo1 apresenta características antiaterogênica e antioxidante, por ser cofator da enzima LCAT,⁽³⁾ componente chave para o transporte reverso do colesterol das células para as partículas de HDL e para o fígado.⁽⁴⁾ Em indivíduos dislipidêmicos e portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 com microangiopatias, a apo1 impede a lipotoxicidade e formação da retinopatia através do transporte reverso do colesterol na retina.^(4,5) A apo2, sintetizada no fígado, é a segunda proteína mais abundante na HDL.⁽³⁾ Funcionalmente, a apo2 modula diferentes etapas do metabolismo da HDL, podendo gerar a inibição da atividade da LCAT e da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP), e aumento da atividade lipase hepática, o que contribui para o transporte reverso do colesterol. Por outro lado, a apo2 pode inibir a absorção hepática do colesterol presente na HDL, impactando negativamente no

transporte reverso do colesterol. Os efeitos da apo2 na aterogênese, embora controversos, não se revelam muito determinantes para o metabolismo lipídico.⁽¹⁾ A apo4, assim como é apo1, é sintetizada quase que exclusivamente pelo fígado e intestino e tem se mostrado um potente ativador da LCAT.⁽³⁾

APOPROTEÍNA B (APOB)

Responsável pelo transporte do colesterol para as células periféricas, a apolipoproteína B (apoB) está presente nos quilomícrons e nas partículas de VLDL, VLDLs remanescentes e LDL. Duas isoformas são relatadas: apoB48 e apoB100. A apoB48 é encontrada nas partículas de quilomícrons e remanescentes – de alto potencial aterogênico – e a apoB100 é um componente obrigatório das VLDL, VLDL remanescentes e LDL.^(3,5) O metabolismo da apoB48 e da apoB100 são completamente distintos. Enquanto a apoB48 nos quilomícrons é rapidamente metabolizada e absorvida pelo fígado, a apoB100 é inicialmente secretada em partículas da VLDL que, pela ação da lipase, é convertida em IDL e posteriormente em LDL, a qual é metabolizada de forma lenta.⁽³⁾ A presença da apoB100 no LDL é essencial para facilitar a entrada do colesterol nas células através da sua ligação aos receptores celulares.⁽⁴⁾ Esta ligação ao receptor está intrinsecamente relacionada com o acúmulo do colesterol nas artérias, fator desencadeante para o processo aterogênico.^(3,6)

APOPROTEÍNA C (APOC)

A apolipoproteína C (apoC) está presente na superfície dos quilomícrons, VLDL e HDL. Apresenta-se nas isoformas apoC1, apoC2, apoC3 e apoC4. Embora exibam funcionalidades metabólicas distantes, todas as apoC compartilham a propriedade de redistribuir componentes entre as lipoproteínas⁽³⁾ através da ativação da LCAT.⁽⁶⁾ A apoC1 inibe a captura de VLDL pelo fígado, além de auxiliar no processo de esterificação do colesterol, o que possivelmente confere à apoC1 uma participação na remodelação da HDL.^(3,6) A apoC2 ativa a lipase lipoproteica (LPL), responsável pela hidrólise de partículas ricas em triglicerídeos,^(3,6) que, em contrapartida, é inibida pela apoC3, a qual modula a absorção das partículas ricas em triglicerídeos pelos receptores hepáticos. A apoC4 está envolvida na regulação da absorção dos lipídeos.⁽⁶⁾

APOLIPOPROTEÍNA D (APOD)

Presente nas lipoproteínas VLDL, LDL e, em maiores quantidades, na HDL, a apoproteína D (apoD) é pouco relatada devido à sua pequena expressividade. Embora a HDL seja considerada uma molécula antiaterogênica, recente-

mente foi estabelecido que sua expressão aberrante tem associação com alterações no metabolismo lipídico e na deposição e acúmulo das placas de ateroma no processo aterogênico. Ademais, estudos apontam um possível envolvimento da apoD com a ativação da LCAT e em processos que favorecem o amadurecimento da HDL.⁽⁷⁾

APOPROTEÍNA E (APOE)

Constituintes dos quilomíons e remanescentes, VLDL e HDL,⁽³⁾ a apoproteína E (apoE), está empregada na regulação dos níveis plasmáticos dos lipídeos, o que impacta sumariamente antiaterogênese. Ela promove a captação eficiente das lipoproteínas na circulação, desempenha papel no transporte reverso do colesterol, inibe a agregação plaquetária e modula a função imune.⁽⁸⁾ As isoformas desta apoproteína são: apoE2, apoE3 e apoE4.^(3,9) A apoE3 é associada com a funcionalidade ideal do metabolismo lipídico. Isto em grande parte devido à sua conformação flexível, que permite uma melhor interação com lipídeos de diferentes densidades e tamanhos,⁽¹⁰⁾ enquanto que a apoE2 e apoE4 estão associadas à dislipidemia e risco acentuado para doenças cardiovasculares.⁽¹¹⁾ É importante ressaltar que a apoE3 é crucial para o correto funcionamento do metabolismo lipídico quando em níveis ideais, determinado pela atuação na endocitose das partículas remanescentes do metabolismo do quilomíon e pela promoção da produção de VLDL pela estimulação intracelular nos hepatócitos. Uma superexpressão ou acúmulo da apoE3 estimula a produção de VLDL, aumentando consequentemente as concentrações de triglicérides desta partícula e os níveis de LDL circulante no sangue.⁽¹⁰⁾

DISLIPIDEMIAS

Dislipidemia é o termo utilizado para designar os níveis alterados – na maioria das vezes aumentados – de lipídeos e/ou lipoproteínas por meio da alteração em alguma ou algumas das fases do metabolismo lipídico. Os valores de referência para o perfil lipídico são apresentados na Tabela 2.

Etiologicamente as dislipidemias são classificadas em (i) primárias, quando estão relacionadas a fatores genéticos ou não tem causa aparente, e (ii) secundárias, quando relacionadas a outras doenças, uso de medicamentos ou estilo de vida do paciente.⁽²⁾ As dislipidemias primárias podem ainda ser classificadas de acordo com suas características genotípicas e fenotípicas. Relacionado ao genótipo, estas podem obter a subclassificação em monogênicas (uma mutação envolvida) e poligênicas (múltiplas mutações envolvidas). A respeito do fenótipo, subclassificadas (classificação laboratorial) ao utilizar os

Tabela 2 - Valores de referência para avaliação do perfil lipídico de acordo com a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013)

Lípideo	Valores (mg/dL)	Classificação
Colesterol Total (CT)	< 200	Desejável
	200 - 239	Limítrofe
	≥ 400	Alto
LDL-C	< 100	Ótimo
	100 - 129	Desejável
	130 - 159	Limítrofe
	160 - 189	Alto
	≥190	Muito alto
HDL-C	> 60	Desejável
	< 40	Baixo
Triglicérides (TG)	< 150	Desejável
	150 - 200	Limítrofe
	200 - 499	Alto
	≥ 00	Muito alto
Colesterol não-HDL	< 130	Ótimo
	130 - 159	Desejável
	160 - 189	Alto
	≥190	Muito alto

marcadores bioquímicos Colesterol Total (CT), HDL-C, LDL-C e Triglicérides (TG), e divididas em quatro perfis distintos: (i) hipercolesterolemia isolada, (ii) hipertriglicéridemia isolada, (iii) hiperlipidemia mista e (iv) diminuição isolada dos níveis de HDL, com associação do aumento dos níveis de LDL e/ou dos níveis de TG.⁽²⁾ As dislipidemias secundárias se apresentam associadas a algum transtorno metabólico de base – *diabetes mellitus* tipo 2,⁽¹²⁾ hipertensão arterial sistêmica,^(13,14) síndrome metabólica^(15,16) e obesidade⁽¹⁷⁾ – à terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) de pacientes HIV/AIDS⁽¹⁸⁾ e a fatores ambientais como tabagismo, hábitos alimentares e estresse.^(5,19) A compilação de fatores externos e internos exerce um efeito sinérgico para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, agravamento de distúrbios metabólicos ou ainda iniciar o processo de formação de placas de ateroma nos vasos sanguíneos, consequência comum do quadro de dislipidemia aterogênica.⁽²⁾ O perfil fenotípico da dislipidemia aterogênica é bastante singular e facilmente reconhecido, sendo ilustrado por uma elevação das concentrações de CT, em conjunto com aumento dos níveis de triglicérides e LDL, e da diminuição dos níveis de HDL.^(17,20,21) A dislipidemia aterogênica muitas vezes não tem um curso favorável devido ao seu diagnóstico tardio e início assintomático.⁽²⁾ Entende-se por aterogênico todo processo capaz de produzir alterações degenerativas nas paredes das artérias. O endotélio arterial em estado saudável repele as células circulantes no sangue e é fortemente antitrombótico. Na aterogênese, uma agressão endotelial permite o depósito de lipídeos na camada íntima do vaso, o que promove a formação de placas de ateroma, acompanhadas por uma reação inflamatória local.

Em longo prazo, a presença destas placas de ateroma ocasiona a oclusão completa da luz arterial, e como consequência pode haver infarto agudo do miocárdio ou um acidente vascular cerebral (AVC), dependendo do local de acúmulo das placas.⁽¹⁾

DISLIPIDEMIA ATEROGÊNICA

Em condições fisiológicas normais, o endotélio vascular promove alterações funcionais adaptativas para a manutenção da hemodinâmica, por meio da liberação de substâncias com propriedades antiaterogênicas, sendo o óxido nítrico (NO) a principal delas. O NO, em condições ideais, limita o recrutamento vascular de leucócitos, impedindo sua adesão à parede vascular e inibindo a agregação plaquetária, o que evita a formação de trombos. A perda da atividade biológica do NO é denominada disfunção endotelial.⁽¹³⁾

Inicialmente, o dano é mais funcional do que estrutural. O endotélio perde sua habilidade de repelir as células inflamatórias circulantes no sangue e passa a permitir a sua adesão na parede vascular, o que o torna permeável às lipoproteínas, culminando, a longo prazo, em dano estrutural.⁽³⁾ O aumento da permeabilidade endotelial favorece a entrada da LDL-C para a região íntima vascular, onde não são capazes de serem absorvidas, o que favorece seu acúmulo e oxidação.⁽¹⁹⁾ O acúmulo de LDL, unido à proliferação de células para a luz do vaso arterial, tem sido apontado como um fator desencadeante para aterogênese, por meio da promoção de reação inflamatória local exacerbada.^(13,14,22) Unido a isto, o aumento dos níveis de LDL-C gera um maior consumo de NO com liberação de radicais livres, os quais, por sua vez, promovem a oxidação da LDL-C acumulada, formando a LDL oxidada (LDLox), partículas que possuem potencial aterogênico acentuado e elevada citotoxicidade. A citotoxicidade da LDLox agrava a disfunção endotelial, gerando a expressão de quimiocinas pelas células lesionadas do endotélio, favorecendo o recrutamento de neutrófilos para o interior do vaso sanguíneo.^(14,22) Paralelamente, a LDLox estimula também a migração de monócitos e sua diferenciação em macrófagos, os quais endocitam as partículas oxidadas através dos receptores *scavengers* e promovem a formação das células espumosas – componentes essenciais da placa aterosclerótica.^(13,14,22) A endocitose das LDLox exerce papel ambíguo na fisiopatologia da doença: enquanto possui teor protetor por conta da remoção das partículas oxidadas, o mesmo processo também induz a produção dos mesmos radicais livres responsáveis por agravar a lesão endotelial, consequentemente promovendo a expressão de mais quimiocinas, as quais, por sua vez, irão recrutar novos monócitos e estimular a projeção das células musculares lisas para a luz do vaso, estabelecendo o dano estrutural.

Isto desencadeia um processo sistêmico que envolve proteínas da coagulação e promove a evolução da lesão aterosclerótica por meio do perpetuamento do processo inflamatório.^(14,22)

Na Figura 1 é possível visualizar a patogênese da aterosclerose.

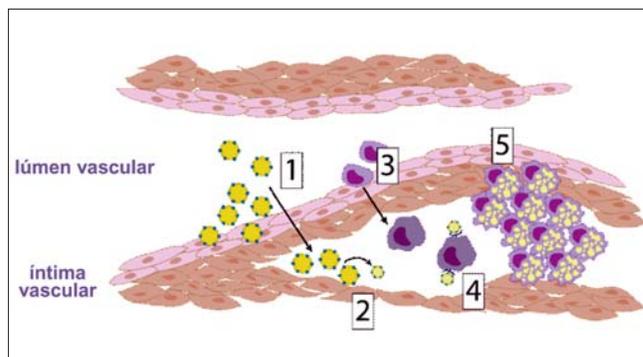


Figura 1. Resumo do processo aterogênico: (1) o efluxo de macromoléculas LDL para a camada íntima vascular (2) gera o acúmulo e oxidação destas, originando a formação das LDLox, agravando a disfunção endotelial devido à sua citotoxicidade. (3) A LDLox estimula a migração de monócitos e sua diferenciação em macrófagos, (4) os quais fagocitam as LDLox através dos receptores *scavengers*. (5) Após fagocitarem as LDLox, os macrófagos se transformam em células espumosas que promovem, por meio de processo inflamatório, a projeção das células musculares lisas para o lúmen vascular.

DISLIPIDEMIA ATEROGÊNICA NA HOMEOSTASIA

A cascata da coagulação é responsável pela manutenção da fluidez sanguínea pela formação de coágulos de fibrina em casos de lesão vascular. Entre as alterações nas proteínas envolvidas no processo de coagulação são descritas elevações séricas nos níveis do inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), o inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI), do fator III (tissular) e VII da coagulação.^(24,25) A baixa concentração dos níveis de HDL associada aos altos níveis de LDLox é ineficaz na inibição do fator de agregação plaquetária. Somado a isto, a hipertrigliceridemia característica da dislipidemia aterogênica estimula os fatores III e VII da coagulação, responsáveis por iniciar a via extrínseca da cascata da coagulação, o que favorece a formação de trombos no lúmen dos vasos sanguíneos.⁽²⁴⁾ A presença da LDLox das placas de ateroma aumentam a expressão do fator III pelas células do músculo liso do endotélio vascular, o qual atua como importante promotor da migração e proliferação de células do músculo liso para o lúmen do vaso sanguíneo e da angiogênese.⁽²³⁾ Em paralelo à indução dos fatores III e VII, o acúmulo de lipídeos eleva os níveis dos fatores da coagulação PAI-1 e TAFI, promovendo a inibição do processo fibrinolítico responsável por dissolver e retirar da circulação coágulos que possam obstruir o fluxo sanguíneo. Deste modo, tanto a fisiopatologia inerente à dislipidemia

aterogênica quanto os seus reflexos nos mecanismos da coagulação favorecem um ciclo infundável para a oclusão da luz do vaso sanguíneo.⁽²⁶⁾

CONCLUSÃO

O curso fisiopatológico da dislipidemia aterogênica favorece a evolução da aterosclerose e contribui para o estabelecimento de lesões degenerativas crônicas graves. Muitos aspectos relacionados às alterações da homeostasia na presença de hipercolesterolemia e/ou síndrome metabólica são relatados em estudos, no entanto no que se refere especificamente à dislipidemia aterogênica, evidencia-se a necessidade de mais pesquisas, sobretudo epidemiológicas, para traçar o comportamento fenotípico da doença em populações distintas. Adicionalmente, estudos de casos que relatem o impacto positivo ocasionado pela avaliação clínica e prognóstico dos indivíduos, com apresentações de algumas destas alterações discorridas, poderia diminuir substancialmente as chances do estabelecimento de comorbidades mais graves. Em um aspecto mais amplo, e contextualizando com o Brasil, poderia ainda impactar nos gastos voltados para a saúde pública.

Abstract

The atherogenic dyslipidemia in synergy with metabolic disorders such as diabetes mellitus type 2, metabolic syndrome, hypertension and obesity, added to other factors such as smoking, diet and stress is associated with cardiovascular diseases. Although the impact of changes in lipid metabolism in this process is established by a high concentrations of CT, triglycerides and LDL-C, and decreased HDL-C, the effects of these changes in the homeostasis have not been fully elucidated, the effects of changes in the homeostasis have not been fully elucidated, limiting clinical and therapeutic improvements. In the present work a non-systematic review about the possible changes associated with atherogenic dyslipidemia currently described in the literature, which allowed a summarization of the findings described so far. In the present study, a non-systematic review of possible changes in the homeostasis associated with atherogenic dyslipidemia currently described in the literature was made, which allowed a summarization of the mechanisms described so far.

Keywords

Atherosclerosis; Dyslipidemias; Homeostasis; Lipoproteins.

REFERÊNCIAS

- Baynes JW, Dominiczak MH. *Bioquímica Médica*. 3rd ed. Elsevier; 2011. 680 p.
- SBC. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. In: *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. Sociedade Brasileira de Cardiologia; 2013. p. 01-22.
- Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res*. 1984 Jun;25(12):1277-94.
- Srinivasan SR, Berenson GS. Serum apolipoproteins A-I and B as markers of coronary artery disease risk in early life: the Bogalusa Heart Study. *Clin Chem*. 1995 Jan;41(1):159-64.
- Lima LM, Carvalho MD, Sousa MO. Apo B/apo A-I ratio and cardiovascular risk prediction. *Arq Bras Cardiol*. 2007 Jun;88(6):e187-90. [Article in English, Portuguese].
- Forti N, Diament J. Apolipoprotein B and A-I: cardiovascular risk factor? *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2007 May-Jun;53(3):276-82. [Article in Portuguese].
- Perdomo G, Henry Dong H. Apolipoprotein D in lipid metabolism and its functional implication in atherosclerosis and aging. *Aging (Albany NY)*. 2009 Jan;1(1):17-27.
- Davignon J, Cohn JS, Mabille L, Bernier L. Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. *Clin Chim Acta*. 1999 Aug;286(1-2):115-43.
- Phillips MC. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life*. 2014 Sep;66(9):616-23
- Huang Y, Liu XQ, Rall SC, Taylor JM, Von Eckardstein A, Assmann G, et al. Overexpression and accumulation of apolipoprotein E as a cause of hypertriglyceridemia. *J Biol Chem*. 1998 Oct 9;273(41):26388-93.
- Davignon J, Bouthillier D, Nestruck AC, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis: insight from a study in octogenarians. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 1988;99:100-10.
- Burns SF, Lee S, Bacha F, Tfayli H, Hannon TS, Arslanian SA. Prediabetes in overweight youth and early atherogenic risk. *Metabolism*. 2014 Dec;63(12):1528-35.
- Bahia L, Guilherme L, Aguiar K, Villela NR, Bottino D, Bouskela E. Endotélio e aterosclerose. *Rev da SOCERJ*. 2004;17:26-32.
- Corrêa-Camacho C. Aterosclerose, uma resposta inflamatória. *Arq Ciências da Saúde*. 2007;14(1):41-8.
- Lottenberg SA, Glezer A, Turatti LA. Metabolic syndrome: identifying the risk factors. *J Pediatr (Rio J)*. 2007 Nov;83(5 Suppl):S204-8.
- Faria ER, Faria FR, Franceschini Sdo C, Peluzio Mdo C, Sant Ana LF, Novaes JF, et al. Insulin resistance and components of metabolic syndrome, analysis by gender and stage of adolescence. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014;58(6):610-8.
- Pires A, Martins P, Pereira AM, Silva PV, Marinho J, Marques M, et al. Insulin Resistance, Dyslipidemia and Cardiovascular Changes in a Group of Obese Children. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Aug;58(6):610-8. [Article in Portuguese].
- Nsagha DS, Assob JCN, Njunda AL, Tanue EA, Kibu OD, Ayima CW, et al. Risk Factors of Cardiovascular Diseases in HIV/AIDS Patients on HAART. *Open AIDS J [Internet]*. 2015 Oct 20;9(1):51-9. Available from: <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOAIDJ-9-51>.
- Jorge PA. Endothelium, lipids and atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol*. 1997 Feb;68(2):129-34. [Article in Portuguese].
- Núñez-Cortés JM, Pedro-Botet Montoya J, Pintó Sala X. Riesgo vascular residual: recomendaciones de la Iniciativa Española para la Reducción del Riesgo Residual. *Med Clin (Barc)*. 2010;135(4):165-71.
- Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2601-7.
- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*. 2006 May;367(1-2):36-47.
- Brand A, Griffiths DJ, Herve C, Mallon E, Venables PJ. Human retrovirus-5 in rheumatic disease. *J Autoimmun [Internet]*. 1999 Aug;13(1):149-54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10441180>
- Okopien B, Krysiak R, Herman ZS. Effects of short-term fenofibrate treatment on circulating markers of inflammation and hemostasis in patients with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 May;91(5):1770-8.

25. Ríos MS, Caro JF, Carraro R, Fuentes JAG. 22. Alterations in Thrombosis and Fibrinolysis in the Metabolic Syndrome. In: The Metabolic Syndrome at the Beginning of the XXI Century: A Genetic and Molecular Approach. Elsevier; 2005. p. 479.
26. Lima LM, Carvalho MG, Sabino AP, Sousa MO. Lipoproteína A e inibição da fibrinólise na doença arterial coronariana. Rev Bras Hematol Hemoter. 2006;28(1):53-9.

Correspondência

Taiane de Macêdo Gondim
Rua Airosa Galvão - 7/302 – Barra
40140180 – Salvador, BA
taigondim@hotmail.com

Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma

Chronic Myeloid Leukemia: clinical aspects, diagnosis and main changes observed in complete blood count

Fernanda Roberta Sossela¹
Barbara Catarina de Antoni Zoppas²
Liliana Portal Weber³

Resumo

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica que corresponde de 15% a 20% de todas as leucemias. Na maioria dos casos, há expressão do cromossomo Filadélfia e a produção de uma oncoproteína com atividade tirosina-quinase aumentada. O curso clínico da doença é caracterizado por três fases: crônica, acelerada e crise blástica. O diagnóstico é estabelecido por aspectos clínicos e hematológicos. Entre os principais métodos diagnósticos pode-se citar o hemograma, o mielograma e as análises citogenéticas e moleculares. Em meio às metodologias cada vez mais sensíveis e específicas, o hemograma se constitui numa ferramenta de elevada importância como método de triagem para novos casos, principalmente quando não há sintomatologia característica. Algumas alterações típicas podem ser evidenciadas no hemograma, como o aumento significativo na contagem de leucócitos, acompanhado do aumento de basófilos e do aparecimento de células imaturas. O tratamento de primeira escolha indicado atualmente é o quimioterápico mesilato de imatinibe, que vêm apresentando sucesso terapêutico, acarretando na diminuição do número de casos de evolução da fase crônica para a fase acelerada. Neste artigo, serão discutidos os principais aspectos clínicos da doença e métodos diagnósticos, com enfoque nas alterações características encontradas no hemograma.

Palavras-chave

Cromossomo Filadélfia; Leucemia mieloide de fase crônica; Contagem de células sanguíneas

INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica, caracterizada como uma doença proliferativa do sistema hematopoiético na qual ocorre expansão clonal de uma célula-tronco pluripotente ou *stem cell*.⁽¹⁻³⁾ Esta célula possui a capacidade de se diferenciar em células das linhagens mieloide, linfocítica, monocítica ou megacariocítica.⁽²⁾

A LMC corresponde a aproximadamente 15% a 20% de todas as leucemias, com incidência de um a dois casos em cada 100 mil indivíduos.⁽³⁻⁶⁾ Apresenta maior frequência em adultos, com faixa etária entre 40 e 60 anos, principalmente do sexo masculino. Entretanto, pode acometer indivíduos de todas as faixas etárias, com menos de 10% dos casos de pacientes com até 20 anos.⁽³⁻⁸⁾

Em aproximadamente 90% a 95% dos casos, há expressão do cromossomo Filadélfia, produto de uma trans-

locação recíproca dos braços longos dos cromossomos 9 e 22, dando origem ao gene quimérico BCR-ABL.⁽¹⁻³⁾ Nesta translocação, há a associação do gene c-ABL (Abelson *murine leukemia*) no cromossomo 9 com uma porção do gene BCR (*breakpoint cluster region*) do cromossomo 22, t(9;22)(q34;q11), gerando a expressão e consequente tradução de uma oncoproteína com atividade tirosina-quinase aumentada, p210BCR-ABL, que é característica dos pacientes com LMC.^(1-4,6,8,9) A hiperatividade da p210BCR-ABL é responsável pela oncogênese inicial da LMC, favorecendo a liberação de efetores de proliferação celular e inibidores de apoptose da célula progenitora hematopoiética.^(3,6,9)

O principal fator de risco para o desenvolvimento da LMC é a exposição à radioatividade, que também é fator de risco para o surgimento de outros tipos de câncer.⁽⁸⁾ A maior incidência de LMC pode ser observada em pacientes

¹Farmacêutica Bioquímica – Setor de Hematologia, Hospital Geral. Fundação Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS, Brasil.

²Professora de Parasitologia e Micologia da Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS, Brasil.

³Professora de Imunologia e Hematologia da Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS, Brasil.

Instituição: Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS, Brasil.

Artigo recebido em 23/10/2016
Artigo aprovado em 24/01/2017
DOI: 10.21877/2448-3877.201700543

submetidos à radioterapia, bem como sobreviventes das regiões atingidas pelas bombas atômicas durante a Segunda Guerra Mundial. No entanto, mesmo com essa provável relação entre LMC e radiação ionizante, na maioria dos casos não há fator predisponente conhecido.⁽⁶⁾

O diagnóstico da LMC pode ser estabelecido por meio de aspectos clínicos e hematológicos. Apesar do surgimento de técnicas cada vez mais sensíveis e específicas na identificação citogenética e molecular do cromossomo Filadélfia, do gene BCR-ABL e seus produtos, a utilização do hemograma como exame de triagem para novos casos torna-se essencial. Muitos pacientes não apresentam sintomas específicos, dessa forma o hemograma pode sinalizar alterações características da LMC e auxiliar no diagnóstico clínico.

Este artigo constitui uma revisão que objetiva abordar as principais características clínicas da LMC, sintomatologia, formas de tratamento e diagnóstico, com enfoque nas alterações observadas no hemograma, no intuito de auxiliar os profissionais na sua utilização como método de triagem e diagnóstico para a LMC.

CURSO CLÍNICO E SINTOMATOLOGIA

A maior parte dos pacientes apresenta uma fase crônica, que dura geralmente de três a cinco anos em tratamento com fármacos convencionais, com aparecimento de poucos sinais e sintomas; uma fase acelerada, com aparecimento de blastos no sangue periférico e/ou na medula óssea; e uma fase aguda (crise ou transformação blástica), com duração de três a seis meses.^(7,8) Em alguns casos, a doença pode evoluir da fase crônica diretamente para a fase de crise blástica.⁽³⁾ A evolução da fase crônica para outros estágios da doença pode ser uma consequência da instabilidade genética e evolução clonal, com anormalidades cromossômicas adicionais provindas da proliferação celular induzida pelo gene BCR-ABL.⁽⁶⁾

O quadro clínico apresenta heterogeneidade de sintomas em todas as fases da LMC.⁽³⁾ Entre as manifestações clínicas na fase inicial da doença pode-se citar anemia, artralgia, parestesia palmar, hepatoesplenomegalia, além de sintomas de hipermetabolismo, como fadiga, perda ponderal, sudorese noturna e febre.^(3,6-8) A ocorrência de hemorragia e complicações trombóticas pode ser observada em menos de 5% dos casos na fase crônica.⁽⁶⁾

Os sinais clínicos relatados na fase de crise blástica incluem palidez, aumento da hepatoesplenomegalia, equimoses fáceis e refratariedade ao tratamento, até então eficaz na fase crônica.⁽⁷⁾ Pode-se citar ainda a ocorrência de sangramentos, falência de múltiplos órgãos e infecções, com sobrevida de três a seis meses para pacientes sem tratamento.⁽⁶⁾

DIAGNÓSTICO

Geralmente, o diagnóstico torna-se evidente pelos aspectos clínicos e hematológicos.⁽⁷⁾ Podem ser utilizados os seguintes métodos para o estabelecimento de diagnóstico de LMC: medição da esplenomegalia, realização de hemograma completo, mielograma, biópsia de medula com coloração pela prata (para avaliar a presença de fibrose), cariótipo da medula óssea, PCR-qualitativo (para identificação do transcrito BCR-ABL) e PCR quantitativo. A partir dos resultados obtidos, é possível definir a fase de evolução da doença.⁽⁴⁾

A maior parte dos pacientes já apresenta sintomas ao diagnóstico, com a doença já estabelecida. No entanto, um número cada vez maior de pacientes está sendo diagnosticado em exames periódicos através do hemograma, estando ainda assintomáticos.⁽⁷⁾ Desse modo, o hemograma apresenta-se como uma ferramenta importante para a identificação da LMC, e sua correta interpretação torna-se essencial para o direcionamento do diagnóstico. Neste âmbito, alguns aspectos principais devem ser observados e estão representados na Tabela I.

Em estágios iniciais da doença, os primeiros aspectos observados no sangue periférico são o aumento de basófilos, trombocitose e um baixo escore de fosfatase alcalina leucocitária (LAP), teste que vem perdendo a força devido ao surgimento das análises citogenéticas e moleculares.^(7,11) Após, ocorre o aumento do total de leucócitos, de neutrófilos e começam a surgir células imaturas. Em alguns pacientes, há alterações cíclicas na contagem de leucócitos em intervalos de 50 a 70 dias, com uma fase de níveis leucêmicos e uma fase de níveis normais. Nas fases iniciais, há necessidade de estabelecer diagnóstico diferencial entre LMC, neutrofilia reacional e outros tipos de leucemias mieloides.⁽⁷⁾

Com a evolução da doença, um dos principais critérios de identificação da crise blástica é a contagem de blastos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o número de blastos deve ser igual ou superior a 20%.⁽¹⁰⁾ Outra classificação bastante usada em estudos terapêuticos para LMC, do grupo M.D. Anderson Cancer Center (MDACC), propõe que a contagem de blastos deve ser igual ou superior a 30% ou, ainda, uma soma de blastos e promielócitos igual ou superior a 30%.⁽¹²⁾ Conforme o estudo de Cortes et al.,⁽¹²⁾ indivíduos com contagens de blastos de 20% a 29% apresentam sobrevida e resposta citogenética melhores do que pacientes com contagens acima de 30%, o que demonstra que o ponto de corte de blastos ainda permanece em constante discussão.

Outra questão importante é a identificação da natureza da população blástica, que pode ser realizada por meio da imunofenotipagem blástica. Na maioria dos casos, a população é de linhagem mioelóide (podendo ser

Tabela 1 - Perfil do hemograma nas diferentes fases da LMC

Fase da doença	Parâmetro analisado	Valores encontrados
Fase Crônica	Leucograma	
	Contagem de leucócitos	Leucocitose (> 50.000 leucócitos/mm ³), com desvio à esquerda
	Diferencial	Predomínio de neutrófilos e mielócitos Contagem ↓ metamielócitos Raros promielócitos Presença de até 10% de blastos Basófilos e Eosinófilos ↑
	Eritrograma	Anemia normocítica e normocrômica Presença de eritroblastos
Fase Acelerada	Plaquetas	Valor normal ou ↑
	Leucograma	
	Contagem de leucócitos	Leucocitose crescente (> 100.000 leucócitos/mm ³)
	Diferencial	↑Blastos (10 a 19%) ↑Basófilos (≥ 20%)
Crise blástica	Eritrograma	Anemia crescente
	Plaquetas	< 100.000 ou > 1.000.00
	Leucograma	
	Diferencial	↑Blastos (>20%)

Adaptado de: Bain, 2004; Bollman & Giglio, 2011; Bortolheiro & Chiattoni, 2008; Grando & Wagner, 2008; Swerdlow et al., 2008; Xavier et al., 2010

mieloblástica ou mieloblástica/ megacarioblástica) ou mista (linfoblástica/mieloide).⁽⁷⁾ Em aproximadamente 70% dos casos, a transformação blástica é mieloide, podendo acontecer em múltiplas linhagens ou predominar em uma delas: mieloblástica, basofílica, eosinofílica, megacarioblástica, monocítica ou eritroblástica. A transformação linfóide ocorre em 20% a 30% dos pacientes e a transformação bifenotípica é mais raramente encontrada.^(3,6)

No âmbito medular, o diagnóstico pode ser realizado por meio do mielograma e biópsia de medula. A medula óssea dos pacientes com LMC é hipercelular, em função da hiperplasia mieloide, apresentando células em todas as fases de maturação, e a série eritroide encontra-se diminuída. Pode ser observada ainda proliferação de megacariócitos, diferentes graus de fibrose reticulínica e vascularização.^(3,11)

Para confirmação diagnóstica e monitoração do tratamento, são utilizadas as análises citogenéticas e moleculares.^(2,7,11) Na maior parte dos casos de LMC, há presença do cromossomo Filadélfia.⁽⁷⁾ A presença do cromossomo ou de seu transcrito BCR-ABL determina o diagnóstico da doença.⁽¹¹⁾ Na monitoração da resposta citogenética, podem-se citar as técnicas de cariótipo medular e hibridização *in situ* por fluorescência (FISH).^(4,13) Através do cariótipo medular pode-se quantificar o número de metáfases Ph+ e detectar anomalias cromossômicas adicionais no momento do diagnóstico e a cada seis meses, até a resposta citogenética completa, e, após, a cada um a dois anos, para a identificação de eventuais recaídas.⁽⁴⁾ O método de FISH é útil na demonstração de translocação 9-22 e detecção do

gene BCR-ABL, podendo contribuir na identificação de doença residual mínima (DRM), mas não detecta as demais anomalias cromossômicas e não possui valor prognóstico estabelecido.^(4,13)

A análise molecular com a utilização do método de Transcrição Reversa e Reação em Cadeia da Polimerase quantitativo, RT-qPCR (*Reverse Transcription - quantitative Polymerase Chain Reaction*), apresenta alta correlação com os resultados obtidos pela análise citogenética.⁽²⁾ Por meio deste método, é possível identificar o rearranjo BCR/ABL e determinar o número de cópias de mRNA produzido pela p210^{BCR/ABL}, sendo muito útil na detecção de doença residual após quimioterapia ou transplante de medula óssea.^(2,4,9) A monitoração de resposta molecular deve ser realizada no intervalo de três a seis meses até a resposta molecular completa e, depois, a cada seis meses.⁽⁴⁾

TRATAMENTO

No tratamento da LMC, pode ser utilizada a terapia celular por meio do transplante de células-tronco hematopoiéticas, ou o tratamento medicamentoso, com a utilização de bussulfan, hidroxiureia, interferon alfa ou inibidores da tirosina-quinase.^(8,9) Atualmente, o mesilato de imatinibe, inibidor da tirosina-quinase, é considerado tratamento de primeira linha para estes pacientes.^(4,8,9) O imatinibe age como inibidor específico da proteína BCR-ABL, por meio da competição pelo sítio de ligação de ATP da tirosina-quinase, bloqueando a fosforilação de substratos relacionados com a regulação do ciclo celular, reativando o mecanismo de

morte celular.^(6,9) No entanto, pode haver o desenvolvimento de resistência ao fármaco, através de mutações na região do sítio catalítico da proteína no gene BCR-ABL, incapacidade de manutenção de concentrações adequadas de fármaco no interior da célula e/ou duplicação do cromossomo Filadélfia.⁽⁸⁾ Com o sucesso cada vez maior dos inibidores da tirosina-quinase, o número de casos de evolução da fase crônica para a fase acelerada vem diminuindo de forma expressiva.^(3,9) Mesmo com o uso de imatinibe, a sobrevida dos pacientes na fase acelerada pode ser estimada em um a dois anos.⁽³⁾

O uso de mesilato de imatinibe geralmente é bem tolerado pelos pacientes, entretanto a principal preocupação é o desenvolvimento, a longo prazo, de uma segunda neoplasia, que pode ser observada também com o uso de outros fármacos utilizados no tratamento da LMC.⁽⁸⁾

Atualmente, estão sendo utilizados no tratamento também os inibidores da tirosina-quinase de segunda geração, como o dasatinibe, o nilotinibe e o bosutinibe, que demonstram eficácia na maioria dos pacientes resistentes ou intolerantes ao imatinibe.^(4,6)

Na avaliação do sucesso terapêutico, a resposta hematológica completa é definida pelos seguintes critérios: plaquetas ≤ 450 mil, leucócitos ≤ 10.000 , com diferencial normal, basófilos menor que 5% e ausência de esplenomegalia.⁽⁶⁾ O hemograma deve ser repetido a cada duas semanas até que a resposta hematológica completa seja obtida.⁽⁴⁾

A terapêutica curativa para pacientes com LMC é o alotransplante de células progenitoras hematopoiéticas. Entretanto, não é considerado como terapêutica de primeira linha, sendo mais indicado para pacientes jovens e nos casos em que ocorre resposta insatisfatória ou resistência aos inibidores da tirosina-quinase.⁽⁴⁾

CONCLUSÃO

A LMC consiste numa neoplasia de sintomatologia muito diversa e com casos assintomáticos frequentes, de modo que a avaliação laboratorial do paciente torna-se essencial. As técnicas utilizadas demonstram-se cada vez mais avançadas, possibilitando análises citogenéticas e moleculares precisas, que permitem não somente a confirmação do diagnóstico como também a monitoração da evolução da doença e da terapêutica. No entanto, o hemograma ainda apresenta grande relevância por ser uma metodologia de fácil acesso e, quando realizado por profissionais treinados, pode auxiliar na identificação de novos casos e no acompanhamento da LMC.

Quanto às formas de tratamento, o mesilato de imatinibe continua sendo a terapia de primeira escolha. Nos casos de resistência ao imatinibe, surgem como alternativa os inibidores da tirosina-quinase de segunda geração.

Abstract

Chronic myeloid leukemia (CML) is an hematological tumor, corresponding 15 to 20% of all leukemias. In most cases, there expression of the Philadelphia chromosome and production of an oncoprotein with enhanced tyrosine-kinase activity. The clinical course of the disease is characterized by three phases: chronic, accelerated and blast crisis. The diagnosis is established by clinical and hematological aspects. Among the main diagnostic methods, there is the complete blood count, the bone marrow examination and cytogenetic and molecular analyzes. Amid the increasingly sensitive and specific methodologies, the complete blood count is an important tool as a screening method for new cases, especially when there are no characteristic symptoms. Some typical changes can be highlighted in the complete blood count as a significant increase in leukocyte count, accompanied by increase in basophil count and the appearance of immature cells. The treatment of choice is currently the quimioterapic imatinib mesylate, which have shown therapeutic success, resulting in decrease in the number of cases of evolution of chronic phase to accelerated phase. In this article, the main clinical aspects of the disease and diagnostic methods will be discussed, focusing on characteristic changes found in the blood count

Keywords

Philadelphia Chromosome; Leukemia, Myeloid, chronic-phase; Blood cell count

REFERÊNCIAS

1. Andrade GV. Papel da p190BCR-ABL como parâmetro de recaída na leucemia mieloide crônica. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008; 30(4):297-302.
2. Barboza LP, Souza JM, Simões FV, Bragança IC, Abdelhay E. Análise dos transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mieloide Crônica. Rev Bras Hematol Hemoter. 2000;22(2):89-98.
3. Bortolheiro TC, Chiattonne CS. Leucemia Mieloide Crônica: história natural e classificação. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008;30 (supl. 1): 3-7.
4. Almeida A, Castro I, Coutinho J, Guerra L, Marques H, Pereira AM. Recomendações para o diagnóstico, tratamento e monitorização da Leucemia Mieloide Crônica. Acta Med Port. 2009;22:537-44.
5. Bergantini AP, Castro FA, Souza AM, Fett-Conte AC. Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. Rev Bras Hematol Hemoter. 2005; 27 (2):120-25.
6. Bollmann PW, Giglio A. Leucemia mieloide crônica: passado, presente, futuro. Einstein. 2011;9(2):236-43.
7. Bain BJ. Células Sanguíneas: Um Guia Prático. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2007. 488 p.
8. Castro MA, Castro MA, Peleja SB, Barbosa AP, Tavares AP, Roberti MR. Ocorrência de Múltiplas Neoplasias em Paciente Portador de Leucemia Mieloide Crônica: Relato de Caso. Revista Brasileira de Cancerologia. 2012;58(2):251-55.
9. Grando AC, Wagner S. Avaliação laboratorial da doença residual mínima na leucemia mielóide crônica por Real-Time PCR. J Bras Patol Med Lab. 2008;44 (6):433-40.
10. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
11. Xavier RM, Dora JM, Souza CFM, Barros E. Laboratório na prática clínica: consulta rápida. Porto Alegre: Artmed, 2010.928 p.
12. Cortes JE, Talpaz M, O'Brien S, Faderi S, Garcia-Manero G, Ferrajoli A. Staging of chronic myeloid leukemia in the imatinib era. An evaluation of the World Health Organization proposal. Cancer. 2006;106(6):1306-15.
13. Naoum PC. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. Rev Bras Hematol Hemoter. 2001;23(2):15-23.

Correspondência

Fernanda Roberta Sossela
Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130
95070-560 – Caxias do Sul, RS

Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura

Sickle Cell Disease and laboratory approach: a brief literature review

Renata Araujo de Almeida¹

Ana Laura Remédio Zeni Beretta²

Resumo

Anemia Falciforme é uma doença hemolítica de caráter autossômico recessivo presente em indivíduos homocigóticos para a hemoglobina S, ocorrendo uma mutação na posição 6 da extremidade N - terminal do cromossomo 11, substituindo o ácido glutâmico por valina. A HbSS em condições de hipóxia se polimeriza no formato de foice. A anemia nos pacientes ocorre pela diminuição de hemoglobina devido ao aumento de hemólise no baço. As hemácias falciformes contribuem para os processos inflamatórios, vaso-oclusão, aumento de coagulação, lesão tecidual. Os processos infecciosos são críticos em crianças menores de 6 anos devido à autoesplenectomia e sua susceptibilidade a infecções. O objetivo do estudo foi estabelecer os principais meios para o diagnóstico laboratorial da anemia falciforme, baseando-se na revisão bibliográfica em artigos científicos e banco de dados do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (Bireme/Lilacs). A triagem laboratorial fornece subsídios para o norteamo clínico, desde exames simples, como o hemograma com a contagem de reticulócitos, até exames mais sofisticados, como resistência osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%, eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose, pesquisa de corpos de Heinz e agregados de hemoglobina H, entre outros. O estudo mostrou que a eletroforese de hemoglobina é o exame padrão-ouro para a confirmação do diagnóstico.

Palavras-chave

Doença da Hemoglobina SC; Anemia Falciforme; Anemia Hemolítica; Diagnóstico

INTRODUÇÃO

A Anemia Falciforme (AF) é uma doença hemolítica de caráter autossômico recessivo, presente em indivíduos homocigóticos para Hemoglobina S (HbS). É originada por uma mutação na posição 6 da extremidade N - terminal do cromossomo 11, onde ocorre a substituição de um ácido glutâmico pela valina. A HbS é responsável pela polimerização dos eritrócitos em condições de hipóxia, fazendo com que esses assumam o formato de foice. Esses polímeros podem lesar a estrutura da membrana eritrocítica, causando hemólise. A diminuição do número de eritrócitos pela hemólise associada à alta destruição das hemácias pelo baço leva ao quadro de anemia comum em pacientes falciformes.^(1,2)

AAF é a doença hereditária de maior prevalência no país, afetando cerca de 0,1% a 0,3% da população negra,

sendo observada também em decorrência da alta taxa de miscigenação em parcela cada vez mais significativa da população caucasiana brasileira. Estimativas indicam que 5% a 6% da população carrega o gene da Hemoglobina S (HbS) e que a incidência fica em torno de 700 - 1000 novos casos por ano.⁽³⁾

A hemoglobina S (HbS) é obtida através da mutação genética que ocorre na cadeia beta (β), posição seis da globina onde há a substituição da base adenina no aminoácido ácido glutâmico pela base timina, formando assim o aminoácido valina. Essa mutação altera a estrutura molecular da membrana celular da hemácia (que é bicôncava) em baixas concentrações de oxigênio circulante no sangue, conferindo-lhe a forma de foice. Por esta razão, a hemoglobina modificada recebe o nome de hemoglobina S (S deriva da palavra inglesa *sickle*, que significa foice em português).⁽⁴⁾

¹Bacharel em Ciências Biológicas pela PUC-Campinas e pós-graduanda no curso de especialização de Análises Clínicas pela FHO Uniararas/Centro Universitário Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

²Profa. titular A5 em Microbiologia. Coordenadora de cursos de Especialização em Análises Clínicas, Controle e Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde e Farmácia Hospitalar Oncológica/Centro Universitário Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

Instituição: Universidade Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

Artigo recebido em 25/08/2016

Artigo aprovado em 17/02/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700530

Durante o evento de falcização a membrana da hemácia em foice enrijece, aumentando o contato da superfície celular com as moléculas de adesão circulantes no sangue. Essa interação impede a circulação adequada dessas hemácias na corrente sanguínea, fazendo com que dificulte o transporte de oxigênio celular e tecidual, além de contribuir para o processo de vaso-oclusão causado pela aderência dessas células no endotélio vascular, ocasionando os processos inflamatórios e infecciosos.^(5,6)

É importante que as pessoas estejam informadas sobre a existência da doença falciforme e consigam identificá-la. Além da crescente difusão do aconselhamento genético, o governo federal empenhou-se também em políticas nacionais educativas e, nos anos 90, na formação de um grupo de trabalho para a elaboração do Programa Anemia Falciforme.⁽⁷⁾

A pesquisa exploratória teve por objetivo estabelecer os principais meios usados para o diagnóstico laboratorial da Anemia Falciforme por meio da pesquisa em sites de coleção de artigos científicos como Medline, Lilacs, Bireme, SciELO e Biblioteca Cochrane, a fim de discorrer e discutir sucintamente sobre as características da doença.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Doença Falciforme (DF) apresenta alguns genótipos, sendo que os mais conhecidos são: a homozigose da Hemoglobina S (HbSS); e as heterozigoses da Hemoglobina S, a HbAS, a HbS-beta-talassemia, associação da hemoglobina falciforme com a hemoglobina que possui o gene que expressa a beta talassemia; e a dupla heterozigose HbSC, associação entre a Hemoglobina S e a hemoglobina C, e HbSD, associação entre a Hemoglobina S e a Hemoglobina D.⁽⁸⁾

Os genótipos da Doença Falciforme determinam a gravidade e a presença ou não de sintomas clínicos. A HbS-beta-talassemia, a HbSC e HbSD são consideradas genótipos de gravidade média, enquanto que os genótipos HbAS, que é responsável pelo traço falciforme, e HbSS, que caracteriza a Anemia Falciforme, possuem maior relevância clínica.^(8,9)

No traço falciforme, o indivíduo apresenta heterozigose para Hemoglobina S, sendo portador de um gene de hemoglobina normal (HbA) e um gene com a mutação falciforme (HbS), formando o genótipo HbAS. O indivíduo HbAS é assintomático.⁽¹⁰⁾

A Anemia Falciforme (AF) possui a manifestação mais grave da DF. O indivíduo possui homozigose para a Hemoglobina S, com dois genes da hemoglobina falciforme, formando o genótipo HbSS. Na AF, o paciente apresenta complicações e sintomas característicos da doença.⁽¹⁰⁾

Principais manifestações clínicas da Anemia Falciforme

Processos inflamatórios

Os processos inflamatórios da AF estão inter-relacionados e ocorrem de forma concomitante. O mecanismo primário desses processos é a vaso-oclusão, fenômeno causado pela adesão das hemácias falciformes e de leucócitos no endotélio vascular, responsável pela obstrução na circulação sanguínea nos microcapilares. A obstrução no sistema vascular pode causar hipóxia e infarto tecidual.^(11,12)

A forma crônica da doença é caracterizada pela inflamação recorrente no processo de vaso-oclusão; pelo aumento da viscosidade sanguínea, que diminui o fluxo e, conseqüentemente, diminui a oxigenação do sangue; pelo aumento de lesões teciduais; pelo aumento no número de hemácias falcizadas em baixas concentrações de oxigênio; e pelo aumento da fagocitose desses eritrócitos.⁽¹¹⁾

O quadro de anemia ocorre quando há diminuição no número de hemácias circulantes no sangue. As hemácias falciformes do indivíduo que tem AF são hemolisadas constantemente, diminuindo a concentração sanguínea de hemoglobina. As reduções rápidas na concentração de hemoglobina dão origem às crises aplásticas.^(2,11)

A grande quantidade de hemólise na AF causa o sequestro esplênico, que aumenta o volume do baço e agrava o quadro de anemia e hipovolemia. A autoesplenectomia ocorre quando o sequestro esplênico das hemácias é recorrente, tornando-o fibrótico e calcificado.^(2,6)

Processos infecciosos

Os pacientes de AF possuem maior propensão a infecções causadas por micro-organismos no trato respiratório, como pneumonia, meningite, otite média, entre outras.⁽¹³⁾

Os pacientes de AF também podem apresentar: síndrome torácica aguda, episódios de crise de dor, priapismo, úlceras de perna e insuficiência múltipla dos órgãos.^(14,15)

TRATAMENTO

Ainda não existe tratamento específico para a doença, porém alguns procedimentos preventivos ou paliativos são adotados para minimizar seus efeitos, tais como: fármacos como a 5-azicitidina utilizam-se de moléculas covalentes (isocianatos e clofibrato), suplementação com arginina, fito medicamentos, transfusões sanguíneas regulares, medicamentos quelantes de ferro, introdução da hidroxiureia. Os pacientes acometidos pela anemia falciforme apresentam susceptibilidade às infecções, sendo as-

sim importante a vacinação desses contra as principais patologias.^(2,16)

Exames laboratoriais para o diagnóstico da Doença Falciforme

O hemograma é o primeiro passo do diagnóstico laboratorial, pois é possível visualizar as hemácias falciformes presentes através do esfregaço sanguíneo, o número de leucócitos elevado. A heterozigose de HbS-Beta-Talassemia apresenta VCM e CHCM baixos devido à diminuição nos níveis de hemoglobinas em razão da fagocitação eritrocitária das células falciformes.⁽¹⁷⁾

O teste de falcização consiste em observar a presença de drepanócitos (células em foice) durante a leitura. É um exame para pré-diagnóstico, pois há muitas variáveis que podem interferir no resultado (falsos positivos e falsos negativos); dentre elas, a execução correta da técnica, a experiência na interpretação dos resultados, conservação do reagente, etc.⁽¹⁸⁾

O teste de solubilidade consiste em avaliar a solubilidade da hemoglobina. A HbS é insolúvel e neste teste é visualizada através da opacidade que confere ao filtro de papel. Este exame não é recomendado para neonatos, pois pode apresentar um falso negativo.⁽¹⁹⁾

A eletroforese alcalina em acetato de celulose diferencia as hemoglobinas A (hemoglobina de cadeia alfanormal) e hemoglobinas F (fetais), e as variantes HbS e HbC. Entretanto, como as HbS aparecem na mesma posição (banda) do gel eletroforético que as outras hemoglobinas, faz-se necessária a realização da eletroforese ácida em ágar citrato ou agarose para confirmação do resultado.⁽²⁰⁾

A eletroforese ácida em ágar citrato ou agarose confirma a presença das hemoglobinas HbA, HbF, HbC e HbS, servindo, portanto, como diagnóstico confirmatório para doença falciforme quando apresenta HbS positivo no exame.⁽¹⁹⁾

A Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) é feita pelo sistema automatizado Variant (Bio-Rad), onde ocorre a detecção de anomalias hemoglobínicas, além da quantificação e triagem de variantes. É um teste quantitativo, que permite o diagnóstico das hemoglobinopatias, como a doença falciforme, de forma rápida e precisa.⁽¹⁹⁾

A focalização isoelétrica utiliza um sistema de alta voltagem automatizado que permite a separação nítida das bandas de hemoglobinas, identificando-as precisamente quantitativa e qualitativamente, permitindo um diagnóstico preciso e concreto das hemoglobinopatias.⁽²¹⁾

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hemograma completo fornece, através da observação no microscópio óptico, a possibilidade de visualizar

a drepanocitose eritrocitária (aumento de hemácias falcizadas) presente no sangue total, que é característica da AF.⁽¹⁷⁾

O aparelho automatizado de hemograma fornece informações complementares por meio dos índices hematimétricos e da contagem leucocitária, que são importantes na evolução da doença. A anemia falciforme é considerada grave quando o RDW (índice relacionado ao tamanho eritrocitário) está acima de 19%, apesar de apresentar CHCM (concentração de hemoglobina na hemácia) normal. A presença de leucocitose (aumento leucocitário) indica aumento de hemólises, processo pelo qual os monócitos destroem as hemácias através da fagocitação.⁽¹⁸⁾

A contagem de reticulócitos pode ser feita manualmente através da microscopia ótica ou por aparelho automatizado. Na AF, o aumento dos reticulócitos indica atividade proliferativa compensatória da medula óssea frente ao aumento de hemólise.⁽²²⁾

Os testes de falcização e de solubilidade são feitos através de lâmina e lamínula, onde se aplicam substâncias redutoras de oxigênio na amostra de sangue contida na lâmina e coloca-se sobre ela uma lamínula. Essas substâncias ocasionam o processo de falcização que contribuem no aumento da viscosidade sanguínea (baixa solubilidade). Porém, esses testes são inadequados para o recém-nascido, pois os níveis de HbS são menores que os níveis de HbF (hemoglobina fetal), levando a resultados falso-negativos.⁽²³⁾

Após a realização dos exames de triagem, recomenda-se a realização de testes confirmatórios por meio da detecção de HbS e suas associações nos exames de eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose (eletroforese alcalina), eletroforese de hemoglobina em agarose (eletroforese ácida) e dosagem de hemoglobina fetal (HbF). Estes exames são feitos por grandes centros laboratoriais especializados em biologia molecular.

Atualmente utilizam-se métodos confirmatórios mais modernos como a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) e a Focalização isoelétrica por serem métodos mais precisos e eficazes.⁽²⁰⁾

A triagem de doença falciforme em neonatos inclui o teste do "pezinho" (teste de solubilidade) e a eletroforese de hemoglobina, sendo esta atualmente substituída pelos exames de focalização isoelétrica e pela HPLC.⁽²⁴⁾

Pelos resultados laboratoriais, o profissional médico poderá avaliar a necessidade de exames moleculares confirmatórios e do acompanhamento clínico ao portador da doença falciforme.

Os exames de triagem fornecem subsídios para o norteamiento do pensamento clínico, porém, são nos exames eletroforéticos que ocorre a confirmação diagnóstica. O estudo sugere que o exame padrão-ouro para definição

diagnóstica da AF continua sendo a eletroforese de hemoglobina.

Abstract

Sickle cell anemia is a hemolytic disease of autosomal recessive character present in individuals homozygous for Hb (hemoglobin S) caused by a mutation at position 6 of N-terminus - terminus of chromosome 11, with the substitution of a glutamic acid for valine. The HbSS is responsible for the polymerization of erythrocytes in hypoxia conditions, when they assume sickle cell shape; causing hemolysis. The disease contributes to the processes of vaso-occlusion, coagulation increase, tissue injury, inflammatory and infectious processes, being more critical in children under six years old due to self-splenectomy and susceptibility to infections. Sickle cell disease has preventive measures that can be taken by the patient under medical supervision. The objective of the study was to establish the main media used for the laboratory diagnosis of sickle cell anemia based on literature review research in journals and scientific papers, birem database, lilac, etc. It was observed that laboratorial tests help the clinician, from CBC with reticulocytes count, to more sophisticated tests as osmotic resistance in sodium chloride solution 0.36 %, alkaline pH electrophoresis on cellulose acetate, among others. The diagnostic confirmation occurs in the electrophoretic exams, which the gold standard laboratorial confirmation test is the hemoglobin electrophoresis.

Keywords

Hemoglobin SC disease; Anemia, Sickle cell; Anemia, Hemolytic; diagnosis

REFERÊNCIAS

- Santos JL, Chin, MC. Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. Rev. Quím. Nova. (São Paulo). 2012;35(4): 783-90.
- Brunetta DM, Clé DV, Haes TM, Roriz-Filho JS, Moriguti JC. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. Rev. Medicina (Ribeirão Preto) 2010;43(3):231-7.
- Giovelli LL, Danieli K, Bortolotto AN, Mastella AK, Prior MP, Castro SM, et al. Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue. J Bras Patol Med Lab. 2011 Apr;47(2):137-40.
- Holsbach DR, Salazar EAVM, Ivo ML, Araujo OMR de, Sakamoto TM. Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007. Acta Paul Enferm 2010;23(1):119-24.
- Silva-Pinto AC, Ladeira SO, Brunetta DM, De Santis GC, Angulo IL, Covas DT Sickle cell disease and pregnancy: analysis of 34 patients followed at the Regional Blood Center of Ribeirão Preto, Brazil. Rev. bras. hematol. hemoter. [Internet]. 2014 Oct [cited 2017 Feb 01]; 36(5):329-33.
- Jesus JA de. Doença falciforme no Brasil. Gaz. Méd. Bahia. 2010 Ago-Out;80(3):8-9.
- Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007;29(3):204-6.
- Valêncio LFS, Domingos CRB. O processo de consentimento livre e esclarecido nas pesquisas em doença falciforme. Rev Bioét. [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Feb 01]; 24(3): 469-477.
- Furtado AN, Motta J, Santos MDD. Estudo do perfil dos pacientes portadores de Síndromes Falciformes acompanhados no Serviço de Hematologia do Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES). Rev. Bras. Pesq. Saúde. Vitória. 2014 Out-Dez;16(4):105-12.
- Carvalho SC, Carvalho LC, Fernandes JG, Santos MJS. Em busca da equidade no sistema de saúde brasileiro: o caso da doença falciforme. Saude soc. [Internet]. 2014 June [cited 2017 Feb 01];23(2):711-8.
- Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007 Sep;29(3):207-14.
- Santos JL dos, Chin CM. Anemia Falciforme: Desafios e avanços na busca de novos fármacos. Química Nova. 2012;35(4):783-90.
- Hirst C, Owusu-Ofori S. Prophylactic antibiotics for preventing pneumococcal infection in children with sickle cell disease. Cochrane Database Syst Rev. 2014 Nov 6;11 (CD003427)
- Steinberg MH. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. Scientific World Journal. 2008 Dec 25;8:1295-324.
- Lottenberg R, Hassell KL. An evidence-based approach to the treatment of adults with sickle cell disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2005;58-65.
- Wagner SC, Silvestri MC, Bittar CM, Friedrichs JR, Silla LNR. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(1):37-42.
- Nogueira KDA et al. Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. Rev. cient. ITPAC. (Araguaína). 2013 Out; 6(4), pub 2:5p.
- Prudencio BCAB, Covas DT, Bonini-Domingos CR. Comparação de metodologia utilizada para a detecção de Hemoglobina S (Hb S) em doadores de sangue. Rev. bras. hematol. hemoter. 2000;Aug; 22(2): 99-109.
- Zanatta T; Manfredini V. Comparação entre métodos laboratoriais de diagnóstico de Doenças Falciformes. Newslab. 2009; 94: 180-194.
- Duarte BG. Métodos de diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. In: Anais do Conic-Semesp; 2014; São Paulo, SP-Brasil. 2: 11p.
- Bertholo LC, Moreira HW. Focalização isoeétrica na identificação das hemoglobinas. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2006 June;42(3): 163-8.
- Arai M et al. Reticulocitograma em pacientes com anemia falciforme e hemoglobinopatia SC. Publ. UEPG Biol. Health Sci. (P. Grossa). 2011 jan/jun;17(1): 53-8.
- Monteiro ACB et al. Anemia falciforme, uma doença caracterizada pela alteração no formato das hemácias. Rev. eletr. Saúde em foco/ UNISEPE. (Amparo). 2015;07:107-18.
- Figueiredo AKB de, et al. Anemia falciforme: abordagem diagnóstica laboratorial. Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança. 2014 jun;12(1): 96-103.

Correspondência

Renata Araujo de Almeida

Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500 – Jd. Universitário
13607-339 – Araras, SP

O impacto da fase pré-analítica na qualidade dos esfregaços cervicovaginais

The impact of the pre-analytical phase on the cervical smears quality

Gislaine Paes Ferreira Silva¹

Priscila Cardoso Cristovam²

Daniela Bergamo Vidotti³

Resumo

O estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica no que refere à qualidade dos esfregaços cervicovaginais, nas etapas de fixação e coloração realizadas por técnicas citológicas convencionais. O exame citopatológico tem como base uma metodologia de diagnóstico e prevenção para a detecção do câncer do colo de útero e suas lesões precursoras; porém, sua vulnerabilidade a erros nas etapas de fixação, coloração e montagem do esfregaço pode induzir significativamente a reprodutibilidade dos observadores, levando a um diagnóstico errôneo. Portanto, é necessário que se desenvolva uma intensa atividade no controle de qualidade em todo processo, incluindo a fase pré-analítica, para se obter maior segurança nos resultados dos exames citológicos convencionais.

Palavras-chave

Esfregaço vaginal; Controle de qualidade; Detecção precoce de câncer; Prevenção de câncer de colo uterino; Displasia do colo uterino

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é um importante problema de saúde pública. Segundo os últimos dados do Instituto Nacional do Câncer, estima-se que no ano de 2014 serão registrados 15.590 casos novos de câncer do colo de útero no Brasil, com um risco estipulado de 15,33 casos a cada 100 mil mulheres. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), quando é realizado o rastreamento adequado com, no mínimo, 80% de cobertura, e realizado dentro dos padrões de qualidade, é possível diminuir em média de 60% a 90% a ocorrência do câncer cervical invasivo.^(1,2)

Para o seu rastreamento, o exame citológico proposto por Papanicolaou (1941) baseia-se em uma metodologia de diagnóstico presuntivo e preventivo para a detecção do câncer do colo de útero e suas lesões precursoras. Como é um procedimento totalmente manual, desde a coleta do material até a liberação do resultado pelo laboratório, sua vulnerabilidade a erros é considerável e pode interferir na acurácia do diagnóstico. Deste modo, as etapas que compreendem a coleta, fixação, coloração do esfregaço, montagem da lâmina e a subjetividade na interpretação dos re-

sultados são fatores que podem comprometer drasticamente a sensibilidade do exame.⁽³⁻⁵⁾

No Brasil, o Ministério da Saúde,⁽⁶⁾ na tentativa de aumentar a eficácia do rastreamento e diagnóstico do câncer do colo útero, tem implantado sistemas de controle de qualidade interno e externo nos laboratórios que realizam exames para o Sistema Único de Saúde (SUS), os quais visam garantir a organização e a integridade de qualidade do serviço prestado. Na fase pré-analítica, são avaliados os procedimentos técnicos relacionados à qualidade de confecção do esfregaço, fixação, coloração e montagem. Estas etapas de execução podem influenciar significativamente, na qualidade do laudo e na produtividade entre os observadores.^(7,8)

Assim, a conscientização dos profissionais envolvidos e o conhecimento de cada etapa da fase pré-analítica, como ação dos fixadores, dos corantes, manipulação, armazenamento adequado, a estabilidade dos reagentes, além dos procedimentos de montagem adequada, são de grande relevância para garantir uma melhor confiabilidade dos resultados citológicos.⁽⁵⁾ Perante estes dados, este estudo tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica no que refere à qualidade das etapas de fixação e coloração dos esfregaços cervicovaginais realizados por técnicas

¹Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

²Ph.D. Universidade Federal de São Paulo (pós-doutoranda) – São Paulo, SP, Brasil.

³Ph.D. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

Instituição: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas – FMU – São Paulo, SP, Brasil.

Artigo recebido em 02/02/2016

Artigo aprovado em 14/03/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600470

citológicas convencionais. A escolha desse método visa o embasamento científico que permite, por meio de pesquisas já realizadas, tendo como parâmetro a visão de alguns autores, proporcionar uma melhor compreensão do tema de interesse.

FASE PRÉ-ANALÍTICA: FATORES QUE COMPROMETEM O DIAGNÓSTICO

A fase pré-analítica consiste em conjunto de ações que visam garantir representatividade e adequabilidade da amostra. Devem-se adotar critérios padronizados de controle interno da qualidade que contemplem o registro do material recebido, a fixação, a coloração e a montagem das lâminas.^(9,10)

Segundo recomendações do Ministro da Saúde,⁽¹¹⁾ com base nos critérios de qualidade para boa visualização do exame de citologia convencional, o material coletado deve ser espalhado sobre a lâmina de modo uniforme, fixado imediatamente após a coleta e posteriormente transportado ao laboratório em suporte plástico de lâmina devidamente identificada. As lâminas devem permanecer íntegras e acondicionadas adequadamente, devem acompanhar a requisição preenchida do médico solicitante, e, em seguida, submetidas à coloração pelo método de Papanicolaou, tradicional ou modificado.^(12,13)

Para melhor compreensão sobre fatores que comprometem o diagnóstico na fase pré-analítica e de acordo com o objetivo deste artigo, as etapas foram descritas em Fixação dos esfregaços, Coloração e Montagem das lâminas citológicas cervicais.

FIXAÇÃO DOS ESFREGAÇOS CITOLÓGICOS CERVICAIS E FIXADORES

Após a obtenção da amostra, ocorre o procedimento de fixação, que é uma etapa importante e essencial para a realização de todos os passos subsequentes, imprescindíveis à qualidade do exame citológico.^(14,15) O fixador utilizado reage com diferentes componentes celulares promovendo a estabilidade molecular de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídios entre outros. O fixador reage com diferentes componentes celulares promovendo a estabilidade molecular de proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídios, entre outros, prevenindo a autólise ou a degradação das estruturas celulares, conservando os detalhes, além de evitar o dessecamento que deforma as células e altera as afinidades tintoriais.^(16,17)

Os métodos de fixação são divididos em três categorias: fixação úmida, fixação úmida com secagem ao ar e fixação por nebulização ou cobertura do esfregaço.

O método de fixação úmida é composto de etanol a 96%. Esta substância age como agente coagulante, pene-

trando na célula, desidratando-a e intensificando a diferenciação nuclear após a coloração. Os esfregaços fixados por esse método poderão permanecer por uma semana ou mais quando acondicionados individualmente em seus respectivos tubetes devidamente fechados.^(18,19) As principais vantagens do etanol como fixador, comparado com outros métodos, baseiam-se na sua elevada velocidade de difusão e na capacidade de preservar as estruturas celulares. Por outro lado, o etanol provoca uma retratação significativa do citoplasma e perde rapidamente as suas atividades celulares.^(18,20)

Já na fixação úmida com secagem no ar, é importante que os esfregaços fiquem totalmente imersos em álcool pelo menos por trinta minutos, evitando-se ao máximo a evaporação. Após este período, o álcool é desprezado e o material pode ser enviado ao laboratório.⁽²¹⁾ A desvantagem deste método é que o esfregaço citológico, após fixado pelo álcool, é secado ao ar, podendo ocorrer possível edema nuclear à distorção, com perda de detalhes cromáticos, e o citoplasma pode não ser corado adequadamente.⁽²²⁾

No caso dos fixadores em spray, os mais utilizados são os compostos por polietilenoglicol (Carbowax) e álcool a 95%. Recomenda-se que a pulverização do aerosol sobre o esfregaço celular deva ocorrer a uma distância entre 15 cm a 25 cm, evitando o espalhamento do esfregaço.^(14,22) De acordo com Manrique,⁽¹⁹⁾ quando ocorre algum problema na etapa de fixação celular, por exemplo, um longo tempo entre a coleta e a fixação, a coloração poderá ficar comprometida, alterando a afinidade celular pelos corantes usados na técnica de Papanicolaou, levando a mudanças citoplasmática e nucleares.

Posteriormente, os esfregaços citopatológicos fixados em álcool seguem para a bateria de coloração, sendo que os esfregaços fixados pelo método de cobertura devem ser submetidos a banhos de álcool a 96% (pelo menos duas cubas, no mínimo 15 minutos cada) antes da coloração, para eliminar a película de cobertura. Essa película inibe a penetração apropriada da coloração, especialmente da hematoxilina.^(13,21)

Coloração de Papanicolaou

A técnica de coloração de Papanicolaou consiste em uma sequência de etapas que utiliza um conjunto de corantes com a finalidade de evidenciar a morfologia e os diferentes graus de maturação celular. Sua descoberta foi por meio de estudos iniciados pelo Dr. George Nicolau em 1917, após analisar alterações celulares das regiões da cérvix e vagina, além de alterações apresentadas nas diferentes fases do ciclo menstrual. Depois de vários estudos, o exame preventivo passou a ser utilizado na década de 40, recebendo a denominação de exame de Papanicolaou, devido ao sis-

tema de coloração utilizado.^(23,24) É um método que se baseia em sequência de ações de um corante básico, a Hematoxilina de Harris; um corante ácido, o Orange G e corante policromático EA-65, que oferece tonalidades de cores diferentes no citoplasma das células.⁽²²⁾

A hematoxilina é o primeiro corante utilizado, reage com os ácidos nucleicos, confere ao núcleo uma coloração azulada. A coloração final do corante pode ser alterada pela mistura com outros agentes, tais como alúmen de ferro (preto), alúmen de potássio (azul) e os sais de estanho (vermelho).⁽²⁵⁾ Posteriormente, os esfregaços são corados por uma solução ácida de Orange G, que apresenta afinidade por componentes básicos do citoplasma, com capacidade de penetrar nas células queratinizadas ou precursores de queratina, evidenciando também os grânulos de querato-hialina das células superficiais, corando-os de laranja intenso e brilhante. O segundo componente do corante policromático EA-36 é a eosina Y (eosina *yellowish*, eosina solúvel e eosina amarelada), o qual cora o citoplasma celular de rosa pela ação da eosina Y através de verde brilhante.^(22,26)

Os tempos de imersão da lâmina nos diversos álcoois são calculados em segundos e podem ser substituídos por 10 a 12 imersões, porém o tempo na coloração poderá ser modificado conforme o procedimento operacional padrão do laboratório. Dependendo do tempo pode influenciar na coloração do núcleo, e, conseqüentemente, o núcleo pode corar fracamente ou fortemente, tornando-se pálido ou hiper cromático, o mesmo ocorrendo com os corantes Orange G e EA - 36, tornando o citoplasma da célula pálido, sem coloração diferencial do citoplasma.

O controle de qualidade dos corantes utilizados na bateria de coloração deve ser acessado diariamente por meio da análise microscópica. Assim, uma amostra de raspado bucal deve ser submetida ao protocolo de coloração para verificar o tempo e a qualidade dos corantes, e, então, o observador analisará quanto à intensidade de coloração nuclear, o contraste entre a coloração, entre a coloração citoplasmática eosinofílica e cianofílica, a definição da cromatina nuclear, a qualidade de desidratação da lâmina e clareza. Dessa forma, após aprovação da coloração, segue com coloração das amostras biológicas.^(5,21) Se necessário, medidas corretivas devem ser implementadas imediatamente. Recomenda-se o registro por escrito dessas atividades para o monitoramento e manutenção da qualidade técnica das lâminas.⁽¹³⁾

A qualidade da coloração citológica depende da qualidade da preservação celular e fixação do espécime, o manejo no preparo, armazenamento, estabilidade dos corantes e seguimentos do protocolo de coloração. No momento em que se passa para o procedimento de coloração da lâmina, o profissional deverá dar ênfase à necessidade da utilização de soluções filtradas e trocadas adequadamen-

te no decorrer do processo, evitando dessa forma a contaminação cruzada dos esfregaços com células flutuantes.^(27,28) Entretanto, dependendo do número de lâminas processadas, as trocas dos corantes ocorrem em periodicidade variada, enquanto que os álcoois são trocados em cada dez berços rodados.

A hematoxilina, quando estocada em ótimas condições de conservação, permanece sem precipitados por sete meses.⁽²⁹⁾ Em consonância a este achado, o Instituto Nacional de Câncer (INCA)⁽¹³⁾ demonstrou, em um estudo elaborado em 2012, que os corantes devem ser armazenados em sua embalagem original quando comparados prontos, bem fechados, à temperatura ambiente, pois podem precipitar quando submetidos às baixas temperaturas. Enquanto os corantes são preparados no próprio laboratório, as soluções devem ser guardadas em recipientes escuros, em locais protegidos de luz e calor. Permanecem estáveis até a data de vencimento e sob as condições de estocagem indicadas no rótulo do frasco. A solução de hematoxilina é aquosa. Os demais corantes, OG-6 e EA-36, são soluções alcoólicas e devem ser mantidos tanto nos frascos como nas cubas de coloração, permanentemente tampados, para evitar evaporação do álcool, além de serem armazenados em recipientes escuros, em locais protegidos de luz e calor.⁽³⁰⁾

O exame de Papanicolaou convencional é extensamente conhecido como ferramenta de grande sucesso na triagem para prevenção diagnóstica de câncer do colo de útero, porém, são sugeridas limitações por razões técnicas. Existem vários fatores que podem causar alterações nas reações dos corantes, alguns relativos à própria amostra, como o pH da secreção, e outros relativos à técnica empregada. Fatores técnicos, como espessura do material e excesso de material fora dos limites de análise da lâmina contribuem significativamente para um diagnóstico errôneo.^(12,30)

O principal problema dos laboratórios de citopatologia é manter adequabilidade da amostra cervicovaginal após a coleta, por meio da fixação, sendo que a falha na fixação torna o esfregaço dessecado, uma vez a fixação incorreta da lâmina prejudica consideravelmente o trabalho do escrutinador.⁽¹⁷⁾

Também deve-se salientar que, em muitos casos, resultados falsos negativos são emitidos por causa da má qualidade da coloração do esfregaço, ou, até mesmo, a não identificação das células anormais que se localizam fora da área da lamínula. Amaral⁽³¹⁾ cita que, dos 10.951 esfregaços analisados, 252 apresentavam fatores interferentes, sendo que 83,9% estavam com dessecação, o que os tornou insatisfatórios para análise. Resultados semelhantes foram apresentados por Silva,⁽³²⁾ que relatou que, do total de 3.149 esfregaços analisados, 20,92% apresentaram dessecação, o que limitou parcialmente a análise, e 88,60% dos

esfregaços dessecados comprometeram a qualidade das amostras, tornando-as insatisfatórias para análise e impossibilitando a liberação do laudo. Desta forma, estes erros pré-analíticos geram transtornos para a paciente, que terá que se submeter a nova coleta, e custos maiores para os laboratórios.⁽⁹⁾

Estudo realizado no Instituto Adolfo Lutz⁽³³⁾ em parceria com a Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP), em 2012, revelou aumento de 11,9% e 17,7% na adequação dos processos de coloração e fixação, respectivamente, entre o período de 2003 e 2010. Esses dados demonstram que os efeitos das ações corretivas obtiveram pouca melhora nos processos pré-analíticos.

Na etapa da diafanização dos esfregaços, a solução usada deve ser compatível tanto com o álcool como com o meio de montagem, tornando as células transparentes. O xilol (xileno ou dimetilbenzeno) é um líquido incolor, insolúvel em água e apresenta aspectos límpido e odor característico, sendo um solvente amplamente utilizado em laboratórios de citopatologia durante o processamento e confecção de lâminas.⁽³⁴⁾ O primeiro banho com xilol tem a função de remover o álcool, e o segundo banho possibilita o aumento da transparência da preparação citológica, preparando-a para a fase final, a montagem. O uso frequente de xilol em laboratórios de ensino e pesquisa, análises clínicas e patológicas pode causar agravos à saúde dos trabalhadores expostos.⁽³⁴⁾

Dergovics et al.⁽³⁵⁾ avaliaram a eficiência da utilização da mistura verniz/xilol em concentração diferente para imersão das lâminas citológicas prontas de raspado bucal e cervicovaginais, para montagem após coloração em Papanicolaou. Esse estudo mostrou bom desempenho na montagem das lâminas, sem imersão em cubas de xilol, utilizando-se para secagem com lamínula a solução verniz/xilol na concentração de 75/25%, que demonstrou ser eficaz na qualidade das amostras, na rápida secagem, facilidade na limpeza das lâminas, ausência de artefatos, redução da exposição ocupacional, melhor qualidade de refringência e refração da luz, clareamento das células e definição da coloração, ao contrário das demais concentrações de mistura verniz/xilol (70/30%, 50/50% e 40/60%), que apresentam dificuldade no processo de confecção, como deslizamento da lamínula, presença de bolhas, manipulação e limpeza da lâmina.

Além disso, o xilol, quando contaminado com água, desenvolve uma reação química que lhe dá uma aparência leitosa; as lâminas que estiverem em contato com este xilol hidratado ficarão opacas; para evitar esta perda de qualidade dos esfregaços, estas lâminas devem voltar para as cubas de álcool absoluto.⁽¹³⁾ Contudo, é importante que, durante a limpeza da cuba de xilol, seja utilizado álcool absoluto ou o próprio xilol, evitando a hidratação do mesmo.

Montagem da lâmina citológica

Os esfregaços cervicovaginais corados devem ser montados de forma permanente, utilizando-se um líquido de montagem que permite a ligação entre lâmina e lamínula. O meio de montagem age como um efetivo selador contra o oxigênio, prevenindo o desbotamento do corante. Portanto, a montagem com lamínula é uma técnica obrigatória, possibilita melhor visualização das células, preservação das estruturas contra danificação mecânica, artefatos de secagem ao ar.⁽¹³⁾ Porém, alguns laboratórios citopatológicos têm adotado o verniz como método de montagem por apresentar baixo custo e simplicidade. Por outro lado, sua desvantagem é que, nos processos de remontagem/recoloração, a qualidade do esfregaço é prejudicada, isto é, pode-se obter esfregaço turvo, embaçado e craquelado, impossibilitando a releitura das lâminas.

Além disso, a ausência de lamínula pode promover a perda da coloração celular ao longo do tempo, resultando na diminuição da qualidade durante o período de arquivamento.⁽³³⁾ Para obter-se uma boa qualidade no processo de montagem da lâmina citológica, deve-se evitar excesso de meio de montagem e aparecimento de eventuais bolhas que podem prejudicar a análise citológica. Posteriormente, as lâminas devem ser retiradas com o auxílio de uma pinça, pressionando-a contra a lamínula. Por fim, a lâmina com a lamínula aderida deve cobrir toda a superfície do esfregaço para sua secagem adequada. Portanto, uma lâmina bem preparada é primordial para a análise e, conseqüentemente, para a discussão dos resultados.⁽²⁸⁾

Bálsamo do Canadá é uma resina natural extraída da *Abies balsamea pinaceae*. É um método de montagem demorado na secagem, que pode possibilitar o aparecimento de pigmentos marrons no esfregaço citológico (*cornflakes*), dificultando a análise. Desta forma, demonstra desvantagem em relação ao meio Entellan, sendo este um meio de montagem rápida onde as lâminas secam mais rápidas, possibilitando a estabilidade de espécime para microscopia, além de ser um bom meio para rotinas automatizadas. Considerando sua composição, que contém tolueno, deve ser usado com amostras livres de água que tenham sido transformadas com xilol nas montagens anteriores. Assim, é importante que as lâminas citológicas sequem adequadamente para seguir com a montagem.⁽³⁶⁾ Após essas etapas, as lâminas devem ser encaminhadas para análise.

A citologia convencional é um método de fácil execução, acessível e, apesar das inúmeras limitações já discutidas, ainda tem sido largamente utilizada na prática clínica como ferramenta para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer do colo do útero. Nas últimas décadas, houve uma crescente preocupação mundial das instituições de saúde em promover a melhoria contínua da qualidade da assistência e a garantia da confiabilidade do resultado.⁽³⁷⁾

Havendo o controle de qualidade, é possível o rastreamento das falhas durante todo o processo, o que é fundamental para a detecção e resolução rápida de não conformidades. A maioria das amostras citológicas é processada manualmente. Algumas metodologias que incorporam automação nas etapas de preparo e coloração das amostras vêm sendo desenvolvidas e testadas, contudo, é indispensável o controle manual.⁽⁵⁾

Os laboratórios de citopatologia devem disponibilizar aos seus profissionais manual de procedimento que inclui princípio de procedimento, finalidade, preparo da amostra, de fixação, coloração e montagem. Em caso de rejeição da amostra na fase pré-analítica, uso de fixador inadequado e quantidade insuficiente de fixador, devem-se registrar as condições desfavoráveis, auxiliando, desta forma, na orientação das ações corretivas e na busca da qualidade.⁽⁶⁾ Vale ressaltar que alguns cuidados adotados na rotina previnem o comprometimento da adequabilidade da amostra citológica cervical.

É sabido que a qualidade do esfregaço citológico está diretamente relacionada ao desempenho dos recursos humanos envolvidos. Portanto, é importante a participação desses profissionais em cursos de capacitação, qualificação e em programas de educação permanente, possibilitando o conhecimento dos mecanismos de coloração; confecção do esfregaço; rastreabilidade da amostra por meio de registro diário, garantindo boa qualidade dos exames citológicos cervicais.^(5,38,39)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo tem como objetivo discutir e avaliar vantagem e desvantagem envolvidas na fase pré-analítica para o diagnóstico cervicovaginal. O apontamento de fragilidades do processo e o que pode ser aperfeiçoado para garantir a confiabilidade, segurança e qualidade dos resultados dos exames citológicos constituem tema de relevância para detecção precoce de anormalidades e monitoramento das pacientes.

Abstract

The aim of this study was to making a revision about the cervical smear quality, in the stages of setting and coloration carried through by conventional cytological techniques. The cervical smear test is a method of cervical screening used to detect cervical cancer at its earliest stages and its precursor lesions, however, errors associated with the cervical screening process as smear taking and preparation can induce significantly the reproducibility of the observers leading to a false diagnosis. Therefore, it is very important to develop an intense activity in quality control in the whole process including pre-analytical phase, for greater safety on the results of conventional cytological examinations.

Keywords

Vaginal smears; Quality control; Cervix neoplasms prevention; Uterine cervical dysplasia; Early detection of cancer

REFERÊNCIAS

1. Brasil, Ministério da saúde, Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, il. col.; mapas.p.124, 2014.
2. World health organization. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. 2nd ed. Geneva, 2002. 180 p.
3. Kotaska AJ, Maticic JP. Cervical cleaning improves pap smear quality. CMAJ. 2003 Sep 30;169(7):666-9.
4. Mitchell H, Medley G, Drake M. Quality control measures for cervical cytology laboratories. Acta Cytol. 1988 May-Jun;32(3):288-92.
5. Dergovics FI, Tambascia JC, Etlinger D, Pereira SMM, Namiyama GM. Técnica de coloração de papanicolaou: estratégia no controle de qualidade. Biológico, São Paulo, v.73, n.2, p.19-38, jul./dez., 2011. 2º Fórum de Qualidade em Instituições de Pesquisa. 023. 024
6. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da saúde. Estimativa 2012; incidência de câncer no Brasil. Inca, Rio de Janeiro, 2011.
7. Andriolo A, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina laboratorial. 2014; Coleta e preparo da amostra biológica. Barueri, SP.
8. Pereira SMM, et al. External quality control of cervical cytopathologic and the reflex in the health public laboratory. DSTJ. Bras. Doenças sex. Transm. 2006, 18:172-177. ISSN: 0103-0465.
9. Miller AB, Nazeer S, Fonn S, Brandup-Lukanow A, Rehman R, Cronje H, et al. Report on consensus conference on cervical screening and management. Int J Cancer. 2000 May 1;86(3):440-7.
10. Miraval TML, Moronc C. Manual de procedimentos para diagnóstico em citologia cérvico uterina. 2005.47p.
11. Ministério da Saúde. Prevenção do câncer do colo do útero: manual técnico: laboratórios. Brasília, DF, 2002.
12. Santos MEF, et al. Observação de algumas alterações celulares inflamatórias, pré-malignas e malignas através dos métodos de citologia convencional e citologia de base líquida. 2007 [citado em 05 fev 2014] Disponível em: <http://www.conganat.org/9congreso/index.asp>
13. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Manual de gestão da qualidade para laboratórios de citopatologia. Rio de Janeiro: INCA. 2012.
14. Koss LG, Melamed MR. Diagnostic cytology and its histopathology bases. ed. Philadelphia:JB. 2006.
15. Nowacek JC. Fixation and Tissue Processing, Dako, 2012. [citado em 9 abr 2014]. Disponível: em: <http://www.dako.com/08066>
16. Junqueira CL, Carneiro J. Histologia básica. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. 540p
17. Silva, Heliana de Araujo. Indicadores de qualidade em citopatologia cervical: Importância da coleta, Identificação e fixação do material para o exame de Papanicolaou. 2009. ed 93; 122-131p.
18. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: Fixation of tissues (6th ed). Edinburgh: Churchill Livingstone 2008; 53:71.
19. Manrique EJC, Tavares SBN, Albuquerque ZBP, Guimarães JV, Ázara CZS, Martins MR, et al. Factors that compromise the adequacy of cytological cervical sample. FEMINA Maio 2009;37(5).
20. Jamur MC, Oliver C. Cell fixatives for immunostaining. Methods Mol Biol. 2010;588:55-61.
21. Consolaro MEL, Engler SSM. Citologia Clínica Cérvico-vaginal: texto e atlas. São Paulo: Roca, 2012.
22. Molinaro EM. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 2 - Organização de Etelcia Morais Molinaro, Luiza Fatima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2010.
23. Silva SED, Vasconcelos EV, Santana ME, Rodrigues ILA, Mar DF, Carvalho FL. Esse tal Nicolau: representações sociais de mulheres sobre o exame preventivo do câncer cervico-uterino. Rev Esc. Enferm. USP. 2010, vol.44, n. 3, p. 554-560. ISSN 0080-6234. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342010000300002>.

24. Bondan TFF, Bittencourt MS, Panichi MA, Pinto ÁP. Avaliação da sensibilidade e especificidade dos exames citopatológico e colposcópico em relação ao exame histológico na identificação das lesões intraepiteliais cervicais. *Rev. Assoc. Med. Bras.* [Internet]. 2002 June ; 48(2): 140-144. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302002000200033&lng=en
25. Costa CA, De Brito KN, Gomes MA, Caliarí MV. Histopathological and immunohistochemical study of the hepatic lesion experimentally induced by *Entamoeba dispar*. *Eur J Histochem.* 2010 Aug 26;54(3):e39.
26. Copetti, N. Manual de técnicas citológicas da faculdade de medicina da UFRGS. Porto Alegre: UFRGS 2004; 31p.
27. Alves VAF, Lima MAN, Utagawa ML, Maeda MYS. Programa de controle de qualidade em citologia ginecológica do instituto Adolfo Lutz: estratégias e análise crítica dos resultados de sua implantação piloto. *AMB rev. Assoc. Med. Bras;*37(1):36-42, jan.-mar. 1991.
28. Silveira SO. Orientação para práticas de laboratório. Universidade de Santa Maria 2006; 60 p.
29. Barros JN, Mascaro VLDM, Gomes JÁP, Freitas D, Lima ALH. Citologia de impressão da superfície ocular: técnica de exame e de coloração. *Arq. Bras. Oftalmol.* 2001 Apr 64(2):127-31.
30. Eleutério J. Noções básicas de Citologia Ginecologia 2005; 20-16:21p.
31. Amaral RG, Manrique EJC, Guimarães JV, Sousa PJ, Mignoli JRQ, Xavier AF, Oliveira A. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30(11):556-6.
32. Silva PR, Gouveia DDS, Cardoso AC, Araújo LV, Manrique EJC, Souza NLA, et al. Principais causas que limitam ou tornam as amostras insatisfatórias que podem comprometer a análise dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero. *Rev Eletrônica Farm.* 2005;2(2 Supl):190-3.
33. Instituto Adolfo Lutz – Setor de Citologia Oncótica, Divisão de Patologia - Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo/Fundação Oncocentro de São Paulo. Monitoramento externo de qualidade em citopatologia cervical: avaliação do período de 2000 a 2004. *Rev Saúde Pública* 2007;41 (6):1071. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v41n6/ss2.pdf>
34. Costa KNS, Pinheiro IO, Calazans GTN, Marcia S. Avaliação dos riscos associados ao uso de xilol em laboratório de anatomia patológica e citologia. *Rev. Brás. Saúde ocup.* 2007, vol.32, n.116, p.50-56. ISSN 0303-7657.[citado 21 mar 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0303-76572007000200007>.
35. Dergovics FI, et al. Valuation of performance of solution varnish/xylene in the diaphanization of citopatology slides stained with papanicolaou technique 2012; SP, Brasil RBAC;44(1):35-6.
36. Merck KGaA, Darmstadt, Germany, pls-customerservice (at)merck; 2004. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/is-bin/intershop.enfinity/> . Acesso em 07 mar 2014.
37. Bohomol E. Envolvimento do paciente no gerenciamento de risco hospitalar. In: Feldman LB. Gestão de risco e segurança hospitalar: prevenção de danos ao paciente, notificação, auditoria de risco, aplicabilidade de ferramentas 2008; 1a. ed. São Paulo: Martinari. 327:38p.
38. Amaral RG, et al. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero 2006; RBAC.v.38, n1,3-6p.
39. Vicent SP. Educação permanente: componente estratégico para a implementação da política nacional de atenção oncológica. *Rev Bras Cancerol.* 2007 Jan-Mar; 53(1):79-85

Correspondência

Daniela Berguio Vidotti

Rua Carneiro da Cunha, 1266 Apt.23 – Saúde

04144-001 – São Paulo, SP

Tel: 11-3040-3400

daniela.vidotti@fmu.br

Resultados do eritrograma em crianças com anemias do município de Tupanciretã, RS, Brasil

Results of eritogram in children with anemia in the municipality of Tupanciretã, RS, Brasil

Geovane Barbosa da Silva¹

Mariana Migliorini Paris²

Resumo

Objetivo: Descrever o perfil do eritrograma das anemias diagnosticadas em crianças de 0 a 10 anos em um laboratório de análises clínicas do município de Tupanciretã, RS. **Métodos:** A coleta dos dados foi realizada de forma retrospectiva por meio da seleção dos exames laboratoriais das crianças e obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: exames de crianças de 0 a 10 anos com hemoglobina <11 g/dL e realizados nos anos de 2014 e 2015. **Resultados:** Do total de 730 exames realizados pelo laboratório em crianças de 0 a 10 anos, 16,7% apresentaram hemoglobina <11 g/dL, com idade média de $1,75 \pm 1,13$ anos, sendo 46,7% do sexo masculino. Observou-se maior prevalência de anemias microcíticas hipocrômicas com anisocitose, sugestivas de anemia ferropênica. Não houve diferença estatística significativa nos valores do eritrograma quando estes foram estratificados por diferentes valores de ferritina. **Conclusão:** Neste trabalho foi demonstrado um significativo percentual de crianças com anemia no laboratório estudado. Assim, uma melhor identificação da anemia e de seus fatores relacionados contribui para o planejamento de prevenção, controle e manejo das crianças que são acometidas por esta síndrome.

Palavras-chave

Anemia; Hemoglobina; Criança

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a anemia é caracterizada pela diminuição dos níveis de hemoglobina abaixo de 12 g/dL em adultos e 11 g/dL em crianças.⁽¹⁾ A principal consequência clínica da anemia é um quadro de hipóxia decorrente da redução da concentração de hemoglobina na circulação sanguínea.⁽²⁾

A anemia é um dos distúrbios mais frequentes na infância. Apesar de ser encontrada com maior frequência em países em desenvolvimento, países desenvolvidos também apresentam prevalência significativa em crianças. Vários fatores podem estar envolvidos na patogênese da anemia na infância, como doenças genéticas, infecções e deficiências nutricionais.⁽³⁾

A anemia ferropênica é a principal anemia carencial da infância. Dados epidemiológicos estimam que 20% a 25% das crianças no mundo sejam portadoras de anemia por deficiência de ferro.^(4,5) Atualmente, sabe-se que o desenvolvimento de anemia ferropênica pode estar relacionado às condições socioeconômicas da família da criança, como baixa renda, muitas pessoas dividindo o mesmo lar e

baixa escolaridade dos pais.⁽⁶⁾ A patogênese da anemia ferropênica acontece em três estágios, que contemplam o esgotamento das reservas de ferro armazenadas na ferritina, diminuição da saturação de transferrina, e, finalmente, a anemia refletida por uma redução na hemoglobina com aporte restrito de ferro a eritropoiese.⁽⁷⁾

O fator determinante do desenvolvimento de anemia ferropênica em crianças é a necessidade aumentada de ferro para o desenvolvimento corporal aliado a uma ingestão insuficiente deste mineral. Assim, o período do desmame representa um momento crítico para o desenvolvimento e instalação de anemia ferropênica, pois neste período as crianças deixam o aleitamento materno, rico em ferro, para iniciar uma dieta que nem sempre é adequada nos níveis nutricionais do ferro.⁽⁶⁾

Além disso, apenas a ingestão de ferro não é um bom indicador da sua adequação nutricional, pois vários fatores dietéticos e sistêmicos podem influenciar sua biodisponibilidade e absorção.⁽⁸⁾ Esse fato representa um grave problema na saúde infantil, pois longos períodos de balanço negativo de ferro podem resultar na instalação da anemia ferropênica.⁽⁵⁾

¹Biomédico. Universidade de Cruz Alta – Cruz Alta, RS, Brasil.

²Mestre, Professor Assistente. Universidade de Cruz Alta – Cruz Alta, RS, Brasil.

Instituição: Universidade de Cruz Alta – Cruz Alta, RS, Brasil.

Artigo recebido em 05/01/2017

Artigo aprovado em 07/03/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700558

Independentemente da causa, a ocorrência de anemia em crianças determina grandes prejuízos para seu desenvolvimento motor e cognitivo e para seu aproveitamento escolar.⁽⁹⁾ Além disso, há uma maior susceptibilidade a infecções e redução da força muscular, bem como aumento do esforço cardíaco e redução da capacidade física. Desta forma, a detecção dos fatores de risco é essencial para a implementação de programas para erradicar a anemia na infância, especialmente nos grupos onde a prevalência é maior, como tentativa de diminuir o impacto negativo desta condição patológica na infância.⁽¹⁰⁻¹²⁾

Considerando a importância do impacto da anemia em crianças, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil do eritograma dos casos de anemia em crianças de 0 a 10 anos que foram atendidas em um laboratório de análises clínicas no município de Tupanciretã, noroeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos anos de 2014 e 2015.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos dados foi realizada por meio da seleção dos exames laboratoriais de crianças em um laboratório de análises clínicas no município de Tupanciretã, noroeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A coleta de dados obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: exames de crianças de 0 a 10 anos, hemoglobina <11 g/dL, exames realizados nos anos de 2014 e 2015. Dos exames que contemplaram os critérios de inclusão citadas, foram coletados os seguintes dados: idade, sexo, hemoglobina sérica, hematócrito, contagem de eritrócitos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), amplitude da distribuição dos eritrócitos (RDW) e concentração de ferritina, quando estes dados estavam disponíveis no exame e cadastro do paciente.

A análise dos dados foi realizada no *software* estatístico GraphPad Prism 5. As variáveis categóricas foram expressas em frequência (n) e percentual (%) e variáveis não categóricas foram expressas por média e desvio padrão. A análise de distribuição dos dados foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Comparação entre variáveis quantitativas foram avaliadas pelo Teste T ou por Anova de uma via e as correlações foram avaliadas pelo Teste de Correlação de Pearson. Para todos testes foi considerado um intervalo de confiança de 95% (p<0,05).

Todos os procedimentos referentes a este trabalho foram realizados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde). A execução do estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade de Cruz Alta sob o CAAE 54929716.5.0000.5322 e o número

de parecer 1.536.703. O sigilo em torno da identidade dos pacientes foi resguardado.

RESULTADOS

Durante os anos de 2014 e 2015, o laboratório de análises clínicas em questão realizou 730 exames em crianças de 0 a 10 anos. Deste total, 122 (16,7%) apresentaram eritograma com concentração de hemoglobina inferior a 11 g/dL, sendo consideradas com anemia. Na Tabela 1 pode-se observar as características relativas a idade, sexo, tipo de atendimento e concentração média de hemoglobina, contagem de eritrócitos, hematócrito, HCM, VCM, CHCM e RDW nas crianças com anemia. Na Tabela 2, pode-se observar que não houve variação da concentração de hemoglobina diante das variáveis de idade, sexo e tipo de atendimento das crianças no laboratório.

Tabela 1 - Características gerais das crianças com anemia (n=122)

Variáveis	Valores de referência#	
Idade (anos), média (DP)	1,75 ± 1,13	
Sexo		
Masculino, n (%)	57 (46,7)	
Feminino, n (%)	65 (53,3)	
Tipo de atendimento		
Ambulatorial, n (%)	88 (72,2)	
Hospitalar, n (%)	34 (27,8)	
Hemoglobina sérica (g/dL), média (DP)	9,5 ± 1,15	11 - 13,7
Contagem de eritrócitos (x10 ⁹ /μL), média (DP)	4,6 ± 0,60	4,1 - 5,1
Hematócrito (%), média (DP)	30,0 ± 2,64	33 - 41
VCM (fL), média (DP)	68,7 ± 10,2	74 - 86
HCM (pg), média (DP)	22,7 ± 5,01	24 - 33
CHCM (%), média (DP)	30,4 ± 2,84	31 - 36
RDW (%), média (DP)	18,14 ± 3,28	11,5 - 14,5

DP: Desvio Padrão, n: número de casos, fL: femtolitros, pg:pictogramas, #De acordo com Fallace, 2009⁽¹⁷⁾

Tabela 2 - Níveis de hemoglobina estratificado por idade, sexo e tipo de atendimento das crianças com anemia (n=122)

Variável	Hemoglobina (g/dL), média (DP)	P
Idade		
<12 meses (n=36)	9,56 ± 0,97	
12 a 24 meses (n=41)	9,61 ± 1,1	
>24 meses (n=43)	9,76 ± 1,17	0,952*
Sexo		
Masculino (n=57)	9,5 ± 1,27	
Feminino (n=65)	9,51 ± 1,04	0,981**
Tipo de atendimento		
Ambulatorial (n=88)	9,39 ± 1,17	
Hospitalar (n=34)	9,82 ± 1,01	0,135**

DP: Desvio Padrão, *Anova de uma via, **Teste T

Na Tabela 3, pode-se observar a classificação laboratorial das anemias. Das crianças com anemia analisadas, o tipo de anemia mais frequente foi a microcítica e hipocrômica, sendo que estas crianças apresentaram simultaneamente elevado nível de anisocitose. As anemias microcíticas juntas corresponderam a 69,5% dos casos. Apenas uma criança apresentou anemia macrocítica.

Na Figura 1A observa-se que existe uma correlação positiva significativa ($r^2=0,4108$; $p<0,0001$) entre a concentração de hemoglobina e os valores de VCM quando anali-

sados apenas os casos de anemias microcíticas. Além disso, na Figura 1B, observa-se uma correlação negativa significativa ($r^2=0,5547$, $p<0,001$) entre os valores de RDW e os valores de VCM.

De todos os eritrogramas analisados, apenas 42 possuíam solicitação do exame complementar ferritina. Na Tabela 4, pode-se observar o perfil do eritrograma de crianças com anemia atendidas ambulatoriamente no laboratório de análises clínicas (n=42) de acordo com três faixas de valores séricos de ferritina: valores menores que

Tabela 3 - Classificação laboratorial das anemias nas crianças atendidas (n=122)

	Microcítica Hipocrômica	Microcítica Normocrômica	Normocítica e Normocrômica	Macroscítica	p	Valores de Referência#
n (%)	71 (58,1)	14 (11,4)	39 (31,9)	1 (0,8)		
Hemoglobina (g/dL), média (DP)	8,98 ± 1,22*	10,3 ± 0,82	10,2 ± 0,96	9,1	<0.001	11 - 13,7
VCM (fL), média (DP)	61,3 ± 6,00*	69,2 ± 5,54*	81,4 ± 4,96*	101	<0.001	74 - 86
HCM (pg), media (DP)	20,3 ± 2,69*	28,0 ± 3,78	27,1 ± 1,84	32,5	<0.001	24 - 33
RDW (%), media (DP)	18,49 ± 2,83*	16,1 ± 2,07	15,0 ± 1,72	14,9	<0.001	11,5 - 14,5

VCM: Volume Corpuscular Médio, fL: femtolitros, DP: Desvio Padrão, n: número de casos, *Valores estatisticamente diferentes, anova de uma via seguida de teste Tukey, #De acordo com Failace, 2009 (17)

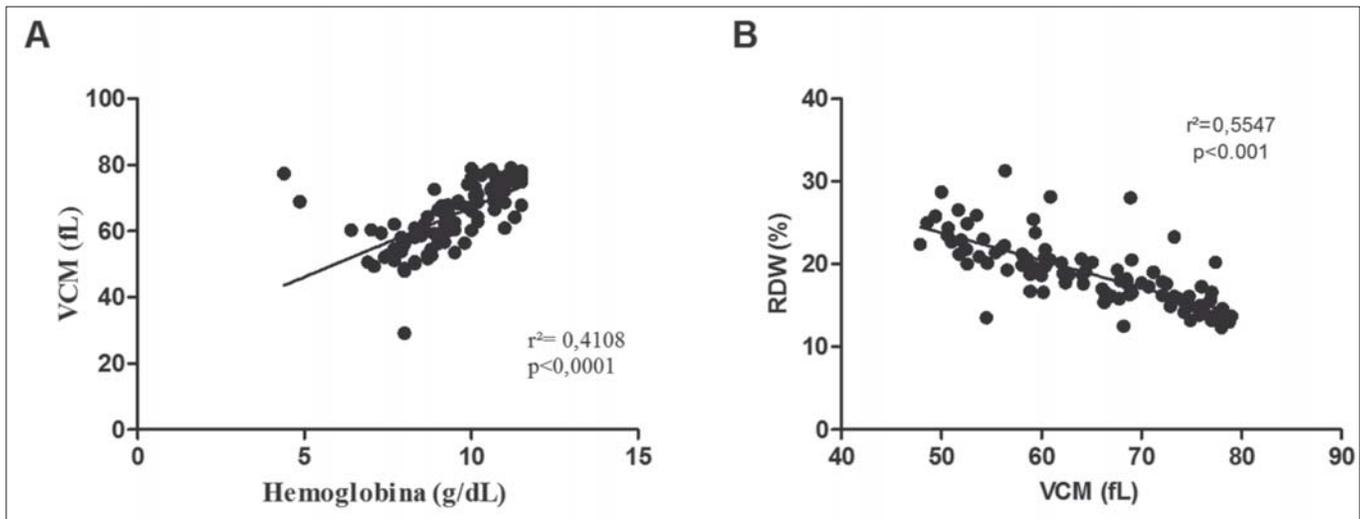


Figura 1. (A) Correlação entre os níveis de hemoglobina e o VCM em crianças com anemia microcítica (n=100) atendidas. (B) Correlação entre os valores de RDW e os valores de VCM em crianças com anemia microcítica (n=100). VCM: Volume corpuscular médio, RDW: amplitude de distribuição dos eritrócitos. fL: femtolitros, g/dL: gramas/decilitro

Tabela 4 - Perfil do eritrograma de acordo com a concentração de ferritina em crianças com anemia (n=42)

	Ferritina < 7 ng/dL	Ferritina >7 e <50 ng/dL	Ferritina > 50 ng/dL	Valores de referência#	p*
N (%)	7 (16,2)	27 (62,7)	8 (18,6)		
Idade (anos), média (DP)	1,14 (0,73)	1,71 (1,2)	1,78 (1,4)		0,7217
Hemoglobina (g/dL), média (DP)	9,24 ± 0,94	9,92 ± 1,2	9,45 ± 1,2	11 - 13,7	0,5658
VCM (fL), média (DP)	65,5 ± 12,3	71,1 ± 6,63	73,66 ± 13,3	74 - 86	0,3644
HCM (pg), média (DP)	20,6 ± 5,26	23,7 ± 3,4	24,1 ± 5,4	24 - 33	0,3343
CHCM (g/dL), média (DP)	31,1 ± 6,8	30,7 ± 3,12	32,3 ± 1,77	31 - 36	0,3178
RDW (%), média (DP)	19,1 ± 3,72	17,2 ± 2,9	18,1 ± 4,03	11,5 - 14,5	0,7296

*Anova de uma via, n: número de casos, DP: desvio padrão, VCM: volume corpuscular médio, HCM: hemoglobina corpuscular média, CHCM: concentração da hemoglobina corpuscular média, RDW: amplitude de distribuição dos eritrócitos, fL: femtolitros, pg: pictogramas, g/dL: gramas/decilitro, #De acordo com Failace, 2009 (17)

7 ng/dL, grupo considerado como abaixo dos valores de referência de ferritina para crianças, valores de ferritina entre 7 e 50 ng/dL e maiores que 50 ng/dL, os quais são considerados valores normais de ferritina para crianças. Apenas 16,2% das crianças tiveram dosagem diminuída de ferritina, ou seja, estavam com depleção de estoque de ferro instalada. Ainda, não houve diferença estatística nos valores do eritrograma entre os três grupos de valores de ferritina.

DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliado o perfil do eritrograma de anemias em crianças de 0 a 10 anos atendidas em um laboratório de análises clínicas do município de Tupanciretã, do noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Foi encontrada uma frequência de 16,7% de anemia nas crianças analisadas, utilizando-se como parâmetro para diagnóstico de anemia a concentração de hemoglobina <11 g/dL. Um estudo conduzido em Brasília com crianças estudantes da 1ª série do ensino fundamental encontrou prevalência de anemia semelhante a este trabalho, 12,5%.⁽¹³⁾ Por outro lado, em um estudo conduzido em crianças de 0 a 5 anos hospitalizadas em Tubarão, a prevalência de anemia encontrada foi de 31,2%.⁽¹⁴⁾

Apesar deste estudo ter considerado crianças de 0 a 10 anos, a média de idade das crianças com anemia foi de $1,75 \pm 1,13$ anos, ou seja, a idade em que as crianças fazem a transição entre o aleitamento materno e a alimentação convencional e estão com um alto índice de proliferação celular e de utilização de ferro para as funções metabólicas. Neste sentido, após o nascimento, a criança utiliza o ferro recebido da mãe durante a gestação para suprir suas necessidades corporais. Subsequentemente, o aleitamento materno possui papel fundamental na manutenção das reservas de ferro do organismo infantil, pois possui capacidade de absorção em torno de 50%, enquanto que o leite de vaca, muitas vezes utilizado para substituir o leite materno, possui absorção de apenas 10% a 20% do ferro, favorecendo a instalação da anemia. A substituição do leite materno por alimentos carentes em ferro também é um fator determinante para o desenvolvimento da anemia.⁽¹⁻⁶⁻⁸⁾

Corroborando estes dados, recente estudo que analisou a ocorrência de anemia em crianças americanas, mostrou a maior prevalência (13,5%) de anemia em crianças de 1 a 2 anos.⁽¹¹⁾ Ainda, uma revisão de estudos conduzidos no Brasil entre 1996 e 2007 reportou uma prevalência de 53% de anemia em crianças com 6 a 59 meses de idade, sendo a prevalência mais alta entre crianças de 24 meses.^(15,16)

A distribuição dos casos de anemia foi semelhante entre crianças do sexo masculino e feminino, no entanto, houve maior frequência de anemia em crianças atendidas

ambulatoriamente. Este resultado pode representar um viés encontrado devido à maior parte dos exames realizados no laboratório ser de origem ambulatorial. Apesar da diferença na frequência de anemia entre os pacientes ambulatoriais e aqueles em internação hospitalar, não houve diferença na média da concentração de hemoglobina entre os dois grupos.

Em relação à classificação laboratorial das anemias, a anemia mais frequente foi a microcítica hipocrômica. A anemia microcítica hipocrômica é uma consequência da deficiência de hemoglobina para formação adequada dos eritrócitos, gerando células de tamanho menor. A deficiência de hemoglobina ocorre principalmente por carências nutricionais (anemia ferropênica) ou por defeitos genéticos associados à produção das cadeias globínicas. Além disso, eventualmente, a anemia da doença crônica pode causar microcitose por prejudicar a disponibilidade de ferro à eritropoiese.^(17,18)

Juntamente com microcitose e hipocromia, foi observado um aumento da anisocitose, características típicas da anemia ferropênica.⁽¹²⁻¹⁴⁾ Estudo conduzido em crianças de 0 a 5 anos em um hospital de Tubarão também revelou uma maior prevalência de anemias microcíticas (55,9%).⁽¹⁴⁾ Em relação às anemias macrocíticas, tanto nosso estudo como o de Carvalho (2010) encontraram uma baixa prevalência, 0,8% e 0,6%, respectivamente. Este dado sugere que, embora a deficiência nutricional do ferro seja determinante na anemia em crianças, a deficiência nutricional da vitamina B12 e ácido fólico não parece ter um papel importante na anemia infantil, visto que a macrocitose não é um achado comum nesta faixa etária.

Além do hemograma, outros exames podem ser realizados na triagem laboratorial das anemias. A dosagem de ferritina é um importante marcador para detecção da queda dos níveis de ferro no organismo, pois é a proteína responsável pelo seu armazenamento e estoque, sendo indispensável em momentos de carência do mineral.⁽¹⁹⁾ Embora seja o exame mais sensível para detectar a depleção dos níveis de ferro no organismo, sendo o primeiro marcador a diminuir na anemia ferropênica, a ferritina pode estar com níveis elevados durante um processo inflamatório ou infeccioso, principalmente sob o estímulo de interleucinas 1 e 6. Desta forma, sugere-se que o metabolismo do ferro seja avaliado através da saturação de ferro.⁽²⁰⁾

Quando foi analisado o perfil do eritrograma estratificado por diferentes valores de ferritina, observou-se que apenas sete (16,2%) das crianças tiveram a dosagem de ferritina abaixo dos valores de referência. Além disso, não houve diferença nos parâmetros do eritrograma entre os grupos com diferentes concentrações de ferritina. Apesar de nenhuma destas crianças com solicitação de ferritina estar hospitalizada, é possível que possam estar com algum mecanismo inflamatório que esteja influenciando a do-

sagem de ferritina. Vários estudos têm sugerido que a ferritina, isoladamente, não é um marcador ideal do metabolismo do ferro, devido às interferências analíticas que pode sofrer. Assim, sugere-se a utilização da ferritina concomitante de outros marcadores, como saturação de ferro, capacidade total de ligação ao ferro, receptores de transferrina, entre outros.⁽²⁰⁾

CONCLUSÃO

Neste trabalho, houve um predomínio de anemias com classificação laboratorial compatível com anemia ferropriva, ou seja, apresentando microcitose, hipocromia e anisocitose. No entanto, poucas crianças mostraram valores de ferritina diminuídos, evidenciando a necessidade de exames como saturação de ferro para avaliar de maneira mais eficaz o perfil férrico. Além disso, a identificação eficiente das anemias e de seus fatores relacionados pode contribuir de maneira efetiva para o planejamento de prevenção, controle e manejo das crianças que são acometidas por esta síndrome. Além disso, a prevenção da anemia ferropriva e da deficiência de ferro deve ser planejada priorizando-se a educação nutricional e condições ambientais satisfatórias.

Abstract

Objective: Describe the erythrogram profile of anemia diagnosed in children aged 0 to 10 years in a clinical laboratory from Tupanciretã, RS. **Methods:** Data collection was carried out retrospectively through the selection of laboratory tests of children followed the inclusion criteria: tests of children aged 0 to 10 years with hemoglobin <11 g/dL and performed in the 2014 and 2015 years. **Results:** Of the 730 tests carried out by the laboratory in children aged 0 to 10 years, 16.7% had hemoglobin <11 g / dL, with an average age of 1.75 ± 1.13 years and 46.7% was male. There was a higher prevalence of hypochromic microcytic anemia with anisocytosis, suggestive of iron deficiency anemia. There was no significant difference in erythrocyte values when they were stratified by different ferritin levels. **Conclusion:** In this work, a significant percentage of children with anemia was demonstrated in the studied laboratory. Thus, a better identification of anemia and its related factors contribute to the planning of prevention, control and management of children who are affected by this syndrome.

Keywords

Anemia; Hemoglobin; Child

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Center for Disease Control and Prevention. de Benoit B, McLean E, Egli I, Cogswell M, editors. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anaemia. Geneva: WHO, 2008.
- Mujica-Coopman MF, Brito A, López de Romaña D, Ríos-Castillo I, Coris H, Olivares M. Prevalence of anemia in latin america and the caribbean. Food and nutrition bulletin. 2015 Jun;36(2):119-28.
- Jain N, Jain VM. Prevalence of anemia in school children. Med Pract Rev. 2012 Feb;3(1):1-4.
- Chang S, Wang L, Wang Y, et al. Iron-deficiency anemia in infancy and social emotional development in preschool-aged Chinese children. Pediatrics. 2011 Apr;127(4):927-33.
- Moraes MB. Deficiência de ferro nas afecções gastrointestinais da criança. Rev. bras. hematol. hemoter. 2010;32:62-9.
- Netto MP, Rocha DS, Franceschini SCC, Lamounier JA. Fatores associados à anemia em lactentes nascidos a termo e sem baixo peso. Rev Assoc Med Bras. 2011 Sep;57(5):550-8.
- Grant FK, Martorell R, Flores-Ayala R. Comparison of indicators of iron deficiency in Kenyan children. adv nutr. 2012;95(5):1231-7.
- Kohli-kumar M. Screening for Anemia in children: AAP recommendations-- A Critique. Pediatrics. 2001;108(3):56.
- Saraiva BC, Soares MC, Santos LC, Pereira SC, Horta PM. Iron deficiency and Anemia are associated with low retinol levels in children aged 1 to 5 years. J pediatr (Rio J). 2014 Nov-Dec. 90(6): 593-9.
- Goswami S, Das KK. Socio-economic and demographic determinants of childhood anemia. J Pediatr (Rio J). 2015 Sep-Oct;91(5):471-7.
- Gupta PM, Perrine CG, Mei Z, Scanlon KS. Iron, Anemia, and Iron Deficiency Anemia among Young Children in the United States. Nutrients. 2016 May;30(6):8.
- Kazal LA Jr. Prevention of iron deficiency in infants and toddlers. Am Fam Physician. 2002;1:66(7):1217-24.
- Heijblom GS, Santos LMP. Anemia ferropriva em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de educação de uma região de Brasília, DF. Rev. Bras. epidemiol. 2007 Jun. 10(2): 258-66.
- Carvalho DC, Grala CG, Heinzen RB, Menegali TT, Baldessar MZ. Prevalência de anemia ferropriva em crianças de 0 a 5 anos internadas no Hospital Nossa Senhora da Conceição, em Tubarão/SC, no período de agosto a dezembro de 2008. Arquivos Catarinenses de Medicina. 2010. 39(3).
- Jordão RE, Bernardi JLD, Filho AB. Prevalência de anemia ferropriva no Brasil: uma revisão sistemática. Rev Paul Pediatr. 2009. 27(1):90-8.
- Vieira RCS, Ferreira HS. Prevalência de anemia em crianças Brasileiras, segundo diferentes cenários epidemiológicos. Rev. Nutr., Campinas. 2010 May- Jun. 23(3):433-444. Scielo ISSN: 1415-5273.
- Failace R. Hemograma - Manual De Interpretação. 5ª edição; Porto Alegre: Artmed, 2009.
- Simbouranga RH, Kamugisha E, Hokororo A, Kidenya BR, Makani J. Prevalence and factors associated with severe anaemia amongst under-five children hospitalized at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania. BMC Hematol. 2015 Oct 12;15:13.
- Matthew WS, Domagalski JE. Iron deficiency anemia: evaluation and management. Am Fam Physician. 2013 Jan 15;87(2):98-104.
- Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. Rev. bras. hematol. hemoter; 2008 Sep- oct. 30(5).
- Corrêa M, Baldessar MZ, Fissmer LEW, Fissmer JFW. Prevalência das anemias em pacientes hospitalizados. Arquivos Catarinenses de Medicina. 2004;33(1): 0004-2773

Correspondência

Mariana Migliorini Parisi

Campus Universitário Dr. Ulysses Guimarães
Rodovia Municipal Jacob Della Múa, km 5.6 - Parada Benito
98005-972 - Caixa Postal 838 - Cruz Alta, RS

Investigação da ocorrência de infecção respiratória aguda causada pelo vírus sincicial respiratório (RSV) pela técnica da PCR

Occurrence investigation of acute respiratory infection caused by respiratory syncytial virus (RSV) using the PCR technique

Fernanda Carolina Pedrosa¹

Resumo

Objetivo: O Vírus Sincicial Respiratório (RSV) é um dos principais agentes virais causadores de infecções graves do trato respiratório em lactentes e crianças. **Métodos:** Investigou-se a ocorrência da infecção respiratória aguda causada pelo RSV em pacientes sintomáticos nos atendimentos de serviço de assistência primária à saúde pública na cidade de Guarapuava, PR. Foram coletadas 144 amostras de secreção nasal dos pacientes incluídos de todas as faixas etárias, entre o ano de 2013 e 2014. **Resultados:** A idade média dos pacientes do estudo foi de 35,17 anos e a mediana de 31 anos, variando com o mínimo de 1 ano e o máximo de 82 anos de idade. **Conclusão:** Foram concluídas as análises de dados dos pacientes e padronizações da metodologia RT-PCR através de cepas controles de RSV. A metodologia RT-PCR padronizada foi aplicada nas amostras, no entanto, não foram detectados casos de infecção respiratória por RSV em pacientes com sintomas respiratórios na cidade de Guarapuava, PR.

Palavras-chave

Vacinas; Vírus Sinciciais Respiratórios; PCR

INTRODUÇÃO

O RSV é considerado um dos principais agentes virais causadores de infecções graves do trato respiratório em lactentes e crianças no mundo todo. A infecção por RSV resulta em vários sintomas, que vão desde gripais comuns até mais graves, como a bronquiolite e pneumonia.⁽¹⁾

A bronquiolite é a complicação clínica mais comum causada pelo RSV e está associada a eventos respiratórios mais graves.⁽²⁾ Pessoas de todas as faixas etárias podem ser infectadas pelo RSV.⁽³⁾

A transmissão por RSV ocorre por contato direto através de secreção respiratória e em aerossóis contaminados.⁽⁴⁾ A transmissão em hospitais pediátricos deve ser controlada, principalmente em crianças com fatores de risco para doença grave.^(5,6) A propagação do vírus é favorecida também em ambientes fechados, como creches ou escolas.^(7,8)

As manifestações clínicas das infecções respiratórias causadas por RSV são dependentes da idade do indivíduo e de uma exposição prévia do vírus.⁽⁹⁾

O vírus sincicial respiratório (RSV) está classificado no gênero *Pneumovirus*, da ordem *Mononegavirales*, da família *Paramyxoviridae* e subfamília *Pneumovirinae*, fita simples, contendo 15.222 nucleotídeos.^(1,10) O RSV tem um genoma viral com 10 genes de RNA mensageiro (mRNA) que codificam 11 proteínas.⁽¹¹⁾ Isolados de RSV são divididos em dois grupos de características antigênicas e genéticas: A e B.⁽¹⁰⁾

A incidência anual global da infecção por RSV em crianças menores de 5 anos foi estimada em 34 milhões de casos por ano, com pelo menos 10% de episódios que representam infecções graves que necessitam de internação hospitalar.⁽¹²⁾

Há aproximadamente 160 mil mortes causadas por RSV no mundo a cada ano, principalmente no mundo em desenvolvimento, onde o acesso aos cuidados de apoio à saúde é limitado.⁽¹³⁾

Estudos mostram que o RSV causa cerca de 33,8 milhões de casos de infecção do trato respiratório inferior e 3,3 milhões desses casos são graves para internações anuais,⁽¹⁴⁾ causando, pelo menos, 66 mil a 199 mil mortes de

¹Farmacêutica. Mestre em ciências farmacêuticas – Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) – Guarapuava, PR, Brasil.

Instituição: Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro) – Guarapuava, PR, Brasil.
Suporte Financeiro: Fundação Araucária

Artigo recebido em 17/05/2016
Artigo aprovado em 05/09/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600509

crianças menores de 5 anos de idade no mundo todo devido a complicações.⁽¹⁴⁾

No Brasil, um estudo de Alvarez et al., com 5.304 crianças menores de 1 ano, mostrou que 113 (2,1%) foram hospitalizadas por BVA. Entre as crianças hospitalizadas por RSV, 2,7% foram internados na unidade de terapia intensiva (UTI), 1,5% necessitaram de assistência de ventilação e 0,2% foram a óbito.⁽¹⁵⁾

Na cidade de São Paulo, um estudo prospectivo de Calegari et al. revelou que 62,7% das crianças hospitalizadas tinham infecção no trato respiratório inferior, dentre os quais 56,4% tinham um vírus como agente etiológico, sendo que o RSV foi identificado em 52,4% dos casos.⁽⁴⁾

Em países de clima temperado, as epidemias RSV ocorrem anualmente nos meses de inverno, e, em climas tropicais, o padrão varia de acordo com a maioria dos locais na literatura. No Brasil, o RSV predomina particularmente nos meses de abril a agosto/setembro de cada ano.⁽¹⁶⁾

A reação em cadeia da polymerase (PCR) tem se tornado um teste muito utilizado, pois proporciona uma elevada sensibilidade e especificidade.⁽¹⁷⁾ A transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polymerase (RT-PCR) apresenta sensibilidade igual ou superior ao da cultura de células, ou ensaios de detecção de antígenos. Com base no método de PCR, a análise molecular e filogenética de vírus isolado pode ser efetuada, permitindo a classificação em grupos e subgrupos.⁽¹⁷⁾ Essa técnica permite a detecção de quantidades mínimas de RNA e a caracterização dos grupos antigênicos do vírus, fornecendo resultados rápidos. Variações na metodologia, como a multiplex RT-PCR, podem detectar e subtipar conjuntamente diferentes vírus em uma mesma amostra clínica coletada de paciente com suspeita de infecção respiratória.⁽¹⁸⁾

Independente do método de escolha, a realização do diagnóstico das infecções causados por RSV é de grande importância na obtenção de dados epidemiológicos, úteis no desenvolvimento de programas de controle de prevenção dessas doenças, além de orientar condutas terapêuticas adequadas para redução no número de prescrições desnecessárias de antibióticos.⁽¹⁹⁾

O objetivo deste estudo foi a padronização e otimização de metodologia molecular para detecção de vírus sincicial respiratório por RT-PCR; detectar a ocorrência de vírus sincicial respiratório em pacientes com sintomas de infecção respiratória aguda na cidade de Guarapuava, Paraná e descrever a apresentação clínica e possíveis fatores de risco dos pacientes com infecção respiratória aguda.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídos no estudo pacientes de todas as faixas etárias atendidos nos serviços de assistência primária à saúde da rede pública, como postos de saúde, no municí-

pio de Guarapuava, Paraná. A inclusão dos indivíduos no estudo ocorreu a partir do contato com pacientes que se dirigiram com sintomas de gripe ou resfriado ao posto de saúde e que concordaram em participar do estudo, sendo entrevistados e coletando amostras de secreção nasal ou nasofaríngea. A coleta das amostras foi realizada durante os anos de 2013 e 2014, havendo a procura de pacientes durante o ano todo pelos pesquisadores. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Unicentro (156852/2013).

Cada paciente incluído no estudo teve uma amostra de secreção nasal coletada através da inserção de um *swab* rayon estéril, cerca de 2 cm a 3 cm, em uma das narinas, fazendo movimentos circulares. Após esse procedimento, as amostras frescas foram acondicionadas em um tubo falcon estéril contendo solução fisiológica a 0,9% e devidamente identificadas. Essas foram transportadas sob refrigeração até o laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Unicentro. Em seguida, essas amostras foram levadas até uma cabine de fluxo e centrifugadas em vórtex, colocadas em microtubos eppendorf de 1 500 µL e armazenadas sob congelamento a -70°C até o momento da extração do ácido nucleico. Amostras de cepas controles de RSV foram cedidas do Laboratório de Virologia Clínica da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp).

A extração foi realizada utilizando-se o Kit comercial "QIAamp viral RNA" (Qiagen GmbH, Alemanha), conforme as instruções do fabricante. Em seguida, o RNA viral extraído foi utilizado nas reações de RT-PCR.

Para cada amostra foi gerado o cDNA (ácido desoxirribonucleico complementar) pela mistura de 10 µL de RNA extraído das amostras respiratórias e 1 µL da solução do iniciador randômico a 200 ng/µL (Random Primer, Invitrogen, EUA), colocado em um microtubo de 200 µL e aquecido a 80°C por dez minutos, com posterior resfriamento a 4°C, por cinco minutos. Logo após, foi adicionado à mistura de reagentes para a transcrição reversa, constituída por água de grau molecular (equipamento MiliQ, Millipore, EUA), MgCl₂ (Invitrogen, EUA), tampão concentrado cinco vezes (250 mM Tris-HCl, pH 8,3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl₂), desoxinucleotídeos trifosfato (dNTPs) dATP, dTTP, dCTP, dGTP, enzima transcriptase reversa "Moloney Murine Leukemia Virus" (MMLV-RT) (Invitrogen, EUA) e inibidor de RNase (Invitrogen, EUA) para obtenção de um volume final de 25 µL. Após a homogeneização, a síntese do cDNA foi realizada em termociclador Multigene TC 9600G (Labnet Laboratory, EUA) a 42°C durante 60 minutos, seguida de 70°C por 15 minutos. Após este procedimento, as amostras foram submetidas a ciclos da PCR para amplificação do vírus sincicial respiratório em microtubos de 200 µL.

Para a detecção do Vírus sincicial respiratório foi realizada a reação de PCR, que utilizou os *primers* que amplificam um fragmento de 838 pares de base utilizando os iniciadores:

RSVAB *forward*: GTCTTACAGCCGTGATTAGG na posição do gene N, RSVAB *reverse*: GGGCTTTCTTTGGTACTTC na posição do gene P, ambos no sentido (5'-3'); o gene N apresenta 1.203 nucleotídeos e o gene P 914 nucleotídeos. Os iniciadores oligonucleotídicos desenhados para amplificar RSV foram colocados nas regiões N e P do genoma, porque essas são altamente conservadas e são regiões do genoma RSV que permitem subtipos de estirpes de RSV para RSV A e tipo B.⁽¹⁸⁾

Foram utilizados, para a reação de amplificação, 5 µL de cDNA e 20 µL da mistura de reagentes, contendo cada reagente devidamente padronizado; dentre eles estão a água de grau molecular (obtida de filtro MiliQ-Millipore, EUA), MgCl₂ (Invitrogen, EUA), tampão para esta reação concentrado dez vezes (200 mM Tris-HCl, pH 8,4, 500 mM KCl), dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), *primers forward* e *reverse*, enzima Taq DNA polymerase recombinante (Invitrogen, EUA), com volume final da reação de 25 µL.

A amplificação foi realizada em termociclador Multi-gene TC 9600 G (Labnet Laboratory, EUA) e as amostras foram submetidas a uma etapa de desnaturação de 95°C por cinco minutos; foram realizados quarenta ciclos de amplificação de repetidas variações de temperatura: 94°C por 30 segundos; 54°C por 45 segundos; e 72°C por um minuto, seguido de uma extensão final de 72°C por sete minutos. Em seguida, o produto desta amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,2%, por uma hora, a 140 volts (V).

Para a detecção do Vírus sincicial respiratório também foi realizada a amplificação através da reação com o PCR SuperMix® (Invitrogen, Brasil), que é um mix de reagente prontos contendo Mg²⁺, dNTPs e Taq DNA polymerase recombinante em concentrações suficientes para permitir a amplificação do vírus durante a PCR.

Para esta reação de amplificação foram utilizados os mesmos *primers* descritos anteriormente, acrescidos de 5 µL de cDNA e 20 µL dos componentes da reação, demonstrado na Tabela 3, contendo água de grau molecular (obtida de filtro MiliQ-Millipore, EUA), PCR SuperMix® (Invitrogen, Brasil), *Primers Forward* e *Reverse*, com volume final da reação de 25 µL.

Após a homogeneização em vórtex, a amplificação foi realizada em termociclador Multigene TC 9600 G (Labnet Laboratory, EUA) e as amostras foram submetidas a uma etapa de desnaturação de 95°C por cinco minutos; foram realizados quarenta ciclos de amplificação de repetidas variações de temperatura: 94°C por trinta segundos; 54°C por 45 segundos; e 72°C por um minuto, seguido de uma extensão final de 72°C por sete minutos. Em seguida, o produto desta amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,2%, por uma hora a 140 volts (V).

Após a amplificação, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,2%, diluído em tam-

pão Tris/borato/EDTA - TBE (Tris 0,089M; ácido bórico 0,0089M; EDTA 0,002M pH 8,0), que continha 0,5 µg/mL de brometo de etídio (Invitrogen, EUA). Um volume de 7,5 µL do produto amplificado foi misturado com 2,5 µL da solução de corante azul de bromofenol, xileno cianol 0,25% e glicerol 0,25% em 30% de água destilada e aplicado a cada espaço correspondente para corrida. Para cada eletroforese foi reservada o primeiro espaço para aplicação do padrão de peso molecular de 100pb a 1 µg/µL que correspondia a 4µL do marcador (DNA Ladder, Invitrogen, EUA) com 2,5 µL da solução de corante azul de bromofenol, xileno cianol 0,25% e glicerol 0,25% em 30% de água destilada.

A corrida em cuba horizontal de eletroforese foi realizada utilizando-se como tampão de corrida TBE 0,5X (Tris 1 M; ácido bórico 0,9 M; EDTA 0,00 M pH 8,4) a uma voltagem de 140 V por sessenta minutos. A análise do gel foi realizada através da visualização em transiluminador de luz ultravioleta Alphamager HP (Protein Simple, EUA) utilizando-se o *software* Alphaview versão 3.4.

Para otimização da técnica de PCR foram utilizadas cepas controles de RSV e controle negativo (água de grau molecular); assim sendo foram realizadas algumas variações nos componentes da reação, por meio de diluições variadas das cepas controles, a fim de melhorar o rendimento da reação com base na intensidade do brilho das bandas após a amplificação do material genético, sem o aparecimento de bandas inespecíficas.

Foram realizados diluições das cepas controles antes da extração de ácido nucleico: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴ para obtenção do parâmetro do limite de detecção. Esta análise foi realizada pela intensidade do brilho das bandas de 838 pares de base, sem a observação de bandas inespecíficas.

Durante a PCR, foram realizadas variações da temperatura de anelamento dos *primers* em termociclador, sendo estas de 52,5°C; 52,9°C; 54°C e 55,1°C. Concentrações de MgCl₂ também foram testadas: 3,0 mM; 3,5 mM e 4,0 mM na diluição de RSV a 10⁻² para RT-PCR. A enzima Taq DNA polimerase foi testada nas concentrações finais de 1 U/µL; 2 U/µL e 3 U/µL com RSV na diluição (10⁻²) na tentativa de melhorar o rendimento na reação.

Os iniciadores *forward*- GTCTTACAGCCGTGATTAGG e *reverse* GGGCTTTCTTTGGTACTTC foram testados para cepas controles de vírus Influenza e Rinovírus cedidas gentilmente pelo laboratório da UNIFESP em São Paulo.

A metodologia RT-PCR utilizando o PCR SuperMix® devidamente padronizada foi aplicada nas amostras respiratórias inclusas nesse estudo para detecção de RSV.

RESULTADOS

Durante o estudo foram coletadas 144 amostras de secreção nasofaríngea de pacientes com sintomas respira-

tórios de todas as faixas etárias de idade, provenientes do serviço de atendimento à saúde pública da cidade de Guarapuava, PR. Levando-se em consideração o gênero dos indivíduos participantes do estudo, pode-se dizer que 35 (24,31%) eram do sexo masculino e 109 (75,69%) do feminino.

A idade média dos pacientes incluídos no estudo foi de 35,17 anos e a mediana de 31 anos, variando com o mínimo de um ano e o máximo de 82 anos de idade. Houve predomínio de pacientes adultos participantes do estudo, de 18 a 59 anos, quando comparado a crianças, jovens e idosos.

O total de amostras incluídas no estudo foi de 144, sendo que 15 foram coletadas de pacientes com sintomas de infecção respiratória atendidos durante o ano de 2013 e 129 durante o ano de 2014. Meses com maior número de amostras coletadas foi agosto, seguido de maio, julho e setembro do ano de 2014.

A média de tempo do início dos sintomas respiratórios apresentados pelos pacientes incluídos no estudo foi de 6,46 dias e a mediana de quatro dias, variando com o mínimo de um dia e o máximo de trinta dias. Sintomas mais característicos da infecção viral aguda nesse estudo foram coriza e tosse.

Os pacientes foram questionados quanto à vacinação contra o vírus Influenza H1N1, H3N2 e Influenza B, considerando o período de um ano prévio à sua inclusão no estudo. Quarenta e seis (31,94%) foram vacinados e 98 (68,06%) pacientes não receberam a vacina para os três tipos do vírus Influenza.

O resultado do limite de detecção para a cepa controle de RSV, onde a maior diluição de RSV detectada foi 10^{-2} . Dentre as diferentes temperaturas testadas para o anelamento dos *primers*, a que apresentou melhor resultado foi à temperatura de 54°C. A concentração de $MgCl_2$ que apresentou maior rendimento a reação foi de 3,5 mM na diluição de RSV (10^{-2}).

A concentração de enzima que apresentou maior rendimento a reação foi a de 1 U/ μ L na diluição de RSV (10^{-2}). O par de *primers* utilizado na padronização da reação de RT-PCR mostrou-se específico para o RSV quando testado frente a cepas controles de outro vírus, levando em consideração que não houve a amplificação de outros vírus nos resultados obtidos por meio de análises em gel de agarose a 1,2% visualizado em transiluminador de luz ultravioleta Alphamager HP (Protein Simple, EUA) utilizando-se o *software* Alphaview versão 3.4.

Por uma questão de praticidade, foi avaliada a possibilidade de se realizar a RT-PCR utilizando-se o kit PCR SuperMix®, que é um mix de reagente prontos contendo Mg^{2+} , dNTPs e Taq DNA polymerase recombinante em concentrações suficientes para permitir a amplificação do vírus durante a PCR.

Houve a padronização do reagente PCR SuperMix® (Invitrogen, Brasil), testando-se diferentes volumes do reagente no produto da transcrição reversa (Life Technologies Corporation, 2010). O volume padronizado do reagente PCR SuperMix® para a detecção da cepa controle de RSV, visualizado em gel de agarose a 1,2%, foi de 10,5 μ L.

No resultado do limite de detecção para a cepa controle de RSV utilizou-se o reagente PCR SuperMix®, onde podemos observar que a maior diluição de RSV detectada nesta reação foi 10^{-2} .

Dentre as diferentes temperaturas testadas para o anelamento dos *primers*, a que resultou em maior eficiência da reação foi à temperatura de 54°C na cepa diluída de RSV a 10^{-2} .

A metodologia RT-PCR utilizando o reagente PCR SuperMix® devidamente padronizada foi aplicada nas amostras respiratórias incluídas no estudo. No entanto, o resultado das 144 amostras desse estudo apresentaram-se negativas para o RSV.

DISCUSSÃO

Existe a necessidade de uma análise sistemática mais ampla do impacto da infecção por RSV tanto em crianças como em adultos. O impacto na saúde de infecção por RSV em crianças está muito melhor documentada do que o impacto sobre os adultos; sendo assim, o presente estudo foi realizado em local de atendimento primário de saúde na comunidade da cidade de Guarapuava, Paraná e resultou em investigação de IRAs predominantemente de pacientes adultos jovens.

Em relação à sazonalidade das IRAs, pode-se observar que os meses nos quais houve um maior número de amostras coletadas foi de abril a setembro nos dois anos avaliados. Estudos mostram que, nas regiões tropicais, as epidemias pelo RSV iniciam no outono e vão até a primavera. No Brasil, o RSV predomina nas estações de outono e inverno, particularmente nos meses de abril a agosto/setembro de cada ano.⁽²⁰⁾ Uma limitação do presente estudo foi a inclusão de pacientes nos meses de abril a setembro somente durante dois anos, visto que um estudo epidemiológico demandaria um tempo maior de coletas e por período de pelo menos três anos.

O tempo de início dos sintomas respiratórios apresentados pelos pacientes incluídos no estudo teve como mediana quatro dias, o que caracteriza, de modo geral, os quadros clínicos, como de infecção aguda, devido ao curto tempo de início dos sintomas,⁽²¹⁾ sendo que os mais frequentes foram a coriza com 138 (95,83%) e tosse com 107 (74,31%). Esses resultados estão de acordo com os estudos de Pecchini et al.,⁽²²⁾ mostrando que os sintomas clínicos predominantes na infecção respiratória de seu estudo foram coriza com 93,2% e tosse com 58,2% dos pacientes.

Nesse estudo foi questionado aos pacientes quanto à vacinação contra o vírus Influenza H1N1, H3N2 e Influenza B, devido a hipótese de que, quando as coberturas vacinais contra a influenza estão adequadas, poderia ocorrer um aumento da circulação de outros vírus de tropismo respiratório. No Brasil, o sistema de vigilância sentinela de quadros respiratórios indicou, além do vírus da influenza A e B (14,7%), uma importante circulação de RSV (26,7%), adenovírus (17%) e parainfluenza (16,3%), entre os anos de 2000 e 2003.⁽²³⁾ Pode-se dizer que a quantidade de pacientes vacinados, 46 (31,94%), é alta, visto que o grupo etário predominante no estudo não é considerado grupo prioritário para vacinação contra os três tipos de vírus Influenza.

Nesse estudo utilizou-se a técnica de RT-PCR, que se tornou amplamente utilizada para tal finalidade pela sua capacidade de detectar pequenas quantidades de cópias de material genético, além de detectar partículas armazenadas por longo período de tempo. Existem estudos que demonstram uma maior capacidade de detecção por RT-PCR para RSV em amostras de secreção nasal. O estudo de Reis et al.⁽¹⁷⁾ mostrou que 316 amostras de secreção nasofaríngea de crianças com até 2 anos de idade foram processadas para detecção do RSV, utilizando três técnicas diferentes, demonstrando que a PCR foi a técnica mais sensível, proporcionando resultados positivos em 35/316 (11,1%) das amostras, seguido por imunofluorescência direta 25/316 (7,9%) e isolamento viral 20/315 (6,3%).

Há uma clara tendência para a utilização de técnicas que permitem o diagnóstico precoce da infecção pelo RSV; o diagnóstico precoce é vantajoso porque permite a implementação de medidas para limitar a propagação do vírus, como em hospitais ou casas de repouso, e a implementação precoce da terapia antiviral. A escolha de uma técnica é de extrema importância para o diagnóstico rápido e sensível de RSV.⁽¹⁷⁾

No presente estudo, a RT-PCR foi a metodologia escolhida para garantir uma detecção viral com alta sensibilidade e especificidade. RT-PCR funciona muito bem com a maioria dos alvos de RNA, mas geralmente são necessários ajustes nos parâmetros da reação, a fim de melhorar a especificidade e aumentar o rendimento. Segundo Connel,⁽²⁴⁾ não existe um único protocolo que seja adequado para todas as situações, incluindo laboratório, reagentes e recursos humanos; assim, para cada nova experiência é necessário realizar a otimização da reação. A otimização da metodologia RT-PCR realizada no estudo foi fundamentada em protocolos previamente descritos, a qual visou aumentar o rendimento da reação com a finalidade de garantir o maior limite de detecção em cada reação realizada por meio de alterações nas concentrações de $MgCl_2$, enzimas, temperaturas de anelamento dos *primers*, reagente PCR SuperMix® e interpretação dos resultados obtidos pela

visualização em eletroforese dos produtos da amplificação sem o aparecimento de bandas inespecíficas.⁽²⁴⁾

Houve a padronização dos componentes da reação separadamente e na padronização da técnica utilizando o PCR SuperMix® de reagentes pôde-se observar que as duas formas são sensíveis e específicas frente ao controle positivo e negativo de RSV; sendo assim, optou-se pela técnica de PCR utilizando-se o PCR SuperMix® de reagentes devido à otimização de tempo e praticidade, visto que foram várias amostras analisadas. Em todos os procedimentos da reação RT-PCR aplicada nas amostras incluídas no estudo foi utilizado um controle positivo e um negativo, para confirmação da técnica na avaliação das amostras analisadas.

A grande maioria dos estudos com o RSV é realizada em ambientes hospitalares e poucos estudos avaliam a circulação desse agente etiológico na comunidade.⁽²⁵⁾ A ausência de positividade nas amostras investigadas pode representar uma limitação do estudo relacionada com a inclusão dos pacientes, que não foi sistemática e ocorreu durante um curto período de tempo. Devido à possibilidade de variação sazonal na circulação de RSV seriam recomendados estudos por período mínimo de três anos para demonstrarem uma sazonalidade viral mais fidedigna.⁽²⁶⁾

Este foi o primeiro estudo realizado em atendimento de serviço primário de saúde pública de casos com doenças respiratórias agudas na cidade de Guarapuava, PR, no qual foi avaliada a etiologia de RSV, que poderá servir como base para estabelecer estratégias de diagnóstico, prevenção da doença e também para medidas de controle. Porém, é necessária a continuidade de estudos sobre este vírus, com um maior número de amostras e por um período mais prolongado de tempo das coletas, podendo-se obter maiores informações sobre a sua etiologia e epidemiologia nessa região, demonstrando assim a determinação da verdadeira importância do RSV nas infecções respiratórias.

CONCLUSÃO

Foi concluída a padronização e otimização da técnica de RT-PCR para detecção de RSV no laboratório de Virologia e Biologia Molecular da Unicentro com êxito. No entanto, não foram detectados casos de infecção respiratória por RSV em pacientes com sintomas respiratórios na cidade de Guarapuava, PR.

Abstract

Objective: Respiratory syncytial virus (RSV) is one of the main viral agents causing serious respiratory tract infections in infants and children. **Methods:** Investigated the occurrence of acute respiratory infection caused by RSV in symptomatic patients in primary care service calls to public health in the city of Guarapuava, PR. One hundred and forty four were collected samples of nasal secretion, included patients of all age

groups, between the year of 2013 and 2014. **Results:** In the results the average age of patients in the study was of 35.17 years and the median of 31 years, varying with the minimum of 1 year and a maximum of 82 years of age. **Conclusion:** Data analyses were completed of patients and standardization of RT-PCR methodology through controls of RSV strains. Standard RT-PCR methodology was applied in the samples, however, were not detected cases of respiratory infection by RSV in patients with respiratory symptoms in the city of Guarapuava, PR.

Keywords

Vaccines; Respiratory Syncytial Virus; PCR

REFERÊNCIAS

- Gardinassi LG, Simas PV, Gomes DE, do Bonfim CM, Nogueira FC, Garcia GR, et al. Diversity and adaptation of human respiratory syncytial virus genotypes circulating in two distinct communities: public hospital and day care center. *Viruses*. 2012 Oct 24;4(11):2432-47.
- Andres S, Bauer G, Rodriguez S, Novali L, Micheli D, Farina D. Internação devido a infecção pelo vírus sincicial respiratório em pacientes menores de 2 anos com doença cardíaca congênita hemodinamicamente significativa. *J. Pediatr*. 2012;88(3):246-252.
- Paiva TM, Ishida MA, Benega MA, Constantino CRA, Silva DBB, Santos KC, et al. Shift in the timing of respiratory syncytial virus circulation in a subtropical megalopolis: implications for immunoprophylaxis. *J Med Virol*. 2012 Nov;84(11):1825-30.
- Calegari T, Queiroz DA, Yokosawa J, Silveira HL, Costa LF, Oliveira TF, et al. Clinical-epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attended in a public hospital in midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2005 Apr;9(2):156-6.
- Langley JM, LeBlanc JC, Wang EE, Law BJ, MacDonald NE, Mitchell I, et al. Nosocomial respiratory syncytial virus infection in Canadian pediatric hospitals: a Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada Study. *Pediatrics*. 1997 Dec;100(6):943-6.
- Thorburn K, Kerr S, Taylor N, Van saene HK. RSV outbreak in a paediatric intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2004 Jul;57(3):194-201.
- Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med*. 2001 Jun 21;344(25):1917-28.
- Ogra PL. Respiratory syncytial virus: the virus, the disease and the immune response. *Paediatr Respir Rev*. 2004;5 Suppl A:S119-26.
- Hirsh S, Hindiyeh M, Kolet L, Regev L, Sherbany H, Yaary K, et al. Epidemiological changes of respiratory syncytial virus (RSV) infections in Israel. *PLoS One*. 2014 Mar 3;9(3):e90515.
- Oliveira TF, Freitas GR, Ribeiro LZ, Yokosawa J, Siqueira MM, Portes SA, et al. Prevalence and clinical aspects of respiratory syncytial virus A and B groups in children seen at Hospital de Clínicas of Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008 Aug;103(5):417-22.
- Noah JW, Severson W, Chung DH, Moore B, Jia F, Xu X, et al. A Cell Based HTS Approach for the Discovery of New Inhibitors of RSV. Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2010.
- Zomer-Kooijker K, van der Ent CK, Ermers MJ, Uiterwaal CS, Rovers MM, Bont LJ; RSV Corticosteroid Study Group. Increased risk of wheeze and decreased lung function after respiratory syncytial virus infection. *PLoS One*. 2014 Jan 31;9(1):e87162.
- Costello HM, Ray WC, Chaiwatpongsakorn S, Peebles ME. Targeting RSV with vaccines and small molecule drugs. *Infect Disord Drug Targets*. 2012 Apr;12(2):110-28.
- Schepens B, Sedeyn K, Ginste LV, Baets S, Schotsaert M, Roose K, et al. Protection and mechanism of action of a novel human respiratory syncytial virus vaccine candidate based on the extracellular domain of small hydrophobic protein. *EMBO Mol Med*. 2014 Nov;6(11):1436-54.
- Alvarez AE, Marson FAL, Bertuzzo CS, Arns CW, Ribeiro JD. Epidemiological and genetic characteristics associated with the severity of acute viral bronchiolitis by respiratory syncytial virus. *J Pediatr (Rio J)*. 2013 Nov-Dec;89(6):531-43.
- Lamarao LM, Ramos FL, Mello WA, Santos MC, Barbagelata LS, Justino MC, et al. Prevalence and clinical features of respiratory syncytial virus in children hospitalized for community-acquired pneumonia in northern Brazil. *BMC Infect Dis*. 2012 May 16;12:119.
- Reis AD, Fink MCD, Machado CM, Paz JP, Oliveira RR, Tateno AF, et al; CHIADO and RDGV/FAPESP Research Groups. Comparison of direct immunofluorescence, conventional cell culture and polymerase chain reaction techniques for detecting respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates from infants. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2008 Jan-Feb;50(1):37-40.
- Stockton J, Ellis JS, Saville M, Clewley JP, Zambon MC. Multiplex PCR for typing and subtyping influenza and respiratory syncytial viruses. *J Clin Microbiol*. 1998 Oct;36(10):2990-5.
- Nunes IFS. Perfil epidemiológico das infecções causadas por vírus sincicial respiratório em crianças atendidas em hospital de Fortaleza- CE. 2004. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Departamento de Patologia e Medicina Legal. Programa de pós-graduação em microbiologia médica, Fortaleza-CE, 2004.
- Salomão Junior JB, Gardinassi LG, Simas PV, Bittar CO, Souza FP, Rahal P, Zanetta DM. Human respiratory syncytial virus in children hospitalized for acute lower respiratory infection. *J Pediatr (Rio J)*. 2011 May-Jun 8;87(3):219-24. [Article in English, Portuguese].
- Freitas TV, Ono G, Corrêa L, Gomes PS, Galante NZ, Tedesco-Silva H, et al. Clinical manifestations and evolution of infection by influenza A (H1N1) in kidney transplant recipients. *J Bras Nefrol*. 2011 Apr-Jun;33(2):136-41.
- Pecchini R, Berezin EN, Felício MC, Passos SD, Souza MC, Lima LR, et al. Incidence and clinical characteristics of the infection by the respiratory syncytial virus in children admitted in Santa Casa de São Paulo Hospital. *Braz J Infect Dis*. 2008 Dec;12(6):476-9;
- Donalísio MR, Francisco PMSB, Latorre MRDO. Tendência da mortalidade por doenças respiratórias em idosos antes e depois das campanhas de vacinação contra influenza no Estado de São Paulo - 1980 a 2004. *Rev Bras Epidemiol*. 2006;9(1):32-41.
- Connel JOE. RT-PCR Protocols. V.193. New Jersey: Humana Press Totowa, 2002.
- D'Élia C, Siqueira MM, Portes AS, Sant'anna CC. Infecções do trato respiratório inferior pelo vírus sincicial respiratório em crianças hospitalizadas menores de um ano de idade. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2005;38(1):7-10. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822005000100002&lng=pt.
- Levy K, Hubbard AE, Eisenberg JN. Seasonality of rotavirus disease in the tropics: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2009 Dec;38(6):1487-96.

Correspondência

Fernanda Carolina Pedrosa

R. Simeão Varela de Sá, 03 - Vila Carlí,
85040-080 – Guarapuava, PR

Lesão de alto grau e carcinoma escamoso: um estudo de prevalências em pacientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) na cidade de Anápolis, GO, Brasil

High-grade lesions and squamous cell carcinoma: a study of prevalence in patients attended by the unified health systems (SUS) in Anápolis municipality, GO, Brazil

Ana Raquel Moreira de Lemos¹

Marcela Souza Silva²

Kelly Deyse Segat³

Resumo

Objetivo: O câncer de colo do útero se desenvolve a partir de lesões precursoras, as quais têm potencialidade para progressão se não forem detectadas e tratadas precocemente. A Organização Mundial de Saúde recomenda o desenvolvimento de programas de controle dessa doença através de medidas de prevenção como o exame citológico. O objetivo deste estudo foi analisar as taxas de prevalência de atipias graves, como lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) e carcinoma (CA). **Métodos:** No período de um ano foram levantados laudos citológicos de cérvix uterina pelo método de Papanicolaou de pacientes atendidas pelo SUS na cidade de Anápolis, GO, utilizando-se os dados de domínio público contidos no SISCOLO. **Resultados:** Os resultados apontam que a prevalência geral das amostras satisfatórias foi de 99,5% (17493/17573). Desses, 0,2% (30/17493) apresentavam resultados de atipias graves. Entre os resultados positivos, o diagnóstico de lesão grave apresentou 0,17% de prevalência, sendo 0,13% de HSIL e 0,04% de CA. A taxa de atipias graves encontrada foi de 1,715 a cada 1.000 diagnósticos (IC 95%; 1,178 - 2,417). **Conclusão:** Os resultados subestimam a taxa esperada pelo Ministério da Saúde (superior a 0,4%). Estes dados podem refletir a influência de fatores que interferem na rastreabilidade do câncer de colo uterino.

Palavras-chave

Colo uterino; Neoplasias; Prevalências

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é a segunda neoplasia maligna mais incidente entre as brasileiras representando 15% do total dos cânceres feminino; em geral, ela começa a partir de 30 anos, aumentando seu risco rapidamente até atingir o pico etário entre 50 e 60. Esse câncer foi responsável pelo óbito de 265 mil mulheres em 2012, sendo que 87% dos óbitos ocorreram em países em desenvolvimento.⁽¹⁾

Para a região centro-oeste, no ano de 2014, estimou-se que o câncer do colo do útero fique em segundo lugar entre os mais ocorridos em mulheres, com taxa bruta de 22,19/100 mil habitantes, totalizando 1.640 novos casos.⁽¹⁾

A doença se desenvolve a partir de lesões precursoras, as quais têm potencialidade para progressão se não são detectadas e tratadas precocemente. Os programas de rastreamento ou *screening* sistemático da população femi-

nina por meio do exame citológico do colo do útero, também conhecido como exame de Papanicolaou, têm sido uma das estratégias públicas mais efetivas, seguras e de baixo custo para detecção precoce deste câncer.⁽²⁾

Na rede pública de saúde, verifica-se que apenas 15% das mulheres que possuem mais de 20 anos de idade realizam o exame de Papanicolaou; diante da importância do diagnóstico, esta frequência não é considerada satisfatória.⁽³⁾ A identificação de lesões precursoras por citologia pode impedir a progressão da doença por meio de procedimentos terapêuticos simples, como o teste de Papanicolaou e vigilância contínua.⁽⁴⁾ A implementação de programas de rastreamento bem organizados diminui substancialmente a incidência de câncer cervical.⁽⁵⁾

A infecção persistente por Papilomavírus humano (HPV) é o principal fator causal do câncer de colo uterino, sendo que os genótipos HPV16 e HPV18 são encontrados

¹Curso de Farmácia, Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica – Anápolis - GO, Brasil.

²Professor universitário. Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica – Anápolis - GO, Brasil.

Instituição: Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica – Anápolis - GO, Brasil.

Artigo recebido em 30/03/2016

Artigo aprovado em 02/09/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600494

em aproximadamente 70% dos casos.⁽⁵⁾ Em 2010, Bernard et al.⁽⁶⁾ apresentaram uma expansão da classificação da família *Papillomaviridae*, que contém 29 gêneros formados por 189 genótipos sendo que, de 120 isolados em seres humanos, cerca de 40 infectam o trato genital.

Vários outros fatores influenciam o efeito do vírus HPV na carcinogênese do colo uterino. Fatores como tabagismo, uso de contraceptivos orais, alta paridade, imunossupressão, múltiplos parceiros e doenças sexualmente transmissíveis são classificados como fatores de risco.⁽⁷⁾

Os padrões para a prevenção do câncer de colo uterino na Europa estão baseados na vacinação contra HPV em adolescentes antes do início da atividade sexual, seguido pelo rastreamento em todas as mulheres a partir de 21 anos de idade.^(8,9)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a todos os países o desenvolvimento de programas de controle de câncer de colo uterino para reduzir a incidência e mortalidade associada a esta doença. No entanto, o sucesso de planejamento, implementação e avaliação de programas de controle do câncer necessitam da disponibilidade de dados epidemiológicos sobre a frequência e a distribuição em cada região fornecido por um registro de base populacional do câncer.⁽¹⁰⁾

A estratégia recomendada pelo Ministério da Saúde é a realização de exame citológico em mulheres na faixa etária de 25 a 64 anos. Para a efetividade do programa de controle do câncer de colo uterino, é necessário garantir a organização, a integralidade e a qualidade dos serviços e ações da linha de cuidado, bem como o tratamento e o seguimento das pacientes.⁽¹⁾ No Sistema Único de Saúde (SUS), as ações de prevenção e controle desse tipo de câncer são estruturadas nas Unidades de Atenção Básica de Saúde (UABS) e na incorporação organizada dos laboratórios de citopatologia, histopatologia e hospitais especializados.^(1,11)

Essas ações são monitoradas pelo sistema de informações sobre o câncer do colo do útero (SISCOLO), que ainda não permite identificação do número de mulheres examinadas, apenas a quantidade de exames realizados e dados sobre resultados de colposcopia e biópsia. Estas circunstâncias dificultam o conhecimento preciso de taxas de captação e cobertura, essenciais ao acompanhamento das ações planejadas.^(12,13)

A detecção de HPV tem sido utilizada como um marcador para presença de vírus em lesões cervicais, mas não é indicativo de infecção produtiva ou lesão cervical. Os sinais clínicos e citológicos, portanto, continuam a ser os métodos mais comuns utilizados para identificar lesões pré-cancerosas.⁽¹⁴⁾

O diagnóstico citopatológico de lesão de alto grau não podendo excluir microinvasão ou carcinoma epidermoide invasor é infrequente. No Brasil, no ano de 2010, foi registrada prevalência de 0,025% e 0,02% dos exames citopato-

lógicos considerados satisfatórios e em 0,95% e 0,75% dos exames alterados, respectivamente.⁽¹⁵⁾

O objetivo do estudo foi analisar as taxas de prevalência de atipias graves como lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) e carcinoma escamoso (CA) em pacientes usuárias do SUS na cidade de Anápolis, GO.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo trata de um corte transversal realizado por análises retrospectivas dos dados referentes aos laudos citológicos de cérvix uterina, por meio de consultas ao banco de dados do Departamento de Informática do SUS e de Informações de Controle do Câncer do Colo de Útero (SISCOLO/ versão 4.0). Essas informações são de domínio público e estão disponíveis no site: <http://www.saude.df.gov.br/outros-links/sistema-de-informacoes-do-cancer-siscan.html>.

O período da pesquisa foi de fevereiro de 2013 a fevereiro de 2014, totalizando um ano. Foram inclusos todos os registros nos quais constavam as seguintes informações: adequabilidade do material, diagnóstico benigno (sem atipias), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) e células escamosas atípicas (ACS), que são divididas em duas classes: ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) e ASC-H (células escamosas atípicas), não podendo excluir HSIL, carcinoma de células escamosas invasor. Essas informações estão distribuídas em tabelas no decorrer do trabalho. Os dados de prevalência e taxa bruta do diagnóstico de HSIL e carcinoma invasor foram analisados pelo programa estatístico OPENEPI versão 3.03.

RESULTADOS

No total de um ano, na cidade de Anápolis, GO foram realizados 17.573 exames de citologia de cérvix uterina pelo SUS, sendo que 17.493 (99,5%) foram classificados como satisfatórios e 80 foram classificados como insatisfatórios para avaliação oncológica (0,5%), por algum dos seguintes motivos: artefatos de dessecamento, superposição celular, material acelular, presença de sangue, piócitos entre outros (Tabela 1).

Dos resultados satisfatórios, 17.133 (97,9%) apresentavam diagnósticos dentro dos limites da normalidade ou de reação benigna compatível com inflamação, sendo classificados como sem atipia. O diagnóstico de atipia de menor gravidade foi observado em 330 casos (ASC-US e LSIL) e 30 foram classificados como atipia grave (HSIL e CA) (Tabela 2).

O diagnóstico de lesões classificadas como atipia grave esteve presente em 0,2% dos diagnósticos totais, subdividindo em 76,6% de HSIL e 23,4% de CA.

Tabela 1: Distribuição da adequabilidade da amostra dos exames citopatológicos realizados na cidade de Anápolis em pacientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde no ano de 2013 a 2014.

Mês	Satisfatório	%	Insatisfatório	%	Nº exames
fev/13	1703	99,8	2	0,2	1705
mar/13	1733	99,8	3	0,2	1736
abr/13	1853	99,6	7	0,4	1860
mai/13	1023	100	0	0	1023
jun/13	1858	99,6	7	0,4	1865
jul/13	1285	99,8	2	0,2	1287
ago/13	1596	99,3	10	0,7	1606
set/13	1556	100	0	0	1556
out/13	694	99	7	1	701
nov/13	1341	99,3	9	0,7	1350
dez/13	792	98,8	9	1,2	801
jan/14	800	100	0	0	800
fev/14	1259	98,1	24	1,9	1283
Anual	17493	99,5	80	0,5	17573

Tabela 2 - Distribuição dos diagnósticos dos exames citopatológicos realizados na cidade de Anápolis em pacientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde no ano de 2013 a 2014

Diagnóstico	Casos	%
Sem atipia	17.133	97,9
Atipia de menor gravidade	330	1,9
Atipia grave	30	0,2
Total	17.493	100

A taxa bruta para os exames compatíveis com HSIL foi de 0,13%, o que corresponde a 1,3% diagnósticos de HSIL para cada mil exames realizados. A taxa de diagnóstico de carcinoma de células escamosas encontrada foi de 0,040%, correspondendo a 0,4% para cada mil diagnósticos. Para as atipias graves, a taxa bruta foi de 0,17% e 1,7% para cada mil análises realizadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxa de prevalência lesão intraepitelial escamosa de alto grau e carcinoma escamoso em mulheres atendidas pelo SUS na cidade de Anápolis-GO no ano de 2013 a 2014

Diagnóstico	Casos	Taxa Bruta/Anual	Taxa por 1000 diagnósticos	Intervalo de Confiança (95%)
HSIL	23	0,1314	1,315	0,8537- 1,9432
CA	7	0,040	0,4002	0,175 - 0,7916
Atipia grave	30	0,1714	1,715	1,178 - 2,417

HSIL: Lesão intraepitelial de alto grau; CA: Carcinoma de células escamosas.

DISCUSSÃO

Para a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma cobertura de 80% do exame entre mulheres de 35 a 59 anos seria suficiente para causar impacto nos indicadores de mortalidade que pode ser observado após quatro anos de implementação das ações de detecção precoce. De acordo com o IBGE, a população total da cidade de Anápolis é de 361.991 habitantes, sendo que 171.357 são mulheres.⁽¹⁶⁾ Para a realização de um cálculo simples sobre a cobertura do programa de rastreamento em Anápolis foram utilizados 75% das mulheres, já que 25% não estão na idade preconizada pelo Ministério da Saúde, totalizando 13,6% de taxa de cobertura.

O Programa Nacional de controle do câncer do colo do útero (Viva Mulher) recomenda que o exame deve ser dirigido nos serviços de saúde às mulheres de 25 a 64 anos, e que, após dois exames normais seguidos, poderá ser realizado a cada três anos.⁽¹⁾

As lesões do epitélio do colo uterino passam por diversas etapas antes de se tornarem um carcinoma invasivo. A detecção precoce permite medidas terapêuticas simples e curáveis na maioria dos casos; no estudo foi observada a positividade de lesão grave de 0,17%, sendo 0,13% de HSIL e 0,04 de CA. Esses resultados foram menores do que o estimado na publicação das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero, que, no ano de 2010, apresentou uma incidência de

HSIL de 0,25% de todos os exames realizados e 9,7% de todos os exames alterados.⁽¹⁾ Cerca de 70% a 75% das pacientes com laudo citológico de HSIL apresentaram confirmação histopatológica do grau de doença e 1% a 2% receberam diagnóstico histopatológico de carcinoma invasor.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾

A logística do rastreamento e algumas dificuldades do acesso à saúde, bem como do cotidiano das mulheres residentes na cidade, podem influir nos resultados subestimados.

No ano de 2012, em estudo realizado em um grupo de mulheres e adolescentes no estado de Roraima, foram descritos resultados sugestivos de lesões intraepiteliais em 965 (3,6%) das 26.726, e a incidência de HSIL foi de 1,03%.⁽²⁰⁾

Na cidade de Ubá, MG, foram analisados 6.358 exames no período de janeiro de 2011 a maio de 2011. Destes, 98,46% apresentaram resultados dentro dos limites da normalidade e 0,17% apresentaram resultados referentes à HSIL e nenhum resultado de CA.⁽²¹⁾

Em um Serviço de Saúde Pública do município de Santa Rosa, RS, no ano de 2007, foi realizado um estudo com 5.524 mulheres; destas, 1,43% (79/5.524) apresentaram citologias atípicas e 0,14% foram definidas como HSIL.⁽²²⁾ Esses resultados foram similares aos encontrados no presente estudo.

Um estudo descritivo realizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG), em 12.208 mulheres, foram encontrados resultados de lesões de média gravidade ASC-H/HSIL em 2,43% dos esfregaços analisados. Já as lesões mais graves AGC/adenocarcinoma *in situ* totalizaram 0,20%, e as lesões gravíssimas CA/ adenocarcinoma invasor não obtiveram resultados.⁽²³⁾

Em relação às mulheres com resultados citopatológicos classificados como ASC-H/HSIL, 127 (42,76%) repetiram o exame citopatológico desnecessariamente, uma vez que todas deveriam ter sido encaminhadas imediatamente para o exame colposcópico. Essa conduta acarretou atraso na confirmação do diagnóstico e, conseqüentemente, do tratamento, de acordo com o preconizado pelo MS, além de gastos desnecessários com a realização da citopatologia de seguimento.⁽²³⁾

Silva (2012), no município de Moreno, PE, por meio de consultas ao banco de dados do Departamento de Informática do SUS-DATASUS e de Informações de Controle do Câncer do Colo de Útero (SISCOLO/versão 4.0), no período de janeiro de 2010 a janeiro de 2011, observou que dos 5.548 exames satisfatórios, o número de citologias negativas para malignidade foi de 99,10%; 0,90% casos tiveram citologia alterada, sendo que, destes, cinco foram diagnosticados como HSIL e dois com lesão de alto grau não podendo excluir microinvasão.⁽²⁴⁾

Outro estudo realizado na cidade de Anápolis, no período de julho de 2008 a julho de 2009, com 4.821 mulheres atendidas pela Unidade de Ações e Saúde de Mulheres e do Adolescente, encontrou cem casos de citologias com diagnósticos alterados. Do total geral, 18 amostras foram classificadas como HSIL, representando 0,3% e 0,06% de CA.⁽²⁵⁾

Os dados encontrados na mesma cidade após cinco anos indicaram aumento na incidência de lesões graves, bem como aumento das amostras classificadas como insatisfatórias. A utilização de diferentes técnicas na preparação das lâminas do exame de Papanicolaou e a utilização de diferentes instrumentos para a coleta do esfregaço podem gerar fatores de confusão, que repercutirão na sensibilidade e especificidade do exame. Portanto, a coleta do esfregaço, fixação, coloração e manipulação laboratorial, bem como a competência do examinador, podem influenciar no resultado do laudo, e, conseqüentemente, na conduta a ser tomada.⁽²⁶⁾

Buffon et al.⁽²⁷⁾ analisaram lesões intraepiteliais escamosas em 11.077 exames citológicos realizados em um laboratório privado de Porto Alegre, sendo que 97,21% foram citologias negativas para malignidade e 2,79% apresentaram diagnósticos alterados. Em relação aos casos alterados deste estudo, 0,17% foram casos de HSIL e não houve carcinoma de células escamosas.

Vale et al.⁽¹³⁾ observaram que, ao longo de sete anos, cerca de 64% dos exames foram considerados em excesso por não seguirem as normas recomendadas. Portanto, é preciso diminuir o número de procedimentos em excesso e aperfeiçoar os recursos disponíveis, porém isso não significa redução do número de coletas do exame citopatológico, mas sim o desenvolvimento de estratégias para que as mulheres com maior risco de desenvolverem câncer e as que têm pouca frequência de realização de exames de prevenção tenham acesso ao sistema.

Sabe-se que a prevalência das lesões precursoras do câncer do colo uterino varia com a idade da mulher, sua história natural e, também, com o resultado da intervenção das ações preventivas. Portanto, informações sobre a variação das taxas de prevalência destas lesões são importantes para o planejamento de ações preventivas e para servir de base na avaliação dos seguintes rastreamentos do câncer do colo uterino.⁽²⁸⁾

CONCLUSÃO

No presente estudo, os resultados de HSIL e CA foram menores que o esperado pelo MS – 0,025% e 0,02% dos exames citopatológicos considerados satisfatórios e em 0,95% e 0,75% dos exames alterados. Vários fatores podem estar relacionados aos resultados. Deste

modo, o estudo reforça a importância da prevenção do câncer do colo do útero e a esquematização de programas de rastreamento organizados para a população estudada.

Abstract

Objective: *The cervical cancer of the uterus develops from precursor lesions, which have the potential to progress if not detected and treated early. The World Health Organization recommends the development of the disease control programs through preventive measures such as cytological examination. The aim of this study was to analyze the prevalence of severe atypia rates as high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) and carcinoma (CA).* **Methods:** *Within a year were raised cytologic reports of uterine cervix by Papanicolaou method of patients attended by SUS in the city of Anapolis-GO, using public domain data contained in SISCOLO.* **Results:** *The results showed that the overall prevalence of satisfactory samples was 99.5% (17493/17573). Of these, 0.2% (30/17493) presented results of severe atypia. Among the positive diagnosis of serious injury showed 0.17% prevalence, and 0.13% of HSIL and 0.04% Ca. The severe atypia rate was found to be 1,715 to 1,000 diagnoses (95% CI 1.178 to 2.417). The results understate the rate expected by the Ministry of Health (more than 0,4%). These data may reflect the influence of factors that affect the traceability of cervical cancer.* **Conclusion:** *The severe atypia rate was found to be 1,715 to 1000 diagnoses (95% CI 1.178 to 2.417). The results understate the rate expected by the Ministry of Health (more than 0,4%). These data may reflect the influence of factors that affect the traceability of cervical cancer.*

Keywords

Uterine cervix; Neoplasms; Prevalence

REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância [Internet]. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro (RJ): INCA; 2014. [Citado 2014 jan 28]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
- Etlinger D. Exame de Papanicolaou: A qualidade começa no atendimento a paciente. *Laes & Haes*, São Paulo. 2009;178(30):112-20.
- Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. *BMJ*. 2009 Jul 28;339:b2968. Erratum in *BMJ*. 2009;339:b3115.
- de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al; Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010 Nov;11(11):1048-56.
- Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*. 2010 May 25;401(1):70-9.
- Hedrick-Ellenson L, et al. The female genital tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*. Eighth ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2010:1019.
- Centers for Disease Control and Prevention. What Can I Do to Reduce My Risk? Available from: http://www.cdc.gov/cancer/cervical/basic_info/prevention.htm. Acesso em: 16/08/2013 Hora: 18:27
- Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second ed. *Ann Oncol*. 2010 Mar;21(3):448-58.
- Jensen OM, Parkin DM, MacLennan R, Muir CS, Skeet RG (editors). *Cancer registration: principles and methods*. IARC Sci Publ. 1991;(95):108-25. [27/08/2014]. Available at: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp95/SP95.pdf>. IARC
- Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas. Recomendações para profissionais de saúde. *Rev Bras Ginecol Obstet*. [Internet]. 2006 Aug;28(8):486-504. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032006000800008&lng=en.
- Giriani VR, Thuler LCS, Silva GA. Qualidade do sistema de informação do câncer do colo do útero no estado do Rio de Janeiro. *Rev Saúde Pública* 2009;43(4):580-8.
- Vale DBAP, Morais SS, Pimenta AL, Zeferino LC. Avaliação do rastreamento do câncer do colo do útero na Estratégia Saúde da Família no Município de Amparo, São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2010;26(2):383-90.
- Gutiérrez-Xicoténcatl L, Plett-Torres T, Madrid-González CL, Madrid-Marina, V (2009). Molecular diagnosis of human papillomavirus in the development of cervical cancer. *Salud Pública de México*, 51(Supl. 3), s479-s488. Disponível em: www.scielosp.org/pdf/spm/v51s3/a14v51s3.pdf.
- Brasil. Ministério da Saúde. Sistema de Informação do câncer do colo do útero e Sistema de Informação do câncer de mama. Disponível em <http://w3.datasus.gov.br/siscam/index.php?area=0401>.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010.
- Laverty CR, Farnsworth A, Thurloe J, Bowditch R. The reliability of a cytological prediction of cervical adenocarcinoma in situ. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 1988 Nov;28(4):307-12.
- Kinney WK, Manos MM, Hurley LB, Ransley JE. Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of minimally abnormal Papanicolaou diagnoses. *Obstet Gynecol*. 1998 Jun;91(6):973-6.
- Massad LS, Collins YC, Meyer PM. Biopsy correlates of abnormal cervical cytology classified using the Bethesda system. *Gynecol Oncol*. 2001 Sep;82(3):516-22.
- Arcoverde LC. Prevalência das lesões precursoras de câncer de colo uterino nas adolescentes e jovens da Amazônia. Programa de mestrado profissional em ciências da saúde. Boa Vista - RR 2013.
- Ribeiro MB. Avaliação de lesões intraepiteliais escamosas em exames citológicos realizados em um laboratório na cidade de Ubá, MG. Disponível em www.posgraduacaoredentor.com.br/hide/path_img/conteudo_54246951d0da5.pdf
- Saldanha RO, Vargas VRA. Caracterização dos exames de Papanicolaou no Serviço de Saúde Pública do município de Santa Rosa, RS. *Rev Bras. Farm*. 2008;89(4):342-46.
- Araújo ES, Barbosa FM, Ázara CZS, Ferreira TXAM, Tavares SBN, Amaral RG. Avaliação do seguimento de mulheres com exames citopatológicos alterados de acordo com as condutas preconizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil em Goiânia, Goiás. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2014;60(1): 7-13.
- Silva Anderson Philippe Cavalcante. Frequência de lesões pré-cancerosas e malignas no colo do útero de mulheres assistidas no município de Moreno-PE. Monografia apresentada à Universidade Paulista e ao Centro de Capacitação Educacional como exigência do Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Citologia. Recife, 2012.
- Fonseca KCLE, Silveira LVPC, Pacheco JBP, et al. Prevalência das neoplasias intraepiteliais cervicais em mulheres atendidas pela Unidade de Ação e Saúde da Mulher do Adolescente da Cidade de Anápolis, Go. *Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente*. 2011;13(17):151-163.
- Américo CF, Chagas ACMA, Lopes EM, Dias LMB, Lima TM, Moura ERF. Análise da influência do acondicionamento diferenciado de lâminas para colpocitologia no resultado laboratorial. *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis, 2010 Abr-Jun;19(2):343-50.

27. Buffon A, Civa M, Matos VF. Avaliação de lesões intraepiteliais escamosas e microbiologia em exames citológicos realizados em um laboratório de Porto Alegre, RS. RBAC. v. 38, n. 2, p. 83-85. 2006.
28. D'Ottaviano-Morelli MGL, Zeferino LC, Cecatti JG, Terrabuio DR, Matinez EZ. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma, based on cytological screening in the region of Campinas, São Paulo, Brazil. Cad Saúde Pública. 2004; 20(1):153-9.

Correspondência

Kelly Deyse Segati

Laboratório de Análises Clínicas da UniEvangélica - Bloco D
Av. Universitária Km. 3,5 - Cidade Universitária
75083-515 – Anápolis, GO

Perfil de resultados de hemoculturas positivas e fatores associados

Results profile of positive blood cultures and associated factors

Denise Bisol Ruschel¹
Adriana Dalpicolli Rodrigues²
Fernanda Formolo³

Resumo

Objetivo: Analisar os resultados dos exames de hemocultura obtidos de laboratório de referência em análises clínicas na cidade de Caxias do Sul, RS como forma de reconhecer os micro-organismos isolados com maior frequência nas amostras positivas de hemoculturas, bem como descrever o perfil de resistência dos mesmos. **Métodos:** Realizou-se um estudo transversal, retrospectivo e analítico. Em um banco de dados de um laboratório na cidade de Caxias do Sul, RS observaram-se resultados de hemocultura, no período de janeiro de 2012 a agosto de 2013, realizadas em pacientes internados em um hospital. O estudo foi baseado em resultados de hemoculturas positivas, sendo excluídas as negativas. Dos micro-organismos isolados, foram avaliados a prevalência e o perfil de resistência aos antimicrobianos. **Resultados:** Foram avaliados 2.832 resultados de hemoculturas, sendo que 2.584 (91,2%) apresentaram-se negativos, enquanto que 248 (8,8%) foram positivos para algum patógeno. Das hemoculturas positivas, 140 (56,4%) foram isoladas de pacientes do sexo masculino e 108 (43,5%) do sexo feminino. Em relação ao setor de internação, o mais acometido foi a Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) adulto, com ocorrência de 91 amostras positivas (36,6%). O acesso de coleta com maior prevalência de amostras positivas foi o acesso periférico, com ocorrência de 202 amostras (81,4%). Os micro-organismos do grupo das bactérias Gram positivas apresentaram maior resistência aos antibióticos penicilina, ciprofloxacina e clindamicina. As bactérias Gram negativas apresentaram maior resistência aos antimicrobianos ceftazidima, ampicilina e sulfametoxazol e trimetoprim. **Conclusão:** Este estudo permitiu o conhecimento do perfil de resistência dos micro-organismos analisados e a prevalência destes em pacientes internados

Palavras-chave

Bacteremia; Farmacorresistência bacteriana; Infecção hospitalar

INTRODUÇÃO

O sangue circulante nos organismos vivos é estéril, mas diante de algumas doenças infecciosas pode haver o aparecimento de micro-organismos na corrente sanguínea, ocorrendo assim o processo chamado de bacteremia.⁽¹⁾ A maioria das bactérias que penetram na corrente sanguínea é rapidamente removida pelos leucócitos, no entanto, algumas vezes, a quantidade de bactérias presentes é muito elevada, impossibilitando a sua fácil remoção, ocorrendo então a septicemia. Essa septicemia pode produzir sintomas graves e evoluir para uma condição letal denominada choque séptico.⁽²⁾

A bacteremia é detectada pela realização de exames laboratoriais chamados hemoculturas, um importante recurso diagnóstico para determinação dos patógenos circulantes.^(1,3) O exame de hemocultura visa à detecção de micro-organismos viáveis na corrente sanguínea. A invasão da corrente sanguínea representa uma das mais importantes complicações do processo infeccioso, sendo geralmente grave, trazendo potencial risco de óbito. Isto torna a hemocultura um exame de significativo valor na detecção de infecção, possibilitando a identificação do agente etiológico e seu posterior tratamento específico.⁽³⁻⁵⁾

Os fatores críticos com relação ao exame de hemocultura incluem: o tipo de coleta, ressaltando a importância

¹Bacharel em Biomedicina. Faculdade da Serra Gaúcha (FSG) – Caxias do Sul, RS, Brasil.

²Analista Científica. Mestrado em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul (UCS) – Caxias do Sul, RS, Brasil. Mestrado em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul (UCS) – Caxias do Sul, RS, Brasil.

Instituição: Faculdade da Serra Gaúcha (FSG) – Caxias do Sul, RS, Brasil.
Suporte Financeiro: Financiamento próprio. Não houve suporte financeiro.

Artigo recebido em 29/04/2016
Artigo aprovado em 22/09/2016
DOI: 10.21877/2448-3877.201600503

de assepsia adequada, o número de frascos coletados, o momento em que a coleta foi realizada, se possível antes do uso de antimicrobianos, o volume de sangue a ser cultivado, a quantidade e a composição do meio de cultura e a interpretação dos resultados.⁽⁵⁾ As consequências médicas e econômicas das hemoculturas falso-positivas resultam em hospitalizações prolongadas, estudos diagnósticos adicionais, remoção de cateteres sem necessidade e administração inapropriada de agentes antimicrobianos.^(5,6) É imprescindível que os profissionais responsáveis pela coleta de sangue estejam cientes da finalidade da hemocultura, pois vários fatores indesejáveis podem permear a coleta de sangue e interferir, de forma direta ou indireta, no resultado do exame.^(5,7)

A maioria dos micro-organismos isolados são: Bacilos Gram negativos, leveduras, estreptococos beta hemolíticos, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus* sp. e *Staphylococcus* sp. Os isolados mais problemáticos são os estafilococos coagulase negativa, pois além de serem espécies que causam cada vez mais bacteremia verdadeira, também fazem parte da microbiota da pele.⁽⁶⁾ A conduta ideal para uma suspeita de bacteremia por *Staphylococcus* sp. coagulase negativa é incluir mais de uma amostra de hemocultura antes do início do tratamento antimicrobiano, evitando o emprego indiscriminado de antibióticos.^(5,6,8)

Sendo assim, este estudo tem como objetivo analisar os resultados dos exames de hemocultura obtidos de um laboratório de referência em análises clínicas na cidade de Caxias do Sul, RS, como forma de reconhecer os micro-organismos isolados com maior frequência nessas amostras, bem como descrever o perfil de resistência microbiana dos micro-organismos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo se caracteriza como transversal, retrospectivo e analítico. Os dados foram obtidos de prontuários laboratoriais de exames de hemocultura realizados em pacientes internados em um hospital, na cidade de Caxias do Sul, RS, no período de janeiro de 2012 a agosto de 2013, sendo o número amostral por conveniência.

Todos os resultados de pacientes com hemocultura desse período que apresentaram resultado positivo foram selecionados e separados por gênero (feminino e masculino). Verificou-se qual era o patógeno responsável pela infecção bacteriana e o perfil de resistência de agentes antimicrobianos. Os pacientes com resultado negativo para hemocultura foram excluídos do estudo.

Em relação ao setor de internação, as amostras foram agrupadas nos seguintes segmentos: hemodiálise, pronto atendimento, setores (leitos de internação), Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) adulto e neonatal. Os acessos de coleta de hemoculturas foram classificados da seguinte

maneira: acesso periférico, central, cateter de diálise, cateter de Shylei e fístula.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de q-quadrado, com níveis de significância de $p \leq 0,05$. O software utilizado para a análise estatística será o SPSS 20.0 para Windows.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Círculo Operário Caxiense Faculdade da Serra Gaúcha em 06 de maio de 2014, com parecer número 636.669 (relatoria 05/05/2014).

RESULTADOS

No período compreendido entre janeiro de 2012 e agosto de 2013 foram analisadas 2.832 amostras de hemoculturas, de pacientes hospitalizados, em banco de dados de um laboratório de análises clínicas de Caxias do Sul, RS. Desse total, foram incluídas 248 amostras (8,8%) positivas e excluídas 2.584 amostras (91,2%) por apresentarem resultados negativos. Dentre as amostras positivas, 140 (56,4%) eram do sexo masculino e 108 (43,5%) do sexo feminino.

Os micro-organismos do gênero *Staphylococcus* sp. foram responsáveis pela maioria das infecções bacterianas, identificado em 150 (56,6%) amostras de hemocultura positivas. Na Figura 1 estão apresentados todos os micro-organismos isolados e analisados, onde se observa: maior frequência de amostras positivas de hemoculturas por *Staphylococcus* coagulase negativa (45,6%), seguida de *Pseudomonas* sp. (20,2%), *Staphylococcus aureus* (14,9%), *Escherichia coli* (12,5%), *Klebsiella* sp. (6,0%) e *Proteus* sp. (0,8%). Na infecção por *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa) foi verificada maior prevalência em mulheres em relação aos homens ($p \leq 0,006$).

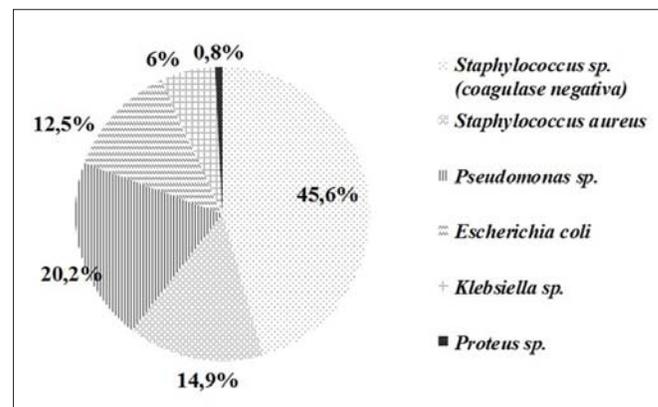


Figura 1. Percentual de micro-organismos isolados em hemoculturas positivas de pacientes internados.

O setor mais acometido foi a UTI adulto, com 91 casos (36,6%). Correlacionando os micro-organismos isolados com os respectivos setores de internação têm-se resul-

tados estatisticamente significantes, conforme mostrados na Tabela 1. A UTI neonatal foi o setor com menor ocorrência de hemoculturas positivas com somente dois casos (0,8%), não apresentando valores estatisticamente significantes para os micro-organismos isolados.

O acesso periférico foi o que mais apresentou hemoculturas positivas, com 202 casos (81,4%), seguido do acesso central com 41 casos (16,5%).

A correlação dos micro-organismos isolados com os respectivos acessos de coleta pode ser observada na Tabela 2. A Tabela 3 apresenta a prevalência de resistência microbiana apresentada pelos micro-organismos *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa) e *Staphylococcus aureus*, ambos do grupo das bactérias Gram positivas. O perfil de resistência bacteriana do grupo das bactérias Gram negativas está representado na Tabela 4.

Tabela 1 - Correlação de resultados estatisticamente significativos com setores de internação.

Setor	Microrganismo	p (valor)
Hemodiálise	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,001
Pronto atendimento	<i>Staphylococcus</i> sp. (coagulase negativa)	0,031
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,029
	<i>Escherichia coli</i>	0,001
Setores (leitos de internação)	<i>Staphylococcus</i> sp. (coagulase negativa)	0,001
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,001
	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,001
	<i>Escherichia coli</i>	0,001
	<i>Klebsiella</i> sp.	0,044
UTI adulto	<i>Staphylococcus</i> sp. (coagulase negativa)	0,001
	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,001
	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,032
	<i>Klebsiella</i> sp.	0,002

UTI - Unidade Intensiva de Tratamento
Resultados estatisticamente significativos pelo teste de q-quadrado ($\leq ?0,05$).

Tabela 2 - Correlação de resultados estatisticamente significativos com acessos de coleta

Acesso de coleta	Microrganismo	p (valor)
Hemodiálise	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,001
Periférico	<i>Klebsiella</i> sp.	0,027
Central	<i>Klebsiella</i> sp.	0,012
Cateter de diálise	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,017
Cateter de Shylei	<i>Escherichia coli</i>	0,008
Fístula	<i>Pseudomonas</i> sp.	0,001

Resultados estatisticamente significativos pelo teste de q-quadrado ($\leq ?0,05$).

Tabela 3 - Perfil de resistência das bactérias Gram positivas aos antimicrobianos testados.

Antibióticos	<i>Staphylococcus</i> sp. (coagulase negativa)		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	N = 113	N = 37	nº	%
PEN	110	97,3	33	89,1
GEN	61	53,9	2	1,7
ERI	81	71,6	12	32,4
CLI	76	67,2	35	94,5
SUT	74	65,4	2	32,4
OXA	66	58,4	6	16,2
CIP	85	75,2	7	18,9
APS	63	55,7	6	16,2

N: número de amostras; nº: quantidade de amostras resistentes;
PEN: penicilina; GEN: gentamicina; ERI: eritromicina;
CLI: clindamicina; SUT: sulfametoxazol; OXA: oxacilina;
CIP: ciprofloxacina, APS: ampicilina.

Tabela 4 - Perfil de resistência das bactérias Gram negativas aos antimicrobianos testados

Microrganismo	Antibiótico	%
<i>Pseudomonas</i> sp.	CAZ	68
<i>Escherichia coli</i>	AMP	77,4
<i>Klebsiella</i> sp.	AMP	100
<i>Proteus</i> sp.	Sulfa	100

CAZ: ceftazidima; AMP: ampicilina; Sulfa: sulfametoxanol

DISCUSSÃO

As infecções da corrente sanguínea (ICS) estão entre as mais frequentes no ambiente hospitalar e representam uma grave complicação do processo infeccioso nos pacientes críticos, sendo associadas a elevadas taxas de mortalidade e prolongamento do tempo de hospitalização, o que torna a hemocultura um exame de significativo valor preditivo de infecção,⁽⁹⁾ pois visa à detecção de micro-organismos viáveis na corrente sanguínea.⁽¹⁰⁾

As bactérias Gram positivas, principalmente do gênero *Staphylococcus*, vêm causando muito transtorno, sendo responsáveis por infecções na corrente sanguínea, o que representa uma importante causa de mortalidade e aumento significativo nos custos hospitalares.⁽¹¹⁾ Conhecer os micro-organismos mais frequentes e o seu perfil de susceptibilidade é essencial ao direcionamento apropriado da terapia antimicrobiana para os pacientes com infecção de

corrente sanguínea, contribuindo assim para a redução da mortalidade.⁽¹²⁾

Em um estudo realizado por Magalhães et al. foram analisadas 735 hemoculturas de interesse clínico, das quais 160 (22%) foram positivas para o crescimento bacteriano e 575 (78%) foram negativas.⁽¹³⁾ Os resultados obtidos em nosso estudo são compatíveis: do total de 2.832 amostras de hemoculturas, de pacientes internados, 2.584 (91,2%) amostras tiveram resultado negativo, enquanto que 248 (8,8%) foram consideradas positivas para algum patógeno, demonstrando pequeno número de positividade. A sensibilidade das hemoculturas é variável de acordo com práticas institucionais de hospitais e laboratórios, e é baixa em pacientes que já estão em uso de antimicrobianos.

No presente estudo, a incidência de hemoculturas positivas analisadas foi de 56,4% para o sexo masculino e de 43,5% para o sexo feminino. Corroborando com esse resultado, está um estudo realizado no período de seis meses, onde foram analisados os resultados de exames de hemoculturas de 170 pacientes hospitalizados, internados em UTI, sendo a positividade de hemoculturas maior no sexo masculino (27,3%) em relação ao sexo feminino (19,1%).⁽¹⁴⁾

Durante a última década, considerável progresso na classificação sistemática dos estafilococos tem permitido aos clínicos se inteirar da variedade de ECN presentes em amostras clínicas e, assim, considerá-los como agentes etiológicos de uma série de processos infecciosos.⁽¹⁵⁾ A confirmação da incidência de *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa) pode ser observada ao longo deste estudo, no qual houve a prevalência de 46,5% deste micro-organismo nas amostras de hemocultura positivas analisadas. Nos resultados obtidos por um estudo realizado em Goiânia,⁽¹⁶⁾ os dados referentes à frequência de bactérias Gram positivas apresentam *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa) o micro-organismo mais prevalente (23,50%), seguido de *Staphylococcus aureus* (21,15%), *Enterococcus* sp. (5,29%), *Streptococcus* sp. (1,76%) e *Leuconostoc* sp. (0,60%).

Resultados do nosso estudo revelam que 36,6% das amostras de hemocultura positivas foram detectadas no setor da UTI adulto. Este tópico pode ser explicado segundo o estudo que relaciona o fato de que pacientes internados em instituições de saúde estão expostos a uma ampla variedade de micro-organismos patogênicos, principalmente em UTI, onde o uso de antimicrobianos potentes e de largo espectro é a regra e os procedimentos invasivos é rotina.⁽¹⁷⁾

Neste estudo houve uma prevalência dos acessos periféricos de coleta de hemoculturas (81,4%) em comparação aos resultados positivos nos acessos centrais (16,5%), o que demonstra um bom manejo desses cateteres pelos profissionais de cuidado à saúde. O cateter venoso central (CVC) é uma importante porta de entrada para

que micro-organismos possam atingir a corrente sanguínea, causando então a bacteremia, fator que também se relaciona à permanência prolongada nas UTIs, elevando ainda mais a morbimortalidade desses pacientes.^(18,19) Quando há bacteremia, os agentes mais frequentemente isolados são *Pseudomonas aeruginosa*^(17,18) e *Staphylococcus* sp. coagulase negativa.⁽¹⁸⁾ Na ponta do CVC, a bactéria mais encontrada é o *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa), sendo que o segundo agente mais prevalente é o *Staphylococcus aureus*.^(19,21)

Em relação ao perfil de susceptibilidade antimicrobiana dos cocos Gram positivos, um estudo constatou que todos os isolados caracterizados como *Staphylococcus aureus* e 83,3% dos *Staphylococcus* sp. (coagulase negativos) foram resistentes à ampicilina. Observou-se uma elevada taxa de resistência à oxacilina (66,7%) entre estes isolados.⁽²²⁾ Os resultados obtidos neste estudo mostram o perfil de *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa) e *Staphylococcus aureus*, onde ambos apresentaram maior resistência a penicilina, seguida da clindamicina.

As cepas de MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a metilina) são resistentes às cefalosporinas. Quanto ao tratamento, devem se utilizar drogas mais potentes, como a vancomicina. Porém, raras cepas conseguiram desenvolver resistência a vancomicina, o que se torna preocupante pelo fato dessa droga ser usada como última opção para tratamento.⁽²³⁾ Os principais fatores relacionados com a resistência intermediária à vancomicina têm sido o tempo de tratamento prolongado e o seu uso em larga escala; porém, outros fatores, como o desenvolvimento de tolerância, a concentração sérica da droga alcançada durante o tratamento e a resposta imunológica do paciente podem favorecer o surgimento de cepas resistentes a vancomicina.⁽²⁴⁻²⁷⁾ A tolerância aos antimicrobianos é definida como a capacidade da bactéria mostrar-se sensível à concentração inibitória mínima, ou seja, não sofrer ação da concentração bactericida mínima habitual.^(24,28-30) Simplificando, a bactéria torna-se incapaz de multiplicar-se, mas ainda pode permanecer viável no sítio de infecção.

No estudo em questão, a vancomicina foi testada em cepas de estafilococos que apresentaram resistência ao antimicrobiano oxacilina. A vancomicina foi testada em 64 amostras de estafilococos, ou seja, 42,6% das amostras totais dos micro-organismos Gram positivos. Os resultados mostraram que a vancomicina apresentou-se eficiente em todas as amostras testadas. O antibiótico vancomicina interfere no funcionamento celular das bactérias, que acabam enfraquecidas e eliminadas do organismo, diminuindo sintomas como dor, inflamação e irritação causada pelas infecções bacterianas.

Entre as enterobactérias, Leão et al.⁽²²⁾ concluíram que a maior taxa de resistência observada foi para ampicilina (100%), seguida pelo sulfametoxazol trimetoprim (70%) e

piperacilinatzobactam (60%). Todos os isolados foram sensíveis as carbapenemas. No presente estudo, as enterobactérias apresentaram maior resistência aos antibióticos ampicilina (88,7%), cefalotina (69%) e sulfametoxazol-trimetoprim (65,8%). Em outro estudo, foram isolados os seguintes micro-organismos: *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* e todas as bactérias Gram-positivas foram sensíveis à daptomicina.⁽³¹⁾

CONCLUSÕES

Com este estudo é possível concluir que a bactéria mais frequentemente isolada em infecções da corrente sanguínea em pacientes hospitalizados é o *Staphylococcus* sp. (coagulase negativa), seguida de *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus aureus* e, das enterobactérias, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Proteus* sp. As bactérias Gram positivas estão entre os principais patógenos isolados, inclusive apresentando a maior taxa de resistência aos antimicrobianos. A resistência das cepas isoladas revelou-se alta diante dos antibióticos mais utilizados no tratamento de infecções da corrente sanguínea. Essa crescente resistência torna-se um dos principais problemas de saúde, afetando países do mundo todo. Isso ocorre principalmente em consequência da administração inadequada dos antibióticos.

Os resultados obtidos demonstram a importância do uso adequado e racional de antibióticos, indicados por profissionais especializados, após a posterior identificação bacteriana e resultado do antibiograma. O conhecimento dos patógenos responsáveis por infecções da corrente sanguínea, assim como a correta identificação do seu perfil de resistência são de importância relevante, pois auxiliam na orientação do paciente assim como no acompanhamento terapêutico por parte do médico responsável, além de contribuir para o conhecimento dos padrões de resistências locais.

Este estudo teve como referência análises de resultados de hemoculturas positivas provenientes de pacientes internados. Porém, informações clínicas dos pacientes não foram possíveis de serem obtidas. Mesmo com essas limitações, pode-se chegar aos objetivos propostos de identificar a prevalência dos micro-organismos isolados em hemoculturas de pacientes internados, além de estabelecer a frequência desses patógenos nos acessos de coleta e nos setores de internação.

Abstract

Objective: Analyze the results of blood culture tests obtained from reference laboratory for clinical analysis in the city of Caxias do Sul/RS, as a way to recognize the microorganisms isolated most frequently in positive samples of blood cultures and describe microbial resistance profile isolated microorganisms. **Methods:** We conducted a cross-

sectional, retrospective and analytical study. In a laboratory database in the city of Caxias do Sul / RS was observed results of blood culture, from January 2012 to August 2013, performed in patients admitted to a hospital. It was based on results from positive blood cultures, and the negative deleted. The isolated microorganisms were evaluated the prevalence and antimicrobial resistance profile. **Results:** 2.832 results were evaluated of blood cultures, of which 2.584 (91.2%) had to be negative, whereas 248 (8.8%) were positive for a pathogen. Among the positive blood cultures, 140 (56,4%) were from male patients, while 108 (43,5%) were from female patients. In regard to the hospital sections, the most affected one was the UTI adult, with 91 samples (36,6%). The access port for blood collection with most positive cultures was the peripheral access (202 samples, or 81,4% of the samples). The Gram positive bacteria showed high resistance to the following antibiotics: penicillin, ciprofloxacin and clindamycin. On the other hand, the Gram negative bacteria showed high resistance to ceftazidime, ampicillin, sulfamethoxazole and trimethoprim. **Conclusion:** This study brings about the knowledge of blood cultures and its associated factors.

Keywords

Bacteremia; Drug resistance, Bacterial; Cross infection

REFERÊNCIAS

- O'Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, Bleck T, Garvey G, Jacobi J, et al. Practice Guidelines for Evaluating new fever in critically adult Patients. Clin Infect Dis. 1998;26:104-259.
- Merck, Manual Merck de Informação Médica (2010), 2ª Edição, Editora Roca Brasil, São Paulo.
- Fernandes AP, Silva CJ, Costa C, Schreiber AZ, Mello FA, Teixeira Loyola ABA. Incidência bacteriana em hemoculturas no Hospital das Clínicas Samuel Libânio de Pouso Alegre MG. REAS, Revista Eletrônica Acervo Saúde, 2011. Vol. 2, 122-33.
- Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin Microbiol Rev. 1997 Jul;10(3):444-65.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM. Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido, 6ª Edição, Guanabara Koogan. São Paulo, 2001.
- Dal forno NLF, Campos AS, Rosa LC, Godoy LP, Noal AL, Horner R. Influência do volume de sangue no exame de hemocultura utilizando o sistema automatizado em hospital de ensino. Rev bras anal clin. 2005;37(1):79.
- Braz DML. Prevalência bacteriana nas hemoculturas do hospital de urgência da região sudeste (HURSO)-Go, 2013.
- Silbert S, Rosa DD, Matte U, Goldim JR, Barcellos SH, Procianny R. *Staphylococcus* sp coagulase negativa em hemoculturas de pacientes com menos de sessenta dias de idade: infecção versus contaminação? J Pediatría. 1997;73(3):161-5.
- Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. J Clin Microbiol. 2003 Jan;41(1):495-7.
- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler K. Bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infection: frequencies of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(7):1762-70.
- Araújo DG, Oliveira MEF, Oliveira SR - 2015 - repositório.asc.es.edu.br
- O'Connor TA, Ringer KM, Gaddis ML. Mean platelet volume during coagulase negative Staphylococcal sepsis in neonates. Am J Clin Pathol. 1993 Jan;99(1):69-71.
- Magalhães LS, Abreu ES, Pussente CG; Oliveira CGA. Incidência e perfil de sensibilidade e resistência das estirpes bacterianas isoladas das hemoculturas de um hospital oncológico. Revista Científica da FAMINAS. 2014;10:39.

14. Alves LNS, Oliveira CR, Silva LAP, Gervásio SMD, Alves SR, Sgavioli GM. Hemoculturas: estudo da prevalência dos micro-organismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos utilizados em Unidade de Terapia Intensiva. *Rev Inst Ciênc Saúde*. 2012;30(1):44-7.
15. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev*. 1994 Jan;7(1):117-40.
16. Sousa MA, Medeiros NM, Carneiro JR, Cardoso AM. Hemoculturas positivas de pacientes da unidade de terapia intensiva de um hospital escola de Goiânia-GO, entre 2010 e 2013. *Estudos*. 2014; 41(3):627-35.
17. Moura ME, Campelo SM, Brito FC, Batista OM, Araújo TM, Oliveira AD. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público de ensino. *Rev Bras Enferm*. 2007;60(4):416-21.
18. Mesiano ERA, MerchánHamann E. Bloodstream infections among patients using central venous catheters in intensive care units. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2007;15(3):453-9.
19. Basile Filho A, Oliveira e Castro PT, Pereira Júnior GA, Marson F, Júnior Mattar L, Costa JC. Sepses primária, relacionada ao cateter venoso central. *Medicina (Ribeirão Preto)*. Online. 1998;31(3):36-8.
20. Sales Júnior JAL, David CM, Hatum R, Souza PCSP, Japiassú A, Pinheiro CTS, Friedman G, Silva OB, Dias MD, Koterba E, Dias FS, Piras C, Luiz RR. Sepses Brasil: estudo epidemiológico da sepsis em unidades de terapia intensiva brasileiras. *Rev Bras Terap Intensiva* 2006;18(1):9-17.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the prevention of intravascular catheter related infections. *MMWR* 2002;51(No. RR10):129.
22. Leão LSNO, Passos XS, Reis C, Valadão LMA, Silva MRR, Pimenta FC. Fenotipagem de bactérias isoladas em hemoculturas de pacientes críticos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(5):537-40.
23. Rossi F, Andreazzi DB. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: 2005.
24. Handwerker S, Tomasz A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Rev Infect Dis*. 1985 May-Jun;7(3):368-86.
25. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 1997 Jul;40(1):135-6.
26. Perry JD, Jones AL, Gould FK. Glicopeptide tolerance in bacteria causing endocarditis. *J Antimicrob Chemother*. 1999 Jul;44(1): 121-4.
27. Oliveira GA, Levy CE, Mamizuka EM. *Staphylococcus aureus* apresentando resistência intermediária à vancomicina: mecanismos de resistência, detecção laboratorial e perspectivas de emergência no Brasil. *J Bras Patol*. 2000;36(2):96-102.
28. Amsterdam D. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In: Lorian, V. *Antibiotics in laboratory medicine*. 3.ed., Baltimore: Williams & Wilkins. 1991;3:53-105.
29. Tavares W. (1996). *Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos*. Atheneu: São Paulo.
30. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, editors. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th edn. New York: JB Lipincott, 1997.
31. Rampelotto RF, Hörner R, Nunes RMS, Litiéri LLR, Silvana Oliveira Santos SO, Bottega A. Análise do Perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos de bactérias isoladas de bacteremias em um hospital universitário, *Revista Cubana de Farmácia*. 2015;49(1):61-9.

Correspondência

Adriana Dalpicoli Rodrigues
Rua Os Dezoito do Forte, 2366
95020472 – Caxias do Sul, RS

Padronização da qualidade: alinhando melhorias contínuas nos laboratórios de análises clínicas

Quality standardization: aligning continuous improvements in the clinical analysis laboratories

Valter Soares Dias¹

Fernanda Rocha da Silva Barquette²

Alexandre Ribeiro Bello³

Resumo

Objetivos: Avaliar a qualidade do processo laboratorial por meio da padronização e melhorias nos serviços de saúde localizados na cidade do Rio de Janeiro e contribuir para os laboratórios não certificados em sistemas da qualidade e/ou acreditados a adquirir um programa de implantação. **Métodos:** Este estudo descritivo foi desenvolvido por meio de pesquisa bibliográfica onde foram identificados artigos na literatura pertinente relacionados ao tema proposto. **Resultados:** Os percentuais dos laboratórios credenciados nos sistemas de padronização da qualidade no Rio de Janeiro foram: 21 (6,37%) dos laboratórios clínicos utilizam o Sistema Nacional de Acreditação – DICQ; 07 (2,12%), o Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos – PALC; 274 (83,03%), o Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ e 115 (34,84%) o Programa de Excelência de Laboratórios Médicos (PELM)/ Controllab. E, nos hospitais, 19 (82,60%), o sistema da Organização Nacional de Acreditação (ONA). **Conclusão:** A abordagem proposta de padronização complementar ao sistema de gestão da qualidade (SGQ) deverá ser utilizada nos laboratórios de análises clínicas, sua aplicação, implantação de fases, utilização das ferramentas da qualidade, mostrando-se válida e útil para uma avaliação, alinhando melhorias contínuas nos processos de gestão em medicina laboratorial.

Palavras-chave

Acreditação; Gestão de Qualidade; Controle de Qualidade; Melhoria de Qualidade

INTRODUÇÃO

Nos serviços de saúde, especificamente em medicina laboratorial, os laboratórios de análises clínicas contribuem em evidências dos testes laboratoriais, nas avaliações, tomada de decisão clínica, no diagnóstico, prevenção e liberação dos resultados.⁽¹⁾

Faz-se imprescindível a obtenção de resultados confiáveis, precisos e controlados por órgão de inspeção, vigilância sanitária, para atender aos clientes, sejam médicos ou os pacientes, a fim de garantir a sua satisfação.⁽²⁾

Desta maneira, o laboratório de análises clínicas, como serviço de saúde, se presta da mesma forma a atender seus clientes com rapidez, segurança, eficiência e eficácia.⁽³⁾

Com as exigências do mercado, renovação de contratos e gastos no orçamento, as empresas estão encon-

trando dificuldades na integração dos processos de gestão da qualidade, sendo obrigadas a estabelecer sistemas internos de gestão para atender as peculiaridades do mercado e exigências da vigilância sanitária.⁽⁴⁾

Sendo assim, os laboratórios clínicos vêm aprimorando o sistema de gestão da qualidade com o uso de procedimentos padronizados, condizentes com regulamentações técnicas e boas práticas de laboratório, podendo garantir a confiabilidade dos resultados com o mínimo de erros e interferências e a integridade das pessoas, instalações e equipamentos.⁽⁵⁾

Além disso, a padronização deve ocorrer para o efetivo sucesso do sistema de gestão da qualidade em laboratórios clínicos. No entanto, eles vêm sendo inspecionados frequentemente pelo órgão de inspeção sanitária – Vigilância Sanitária.⁽⁴⁾

¹Mestrando do Programa em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Mestre em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³Professor Associado – Faculdade de Ciências Médicas – Disciplina de Parasitologia – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Instituição: Faculdade de Ciências Médicas - Disciplina de Parasitologia – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) – Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Artigo recebido em 12/10/2016

Artigo aprovado em 15/02/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700540

Sendo assim, o laboratório clínico inicia com a escolha do modelo padrão, implantação, ajustes e treinamentos necessários para que ocorra notável execução das atividades estabelecidas. Depois que todo o sistema da qualidade estiver padronizado poderemos checar a sua importância para o bom desempenho das funções.

Constatou-se ainda que a implantação do sistema de gestão da qualidade em laboratório clínico requer o comprometimento da direção quanto às mudanças necessárias para tal iniciativa, pois são necessários esforços constantes para incorporar, em toda a equipe e níveis hierárquicos, os conceitos da busca de melhoria contínua.⁽⁶⁾

Observou-se que o processo de implantação ou implementação de um sistema de gestão da qualidade em laboratórios de análises clínicas faz parte dos serviços de saúde na aquisição de resultados mais confiáveis, precisos, exatos, eficientes, de qualidade.

Assim, a implementação deste sistema nos laboratórios clínicos é de grande importância, uma vez que possibilita a rastreabilidade dos processos administrativos e analíticos, contribuindo na obtenção de resultados precisos, com maior confiabilidade.

Este estudo tem por objetivo analisar alguns requisitos do processo de implementação do sistema de gestão da qualidade, os principais sistemas de padronização da qualidade do Brasil, a quantidade de laboratórios filiados a esses sistemas no estado do Rio de Janeiro, sua carência e as principais etapas de implementação referente ao tutorial do PNCQ Gestor.⁽⁷⁾

Dentro desta perspectiva, o PNCQ Gestor possui um *software* de instalação, aceito e adotado em todo os estados do Brasil. É o referenciado pelo Sistema Nacional de Acreditação – DICQ/SBAC, da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. Atualmente, vem crescendo e conta com 293 laboratórios acreditados no Brasil. A implantação do sistema brasileiro é voluntário, coordenado pelo DICQ e tem se mostrado uma importante iniciativa aos laboratórios clínicos.⁽⁸⁾

É importante salientar que o PNCQ⁽⁷⁾ coloca à disposição dos seus clientes e demais laboratórios clínicos do país exemplos de documentação necessária para a implantação de um sistema de gestão da qualidade que identifica, planeja e padroniza todos os processos que são realizados no laboratório clínico, assim como ferramentas adicionais para o controle e avaliação de acordo com os requisitos exigidos por normas de acreditação DICQ e ONA.^(8,9)

Sendo assim, a acreditação é o reconhecimento realizado por agência governamental, ou não, de que a organização atende a requisitos predeterminados para a realização de tarefas específicas. Nos laboratórios de análises clínicas, a certificação tem o objetivo de criar ou melhorar os padrões da prática laboratorial, de modo a reduzir os riscos de danos na prestação de serviços e aumentar a probabilidade de bons resultados.⁽⁸⁾

No Brasil foram criados os programas de acreditação brasileiros, como o Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), e o Departamento de Inspeção e Credenciamento da Qualidade (DICQ) da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC). Além disso, surgiram, no Brasil, nas décadas de 1970-80, os programas de controle da qualidade em laboratório clínico, como o Proficiência em Ensaios Laboratoriais (PELM) e o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ). Esses sistemas são utilizados para atender às necessidades de ampla e melhor avaliação dos laboratórios clínicos.^(7,10,11)

Com a qualidade melhorada, os desperdícios podem ser evitados, reduzindo-se os custos e aumentando-se a produtividade, e, com isso, haverá melhora da competitividade no mercado.⁽¹¹⁾

Este estudo tem por objetivo avaliar a qualidade do processo laboratorial por meio da padronização e melhorias nos serviços de saúde localizados na cidade do Rio de Janeiro e contribuir para laboratórios não certificados em sistemas da qualidade e/ou acreditados num estudo de implantação de fases do sistema de gestão da qualidade.

REVISÃO DA LITERATURA

Sistema de Gestão da Qualidade

O sistema de gestão da qualidade, nas últimas décadas, alcançou avanços de modernização de metodologias mais exatas e abrangentes, assim como a disponibilização de equipamentos modernos e sofisticados para o diagnóstico laboratorial, confirmando que os profissionais analistas exercem uma atividade sanitária importante e obrigando os mesmos a uma atualização contínua para exercer sua profissão com a qualidade necessária às exigências dos clientes e da coletividade.⁽⁷⁾

Neste sentido, é necessário reafirmar que a formação e adequação dos profissionais, sua atualização científica e seus conhecimentos de gestão proporcionam uma constante atualização dos processos, fornecendo laudos precisos e exatos para auxiliar o médico na obtenção de diagnósticos conclusivos para os seus pacientes.⁽⁷⁾

Observou-se que dentre várias vantagens de um sistema de gestão da qualidade existem benefícios que permitem que a organização identifique e atenda todas as necessidades e expectativas esperadas pelos seus clientes e de todas as partes envolvidas, como funcionários, fornecedores, comunidade, para alcançar vantagens competitivas em relação aos seus concorrentes, fazendo-a de modo eficiente e eficaz, tornando provável alcançar, sustentar e aperfeiçoar o desempenho organizacional.⁽⁵⁾

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo aplicado caracteriza-se de forma descritiva, desde que procure se referir ordenadamente a uma área de interesse.⁽¹²⁾ No entanto, ainda pode ser definido como sendo exploratório, uma vez que se procura entender, em sua fase inicial, um elemento, para depois explanar suas causas e consequências.⁽¹³⁾

Este estudo foi desenvolvido no período de agosto a setembro de 2016, referente às empresas de padronização dos sistemas de qualidade localizadas no Rio de Janeiro. Para a avaliação da utilização dos diversos sistemas de padronização e a situação da gestão de qualidade nos laboratórios, realizamos a pesquisa com 330 Laboratórios de Análises Clínicas da região metropolitana do Rio de Janeiro, dois sistemas de acreditação, dois programas de controle da qualidade e 23 hospitais na cidade do Rio de Janeiro. Os dados disponíveis desta pesquisa ocorreram por contatos telefônicos, e-mail e visitas às unidades de serviço.

Para seleção das informações foi realizado um levantamento quantitativo dos laboratórios do Rio de Janeiro, dos órgãos de acreditação, do sistema de controle de qualidade PNCQ/Controllab e fases de implantação no sistema de gestão da qualidade, na literatura, por meio de busca nas bibliotecas SciELO, Lilacs, MedLine, Cochrane, IBICS e PubMed, utilizando as seguintes palavras-chave: órgãos de acreditação no Brasil, programas de controle de qualidade em laboratórios clínicos, sistema de gestão da qualidade, sistemas de padronização, fases de implantação da qualidade.^(7,8,10,11,14-18) Neste sentido, as fases de implantação do sistema de gestão da qualidade foram selecionadas por cinco autores (Quadro 1).

SISTEMAS DE PADRONIZAÇÃO DA QUALIDADE

Existem hoje no Brasil quatro organismos que possuem requisitos específicos para a acreditação de um sistema de gestão da qualidade para os laboratórios clínicos:

DICQ – Sistema Nacional de Acreditação – é uma empresa técnico-científica, patrocinada pela SBAC (Sociedade Brasileira de Análises Clínicas), que tem por objetivo a realização de inspeção, de auditorias, credenciamento e acreditação do sistema de qualidade dos laboratórios clínicos e de organizações que prestam serviços de saúde, utilizando critérios próprios.⁽⁸⁾

Após a realização de auditorias e avaliação do relatório final, concede ao laboratório o Certificado de Credenciamento ou Acreditação do Sistema de Qualidade, com validade de um ano. Este sistema criou o PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade, o primeiro como provedor de ensaios de proficiência e de consultoria para a gestão da qualidade.

ONA – Organização Nacional de Acreditação: é uma organização não governamental, sem fins lucrativos, de direito coletivo, que tem por objetivo a implantação de um processo permanente de avaliação e de certificação de qualidade dos serviços de saúde. Fornece cursos de capacitação, diagnóstico organizacional, avaliação e certificação dentro do Sistema Brasileiro de Acreditação.⁽⁹⁾

PALC – Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos, patrocinado pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial – SBPC/MIL. A mesma Sociedade lançou o Programa de Excelência de Laboratórios Médicos (PELM)/Controllab.⁽¹⁰⁾

Normas ISO: normas adotadas pelo INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, por meio da NIT-DICLA-035 e

Quadro1 - Fases de implantação sinalizadas por autores.

Fernandes et al., 2012	Waclawovsky et al., 2010	Souza et al., 2009	Vasconcelos et al., 2007	Kravchychyn et al., 2006
Requisitos Gerais do SG	Planejamento e definição	Escopo e objetivos	Requisitos gerais	Equipe gestora comprometida
Política da qualidade	Preparação- política do SG a ser seguida	Processos Operacionais Internos	Política do sistema de gestão	Mapeamento dos Processos
Planejamento	Detalhamento e implementação - estratégia	Estrutura operacional	Planejamento, equipe gestora	Escopo e objetivos da qualidade
Implementação, treinamento, documentação e controle	Auditorias internas	Processos de Apoio (contratados)	Implementação e operação	Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ)
Implementação, treinamento, documentação e controle	Auditorias internas	Processos de Apoio (contratados)	Implementação e operação	Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ)
Controle da qualidade	Análise crítica pela direção	Medição, análise e	Melhoria	Gestão de Recursos

Fonte: Elaborado pelo autor

ISO 15189:2008.⁽⁶⁾ Temos a ISO 9001, que pode ser aplicada a qualquer organização, e a ISO 15189, que é específica para laboratórios clínicos.

Todas estas entidades estabeleceram suas normas com base nas Boas Práticas do Laboratório Clínico, ISO 15.189:2008 e RDC 302:2005 da ANVISA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação da utilização dos diversos sistemas de padronização e seguindo as exigências normativas sobre os requisitos de gestão da qualidade nos laboratórios clínicos, realizamos um estudo quantitativo aos referentes laboratórios de análises clínicas da região do Rio de Janeiro. A pesquisa obteve um resultado de 330 laboratórios e 23 hospitais ativos em toda região metropolitana. Estas empresas fornecem aos seus associados ferramentas para que possam cumprir a legislação vigente, assim como propiciar oportunidades de melhorias contínuas em busca da qualidade dos seus laudos e em consequência diminuir os riscos aos clientes e pacientes.

Obtivemos os seguintes resultados:

- 21 (6,37%) dos laboratórios clínicos utilizam o DICQ.
- 7 (2,12%) dos laboratórios clínicos utilizam o PALC.
- 274 (83,03%) dos laboratórios clínicos utilizam o controle Interno e Externo do PNCQ.
- 115 (34,84%) dos laboratórios clínicos utilizam o controle Interno e Externo do Programa de Excelência de Laboratórios Médicos (PELM)/Controllab.
- 19 (82,6%) dos hospitais utilizam o sistema ONA.

Deduz-se assim que em torno de 26,36% dos laboratórios clínicos utilizam mais de um sistema de padronização.

Neste sentido, constatamos que a grande maioria dos laboratórios tem a preocupação em manter um sistema de controle de qualidade, seja apenas para os procedimentos e ensaios, ou englobando todo o sistema organizacional.

Dentro desta perspectiva, para a implantação dos requisitos de qualquer sistema de gestão da qualidade é necessária a realização de um modelo proposto com as fases de implantação e vantagens.⁽⁷⁾ A partir da coleta de dados são apresentados no Quadro 1.

- Diagnóstico e planejamento inicial: Inicia com o compromisso da direção da empresa e a cooperação manifestada por todos os membros da equipe que deve realizar o diagnóstico da situação atual do laboratório clínico, para o planejamento de um modelo novo de implantação do sistema.

- Formação de uma equipe de pessoas selecionadas, com conhecimento do funcionamento da empresa, para a preparação da implantação do sistema de gestão.

- Implantação da qualidade: A implantação de um sistema de gestão da qualidade em uma empresa deve ser monitorizada para avaliar os seus aspectos positivos e negativos e também para orientar as pessoas e demonstrar o interesse contínuo da organização pela qualidade.

- Mapeamento dos processos: as informações iniciais foram mapeadas sobre os processos das atividades realizadas, a fim de identificar e estabelecer as etapas mais críticas de uma atividade, definindo assim suas entradas e saídas. Com o resultado do mapeamento torna-se mais fácil a etapa posterior, a elaboração de procedimentos e instruções de trabalho que tornam possível o controle das atividades, usando uma abordagem sistêmica da gestão;

- Processos operacionais: nesta etapa são inseridas diretrizes das normas técnicas, especificações e manuais de treinamento para posterior verificação e realização do produto conforme o estipulado nas diretrizes;

- Planejamento da qualidade: etapa que contempla as etapas anteriores de diagnóstico inicial e elaboração do planejamento estratégico da organização. Pressupõe que o processo de planejar envolva um novo modo de pensar, questionamentos sobre o que será realizado, como, quando, quanto, para quem, por que, por quem e onde será feito.

- Preparação da modelagem documental: é necessária a existência de uma documentação básica para se escrever tudo que se faz na empresa e ser levado para um procedimento específico com itenização padronizada, com a finalidade de demonstrar o estado atual da empresa e detectar os requisitos que devem sofrer modificações, conhecer as suas causas e implantar ações corretivas ou preventivas. Esta modelagem deve ser realizada com a adequação da peculiaridade de cada empresa evitando, se possível, a descaracterização de cada laboratório clínico.

- Auditoria interna do sistema de gestão da qualidade: necessária para avaliar se o funcionamento planejado, com o decorrer do tempo, está em conformidade com os requisitos especificados e se há ou não necessidade de implementação de ações corretivas ou preventivas para adequação.

- Ações corretivas: as não conformidades encontradas pelas auditorias geram o plano de ação corretiva que busca maneiras de solucionar os problemas encontrados;

- Auditorias externas para certificação: após analisados os sistemas, auditorias internas e a verificação da eficácia das ações propostas, é feita a auditoria externa por organismos certificadores que não tenham vínculo à organização que está sendo auditada.

- Processo de acreditação: após a implantação do sistema de gestão da qualidade, o laboratório clínico pode solicitar a um organismo de acreditação, voluntariamente, a acreditação do seu sistema de gestão. Este processo de acreditação é definido e finalizado com uma auditoria

externa, realizada por profissionais especialistas em análises clínicas e em sistema de gestão da qualidade.

Portanto, seguindo as fases elaboradas pelo estudo mostraremos abaixo que obtivemos importantes resultados e possíveis mudanças na melhoria da qualidade de todos os processos dentro da empresa ou organização: (I) Diagnóstico e planejamento inicial; (II) Formação da equipe; (III) Implantação da qualidade; (IV) Mapeamento dos processos; (V) Processos operacionais; (VI) Planejamento da qualidade; (VII) Preparação da modelagem documental; (VIII) Auditoria interna do sistema de gestão da qualidade; (IX) Ações corretivas; (X) Auditorias externas para certificação; (XI) Processo de acreditação.

A implantação de um sistema da qualidade oferece vantagens:

- Motivação de todo o pessoal do laboratório clínico, já que passam a fazer parte de uma equipe ativa para as decisões de qualidade;
- Melhoria do sistema de gestão do laboratório, como conhecimento dos custos, aquisição de materiais, etc;
- Melhoria do sistema operativo do laboratório, pela da revisão e atualização dos procedimentos;
- Melhoria da relação com os fornecedores, médicos e pacientes;
- Possibilidade de divulgação e melhoria da imagem da empresa na comunidade e no mercado;
- Melhoria na avaliação e manutenção de equipamentos e instrumentos;
- Manutenção de registros possibilitando uma rastreabilidade de todos os produtos fornecidos para os usuários.

CONCLUSÃO

A abordagem proposta de padronização complementar ao sistema de gestão da qualidade (SGQ) deverá ser utilizada nos laboratórios de análises clínicas, sua aplicação, implantação de fases, utilização das ferramentas da qualidade, mostrando-se válida e útil para uma avaliação, alinhando melhorias contínuas nos processos de gestão em medicina laboratorial.

Neste sentido, conforme à avaliação, observou-se que há uma disparidade dos laboratórios participantes dos sistemas de controle de qualidade, ainda existindo laboratórios não cadastrados em sistemas da qualidade na região Rio de Janeiro. Foi observado que os laboratórios encontram maiores dificuldades no processo de implantação do sistema de gestão da qualidade em referência às normas de acreditação, obtendo poucos laboratórios acreditados na região.

Verificou-se que, embora os laboratórios da cidade apresentassem diferentes graus de implementação em relação ao sistema de gestão da qualidade, nem todos já ini-

ciaram o processo, embora alguns com maiores dificuldades que outros, e caminham rumo aos benefícios que a implantação desse sistema de gestão gera para eles.

Pode-se ressaltar a importância da sensibilização da direção do laboratório referente à política da qualidade para a efetiva implantação do sistema de gestão. Com o curso de capacitação, sobre a norma escolhida, a direção dos laboratórios não mostrará mais dificuldades no entendimento, na interpretação normativa e fará o envolvimento de toda a equipe na implantação do sistema de gestão da qualidade.

Abstract

Objectives: In this work we evaluated the quality of the laboratory process through standardization and improvements in health services located in the city of Rio de Janeiro and its contribution to the acquisition of a implantation program of quality or accreditation systems at not certified laboratories. **Methods:** This descriptive a study that was developed through bibliographic research where articles were identified in relevant literature related to the proposed theme. **Results:** The percentages of accredited laboratories in quality standardization systems in Rio de Janeiro were: 21 (6.37%) of the clinical laboratories use the National Accreditation System – DICQ; 07 (2.12%) use the Accreditation Program of Clinical Laboratories – PALC; 274 (83.03%), the National Quality Control Program (PNCQ) and 115 (34.84%) the Medical Laboratory Excellence Program (PELM)/Controllab. Nineteen hospitals (82.60%) were accredited by the National Accreditation System (ONA). **Conclusion:** The proposed approach of standardization complementary to the quality management system (QMS) should be used in clinical analysis laboratories, its application, phase implementation and quality tools as valid approaches for evaluation and continuous improvements in the management process in laboratory medicine.

Keywords

Accreditation; Quality Management; Quality Control; Quality Improvement

REFERÊNCIAS

1. Lippi G, Fostini R, Guidi GC. Quality Improvement in Laboratory Medicine: Extra-Analytical Issues. Clin Lab Med. Junho de 2008; 28(2):285-94.
2. Plebani M. Charting the course of medical laboratories in a changing environment. Clin Chim Acta. 21 de Maio de 2002;319(2):87-100.
3. Sarah Munhoz, Laís Helena Ramos ICKOC. Eficiência e eficácia do desempenho da enfermagem em procedimentos técnicos. Rev Bras Enferm. 2008;61(1):66-70.
4. Oliva R, Mary E, Bolson MM. Habilitação de Laboratórios Analíticos em Saúde Segundo os Requisitos da ISO/IEC 17025. 2a Edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), editor. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); 2002.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa no 302/2005 [Internet]. ANVISA. 2005 [citado 7 de Dezembro de 2016]. p. 13. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/legislacao/2005/51385>.
6. Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT. Norma NM. ISO 15189: 2008. Laboratórios de análises clínicas - Requisitos especiais de qualidade e competência. 2008.
7. Programa Nacional de Controle de Qualidade - PNCQ [Internet]. 2015 [citado 30 de Agosto de 2015]. Disponível em: <https://www.pncq.org.br/>
8. Sistema Nacional de Acreditação - DICQ. O que é acreditação? [Internet]. [citado 30 de Agosto de 2016]. Disponível em: <http://acreditacao.org.br/acreditacao/>

9. Organização Nacional de Acreditação - ONA. Conheça a ONA [Internet]. [citado 30 de Agosto de 2016]. Disponível em: <https://www.ona.org.br/Pagina/20/A-ONA>
10. Sociedade Brasileira de Pesquisa Clínica/Medicina Laboratorial - SBPC/ML. SBPC/ML: Programas da Qualidade/Controle de Qualidade [Internet]. [citado 30 de Agosto de 2016]. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/?C=133>
11. CHAVES, Carla D. Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas. J. Bras. Patol. Med. Lab. [online]. 2010, vol.46, n.5, pp.352-352. ISSN 1678-4774. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442010000500002>. Acesso em 30 ago. 2016.
12. Marconi M, Lakatos E. Fundamentos de metodologia científica. Editora Atlas S. A. São Paulo; 2003. 310 p.
13. Gil AC. Métodos e Técnicas de Pesquisa Social. 5a Edição. São Paulo: Editora Atlas; 1999. 206 p.
14. Fernandes JLS, Busanello F, Polacinski E, Godoy LP, Losekann AG, Lorenzett DB. Etapas necessárias para a implantação de um sistema de gestão integrado. Rev Adm da UFSM. 2015;8(1):60.
15. Waclawovsky EDSA, Batiz EC. Proposta de metodologia para implementação de sistemas de gestão integrados como ferramenta de apoio no alcance de resultados sustentáveis para as organizações. Em: Simpósio de Administração da Produção, Logística e Operações Internacionais - SIMPOI. São Paulo; 2010. p. 1-16.
16. Souza NL de, Franca VV. Sistema de Gestão Integrado uma Ferramenta na busca pela Excelência nas Pequenas e Médias Empresas. In: Encontro Nacional de Engenharia de Produção, XXIX, 2009, Salvador. Anais. Salvador: ENEGEP, 2009.
17. Vasconcelos DSC de, Melo MBF de. Aplicabilidade da Especificação PAS 99:2006 como Modelo Integrado de Gestão - Um Estudo de Caso. (2007). Disponível em: Acesso em: 30 ago. 2016.
18. Kravchychyn L, et al. Implantação de um sistema de gestão da qualidade conforme a Norma ABNT NBR ISO 9001:2000 no Laboratório de Controle de Processos do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da Universidade Federal da Santa Catarina (LCP-EQA-UFSC). (2006). Disponível em: http://www.peteps.ufsc.br/novo/attachments/091_Microsoft%20Word%20-%20LCP%20ENEGEP%202006.pdf. Acesso em 30 ago. 2016.

Correspondência

Valter Soares Dias

*Faculdade de Ciências Médicas - Disciplina de Parasitologia
Laboratório de Biologia Molecular
Av. Professor Manuel de Abreu, 444/5o andar – Vila Isabel
20550-170 – Rio de Janeiro, RJ*

Efeito do consumo de quitosana nos parâmetros lipídicos, glicêmicos e microbiota intestinal em ratos Wistar

Effect of chitosan consumption in lipidic parameters, glycemics and intestinal microflora in rats Wistar

Camila Giroto¹

Francielle Garghetti Battiston²

Luiza Vivan¹

Mateus Fracasso¹

Resumo

A obesidade tornou-se frequente em países em desenvolvimento, acarretando em problemas cardiovasculares e outras doenças metabólicas. Entre as formas de combater a obesidade está a alimentação saudável, principalmente com a inserção de fibras. O objetivo da pesquisa foi verificar se ocorreria redução na massa corpórea de ratos suplementados com quitosana, diminuição dos parâmetros lipídicos e glicêmicos e verificar seu efeito em relação à microbiota intestinal. Foram utilizados 16 ratos machos e 16 fêmeas da linhagem Wistar, os quais foram divididos em quatro grupos (n=4 machos e n=4 fêmeas), C, CQ, H e HQ. O tratamento teve duração de 71 dias. Houve redução na massa corporal dos grupos tratados com quitosana, porém, não significantes estatisticamente; no entanto, a ingestão alimentar nos grupos tratados com quitosana foi maior comparada a seus controles, os níveis de colesterol total, triglicerídeos e glicemia foram diminuídos em ratos suplementados com quitosana. A análise da microbiota intestinal demonstrou que a concentração de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, embora não tenha sido significativa estatisticamente, apresentou um aumento da concentração destas bactérias em ratos suplementados com a fibra. De acordo com os resultados obtidos no estudo, a quitosana age no controle da massa corpórea, especialmente pela ação no metabolismo dos lipídios, atuando também como um prebiótico, auxiliando no aumento da concentração de probióticos, regulando as funções da microbiota intestinal.

Palavras-chave

Quitosana; Obesidade; Microbiota intestinal; Parâmetros lipídicos

INTRODUÇÃO

A obesidade tornou-se frequente na população de países em desenvolvimento, independente da classe social, levando a ocorrência de *diabetes mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares. Entre as formas de combater a obesidade, a alimentação saudável com inserção de fibras favorece a perda e manutenção da massa corpórea. As fibras são de extrema importância, pois podem atuar no controle da absorção dos carboidratos e da glicemia bem como na diminuição de triglicerídeos e colesterol. Pode também estar relacionada com o aumento da massa bacteriana devido à fermentação das fibras alimentares.⁽¹⁾

A prevalência de doenças crônico-degenerativas e cardiovasculares tem aumentado nos últimos anos, e um dos principais fatores que desencadeiam estes problemas é devido ao excesso de gordura corporal, causado pelo aumento de açúcares simples e gorduras saturadas e gor-

duras trans. A diminuição do consumo de fontes vegetais ricas em fibras também é um dos fatores.⁽²⁾

Para a prevenção e o tratamento das doenças crônico-degenerativas é necessária a inclusão de atividade física e mudanças na dieta. A quitosana é a forma desacetilada da quitina, que é encontrada como constituinte do exoesqueleto de artrópodes tais como caranguejo, camarão, lagosta e outros insetos.⁽³⁾ Considerada como um alimento funcional pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ela auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol no corpo humano, sendo a gordura posteriormente eliminada pelas fezes. Promove ainda o aumento do bolo fecal e a frequência da defecação auxiliando como uma medida preventiva contra câncer de cólon.⁽⁴⁾

Diante do exposto, objetivou-se investigar os efeitos da quitosana e a sua importância em relação à diminuição de massa corpórea e dos níveis de colesterol, glicemia, e triglicerídeos. Verificar também possíveis alterações na

¹Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) – Campus de Xanxerê, SC, Brasil.

²Mestre em Ciências Fisiológicas – UFSC; Professora da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) – Campus de Xanxerê, SC, Brasil.

Instituição: Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) – Campus de Xanxerê, SC, Brasil.

Artigo recebido em 12/12/2016

Artigo aprovado em 30/01/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700553

microbiota intestinal de ratos wistar que realizam a suplementação com quitosana, para o equilíbrio do organismo e funcionamento intestinal adequado.

MATERIAL E MÉTODOS

Protocolo de Análise

Foram utilizados 32 ratos (16 machos e 16 fêmeas) da linhagem Wistar, provenientes do Biotério da Univali, SC. Os animais recebidos tinham 45 dias e foram mantidos em gaiolas com quatro animais cada, em ambiente com temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), com ciclo claro/escuro (12/12 h), com livre acesso à comida e água. Todos os protocolos e procedimentos experimentais relativos ao projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unoesc, sob protocolo número 023/2015.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos, contendo oito animais cada, mantidos em aclimação com dieta comercial por duas semanas; posteriormente receberam a administração das dietas definidas de acordo com os grupos, sendo eles: grupo controle (C) – receberam ração comercial (Nuvilab®) e água durante todo o processo experimental; grupo Controle + Quitosana (CQ) – receberam ração comercial (Nuvilab®) com suplementação de quitosana a 5% (m/m) e água; grupo Hipercalórico (H) – receberam ração hipercalórica (feita a partir de alimentos hipercalóricos moídos e oferecidos em forma de péletes) e água e o grupo Hipercalórico + Quitosana (HQ) – ração hipercalórica com quitosana a 5% (m/m) e água.

Após o término do processo experimental, totalizando 71 dias, os ratos fizeram jejum de 12 horas e foram anestesiados com ketamina/xilazina® na quantidade de 90 mg/kg e 10 mg/kg de peso corporal respectivamente, decapitados para a coleta de sangue, para avaliação dos parâmetros metabólicos e dissecados para a retirada dos órgãos.

A ração utilizada para os grupos controle foi a ração comercial para ratos (Nuvilab® CR1). Nos grupos com suplementação de quitosana, foram adicionados 5% (m/m) de quitosana pura em pó à ração, conforme AIN-93G.⁽⁶⁾ Para a ração do grupo Controle + quitosana, a ração comercial foi triturada, sendo acrescentada a ração 5% (m/m) de quitosana, juntamente com gelatina incolor (1g) e água para aumentar a coesão entre as partículas. A dieta hipercalórica apresentava a composição: 15 g de ração comercial, 10 g de amendoim torrado, 10 g de chocolate ao leite, 5 g de biscoito maisena e água somente para juntar os ingredientes.

Os animais foram pesados com balança semianalítica digital uma vez por semana para verificar se estava ou não ocorrendo variação de massa corpórea. Também eram pesadas as rações depositadas e sobras, bem como era medida a água depositada e consumida.

A dosagem de glicemia foi realizada nos animais em jejum (12-14 horas) no início do experimento (dia 0), 30 e 69

(48 h antes da eutanásia), por meio do sistema de fitas (monitor digital) glicosímetro G-TECH sistema NO CODE, a partir de gota de sangue obtida através de um corte na extremidade da cauda do animal.

Os animais permaneceram 12 horas em jejum, quando foi realizada a coleta de sangue (tempo 0') e dosada sua glicemia. Em seguida foi administrada, por via intraperitoneal, uma solução de glicose a 50% (m/v) na dose de 1,5 g de glicose/kg de massa corporal. A coleta de sangue e as respectivas análises repetiram-se nos minutos trinta, sessenta e cento e vinte. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas com o sistema de fitas (monitor digital) glicosímetro G-TECH sistema NO CODE.

A análise do perfil lipídico foi realizada no último dia de experimento, sendo coletado o sangue dos animais após a eutanásia, por decapitação do animal. Os parâmetros analisados foram: colesterol total, HDL, LDL e triglicérides, a partir de kits comerciais (Labtest).

Após a eutanásia, os intestinos dos animais foram retirados e realizada a coleta de 1 g de fezes contidas no intestino grosso de cada animal. Para o preparo dos meios, pesaram-se 70 g de Agar MRS *Lactobacillus* (Acumedia) e para preparar 1 litro do meio o agar foi dissolvido em água destilada. Também, utilizou-se o meio BMS *Bifidobacterium* (Sigma), pesando-se 55,5 g de agar para 1 litro de meio, com adição de 2,0 g de extrato de levedura por litro, sendo ambos os meios autoclavados a 121°C por 15 minutos. A adição do extrato de levedura como uma forma de suplemento para o crescimento de bifidobactérias foi proposta a partir de estudo realizado.⁽⁶⁾

As fezes previamente pesadas de cada animal foram dissolvidas em 9 mL de solução salina a 0,85% e a partir desta dissolução (10^{-1}) foram realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-8} , por meio da transferência de 1000 μL da diluição anterior para o tubo seguinte. Foram utilizados 100 μL de cada diluição e semeados por método *pour plate* em placas de petri estéreis vazias, adicionando-se posteriormente aproximadamente 20 mL do meio (específico para cada bactéria) sobre a diluição e homogeneizado com movimentos circulares. As placas foram incubadas a 37°C durante 48 horas (Lactobacilos) e 72 horas (Bifidobactérias) em estufa com sistema de geração comercial de atmosfera anaeróbica (Anaerobac, Probac ®). Transcorrido o tempo de incubação, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) de cada meio.

Após a eutanásia, os órgãos pesados foram: fígado, rins, baço, intestino, cérebro e as gorduras (omental, perigonadal/epididimal e retroperitoneal/perirrenal).

Avaliação Estatística

A avaliação estatística dos dados foi realizada no programa GraphPad Prism 5.01. O teste ANOVA de 1 via (*one-way ANOVA*) com pós-teste Tukey foi utilizado para a com-

paração de dados entre os grupos. O nível de significância adotado foi de 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Durante o período experimental, foi acompanhada a massa corporal semanal dos grupos até o final do experimento. Como mostra o Gráfico 01.

Durante todo o período experimental foi realizado o acompanhamento do consumo alimentar e da ingestão hídrica dos animais, a partir das sobras dos mesmos (Gráfico 2).

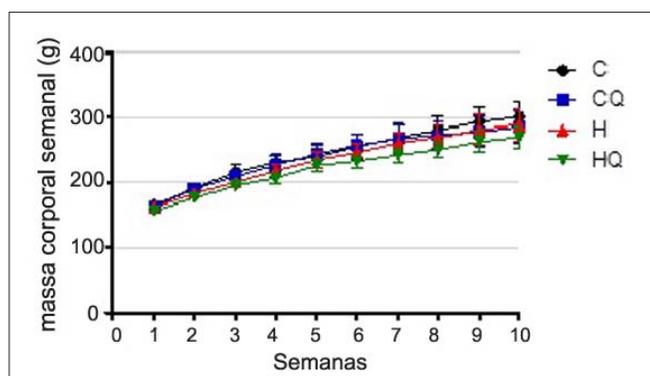


Gráfico 1. Acompanhamento da massa corporal durante o período experimental. Não houve diferença significativa. ($p < 0,05$, $n = 32$). Fonte: Os autores, 2016.

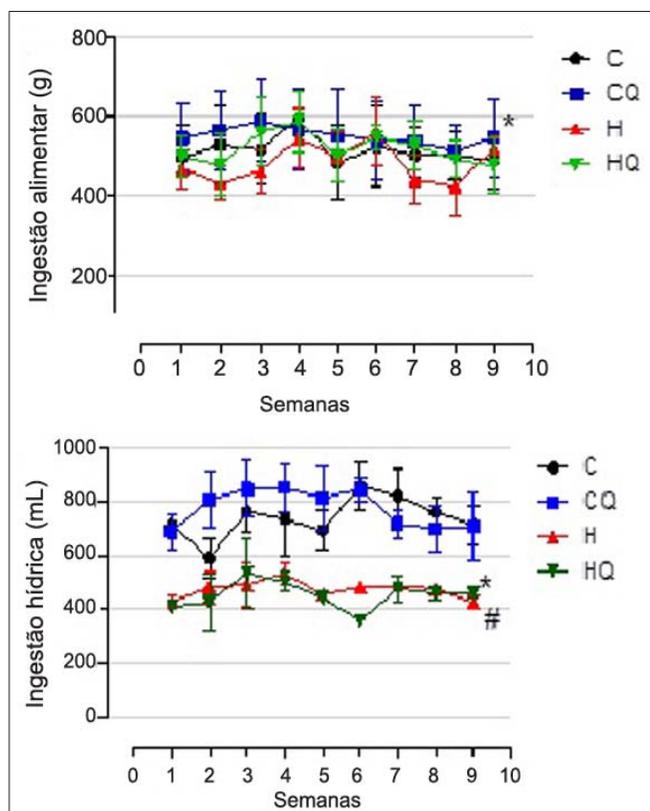


Gráfico 2. Ingestão alimentar semanal e ingestão hídrica. (*) diferença significativa por efeito da quitosana e (#) diferença significativa por efeito da dieta hipercalórica ($p < 0,05$, $n = 32$). Fonte: Os autores, 2016.

Os resultados das análises dos parâmetros lipídicos e glicêmicos encontram-se na Tabela 01.

A partir das fezes contidas no intestino grosso dos animais, realizaram-se as análises microbiológicas para avaliar a concentração de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. Ambos os resultados encontram-se representados no Gráfico 3.

Tabela 1 - Análises lipídicas e glicêmicas. (*) diferença significativa por efeito da quitosana. ($p < 0,05$, $n = 32$)

(mg/dL)	C	CQ	H	HQ
Glicemia- dia 0	92,62	89,25	86,25	90,88
Glicemia- dia 30	88,25	82,5	85	82,62
Glicemia- dia 69	95,5	86	95,87	88
Colesterol total	138,64	97,43 (*)	115,95	111,08
HDL-Colesterol	44,39	38,47	40,11	34,12
LDL-Colesterol	76,14	41,48 (*)	55,02	60,74
Triglicerídeos	127,99	87,38 (*)	144,30	104,99 (*)

Fonte: Os autores, 2016

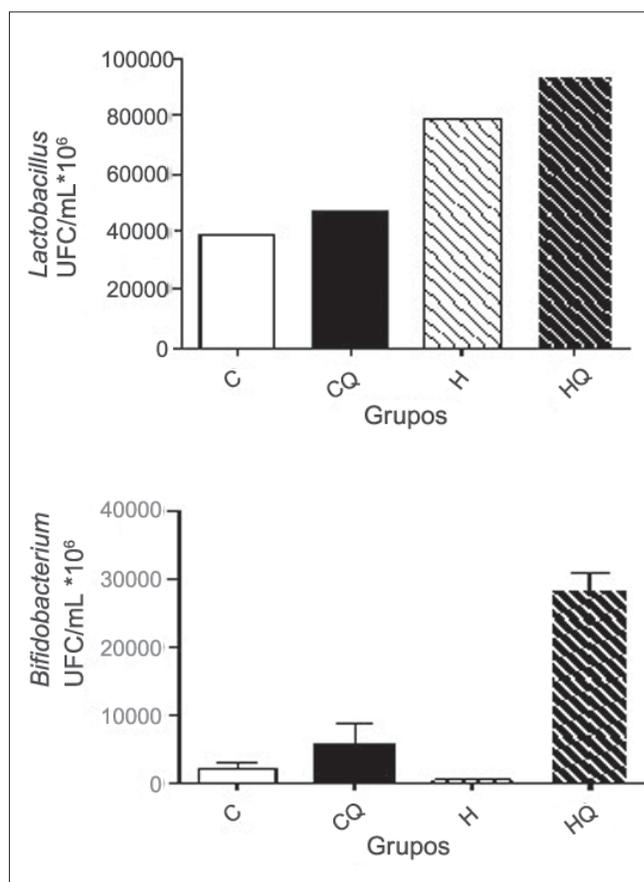


Gráfico 3. Concentração de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. Não houve diferença significativa. ($p < 0,05$, $n = 32$).

Em relação à massa dos órgãos não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Somente em relação às gorduras perigonadal/epididimal e retroperitoneal/perirrenal.

DISCUSSÃO

O presente estudo visou estudar a ocorrência de possíveis alterações metabólicas provenientes da alimentação, buscando analisar a relação de possíveis benefícios da suplementação com quitosana em animais com dieta normocalórica e principalmente avaliar os efeitos em dietas hipercalóricas, analisando a resposta da suplementação perante a dieta.

Diversos estudos tem apontado o efeito da quitosana em reduzir as concentrações de colesterol total, triglicérides, LDL e aumento do HDL. Neste estudo foi possível verificar que os valores de colesterol total e triglicérides foram significativamente diminuídos nos grupos com suplementação de quitosana (CQ e HQ), e o HDL foi aumentado no grupo CQ; no entanto, a suplementação com quitosana não foi capaz de aumentar a concentração de HDL no grupo HQ. Da mesma forma, o LDL foi diminuído no grupo CQ, mas não obteve o mesmo efeito no grupo HQ, diferente do que foi abordado em estudo⁽⁷⁾ que analisou os efeitos da suplementação de quitosana em ratos diabéticos, sendo observada uma redução dos níveis de colesterol total, triglicérides, LDL e aumento de HDL. Por sua vez, Anandan R. et al.⁽⁸⁾ avaliaram a resposta de ratos wistar jovens (2-3 meses de idade) e ratos idosos (20-25 meses de idade) quanto à suplementação de 2% (m/m) de quitosana e perceberam que ambos obtiveram boa resposta em relação à diminuição dos níveis de colesterol total, LDL e aumento do HDL. Segundo estudo de Anraku M et al.,⁽⁹⁾ a suplementação de quitosana também foi capaz de reduzir os níveis de colesterol total, triglicérides, LDL e aumentar os níveis de HDL em ratos hipertensos, utilizados como modelo de síndrome metabólica, após quatro semanas.

Para a diminuição dos parâmetros lipídicos, a quitosana pode atuar como uma resina de troca iônica, ligando-se a ânions hidrofóbicos, como os ácidos biliares no intestino, formando micelas, fazendo com que haja diminuição na sua reabsorção, sendo excretadas nas fezes, o que resulta em uma diminuição na absorção do colesterol e triglicérides.^(10,11) Confirmando tal teoria, em estudos realizados, verificou-se que ratos Wistar que receberam suplementação de quitosana apresentaram uma absorção de colesterol diminuída em relação ao grupo controle, sendo que a excreção de gorduras a partir das fezes foi significativamente maior.^(10,12,13)

Em relação à massa corporal dos animais, os mesmos apresentaram médias similares no início do experimento. No entanto, no decorrer do experimento, apresentaram diferenças em relação ao ganho de massa. Os grupos com suplementação de quitosana (CQ e HQ), embora não tenham obtido diferenças significativas, apresentaram um menor ganho de massa corporal em relação aos seus controles. Em sua pesquisa, Geremias R⁽¹¹⁾ verificou que os ra-

tos suplementados com 5% (m/m) de quitosana apresentaram redução em sua massa corporal quando comparados com o controle e hiperlipídico. Diferente de Cherem & Bramorski⁽¹⁴⁾ que, em sua pesquisa, não observaram diferenças na redução da massa corporal de ratos suplementados com quitosana e os grupos controle. Entretanto, Trautwein E, et al.⁽¹⁵⁾ verificaram que hamsters que consumiram dietas com 8% (m/m) de quitosana tiveram sua massa corporal diminuída significativamente; no entanto, ao utilizar suplementação de 4% (m/m) de quitosana, a diminuição da massa corporal não foi tão efetiva.

Os ratos que receberam suplementação com quitosana (CQ e HQ) aumentaram o seu consumo alimentar ao serem comparados com seus controles. O mesmo pode ser observado em estudo realizado por Cherem & Bramorski⁽¹⁴⁾ ao adicionar à dieta hipercalórica de ratos Wistar 5% (m/m) de quitosana de duas diferentes marcas comerciais; os grupos com suplementação da fibra ingeriram uma maior quantidade de ração quando comparado a seus controles. Também, em seus estudos, Gallaher CM e Azuma K, et al.^(10,16) observaram maior ingestão alimentar nos grupos com suplementação de quitosana. Alguns estudos realizados observaram diminuição de leptina em animais que receberam suplementação com quitosana, indicando, desta forma, que houve diminuição na acumulação de lipídios, o que levou a um aumento na ingestão alimentar.^(7,17-19)

Em relação à ingestão hídrica, os grupos C e CQ apresentaram maior ingestão, diferente dos grupos H e HQ, o que demonstra que a quitosana não atuou no aumento da ingestão hídrica, sendo característico de cada tipo de dieta. Da mesma forma, Geremias R e Azuma K, et al. relataram em seus estudos que a ingestão hídrica não se mostrou alterada durante o período experimental com quitosana e suas associações.^(11,16)

Quanto à avaliação da concentração de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* verificou-se um aumento destas bactérias nos grupos que receberam a suplementação com quitosana, sendo que a quitosana, por ser uma fibra, apresenta as características de um prebiótico, não sendo hidrolisada nem absorvida na parte superior do trato gastrointestinal, sendo posteriormente fermentada por Lactobacilos e Bifidobactérias.⁽²⁰⁾ No entanto, percebe-se que o grupo HQ apresentou um aumento em relação à concentração destas bactérias, o que indica o potencial prebiótico da quitosana que, ao ser administrada com a dieta hipercalórica, que contém chocolate em sua composição, apresentou um maior efeito na microbiota intestinal; de acordo com diversos estudos realizados, o chocolate atua como um prebiótico devido aos flavonoides que possui (derivados do cacau), levando a um aumento na concentração de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.⁽²¹⁻²³⁾ Em relação à glicemia e ao teste de tolerância à glicose, os grupos com suplementação de quitosana apresentaram uma tendên-

cia à diminuição destes parâmetros ao serem comparados com seus controles. Assim como encontrado em estudo de Chang HP et al.,⁽⁷⁾ que analisaram o efeito da suplementação de quitosana em ratos diabéticos, embora não tenham obtido resultados significantes estatisticamente, houve uma tendência à diminuição de glicose e resistência à glicose após sete semanas de tratamento.

Ao se analisar a massa dos órgãos não foram encontradas diferenças significativas. No entanto, ao se analisar as gorduras omental, perigonadal (epididimal) e retroperitoneal (perirrenal), verificou-se uma diminuição da massa nos grupos que receberam suplementação de quitosana. Em seus estudos, Zhang J, et al. e Zhang H, et al.^(12,24) observaram que ratos que receberam suplementação de 5% (m/m) de quitosana apresentaram uma menor massa epididimal e perirrenal em relação aos grupos controle, demonstrando a ação da quitosana em reduzir a capacidade de armazenamento de gorduras.

CONCLUSÃO

A ação da quitosana em relação aos parâmetros glicêmicos foi positiva, a glicemia em jejum e o teste de tolerância à glicose demonstraram que a quitosana apresentou uma tendência à diminuição da glicemia.

O efeito da quitosana em relação aos parâmetros lipídicos apresentou-se eficaz, ao diminuir significativamente as concentrações de colesterol total e triglicerídeos.

Houve uma manutenção da massa corpórea dos animais que receberam a suplementação com quitosana, não apresentando, entretanto, redução significativa da massa corpórea. Faz-se necessária a realização de estudos com a administração de quitosana com dietas com restrição calórica e com adição de atividades físicas, para verificar seu efeito. A quitosana também nesta dose e neste período experimental não induziu ao aumento da saciedade, levando a um aumento da ingestão alimentar dos animais que receberam a suplementação.

Em relação à microbiota intestinal, a quitosana apresentou um efeito benéfico como prebiótico, aumentando as concentrações de bactérias probióticas. O grupo hiper-calórico com quitosana apresentou uma maior concentração destas bactérias, demonstrando a ação do cacau proveniente do chocolate presente na dieta hiper-calórica, o qual, ao ser administrado com a quitosana, aumentou seu potencial prebiótico.

Abstract

Obesity has become frequent in developing countries, resulting in cardiovascular problems and other metabolic diseases. Among the ways to combat obesity is a healthy diet including mainly fibers. The objective was to verify if there would be a reduction in the body mass of rats supplemented with chitosan, decreasing the lipid and glycemic parameters and check their effect on the intestinal microflora. 16 female

and 16 male mice from the Wistar lineage were used, which were divided into four groups (n = 4 males and n = 4 females), C, CQ, H, HQ. The treatment lasted 71 days. There was a reduction in body mass of groups treated with chitosan, but not statistically significant, however, food intake in the groups treated with chitosan was higher compared to their controls, the total cholesterol levels, triglycerides and glucose levels were reduced in mice supplemented with chitosan. The analysis of intestinal microbiota showed that the concentration of Lactobacillus and Bifidobacterium although not statistically significant, showed an increase in the concentration of these bacteria in mice supplemented with fiber. According to the results obtained in the study, chitosan acts in the control of body mass, especially by the action in metabolism of lipids, also acts as a prebiotic, aiding in increasing the concentration of probiotics, regulating the functions of the intestinal microbiota.

Keywords

Chitosan; Obesity; Intestinal microbiota; Lipid parameters

REFERÊNCIAS

- Barbosa LS, Pazdziora AZ, Kojima ASG, Martins MSF, Ferreira CL P, Macêdo GS, et al. Efeitos da quitosana sobre alguns parâmetros nutricionais e bioquímicos em ratos. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* São Paulo, SP, v. 32, n. 3, p. 1-13, dez. 2007.
- Oliveira C, Fisberg M. Obesidade na Infância e Adolescência- Uma verdadeira Epidemia. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003 Apr ;47(2): 107-8.
- Kurtz MC, Cruz AH, Retamoso V, Drehmer PB, Silveira V, Kirsten VR. Quitosana na redução de colesterol e perda de peso: Uma revisão da Literatura. Santa Maria, RS, 2010.
- Anvisa. Alimentos funcionais. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13?p_p_id=101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU&p_p_col_id=column-2p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU_groupId=219201&_101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU_urlTitle=alimentos-funcionais&_101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU_assetEntryId=2866855&_101_INSTANCE_FXrxp9qY7FbU_type=content>. Acesso em: Nov. 2016.
- Reeves PG; Nielsen FH; Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *Jour Nutr.* 1993;123(11): 1939-51.
- Balciunas E. Produção de bacteriocina por *Bifidobacterium lactis* a partir de soro de leite. Dissertação de mestrado apresentada a Universidade de São Paulo, 2013.
- Chang HP, Yao HT, Chiang MT. Effects of high and low molecular weight chitosan on plasma cholesterol, glucose and adipocytokines in diabetic rats induced by Streptozotocin and Nicotinamide. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 20, No. 3, 2012, Pages 661-667.
- Anandan R, et al. Antiaging effect of dietary chitosan supplementation on glutathione-dependent antioxidant system in young and aged rats. *Cell Stress and Chaperones*, 2013.
- Anraku M, Michihara A, Yasufuku T, Akasaki K, Tsuchiya D, Nishio H, et al. The antioxidative and antilipidemic effects of different molecular weight chitosans in metabolic syndrome model rats. *Biol Pharm Bull.* 2010;33(12):1994-8.
- Gallaher CM, Munion J, Hesslink R Jr, Wise J, Gallaher DD. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *J Nutr.* 2000 Nov;130(11):2753-9.
- Geremias R. Avaliação do potencial Hipolipemiante da Quitosana e associações em Ensaios pré-clínicos e clínicos Fase H. Dissertação de Mestrado apresentado a UFSC. Florianópolis, 2002.
- Zhang J, Liu J, Li L, Xia W. Dietary chitosan improves hypercholesterolemia in rats fed high-fat diets. *Nutr Res.* 2008 Jun;28(6):383-90.

13. Xu G, Huang X, Qiu L, Wu J, Hu Y. Mechanism study of chitosan on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007;16 Suppl 1:313-7.
14. Cherem AR, Bramorski A. Excreção de gordura fecal de ratos (*Rattus norvegicus*, Wistar), submetidos a dietas hiperlipídicas e hipercolesterolêmicas suplementadas com quitosana. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 44, n. 4, out./dez., 2008.
15. Trautwein AE, Jürgensen U, Erbersdobler HF. Cholesterol-lowering and gallstone-preventing action of chitosans with different degrees of deacetylation in hamsters fed cholesterol-rich diets. *Nutrition Research*, June 1997 Volume 17, Issue 6, Pages 1053-1065.
16. Azuma K, Nagae T, Nagai T, Izawa H, Morimoto M, Murahata Y, et al. Effects of Surface-Deacetylated Chitin Nanofibers in an Experimental Model of Hypercholesterolemia. *Int J Mol Sci.* 2015 Jul 30; 16(8):17445-55.
17. Cho EJ, Rahman MA, Kim SW, Baek YM, Hwang HJ, Oh JY, et. al. CChitosan oligosaccharides inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *J Microbiol Biotechnol.* 2008 Jan;18(1):80-7.
18. Liu SH, Cai FY, Chiang MT. Long-Term Feeding of Chitosan Ameliorates Glucose and Lipid Metabolism in a High-Fructose-Diet-Impaired Rat Model of Glucose Tolerance. *Mar Drugs.* 2015 Dec 10;13(12):7302-13.
19. Bahijri S, Alsheikh K, Ajabnoor G, Borai A. Effect of supplementation with chitosan on food intake, weight gain, and cardiometabolic risk indices in Wistar rats fed normal diet ad libitum. *Endocrine Abstracts*, 2016.
20. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995 Jun; 125(6):1401-12.
21. Hayek N. Chocolate, gut microbiota and human health. *Front Pharmacol.* 2013 Feb 7;4:11.
22. Tzounis X, Rodriguez-Mateos A, Vulevic J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spencer JP. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jan;93(1):62-72.
23. Andujar MC, Recio RM, Giner JLR, Rios JL. Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* Volume 2012, Article ID 906252, 23 pages
24. Zhang HL, Zhong XB, Tao Y, Wu SH, Su ZQ. Effects of chitosan and water-soluble chitosan micro- and nanoparticles in obese rats fed a high-fat diet. *Int J Nanomedicine.* 2012;7:4069-76.

Correspondência

Camila Giroto

Rua Américo Brasiliense, 631, apartamento 603 – Vila Morangueira
87030-380 – Maringá-PR
Camila.giroto@yahoo.com.br

Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes atendidas em um laboratório de município do litoral do estado do Paraná

Seropositivity prevalence of toxoplasmosis in pregnant women attended in a laboratory of the Paraná state coastal municipality

Erildo Vicente Muller¹

Jéssica Driéli Torquett²

Resumo

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo descrever a prevalência de soropositividade em gestantes. **Métodos:** Trata-se de um estudo epidemiológico transversal. A amostra foi de 407 gestantes que realizaram exame de pré-natal em um laboratório de análises clínicas do município de Paranaguá, PR no primeiro semestre do ano de 2013. Foram avaliados os resultados sorológicos para toxoplasmose IgG e IgM. As variáveis socioeconômicas estudadas foram: idade e escolaridade. Verificou-se também o trimestre gestacional de realização do exame. Os resultados foram descritos por meio de estatística descritiva. **Resultados:** Das gestantes avaliadas 35,3% apresentaram-se imunes à toxoplasmose, enquanto que 62,9% delas não apresentaram imunidade. Identificou-se também que 42,7% das gestantes realizaram os primeiros exames do pré-natal no segundo trimestre gestacional, sendo a média de idade de 35 anos e com ensino médio completo (36,1%); 44,5% das gestantes com 35 anos ou mais apresentavam imunidade. **Conclusão:** Ressalta-se a importância da realização de testes sorológicos para toxoplasmose em mulheres com idade fértil e gestantes. E confirma-se a prerrogativa de que o avanço da idade em mulheres pode ser um fator protetor quando se fala de toxoplasmose congênita.

Palavras-chave

Prevalência; Gestantes; Toxoplasmose

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença que tem como agente etiológico um protozoário, o *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), cuja descoberta é atribuída a Splendore, em 1908, em coelhos de laboratório em São Paulo e, também, a Nicolle e Manceaux, no mesmo ano, na Tunísia, em um roedor.⁽¹⁾

É uma infecção notavelmente bem sucedida, acomete cerca de 1/3 da população mundial e aproximadamente 75% da população brasileira. Seus sintomas são autolimitados em pessoas saudáveis, porém, em indivíduos imunocomprometidos ou no feto, pode causar danos irreparáveis e risco de morte.^(2,3)

Em pacientes imunossuprimidos, a principal consequência da toxoplasmose é a encefalite fatal, que ocorre devido a uma reação inflamatória causada pela presença

dos taquizoítos (forma intracelular do parasita) no cérebro. Nos bebês infectados congenitamente, a perda gradativa da audição e da visão são inevitáveis, podendo iniciar-se meses ou anos após o nascimento, gerando custos altos ao sistema de saúde. Incontestavelmente, esses agravos representam hoje um importante dreno dos recursos da saúde pública em todo o mundo.⁽⁴⁾

O homem se infecta pelo *T. gondii* ingerindo seus oocistos que podem estar presentes nas fezes dos felinos (hospedeiros definitivos), nos alimentos crus, bebidas e águas contaminadas. Como o parasita não completa seu ciclo de vida no intestino humano, este último representa o hospedeiro intermediário dessa espécie.⁽⁵⁾

Com a infecção, a resposta imune é desencadeada, e, para isso, células como os macrófagos e os linfócitos são recrutadas; além disso, outras reações anti-parasitárias são induzidas, promovendo a ativação de

¹Professor Adjunto. Doutorado. Universidade Estadual de Ponta Grossa – Ponta Grossa, PR, Brasil

²Farmacêutica, especialista em Análises Clínicas.

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa – Ponta Grossa, PR, Brasil.

Artigo recebido em 15/05/2014

Artigo aprovado em 01/02/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600282

células *serial killer*, mas muitas vezes essa reação não é suficiente para impedir o agravamento da patologia, sendo necessária a utilização de drogas específicas.⁽⁶⁾

Passada a fase aguda da doença, muitas vezes sem sintoma algum, o indivíduo adquire imunidade, muito importante no caso das mulheres, que, uma vez imunes, não contaminam seus fetos em uma futura gestação e não adquirem a patologia ao longo da gravidez. Assim, a transmissão vertical ocorre na *primo* gestação (quando a mãe ainda não possui imunidade) e tende a ser menor quando a mulher contrai a doença no primeiro trimestre de gestação.

Sabe-se que a taxa de transmissão ao feto durante a *primo* infecção é de 25%, 54% e 65% no primeiro, segundo e terceiro trimestres, respectivamente. O diagnóstico da infecção e/ou imunidade materna é feito por meio do perfil sorológico, que exige testes de IgG e IgM.⁽⁷⁾

O marcador sorológico mais utilizado é o anticorpo antitoxoplasma da classe IgM, uma imunoglobulina com estrutura pentamétrica que está presente na fase aguda da doença. Porém, muitos protocolos já determinam que, além da dosagem de IgM, sejam realizadas também dosagens de avidéz à IgG, uma imunoglobulina que representa imunidade e tem a capacidade de ultrapassar a barreira placentária, configurando imunidade também ao feto. A dosagem dessa última passou a ser exigida a fim de minimizar a ocorrência de falsos positivos, como acontece quando se dosa apenas IgM.⁽²⁾

As recomendações para a triagem da doença diferem de acordo com o país ou região porque a distribuição geográfica do patógeno é variável e o orçamento da rede pública também; porém, para as gestantes, é imprescindível que sejam realizados testes sorológicos mensalmente ou trimestralmente, a fim de se verificar a soroconversão, evitando-se assim a transmissão vertical e futuros prejuízos à saúde do feto; além disso, a detecção precoce significa menores custos com a medicação parasitária, que é relativamente onerosa.⁽⁸⁾

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o perfil epidemiológico para toxoplasmose em gestantes, identificando infecções progressas ou agudas em tal população e a faixa etária média das gestantes soropositivas.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo epidemiológico com delineamento do tipo transversal. Utilizou-se uma amostra de conveniência de 407 gestantes que realizaram exame de pré-natal em um laboratório de análises clínicas do município de Paranaguá no primeiro semestre do ano de 2013. Os soros foram testados para toxoplasmose IgG e toxoplasmose IgM pelo método CMI (Imunoensaio de

Micropartículas por Quimioluminescência) com tecnologia Architec- Abbot. Considerou-se IgG reagente quando a concentração foi superior a 3UI/mL e não reagente quando a dosagem de anticorpos foi inferior a 1,6UI/mL. A dosagem de IgM foi considerada reagente para resultados superiores a 0.60 e não reagente quando inferior a 0.50. Valores situados entre 1,6UI/mL e 3,0UI/mL para IgG e entre 0.50 e 0.60 para IgM foram considerados inconclusivos (segundo Manual do Fabricante - Abbot Laboratórios do Brasil Ltda - Architec Toxo IgG e Architec Toxo IgM. Junho, 2008).

As mulheres envolvidas no estudo foram consideradas soropositivas para toxoplasmose quando apresentaram IgG reagente, com resultado negativo para IgM. Quando apresentaram IgG e IgM não reagente, foram consideradas susceptíveis à infecção, e quando apresentaram IgM reagente com IgG não reagente foram consideradas em fase aguda da doença.

Neste estudo, quando as pacientes apresentaram IgG e IgM reagente não foi possível diferenciar infecção aguda e crônica, por isso estas foram excluídas do estudo. As variáveis socioeconômicas estudadas foram idade e escolaridade, por serem esses dados disponíveis nos mapas de trabalho, sendo também verificado o trimestre gestacional de realização do exame. Os resultados foram descritos por meio de estatística descritiva.

RESULTADOS

Verificaram-se os resultados de exames sorológicos para toxoplasmose em 407 gestantes com idade média de 30 anos (± 15 anos); destas, 70% eram oriundas de planos de saúde e 30% realizaram o exame pelo sistema de pagamento particular.

Analisando-se os resultados sorológicos, observou-se que a prevalência de infecção ativa foi de 1,7% (n=07); 62,9% (n=256) não demonstraram infecção aguda ou progressa e 35,3% (n=144) apresentaram imunidade para a infecção.

Em relação ao trimestre gestacional em que se encontravam no momento da realização do exame, observou-se que 143 gestantes (35,3%) realizaram os exames no primeiro trimestre gestacional, 175 mulheres (42,7%) realizaram os exames no segundo trimestre e 89 (22%) realizaram os exames no terceiro trimestre.

Em relação à escolaridade, verificou-se que a maioria delas, 36,1% (n=66), completou o segundo grau. Os dados dessa variável são apresentados na Figura 1.

Em relação à idade média das gestantes soropositivas, no atual estudo detectou-se uma prevalência de imunidade nas pacientes com idade acima de 35 anos, como mostra a Figura 2.

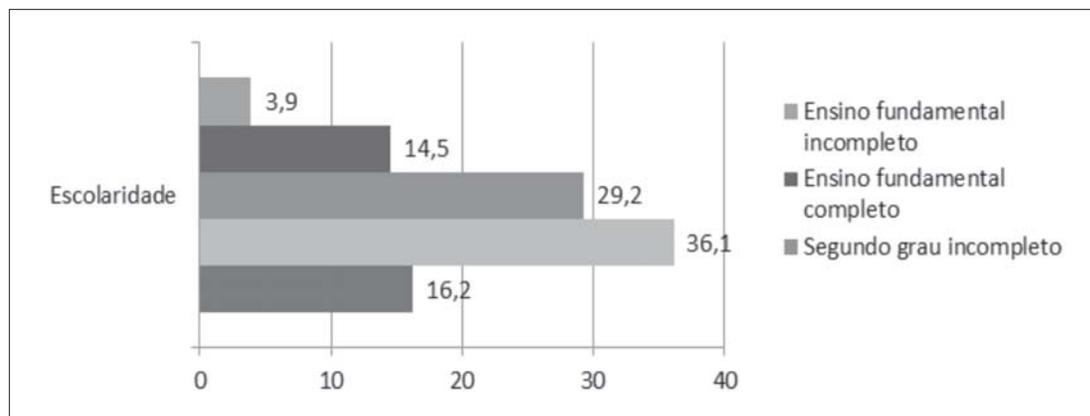


Figura 1. Distribuição das gestantes soroativas para toxoplasmose, de acordo com a escolaridade.

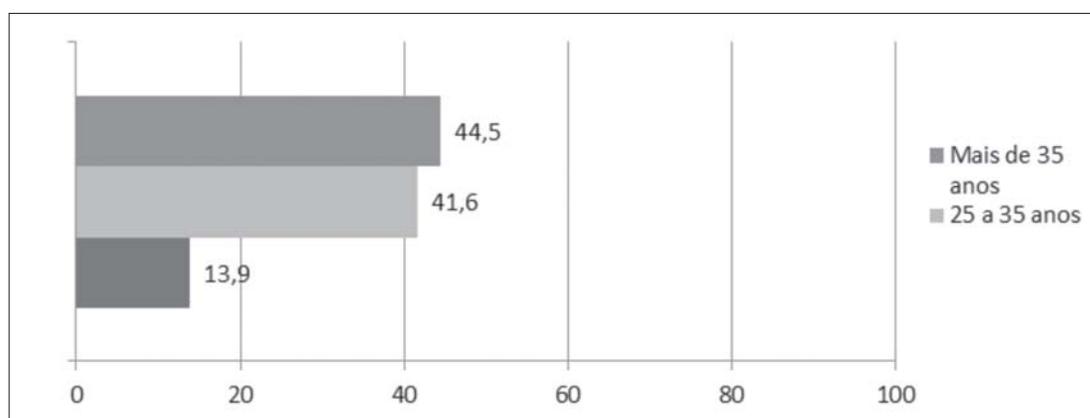


Figura 2. Distribuição percentual por faixa etária das gestantes soroativas para toxoplasmose.

DISCUSSÃO

A toxoplasmose se apresenta como uma infecção de ampla distribuição geográfica e a transmissão congênita pode ocorrer quando a mulher adquire a *primo* infecção durante o período gestacional, acarretando várias complicações ao feto; assim sendo, o diagnóstico precoce é de grande importância. Como 90% dos casos são assintomáticos ou oligossintomáticos, os métodos sorológicos são os mais comumente usados no diagnóstico para gestantes e mulheres em idade fértil; além disso, é de extrema importância que os marcadores sorológicos diferenciem infecção latente de recente. A triagem sorológica deve compreender a pesquisa de anticorpos IgG e IgM contra *Toxoplasma gondii* para que se possa diferenciar infecção aguda ou pregressa.^(9,10)

Os anticorpos do tipo IgM são utilizados para verificar a presença de infecção recente enquanto que a detecção de IgG indica infecção pregressa. No diagnóstico sorológico, as imunoglobulinas da classe IgM, específicos, são geralmente os primeiros anticorpos a serem detectados. Já os anticorpos IgG aparecem mais tarde, elevam-se bastante

durante a fase aguda e, depois, diminuem gradualmente até títulos baixos, que persistem, na maioria dos casos, ao longo da vida do indivíduo.⁽¹¹⁾

Apesar da detecção de anticorpos IgM específicos ser o teste mais utilizado para o diagnóstico da infecção aguda, estes podem permanecer detectáveis por um longo período; assim, é indispensável o pareamento de resultados sorológicos IgM e IgG para confirmar a doença aguda.⁽¹²⁾

Sabe-se a importância do diagnóstico precoce desta infecção, uma vez que a transmissão vertical resulta em má formação fetal e sequelas. Reis et al.,⁽¹³⁾ em estudo realizado no município de Porto Alegre, RS, afirmaram que os riscos de transmissão materno-fetal e de gravidade das sequelas estão intimamente relacionados com a idade gestacional em que a soroconversão materna ocorre.

No presente trabalho, foi avaliado o período gestacional em que se encontrava a paciente no momento da realização dos primeiros exames do pré-natal, e verificou-se que os resultados da presente pesquisa são semelhantes àqueles observados por Pessanha et al.⁽¹⁴⁾ no Rio de Janeiro.

Na presente pesquisa não foi observada correlação entre o grau de escolaridade das gestantes e a prevalência de soropositividade para toxoplasmose.

Em relação à soropositividade, contrariando dados nacionais que mostram uma soropositividade aproximada de 60% para as mulheres em idade fértil,^(15,16) o presente trabalho encontrou apenas 35,3% de gestantes soropositivas, 62,9% delas nunca haviam sido infectadas e 1,7% estava em processo agudo da infecção, corroborando com os resultados da pesquisa de Detanico e Basso,⁽¹⁰⁾ onde os autores descrevem uma prevalência de apenas 36,8% das gestantes soropositivas para toxoplasmose em mulheres com idade fértil em Caxias do Sul, RS. Os resultados da pesquisa destes autores mostram a susceptibilidade deste grupo em contrair a infecção durante o período gestacional, e, apesar dos grupos avaliados serem diferentes, porque um grupo está gestando e outro está apto à gestar, refletem uma mesma população com alto percentual de indivíduos susceptíveis a contrair toxoplasmose. Porém, Reis et al.,⁽¹³⁾ em estudo realizado em um hospital público de Porto Alegre, verificaram percentuais semelhantes àqueles descritos em estatísticas nacionais. Os autores verificaram uma soropositividade de 58% das gestantes estudadas, 38% delas não apresentaram infecção pregressa e 0,18% apresentaram infecção aguda.

Apesar do baixo número de gestantes soropositivas, observou-se no presente trabalho maior percentual de soropositividade em mulheres com idade superior a 25 anos. Das 144 gestantes imunes, 44,5% (n=64) possuíam mais de 35 anos, 41,6% (n=60) possuíam entre 25 e 35 anos e apenas 13,9% (n=20) possuíam menos de 25 anos. Estes dados sugerem que um tempo de exposição maior (devido à idade) pode contribuir para que a *primo* infecção ocorra antes da gestação, evitando a infecção congênita e futuras complicações ao feto. Tal achado é corroborado com os resultados de Detanico e Basso,⁽¹⁰⁾ que encontraram uma maior prevalência de soropositividade em mulheres com idade entre 37-49 anos. Segundo Costa Junior e Monteiro,⁽¹⁷⁾ a soropositividade nessa faixa etária pode ser explicada em parte pela maior exposição a fatores ambientais e possibilidade de serem infectadas. Ambas as pesquisas mostram que a idade é um fator protetor para as gestantes e seus fetos, visto que um tempo maior de exposição possibilita que as pacientes se infectem pelo *T.gondii* e desenvolvam imunidade, e, na maioria das vezes, esse processo ocorre sem complicações e com poucos sintomas; por isso, a maior importância clínica está na transmissão placentária com infecção fetal.

CONCLUSÃO

Conclui-se por meio desse estudo que a maioria das gestantes envolvidas que participaram do estudo eram sus-

ceptíveis a contrair a infecção durante a gestação. Assim, é importante ressaltar a importância de gestantes realizarem periodicamente testes sorológicos para toxoplasmose, a fim de se obter um diagnóstico precoce, evitando complicações a ela e ao feto. É essencial também que as mulheres em idade fértil realizem testes sorológicos para toxoplasmose, pois a ausência de imunidade para a infecção determinará um maior e mais específico monitoramento desta paciente em relação à infecção.

Abstract

Objective: This study aimed to describe the prevalence of seropositivity in pregnant women. **Methods:** Cross-sectional epidemiological study. The sample studied was composed of 407 pregnant women who had received prenatal care in a laboratory of clinical analyzes in the municipality of Paranaguá, PR in the first semester of 2013. Serological results for toxoplasmosis IgG and IgM were evaluated. Socioeconomic variables were: age and education. The gestational age was also checked. **Results:** The gestational age was also checked. The results were described using descriptive statistics. 35.3% of the pregnant women showed themselves immune to toxoplasmosis, while 62.9% of them had no immunity. The study identified that 42.7% of pregnant women received prenatal care in the second trimester; the mean age was 35 years and high school graduates (36.1%); 44.5% of pregnant women with 35 years old or more had immunity. **Conclusion:** The importance of serological tests for toxoplasmosis in women of childbearing age and pregnant women is noteworthy. And it was confirmed that the advantage of advancing age in women may be a protective factor when speaking of congenital toxoplasmosis.

Keywords

Prevalence; Pregnant women; Toxoplasmosis

REFERÊNCIAS

1. Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, Garcia JL, Freire RL, Mori FMRL, Wedy GF, et al. Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita-vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas. Rev. Catalogação da Biblioteca Central da Universidade de Londrina, 1 (1): 01-76, 2010.
2. Morgonato FB, Silva AMR, Soares D, Amaral DA, Petris AJ. Toxoplasmose na gestação: diagnóstico, tratamento e importância de protocolo clínico. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant. 2007;7(1) 381-6.
3. Djurkovic-Djakovic O, Djokic V, Vujanic M, Zivkovic T, Bobic B, Nikolic A, et al. Kinetics of parasite burdens in blood and tissues during murine toxoplasmosis. Exp Parasitol. 2012 Jul; 131(3):372-6.
4. Miller CM, Boulter NR, Ikin RJ, Smith NC. The immunobiology of the innate response to Toxoplasma gondii. Int J Parasitol. 2009 Jan; 39(1):23-39.
5. Lélou M, Gilot-Fromont E, Aubert D, Richaume A, Afonso E, Dupuis E, et al. Development of a sensitive method for Toxoplasma gondii oocyst extraction in soil. Vet Parasitol. 2011 Dec 29;183 (1-2):59-67.
6. Barbosa BF, Gomes AO, Ferro EA, Napolitano DR, Mineo JR, Silva NM. Enrofloxacin is able to control Toxoplasma gondii infection in both in vitro and in vivo experimental models. Vet Parasitol. 2012 Jun 8;187(1-2):44-52.
7. Figueiró-Filho EA, Lopes AH, Senefonte FR, Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2005; 27(1):442-9.

8. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Muller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *J. Pediatr. (Rio J.)* 2003 Feb;79(1):69-74
9. Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira CO, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2003 July;36(4):483-91. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000400009&lng=en
10. Detanico L, Basso RMC. Toxoplasmose: perfil sorológico de mulheres em idade fértil e gestantes. *RBAC*. 2006;38(1):15-8.
11. Amendoeira MR, Camillo-Coura LF. A brief review on toxoplasmosis in pregnancy. *Scientia Medica*. 2010;21(1):113-9.
12. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. *Clin Perinatol*. 2005 Sep;32(3):705-26.
13. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [Internet]. 2006 Mar;28(3):158-64.
14. Pessanha TM, Carvalho M, Pone MVS, Gomes Junior SC. Abordagem diagnóstica e terapêutica da toxoplasmose em gestantes e as repercussões no recém-nascido. *Rev. Paul. Pediatr* 2011;29(3):341-7.
15. Vaz AJ, Guerra EM, Toledo LAS, Azevedo Neto RS. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde da área metropolitana, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 1990 Oct;24(5):373-9.
16. Miura E. Infecções Congênitas e Perinatais. *Jornal de Pediatria* 69: 80-96. 1993.
17. Costa Junior CEO, Monteiro CH, Perfil sorológico da toxoplasmose na Grande João Pessoa/PB. *RBAC*. 2010;42(2):149-54.

Correspondência

Erildo Vicente Muller

*Av. General Carlos Cavalcanti, 4748
84030-900 – Ponta Grossa, Paraná*

Análise da temperatura, do tempo e da relação sangue/anticoagulante no hemograma

Analysis of temperature, time and blood/anticoagulant ratio in the complete blood count

Larissa Seniv¹

Mackelly Simionatto²

Bruno Ribeiro Cruz³

Danielle Cristyane Kalva Borato⁴

Resumo

Objetivo: Verificar o impacto da fase pré-analítica na avaliação quantitativa do hemograma, no dia-a-dia do laboratório clínico, como: a temperatura de armazenamento e o efeito do anticoagulante de acordo com o tempo de estocagem após coleta. **Métodos:** Foram coletadas 60 amostras biológicas de sangue venoso, sendo distribuídas em dois tubos de EDTA K2 respeitando a relação sangue/anticoagulante e dois tubos com alteração nesta relação. Estas amostras foram armazenadas de diferentes formas: em temperatura ambiente (25°C) e em temperatura de 4°C. Posteriormente, as amostras foram analisadas em contador hematológico, em diferentes tempos de estocagem 2, 5, 12 e 24 horas após a coleta. **Resultados:** Verificou-se que, durante as 24 horas de estocagem, a maioria dos parâmetros não apresentou alteração significativa, com exceção do percentual de células médias. Além disso, observou-se que as amostras armazenadas sob refrigeração apresentam valores mais estáveis, com exceção de alguns parâmetros, como: percentual de granulócitos, VPM e PDW, que apresentaram oscilações quando armazenados a 4°C, principalmente para as amostras com alteração da relação sangue/anticoagulante. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou que os fatores pré-analíticos podem afetar a variabilidade dos parâmetros quantitativos do hemograma, devendo-se respeitar a correta relação sangue/anticoagulante e evitar o processamento da amostra após longos períodos de estocagem.

Palavras-chave

Contagem de células sanguíneas; Hemograma; Preservação

INTRODUÇÃO

O hemograma é o mais frequente exame laboratorial solicitado atualmente na prática clínica,⁽¹⁾ sendo decisivo para o diagnóstico, acompanhamento e tratamento de diversos distúrbios hematológicos; contanto que, a qualidade durante todo o processo do teste seja garantida.⁽²⁾ Desta forma, é necessário que os resultados hematológicos sejam exatos e precisos para assegurar a interpretação dos resultados no momento da decisão clínica pelo médico.⁽³⁾

Porém, muitos fatores pré-analíticos podem afetar a variabilidade dos resultados laboratoriais, como: a estabilidade da amostra (temperatura de armazenamento e o tempo de estocagem) e os efeitos dos anticoagulantes.⁽³⁾

A estabilidade da amostra biológica pode ser definida como a capacidade da manutenção do resultado inicial,

por um período de tempo definido, dentro de limites específicos, quando armazenada em condições definidas.⁽⁶⁾

Porém, na prática laboratorial existem algumas situações que promovem atraso no processamento do hemograma, contribuindo para modificações na estabilidade da amostra, como: as amostras de sangue enviadas para laboratórios de referência distantes do local da coleta, a análise não realizada por algum problema técnico ou a solicitação de uma nova amostra necessária para verificar o resultado do teste.⁽²⁾

Como frequentemente os laboratórios recebem amostras armazenadas em temperatura ambiente e com um expressivo intervalo de tempo após a coleta, isto pode representar erro pré-analítico bastante comum,⁽⁵⁾ pois quando as amostras chegam com atraso significativo e em péssimas condições de armazenamento, os valores obtidos podem

¹Graduanda em Farmácia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa, PR, Brasil.

²Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Professora da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), PR, Brasil.

³Mestre em Medicina (Hematologia) pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Professor da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) PR, Brasil.

⁴Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Professora da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) PR, Brasil.

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa, PR, Brasil
Suporte financeiro: Próprio

Artigo recebido em 28/10/2016

Artigo aprovado em 14/12/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600545

estar errados, comprometendo a confiabilidade, precisão e exatidão do resultado hematológico.⁽⁶⁾

Com relação aos efeitos do anticoagulante, o EDTA K2 (ácido etilenodiamino tetra-acético dipotássico) é recomendado como o anticoagulante de escolha para coleta das amostras na realização do hemograma.⁽⁷⁾ Quando está presente na concentração de 1,5 a 2,2 mg/mL de sangue, não apresenta efeito expressivo sobre os parâmetros do hemograma.⁽⁸⁾

Porém, quando a quantidade de sangue colocada no tubo de EDTA não é respeitada e/ou quando o tempo de estocagem da amostra biológica torna-se prolongado podem produzir alterações significativas nos resultados; desta forma, torna-se necessário o mínimo de cuidado com a relação sangue/anticoagulante.^(3,7,9)

Portanto, o objetivo do presente estudo é verificar o impacto da fase pré-analítica na avaliação quantitativa do hemograma, como: a temperatura de armazenamento e o efeito do anticoagulante de acordo com o tempo de estocagem após coleta.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas sessenta amostras biológicas de sangue venoso de indivíduos de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, sendo excluídos do estudo fumantes, indivíduos com doença infecciosa, inflamatória ou clínica para qualquer patologia, uso de qualquer medicamento que pudesse alterar os resultados hematológicos e exercício físico realizado antes da coleta de sangue.

As amostras foram coletadas conforme procedimento padrão, com agulha e seringa estéreis. O sangue total coletado foi distribuído em quatro tubos com anticoagulante EDTA K2, sendo que dois tubos respeitavam a correta relação sangue/anticoagulante, com a inserção de 2 mL de sangue em cada tubo, e dois tubos apresentavam alteração da proporção sangue/anticoagulante, com a inclusão de 1 mL de sangue em cada tubo. Estas amostras foram armazenadas de diferentes formas: em temperatura ambiente (25°C) e em temperatura de 4°C.

Por conseguinte, as amostras foram divididas em quatro grupos para análise: 1) Temperatura Ambiente, 2) Temperatura Ambiente com Alteração Sangue/Anticoagulante, 3) Refrigerado a 4°C e 4) Refrigerado a 4°C com Alteração Sangue/Anticoagulante.

Posteriormente, as amostras foram analisadas em contador hematológico Hemacounter 60-RT 7600® (Hemogram, Brasil) em diferentes tempos de estocagem 2, 5, 12 e 24 horas após a coleta. Os parâmetros hematológicos analisados foram: i) Eritrograma: contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM) e Amplitude de Distribuição Eritrocitária (*Red Cell Distribution*

Width - RDW); ii) Leucograma: contagem de leucócitos totais e a porcentagem de três subpopulações - linfócito, células de tamanho médio (incluindo monócitos, basófilos e eosinófilos) e granulócitos e iii) Plaquetograma: contagem de plaquetas, Volume Médio de Plaquetas (VPM) e Amplitude de Distribuição Plaquetária (*Platelets Distribution Width* - PDW).

Na análise estatística foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados. Todos os parâmetros demonstraram distribuição normal. Portanto, os resultados foram apresentados como média e, para comparação entre as médias dos parâmetros hematológicos de acordo com os tempos 2, 5, 12 e 24 horas após a coleta, para os quatro grupos do estudo, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey. Em todas as análises, o nível de significância foi pré-fixado em $p < 0,05$. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS 17® (Chicago, EUA).

Ética

Os voluntários que permitiram a utilização das amostras biológicas para realização desta pesquisa foram devidamente informados sobre os métodos e objetivos deste estudo e, após concordarem, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), parecer N° 1.339.496. Esta pesquisa foi realizada em conformidade com a Declaração de Helsinki.

RESULTADOS

Os parâmetros analisados no eritrograma estão representados na Figura 1. A média da contagem de eritrócitos apresentou um perfil de oscilação semelhante para a maioria das amostras. Os valores médios permaneceram homogêneos para ambas as formas de armazenamento (temperatura ambiente e refrigerado a 4°C); assim como, para relação sangue/anticoagulante, com alterações mínimas de 4,89 a 4,98 milhões de eritrócitos/ μ L após 24 horas de estocagem (Figura 1 - A).

Com relação às médias da dosagem de hemoglobina, as amostras armazenadas em temperatura ambiente com alteração na relação sangue/anticoagulante apresentaram um aumento progressivo mínimo durante as 24 horas (0,24 g/dL), enquanto que as demais amostras mostraram oscilações entre as médias de hemoglobina com relação aos tempos de estocagem; porém, mantiveram seus valores médios homogêneos, com variações inferiores a 0,14 g/dL durante as 24 horas (Figura 1 - B).

Na análise do hematócrito verificou-se que, durante as 24 horas de estocagem, as amostras armazenadas em temperatura ambiente sem e com alteração na relação sangue/anticoagulante demonstraram aumento do valor médio dos

resultados de 0,98% e 1,25%, respectivamente, enquanto que as amostras refrigeradas a 4°C, independente da relação sangue/anticoagulante, não demonstraram grandes oscilações nos resultados (Figura 1 - C).

Para a análise do VCM observaram-se dois perfis, o primeiro representado pelas amostras armazenadas em temperatura ambiente e o segundo, representado pelas amostras refrigeradas a 4°C, independente da relação sangue/anticoagulante. O primeiro perfil, em até 24 horas após a coleta, apresentou um aumento do valor médio dos resultados de 1,37 fL e 1,60 fL para as amostras sem e com alteração na relação sangue/anticoagulante, respectivamente. O segundo perfil não obteve grandes oscilações nos resultados em até 24 horas após a coleta (Figura 1 - D).

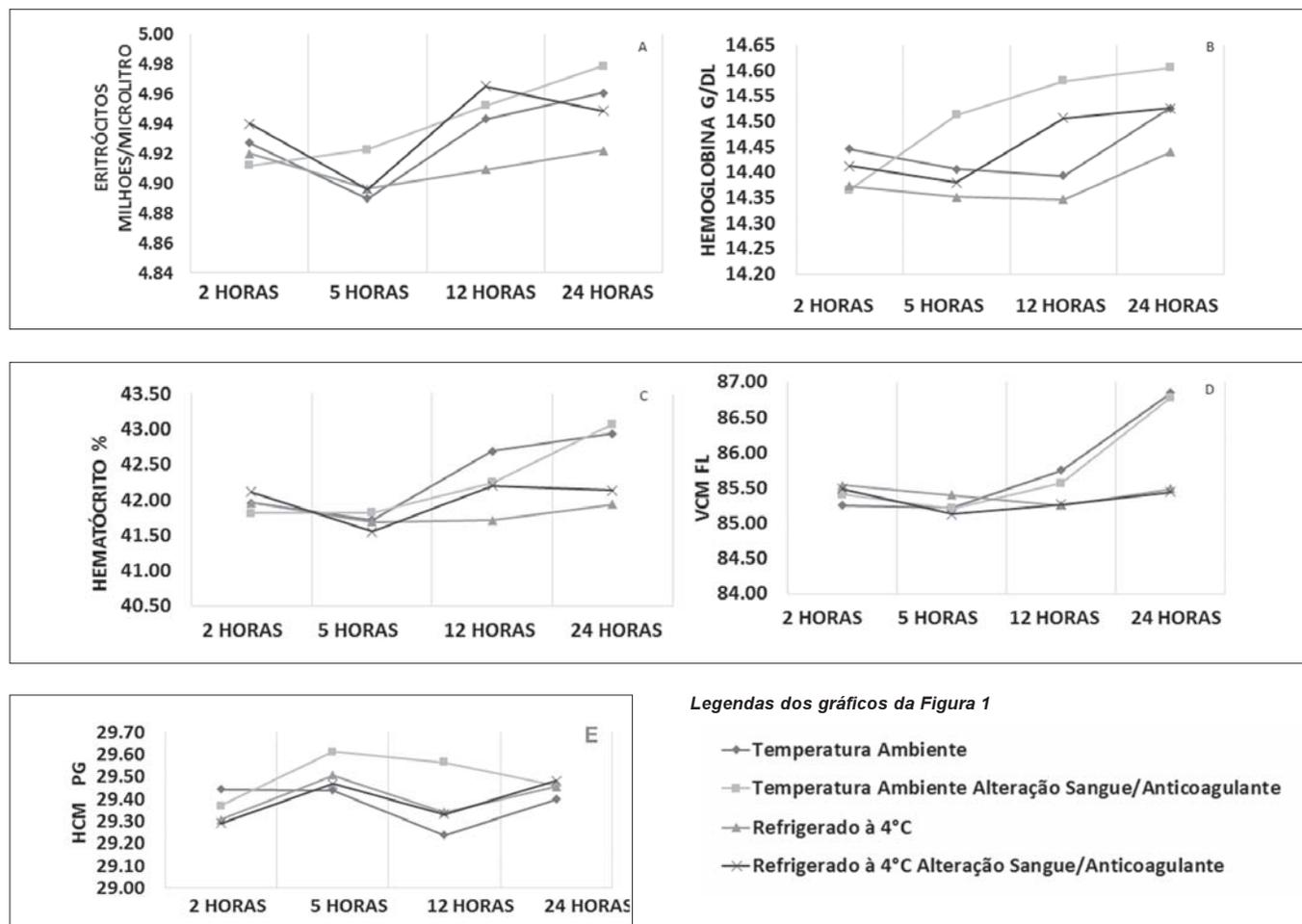
Nos resultados do HCM observou-se que a amostra armazenada em temperatura ambiente com alteração na relação sangue/anticoagulante apresentou uma elevação após 5 horas e decréscimo em até 12 horas; porém, estas oscilações foram ínfimas, enquanto que as outras amostras apresentaram um perfil de oscilação semelhante às das médias. Contudo, as amostras mantiveram seus valores médios homogêneos para as diferentes formas de armazenamento, independente da relação sangue/anticoagulante, com dife-

renças menores que 0,24 pg, durante as 24 horas de estocagem (Figura 1 - E).

Nos valores de CHCM observou-se, após 24 horas de estocagem, queda das médias de 0,61% e 0,47% para os dois grupos de amostras armazenadas em temperatura ambiente sem e com alteração da relação sangue/anticoagulante, respectivamente. As amostras refrigeradas, independente da relação sangue/anticoagulante, mantiveram o mesmo perfil, com aumento após 5 horas, uma pequena queda em 12 horas e aumento em 24 horas; porém, estas oscilações foram ínfimas e os valores médios de CHCM permaneceram homogêneos durante as 24 horas de estocagem (Figura 1 - F).

Para as médias analisadas para o RDW, as amostras armazenadas em temperatura ambiente apresentaram um aumento gradativo ínfimo de 0,30 durante as 24 horas após a coleta; já as amostras refrigeradas não apresentaram uma variação nos valores e se mantiveram próximas a 12,85 (Figura 1 - G).

No entanto, apesar das oscilações de médias observadas em todos os parâmetros do eritrograma analisados, não houve diferença estatística para ambas as temperaturas de armazenamento e diferentes relações sangue/anticoagulante de acordo com o tempo de estocagem.



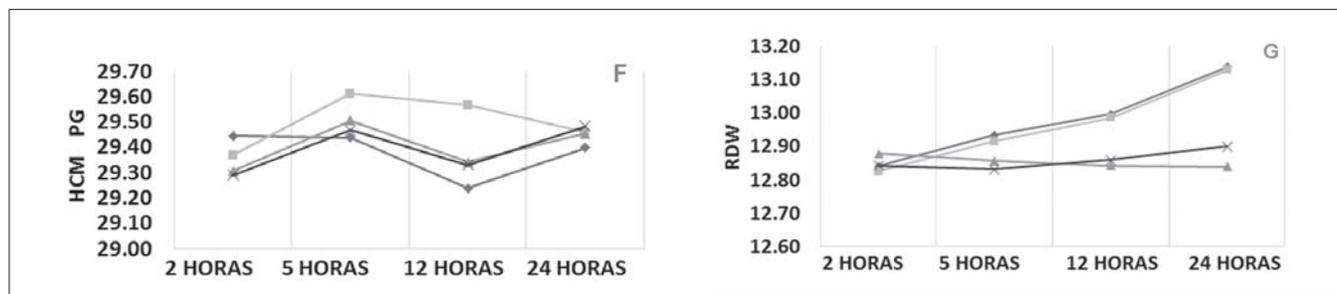


Figura 1. Perfil médio dos parâmetros do eritrograma conforme a relação sangue/anticoagulante, temperatura e tempo de estocagem. VCM, Volume Corpuscular Médio; HCM, Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM, Concentração Hemoglobinica Corpuscular média; RDW, Amplitude de Distribuição das Hemácias.

Os resultados do leucograma estão representados na Figura 2. Analisando os leucócitos totais observa-se que as amostras armazenadas em temperatura ambiente com alteração da relação sangue/anticoagulante apresentam maior variação que as demais amostras. Porém, exibiram uma variação das médias menor que 400 células/ μL durante as 24 horas de armazenamento. As demais amostras mantiveram um perfil semelhante, com valores médios homogêneos entre 6.500 e 6.700 leucócitos/ μL durante as 24 horas de armazenamento. Desta forma, não foi observada diferença estatística para contagem de leucócitos totais (Figura 2 - A).

Os linfócitos apresentaram uma queda em cinco horas de 0,95% (34,57% para 33,62%) e um aumento em 24 horas de 1,49% (33,47% para 34,96%) para as amostras armazenadas em temperatura ambiente sem alteração da relação sangue/anticoagulante. Para as demais amostras, observou-se uma oscilação das médias durante as 24 horas; porém, não houve uma variação de média superior a 0,5 do percentual de linfócitos.

Apesar das oscilações observadas, não houve diferença estatística para este parâmetro do leucograma (Figura 2 - B).

Com relação ao percentual das células de tamanho médio (incluindo monócitos, basófilos e eosinófilos), os valores médios das amostras em temperatura ambiente sem ou com alteração da relação sangue/anticoagulante apresentaram aumento significativo de 8,34% para 11,00% ($p=0,008$) e 8,89% para 11,81% ($p=0,022$), respectivamente. Porém, as amostras armazenadas refrigeradas a 4°C com alteração da relação sangue/anticoagulante, demonstraram uma diminuição significativa das médias de 11,61% em duas horas para 8,71% em 24 horas ($p=0,029$), enquanto que as armazenadas também a 4°C , sem alteração da relação sangue/anticoagulante, permaneceram com valores médios homogêneos durante as 24 horas após a coleta (Figura 2 - C).

Nos valores médios para o percentual de granulócitos, todas as amostras mantiveram ínfima variação em até 12 horas após a coleta. Porém, em 24 horas as amostras refri-

geradas com alteração da relação sangue/anticoagulante tiveram um aumento de 2,67% (54,86% para 57,53%), enquanto que as demais amostras apresentaram uma queda das médias: em temperatura ambiente, sem alteração da relação sangue/anticoagulante, de 14,02% (57,66 para 43,64); em temperatura ambiente, com alteração da relação sangue/anticoagulante, de 12,89% (56,82 para 43,93) e refrigeradas a 4°C , sem alteração da relação sangue/anticoagulante, de 4,67% (56,03% para 52,36%). Porém, não houve diferença estatística para o percentual de granulócitos (Figura 2 - D).

Os resultados do plaquetograma estão representados na Figura 3. A média da contagem de plaquetas apresentou aumento após 24 horas para todas as amostras, com alteração mais evidente de 216.000/ mm^3 em duas horas para 240.000/ mm^3 em 24 horas para as amostras armazenadas em temperatura ambiente com correta relação sangue/anticoagulante; porém, os valores médios permaneceram homogêneos para todas as amostras analisadas (Figura 3 - A).

A média dos resultados de VPM para as amostras refrigeradas a 4°C com alteração sangue/anticoagulante apresentou oscilações mais evidentes com diminuição de 0,5fL em cinco horas e aumento progressivo de 0,88 fL em 24 horas de estocagem, enquanto que as demais amostras não apresentaram grandes variações, mantendo seus valores médios homogêneos em 24 horas após a coleta (Figura 3 - B).

A média dos valores de PDW acompanharam o mesmo perfil do VPM para as amostras refrigeradas a 4°C e com alteração sangue/anticoagulante, observando-se queda no tempo de cinco horas de 0,80, em seguida aumento progressivo de 1,52 em 24 horas de estocagem. Entretanto, as demais amostras não apresentaram ampla alteração nos resultados (Figura 3 - C).

Embora tenham se observado variações entre as diferentes formas, temperaturas e tempo de armazenamento de armazenamento, não foram encontradas diferenças significativas para os parâmetros analisados.

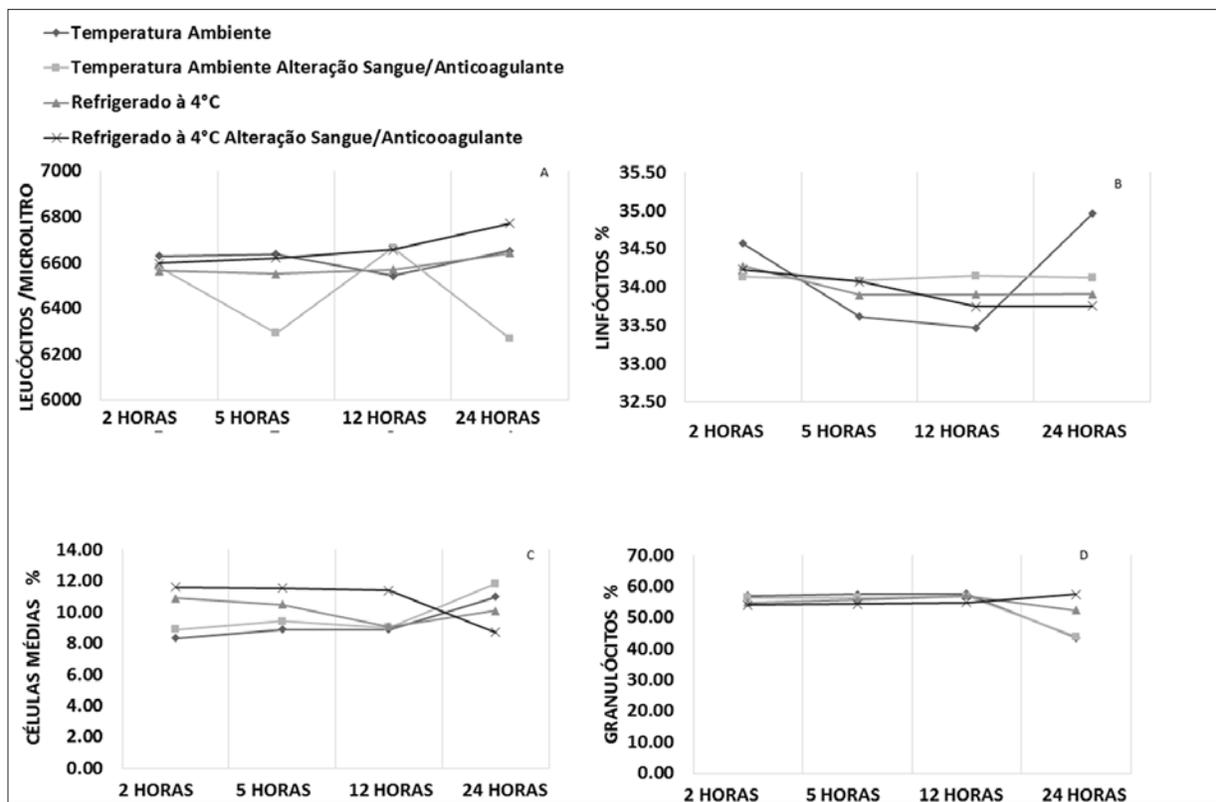


Figura 2. Perfil médio dos parâmetros do leucograma, conforme a relação sangue/anticoagulante, temperatura e tempo de estocagem. *diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

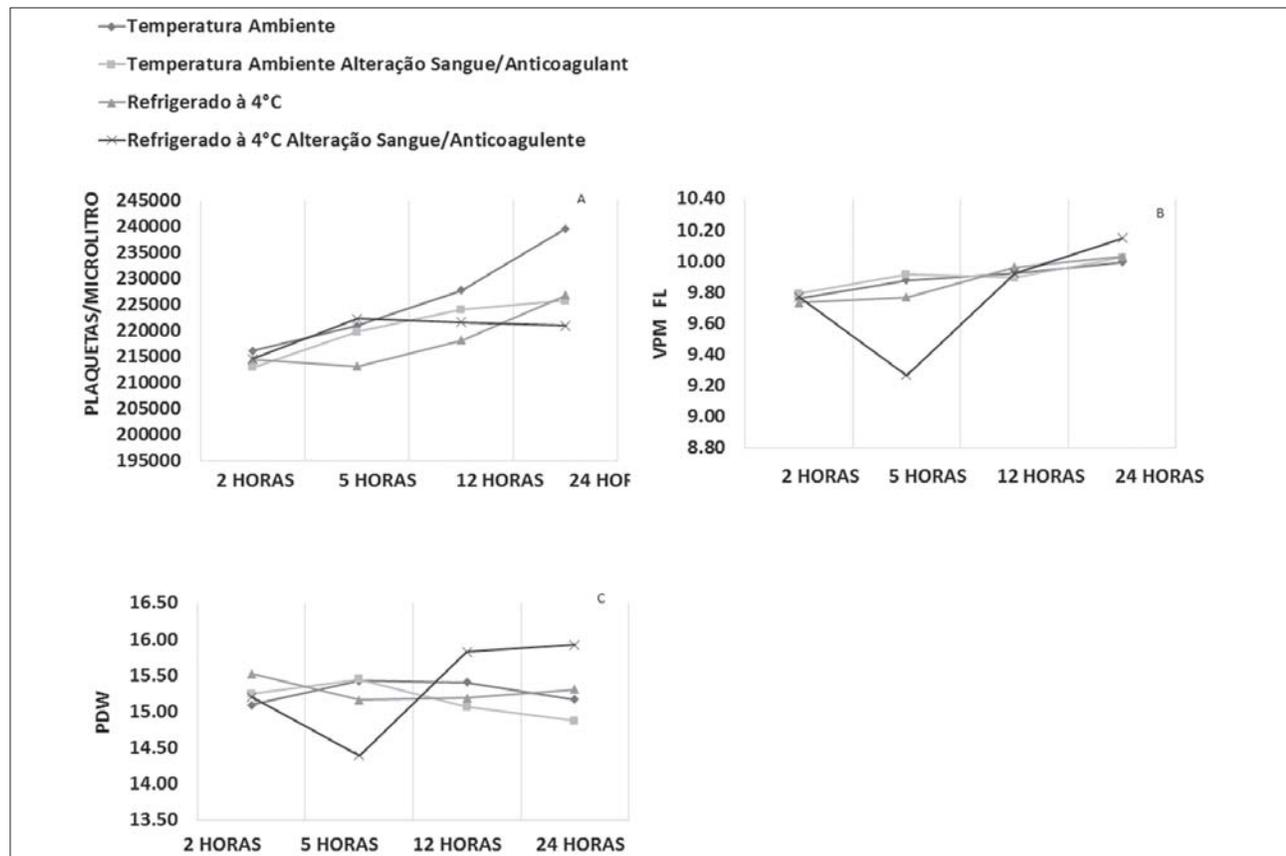


Figura 3. Perfil médio dos parâmetros do plaquetograma, conforme a relação sangue/anticoagulante, temperatura e tempo de estocagem.

DISCUSSÃO

No presente estudo observaram-se oscilações nos valores de média para os parâmetros analisados do eritrograma, leucograma e plaquetograma, principalmente para as amostras armazenadas em temperatura ambiente, assim como para as amostras com alteração da relação sangue/anticoagulante, independente da forma de armazenamento.

Os resultados encontrados concordam com informações prévias, mostrando que as amostras armazenadas a 4°C apresentam menores oscilações em comparação com as armazenadas à temperatura ambiente.^(2,6)

Entretanto, na maioria dos parâmetros analisados, as alterações não foram estatisticamente significativas, sugerindo que as pequenas oscilações encontradas podem ter ocorrido devido à variabilidade do equipamento hematológico.⁽¹⁰⁾

Com relação os parâmetros analisados no eritrograma, a contagem de eritrócitos e a dosagem de hemoglobina mantiveram-se estáveis durante as 24 horas de estocagem, condizendo com um estudo anterior desenvolvido por Dalanhol et al.,⁽¹¹⁾ que também não encontraram diferença estatística no período de 72 horas após a coleta, enquanto que o hematócrito e o VCM apresentaram aumento nos resultados das amostras armazenadas em temperatura ambiente, independente da alteração sangue/anticoagulante. Esse aumento pode ser explicado devido ao inchaço dos eritrócitos quando as amostras são armazenadas em temperatura ambiente, após um período de 12 horas, levando a um aumento do VCM e, conseqüentemente, do hematócrito.^(6,11) Porém, quando estas amostras são armazenadas sob refrigeração a 4°C estes parâmetros apresentam uma estabilidade aceitável,⁽¹¹⁾ estando de acordo com os resultados obtidos pelo presente estudo, que não apresentaram grandes oscilações para as amostras refrigeradas.

Assim como a contagem de eritrócitos e a dosagem de hemoglobina, os valores de HCM apresentaram-se estáveis durante as 24 horas após a coleta. Segundo o estudo desenvolvido por Baca et al.,⁽⁵⁾ que analisou o efeito do tempo de estocagem em temperatura ambiente durante quatro dias, o HCM se manteve estável durante toda a duração do estudo, ao contrário do CHCM, que começou a apresentar queda dos resultados depois do primeiro dia após a coleta de sangue venoso. Assim como, no presente estudo, onde os valores de CHCM apresentaram uma queda, entretanto inferior a 1%, nos resultados das amostras armazenadas em temperatura ambiente com e sem alteração da relação sangue/anticoagulante após 24 horas de estocagem, esta queda ocorreu devido ao longo período de estocagem,⁽¹¹⁾ enquanto que, para a média dos valores de RDW, as amostras armazenadas em temperatura ambiente com e sem alteração da relação sangue/anticoagulante apresentaram um

aumento ínfimo durante as 24 horas após a coleta. Entretanto, no estudo realizado por Dalanhol et al.,⁽¹¹⁾ as amostras armazenadas em temperatura ambiente apresentaram aumento significativo após as 12 horas de estocagem.

No que diz respeito ao efeito do anticoagulante, EDTA K2 é recomendado como o anticoagulante de escolha;⁽⁸⁾ porém, quando a relação sangue/anticoagulante não é respeitada, pode produzir alterações, principalmente morfológicas, das células sanguíneas, pois excesso de EDTA induz a modificações da membrana celular.⁽⁹⁾

Ao ser adicionada uma quantidade inferior de amostra que o necessário ocorre um excesso de anticoagulante, que pode causar a desidratação dos eritrócitos, levando a uma diminuição do volume corpuscular e seus parâmetros derivados, além de causar microcitose e diminuição da hemoglobina.⁽¹²⁾ Estas alterações não foram observadas no presente estudo, porém, em alguns casos, quando se utilizam diferentes formas de EDTA, existe uma dificuldade em comparar os resultados, principalmente quando não é considerada a correta relação sangue/anticoagulante.⁽¹⁰⁾

Por exemplo, a utilização do EDTA K3 (ácido etileno-diamino tetra-acético tripotássico) pode diluir as amostras, principalmente as com alteração da relação sangue/anticoagulante com menor volume de sangue; ainda, os eritrócitos podem contrair-se por consequência do efeito osmótico, resultando em diminuição considerável do hematócrito em 2% a 3% nas primeiras quatro horas de estocagem,⁽¹⁰⁾ enquanto que a utilização do EDTA K2 não evidencia implicações com relação à diluição das amostras.⁽¹⁰⁾ Além disso, as amostras, quando coletadas em EDTA, devem apresentar uma oscilação de $\pm 5\%$ dos resultados com relação aos valores iniciais durante 24 horas de estocagem.⁽¹⁰⁾

Com relação aos parâmetros analisados no leucograma, os leucócitos totais mantiveram-se estáveis em 24 horas após a coleta de sangue venoso, como demonstrando também por um estudo desenvolvido por Edlund et al.,⁽¹³⁾ que avaliou o efeito do tempo de estocagem de oitenta amostras de sangue em temperatura ambiente no tempo zero, 12, 24, 48, 72 e 145 horas após a coleta. No entanto, outros estudos demonstram a estabilidade da contagem total de leucócitos por um período superior de tempo, até 72 horas após a coleta, para ambas as formas de armazenamento: temperatura ambiente e refrigerado a 4°C.^(5,6,14,15)

Para contagem diferencial automatizada, o percentual de linfócitos do presente estudo apresentou oscilação mais evidente nas amostras armazenadas em temperatura ambiente, porém, sem diferença significativa entre os resultados. Assim como o percentual de granulócitos, que se manteve estável até 12 horas e apresentou oscilações apenas em 24 horas após a coleta de sangue venoso, demonstrando uma diminuição mais evidente nos resultados das amostras armazenadas em temperatura ambiente; contudo, sem apresentar diferença significativa.

Entretanto, diferenças significativas foram observadas apenas para o percentual das células de tamanho médio (incluindo monócitos, basófilos e eosinófilos), com aumento significativo para amostras em temperatura ambiente e diminuição significativa para as amostras armazenadas refrigeradas a 4°C com alteração da relação sangue/anticoagulante, apresentando estabilidade apenas para as amostras refrigeradas a 4°C sem alteração da relação sangue/anticoagulante de acordo com o tempo de estocagem.

Os resultados encontrados no presente estudo para contagem diferencial automatizada concordam com informações relatadas em outras pesquisas, as quais demonstraram que a contagem diferencial automatizada é estável a 4°C durante pelo menos 24 horas, com diferenças significativas em função do tipo celular como: a contagem de monócitos com tendência a aumentar, a contagem de eosinófilos e linfócitos com tendência a diminuir ao longo do tempo, enquanto que a contagem de neutrófilos é estável até 72 horas após a coleta.^(13,14,16)

No entanto, o estudo desenvolvido por Joshi et al.,⁽⁶⁾ em 2015, demonstrou que a estabilidade da contagem diferencial automatizada mantém-se até 72 horas para as amostras em temperatura ambiente e refrigeradas a 4°C, onde as contagens de neutrófilos e linfócitos permanecem praticamente inalteradas ao longo do tempo, com a exceção para contagem de monócitos em temperatura ambiente. O mesmo estudo demonstrou que as alterações na contagem de monócitos não foram significativas em 24 horas após a coleta de sangue venoso em temperatura ambiente; porém, além deste tempo de estocagem, os resultados tornaram-se progressivamente menores.⁽⁶⁾ Em contraste, os resultados demonstraram estabilidade para contagem de monócitos quando as amostras foram armazenadas a 4°C, em até 72 horas,⁽⁶⁾ como observado pelo presente estudo para o percentual de células médias, que incluiu os monócitos em até 24 horas após a coleta.

Em relação ao EDTA, estudos demonstram que as contagens de neutrófilos e monócitos demonstram ser mais sensíveis, enquanto que a contagem de linfócitos apresentam-se mais estáveis,⁽¹⁷⁾ de acordo com o observado no presente estudo. Quando ocorre um excesso de anticoagulante, a contagem de leucócitos pode diminuir quando a amostra é estocada em temperatura ambiente e quando refrigeradas lentamente, como observado nas amostras armazenadas em temperatura ambiente com alteração da relação sangue/anticoagulante desta pesquisa.⁽¹²⁾

Uma possível explicação para as oscilações na contagem diferencial automatizada pode ser que, quando as amostras, coletas com EDTA, permanecem estocadas durante um longo período de tempo, podem exibir alterações morfológicas: os neutrófilos podem apresentar alterações no seu núcleo, corando-se de forma menos homogênea que em amostras frescas, podendo tornar-se picnótico e apre-

sentar figuras de cariorrêxis, além de margens celulares irregulares e menos definidas, e vacúolos no citoplasma. O mesmo ocorre para os monócitos e linfócitos, apresentando pequenos vacúolos citoplasmáticos e lobulação irregular do núcleo.⁽¹⁰⁾

Com relação aos parâmetros analisados para o plaquetograma, a contagem de plaquetas apresentou um pequeno aumento durante as 24 horas de estudo; porém, as médias permaneceram estáveis para todas as amostras analisadas, contradizendo com o estudo realizado por Joshi et al.,⁽⁶⁾ que indicou uma diminuição na contagem de plaquetas tanto nas amostras estocadas em temperatura ambiente, quanto nas refrigeradas a 4°C.

Para as amostras estocadas sob refrigeração a 4°C com alteração sangue/anticoagulante, os dados obtidos para VPM e PDW apresentaram uma queda em cinco horas e uma elevação em 12 horas, concordando com informações prévias que evidenciam em indivíduos saudáveis uma relação direta entre VPM e PDW.⁽¹⁰⁾ Entretanto, um estudo desenvolvido por Daves et al. (2015)⁽²⁾ observou, após 24 horas, um aumento significativo para o VPM à temperatura ambiente e refrigerado a 4°C.

Além disso, imediatamente após a exposição ao EDTA ocorre modificação da morfologia plaquetária, da forma elíptica para a forma esférica com pseudópodes.⁽¹⁰⁾ Outra implicação importante da exposição ao EDTA para o parâmetro VPM é a alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática, induzindo intumescência progressiva e diminuição da densidade óptica, com conseqüente aumento do VPM com o tempo de estocagem após coleta, quando determinado por impedância.⁽¹⁰⁾

CONCLUSÃO

Neste estudo, foi verificado que a maioria dos parâmetros do hemograma são mais estáveis quando refrigerados a 4°C do que em temperatura ambiente. Além disso, a correta relação sangue/anticoagulante, independente da forma de armazenamento, fornece menos oscilações quantitativas para os parâmetros hematológicos analisados. Entretanto, alguns parâmetros, como: percentual de células médias e granulócitos, VPM e PDW, apresentaram oscilações quando armazenados a 4°C, principalmente para as amostras com alteração da relação sangue/anticoagulante.

Portanto, o presente estudo demonstrou que fatores pré-analíticos, como a temperatura de armazenamento e o tempo de estocagem, podem afetar a variabilidade dos parâmetros quantitativos do hemograma, no dia-a-dia do laboratório clínico, podendo produzir resultados equivocados. Deste modo, deve-se respeitar a correta relação sangue anticoagulante e evitar o processamento do hemograma após longos períodos de estocagem, independente da temperatura. Além disso, devem ser consideradas variações

que podem ocorrer com as diferentes marcas de tubos de EDTA e com a metodologia utilizada pelo equipamento hematológico; portanto, cada laboratório deve verificar a estabilidade da amostra biológica de acordo com as características da sua rotina laboratorial.

Agradecimentos:

Os autores são gratos ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - UEPG por permitir a realização deste estudo.

Abstract

Objective: To assess the impact of the pre-analytical phase in the quantitative CBC evaluation, day-to-day clinical laboratory, such as storage temperature and effect of anticoagulant, according to the storage time after collection. **Methods:** Sixty biological samples of venous blood have been collected and distributed in two EDTA K2 tubes respecting the blood/anticoagulant relation and two tubes with change in this relationship. These samples were stored in different ways: at room temperature (25°C) and at 4°C. Subsequently, samples were analyzed for hematologic counter in different storage times of 2, 5, 12 and 24 hours after collection. **Results:** It was verified that during the 24 hours of storage most parameters showed no significant alteration, except percentage of medium-sized cells (including monocytes, basophils and eosinophils). Moreover, it was observed that stored refrigerated samples exhibit more stable values, except for some parameters such as the percentage of granulocytes, MPV and PDW, which showed oscillations when stored at 4°C, especially for samples with abnormal blood/anticoagulant relation. **Conclusion:** This study showed that pre-analytical factors could affect the variability of the quantitative complete blood count parameters. The correct blood/anticoagulant ratio should be respected, and the processing of the sample after long periods of storage.

Keywords

Blood cell; Blood count; Preservation

REFERÊNCIAS

- Buttarelo M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol*. 2008 Jul;130(1):104-16.
- Daves M, Zagler EM, Cemin R, Gnech F, Joos A, Platzgummer S, et al. Sample stability for complete blood cell count using the Sysmex XN haematological analyser. *Blood Transfus*. 2015 Oct;13(4):576-82.
- Buttarelo M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clin Chim Acta*. 2004 Aug 2;346(1):45-54.
- Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Integration of data derived from biological variation into the quality management system. *Clin Chim Acta*. 2004 Aug 2;346(1):13-8.
- de Baca ME, Gulati G, Kocher W, Schwarting R. Effects of Storage of Blood at Room Temperature on Hematologic Parameters Measured on Sysmex XE-2100. *Lab Med* 2006;37(1):28-35.
- Joshi A, McVicker W, Segalla R, Favalaro E, Luu V, Vanniasinkam T. Determining the stability of complete blood count parameters in stored blood samples using the SYSMEX XE-5000 automated haematology analyser. *Int J Lab Hematol*. 2015 Oct;37(5):705-14.
- Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for Ethylenediaminetetraacetic Acid Anticoagulation of Blood for Blood Cell Counting and Sizing. International Council for Standardization in Haematology: Expert Panel on Cytometry. *Am J Clin Pathol*. 1993 Oct;100(4):371-2.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. In: CLSI, ed. 6th ed. ed. Wayne 2007.
- Lewis SM, Stoddart CT. Effects of anticoagulants and containers (glass and plastic) on the blood count. *Lab Pract*. 1971 Oct;20(10):787-92.
- Silva PH AH, Comar SR, Henneberg R, Merlin JC, Stingham ST. Hematologia Laboratorial. Teoria e Procedimentos. Porto Alegre: Artmed 2016.
- Dalanhol M BM, Mazuchelli J, Silva PH, Hashimoto Y, Largura A. Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2010;32(1):16-22.
- Silva PH HY, Alves HB. Hematologia Laboratorial. Rio de Janeiro: Revinter. 2009.
- Edlund B, Jones I, Eriksson M, Fredlund I, Magnuson A. Effect of sample aging on patient samples kept at ambient temperature before analysis with the Abbott Cell-Dyn 4000 hematology analyzer. *Lab Hematol*. 2004;10(1):38-41.
- Hedberg P, Lehto T. Aging stability of complete blood count and white blood cell differential parameters analyzed by Abbott CELL-DYN Sapphire hematology analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2009 Feb;31(1):87-96. Erratum in *Int J Lab Hematol*. 2009 Feb;31(1):118.
- Gulati GL, Hyland LJ, Kocher W, Schwarting R. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. *Arch Pathol Lab Med*. 2002 Mar;126(3):336-42.
- Zini G1; International Council for Standardization in Haematology (ICSH). Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications. *Int J Lab Hematol*. 2014 Apr;36(2):111-3.
- Reardon DM, Warner B, Trowbridge EA. EDTA, the traditional anticoagulant of haematology: with increased automation is it time for a review? *Med Lab Sci*. 1991 Jan;48(1):72-5.

Correspondência

Danielle Cristyane Kalva Borato

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

Avenida General Carlos Cavalcanti, 4748 – Uvaranas

84030-900 – Ponta Grossa, PR

Telefone: 3220-3118

e-mail: dckalva@hotmail.com

Interdisciplinaridade como instrumento educativo em saúde: um estudo sobre o câncer de colo do útero

Interdisciplinarity as educational tool in health: a study of cervical cancer

Vera Regina Medeiros Andrade¹

Antônio Vanderlei dos Santos¹

Keli Jaqueline Staudt²

Cristine Wagner Mallmann²

Resumo

A interdisciplinaridade é um intercâmbio entre diferentes disciplinas para ultrapassar o pensar fragmentado na construção de conhecimentos, trazendo grandes contribuições para o processo ensino-aprendizagem. O objetivo foi usar a interdisciplinaridade no estudo do câncer do colo do útero e desenvolver um folder educativo. A sequência didática proposta como ferramenta metodológica foi: apresentação da situação, como fazer, para quem, a produção inicial e a produção final. O trabalho desenvolvido ocorreu com disciplinas do quarto semestre do curso de farmácia. Concluímos que é possível ligar diferentes disciplinas na construção do conhecimento, que a comunidade aceita bem as orientações e que o instrumento pode servir de multiplicador de informações.

Palavras-chave

Pesquisa Interdisciplinar; Educação em Saúde; Neoplasia Intraepitelial Cervical

INTRODUÇÃO

Quando se fala em interdisciplinaridade está se referindo, de algum modo, a uma espécie de interação, ligação entre disciplinas ou áreas do saber (afins ou aparentemente não). Fazenda⁽¹⁾ apresenta um breve histórico da interdisciplinaridade, mencionando seu surgimento na França e Itália, em meados de 1960, como um modelo de resposta a reivindicações por um ensino mais contextualizado relacionado com as grandes questões de ordem social, política e econômica da época. Ao final da década de 60, a interdisciplinaridade chegou ao Brasil e logo exerceu influência na elaboração da Lei de Diretrizes e Bases Nº 5.692/71.⁽²⁾ A partir daí, sua presença no cenário educacional brasileiro tem se intensificado ainda mais com a nova Lei de Diretrizes e Bases (LDB) Nº 9.394/96 e com os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCNs). Dessa forma, a interdisciplinaridade é entendida como um intercâmbio entre as diferentes disciplinas, em diferentes níveis, nas diversas áreas do saber, integrando os conteúdos para uma maior compreensão e entendimento, unindo-as para que ocorra algo inovador, ultrapassando o pensar fragmentado na construção de conhecimentos. Além disso, ela promove uma maior interação entre o aluno e professor.⁽³⁾

Há grandes contribuições para o processo ensino-aprendizagem com a interdisciplinaridade: alunos aprendem a trabalhar em grupo, habitua-se à experiência de aprendizagem integral; professores, por sua vez, ampliam seus conhecimentos em outras áreas e minimizam os problemas de interação com os colegas de trabalho. Além dessa motivação, essa pesquisa está interessada em produção contextualizada e interação com a comunidade no entorno da universidade, introduzindo um saber acadêmico em comunidades carentes como produto final da pesquisa.

O trabalho usando a interdisciplinaridade ocorreu no 4º semestre do curso de farmácia de uma universidade comunitária, tendo como objetivo usar a interdisciplinaridade na pesquisa do câncer de colo do útero e desenvolver um folder educativo sobre o assunto para uma determinada população carente da comunidade.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Sequência didática proposta

Uma sequência didática é um conjunto de atividades escolares organizadas, de maneira sistemática, em torno de um gênero oral ou escrito. Pode ser caracterizada como

¹Doutora(or). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Santo Ângelo – RS, Brasil.

²Acadêmica do curso de Farmácia/Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Santo Ângelo – RS, Brasil.

Instituição: Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Santo Ângelo – RS, Brasil.

Artigo recebido em 18/10/2016

Artigo aprovado em 14/03/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700541

um conjunto de aulas planejadas, para ensinar um determinado conteúdo, sem que necessariamente tenha um produto final. Sua duração pode variar de dias a semanas, e, desta forma, várias sequências podem ser trabalhadas durante o ano de acordo com o planejado ou com as necessidades da classe.⁽⁴⁾

Conforme a teoria de Ausubel,⁽⁵⁾ é necessário um levantamento prévio dos conhecimentos dos docentes e discentes, a partir do planejamento de uma série de aulas com desafios e/ou problemas, com atividades diferenciadas, uso de diferentes linguagens, gêneros de textos, análise e reflexão, objetivando o aumento da complexidade das atividades, permitindo um aprofundamento do tema proposto. Esse planejamento é flexível e permite que se construa com o estudante as habilidades e competências da pesquisa científica. Permite experiências que, por seus aspectos conceituais e procedimentais, oferecem ao aluno o desenvolvimento de sua autonomia, deixando de lado a mera repetição de conceitos e aplicação de fórmulas prontas e acabadas, procurando desenvolver uma consciência crítica.

A ferramenta metodológica proposta para auxiliar os docentes e discentes no trabalho interdisciplinar foi uma sequência didática, que iniciou com a apresentação da situação, "o que"; justificativa, "por que"; como o trabalho será realizado, "onde, como e quando"; para quem será feito, "responsabilidade social"; produção inicial, "monografia ou artigo e um instrumento educativo sob a forma de *folder*"; e a produção final "avaliação".

A apresentação da situação aconteceu no início do semestre quando os professores apresentaram a atividade interdisciplinar para os acadêmicos do curso e discutiram a proposta e questões relacionadas com a interdisciplinaridade. As disciplinas envolvidas nessa proposta foram as que compõem, na grade curricular, o quarto semestre do curso de farmácia, tais como: bioquímica, genética, imunologia, farmacognosia, farmacotécnica, farmacologia e práticas profissionais, sendo que essa última coloca os acadêmicos em um contato maior com a comunidade.

A justificativa para a realização se deve ao fato que, atualmente, existe uma expectativa muito grande voltada para o ensino superior, principalmente para o futuro profissional da saúde, e não existe uma regra ou manual para ser reproduzido. A motivação para desenvolver esse trabalho recai em utilizar a interdisciplinaridade como uma ferramenta de ensino, no nível superior, sendo um fator de grande importância, no momento em que ela oferece uma nova postura diante do conhecimento, uma nova maneira de construí-lo de forma globalizada, integral, sem os tradicionais limites das disciplinas.

Para a realização do trabalho, a turma foi organizada em dois grandes grupos para trabalhar os dois grandes temas escolhidos, que foram "Obesidade e doenças associadas" e "Câncer". Cada grande grupo foi dividido em

subgrupos, formando duplas. Estas duplas, orientadas pelos professores do semestre, escolheram diferentes assuntos, dentro dos temas principais, para trabalhar em um sistema de tutoria, organizando os estudos acadêmicos. Os professores discutiram com as duplas os conteúdos com os quais iriam trabalhar, apontando as áreas de conhecimento envolvidas, sobre o que deveriam escrever, apresentando exemplos e esquemas para organizarem os trabalhos.

Foi proposto escrever uma monografia ou artigo sobre o assunto, digitada no Word, em folha A4, margens de 2,5 cm, contendo de 10 e 15 páginas de texto, letra Times News Roman ou Arial 12, espaço entre linhas de 1,5. A monografia ou artigo deveria apresentar os seguintes itens: resumo com palavras-chave; introdução; objetivo; desenvolvimento relacionando o assunto com as disciplinas do semestre; conclusão e referências bibliográficas, conforme as normas da ABNT. O *folder* foi desenvolvido em uma folha A4, sendo livre para cada grupo definir o conteúdo, conforme o assunto escolhido, e anexado ao final do trabalho.

Também, foi discutido para quem seria produzido o material didático (colegas, escolares, comunidade), e a forma como seria desenvolvida (teatro, *folder*, panfleto, outros), sendo escolhido a forma de *folder* e comunidade para ser produzido o material.

Para a produção inicial ser desenvolvida, foi realizado uma pesquisa acadêmica bibliográfica⁽⁶⁾ em livros científicos e em *sites* de busca de artigos científicos, tais como *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *US National Library of Medicine National Institutes of Health* (PUBMED) e *Literatura Científica e Técnica da América Latina e Caribe* (LILACS). Na pesquisa realizada nos *sites* foram utilizadas as seguintes palavras-chave: neoplasia intraepitelial cervical; Papilomavírus humano; câncer de colo do útero; pesquisa interdisciplinar.

A pesquisa começou abordando os aspectos epidemiológicos do câncer do colo do útero no mundo, no Brasil, na região sul e no estado do Rio Grande do Sul, fatores de risco e as ações de prevenções primária, secundária e terciária. No seguimento do trabalho, foi pesquisado sobre o Papilomavírus humano, o exame preventivo de câncer do colo do útero ou exame de Papanicolaou. Quando foi revisado, na literatura, sobre o tratamento, foram abordadas as disciplinas de imunologia, farmacologia e farmacognosia. Na imunologia foram revisadas as vacinas, na farmacologia foram pesquisados os medicamentos antivirais e os quimioterápicos, e na farmacognosia sobre um vegetal com propriedades terapêuticas. Assim, foi possível um melhor entendimento sobre o assunto ligando as diferentes disciplinas na construção do conhecimento.

Após essa etapa de revisão, foi iniciado o planejamento para desenvolver o material educativo, na forma de *folder*,

com informações em linguagem acessível e distribuído para a comunidade carente. O *folder* foi distribuído para agentes comunitários de saúde (ACS) e para as mulheres da comunidade.

RESULTADOS

Revisão sobre o câncer do colo do útero

O câncer do colo uterino continua sendo o segundo câncer mais frequente entre mulheres, no mundo, e o mais comum em países em desenvolvimento. Segundo estimativas mundiais, no ano de 2012, a cada ano são diagnosticados 527 mil casos novos de câncer cervical e 265 mil óbitos, sendo que cerca de 87% desses óbitos ocorreram em mulheres de países em desenvolvimento. No Brasil, segundo estimativas para 2016, são esperados 16.340 novos casos de câncer do colo do útero, sendo considerado o segundo tipo de câncer mais prevalente no país. Considerando a incidência por região, a região sul ocupa a quarta posição. No Rio Grande do Sul, a taxa de incidência é de 870 casos (15,14%), sendo referenciado como o quarto tipo de câncer mais frequente em mulheres.⁽⁷⁾

Existem vários fatores de risco para o desenvolvimento de câncer do colo do útero. A infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) representa o principal fator, porém não é suficiente, necessitando de outros fatores, tais como: o início precoce da atividade sexual, a pluralidade de parceiros sexuais, uso prolongado de contraceptivos orais, paridade, imunológicos, tabagismo, hábitos de higiene, fatores socioeconômicos e ambientais entre outros.⁽⁸⁾ A transmissão do HPV se dá preferencialmente pela via sexual. Existe a possibilidade de transmissão de mãe para o feto e por meio de objetos contaminados com HPV, embora essa última ainda não seja comprovada, até porque não se sabe quanto tempo o vírus HPV resista fora do organismo.⁽⁹⁾

As ações de prevenções para o câncer do colo do útero consistem em prevenção primária, secundária e terciária. A prevenção primária acontece com as melhorias das condições de vida, educação sanitária, limitação à exposição a agentes causais e a utilização da vacina contra o HPV. Na prevenção secundária, é realizado o diagnóstico precoce das lesões pré-cancerosas pelo exame preventivo de Papanicolaou, e na prevenção terciária as ações são para prevenir recidivas, morbimortalidade. A prevenção primária somada à secundária podem reduzir em 2/3 o número de casos desse câncer.⁽¹⁰⁾

Os HPV são vírus da família *Papillomaviridae*, possuem genoma composto de dupla hélice de DNA circular, com aproximadamente 8 mil pares de bases e capsídeo icosaedro com diâmetro de 50 a 60 nm, não revestido por envelope lipídico. Já foram identificados mais de 100 ti-

pos de HPV, e, desses, cerca de 40 tipos infectam a região anogenital. Os HPV são divididos em alto e baixo risco para o desenvolvimento de câncer, sendo que os de baixo risco causam lesões benignas, e os de alto risco estão associados a neoplasia de alto grau e câncer. Todos os tipos de HPV se replicam no núcleo da célula hospedeira, sendo que o genoma viral do HPV de baixo risco se encontra integrado ao DNA das células hospedeiras. Para integrar-se ao DNA celular, é necessário que haja uma quebra no genoma viral, e essa quebra não ocorre de forma aleatória, sendo a maioria em regiões dos genes E1 e E2 do vírus. Com a quebra, é produzida uma perda de função desses dois genes, acompanhada de uma desregulação dos genes E6 e E7 virais, que resulta em transformação da célula hospedeira.⁽¹¹⁾

Na célula hospedeira, o papel dos genes *TPRB* e *TP53* é de regular o ciclo celular pelo controle da transcrição celular dos genes envolvidos na progressão e na proliferação celular. As mutações nesses genes ou inativações das proteínas pRB e p53 causam proliferação celular descontrolada, desenvolvendo os tumores malignos. As oncoproteínas do HPV E6 e E7, dos HPV genitais de alto risco, interagem com as proteínas supressoras de tumor p53 e pRB da célula, desempenhando um papel importante na carcinogênese cervical. A proteína E6 forma complexo com a p53, e a proteína E7 interage com a pRB, inativando-as, favorecendo a proliferação celular e o desenvolvimento do câncer do colo do útero.⁽¹²⁾

O colo é a porção cilíndrica do útero que está em contato com a vagina, e é dividido em porção vaginal (ectocérvice) e canal cervical (endocérvice). A mucosa do colo do útero, na sua porção vaginal, é coberta por epitélio escamoso estratificado não queratinizado, contínuo com a cúpula vaginal. Já no canal cervical, a endocérvice é revestida por epitélio colunar secretor de muco, que mergulha no estroma adjacente, formando as glândulas endocervicais. O ponto no qual o epitélio escamoso e o epitélio colunar se encontram é denominado junção escamo-colunar (JEC). Essa é a região de maior incidência de câncer do colo uterino, sendo muito importante que células dos tecidos que compõem a JEC sejam representadas no material para o exame de Papanicolaou.⁽¹³⁾

Para diagnosticar lesões pré-cancerosas e câncer cervical são utilizados os exames clínico e laboratorial. Durante uma consulta ginecológica, são realizados o exame clínico e a coleta do exame de Papanicolaou, sendo possível também a realização da colposcopia e o teste de Schiller. O exame de Papanicolaou, conhecido internacionalmente, é o exame de rastreamento populacional, sendo que o diagnóstico está apoiado em um tripé do qual fazem parte os exames de colposcopia e histopatologia. O exame citopatológico consiste no esfregaço ou raspado de células

esfoliadas do epitélio da ectocérvice e da endocérvice. Quando esse exame é realizado pela mulher periodicamente, ele tem forte influência na redução da incidência do câncer da cérvice uterina. Para tanto, o Ministério da Saúde (MS) preconiza que toda mulher, dos 25 aos 64 anos de idade, ou antes, se já iniciou sua vida sexual, deve se submeter ao exame preventivo, com periodicidade anual, inicialmente, passando, após dois exames normais, para rastreamento trienal.⁽¹⁴⁾

Já, o exame de colposcopia é realizado com auxílio de um aparelho conhecido como colposcópico, que permite visualizar o colo uterino, sob luz brilhante, com aumento de 10 a 40 vezes. Durante esse exame, as imagens vistas no colposcópico são analisadas, após uso de soro fisiológico 0,9% no colo e fórnices vaginais, e com solução de ácido acético 3% a 5% e, por fim, utilizando o lugol para realização do teste de Schiller. As soluções usadas nesse exame são preparadas conforme o Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira de 2012.^(15,16)

As vacinas contra o HPV agem como profiláticas ou terapêuticas. A profilática é considerada um instrumento de prevenção primária, prevenindo a ocorrência da infecção. A terapêutica induz a regressão de lesões precursoras e a remissão do câncer. Atualmente, três vacinas contra HPV estão disponíveis no mercado: a vacina bivalente contra HPV, produzida pela GlaxoSmithKline, a vacina quadrivalente contra HPV e a vacina nonavalente contra HPV, produzida pela Merck. Essas vacinas são produzidas a partir da proteína L1 do capsídeo viral, por tecnologia de DNA recombinante, resultando em partículas semelhantes aos vírus ou VLP (*virus-like particles*). A vacina de HPV bivalente contém antígenos na forma VLP dos tipos de HPV 16 e 18. A vacina quadrivalente contém antígenos dos tipos de HPV 6, 11, 16 e 18. A vacina de HPV de nonavalente contém antígenos dos tipos de HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58.⁽¹⁷⁾ As VLP não possuem DNA e, portanto, não são infectantes, sendo capazes de induzir a produção de anticorpos contra os tipos específicos de HPV contidos na vacina, gerando uma resposta imunológica específica de memória baseada em anticorpos neutralizantes contra as proteínas L1 do capsídeo viral. A persistência dos níveis de anticorpos é de 4,5 a 5 anos.⁽¹⁸⁾

O vírus do HPV pode ser eliminado espontaneamente, sem necessidade de tratamento. Se a pessoa for imunocompetente terá maior facilidade de curar a infecção, porém, uma pessoa imunossuprimida apresentará condições mais favoráveis à evolução do vírus com o aparecimento de verrugas ou lesões, dependendo do tipo de HPV. Nas infecções virais que são eliminadas espontaneamente, acontecem respostas mediadas por células do sistema imunológico. As células apresentadoras de antígeno (APCs – *antigen presenting cells*) desempenham um papel importante na indução de todas as respostas imunológicas de-

pendentes de linfócitos T. As células dendríticas (CDs) são as APCs mais potentes, com sua propriedade de estimular células virgens, como os linfócitos T-CD4 e T-CD8, iniciando a resposta imune primária. Elas são capazes de fragmentar antígenos exógenos, tais como macromoléculas proteicas ou partículas virais.⁽¹⁹⁾

Para as infecções induzidas pelo HPV que não se curam espontaneamente, como os condilomas acuminados (verrugas), existem diversos tipos de tratamento, porém ainda não existe um medicamento específico para tratar vírus. Os tratamentos para o HPV podem ser realizados por meio da crioterapia, com nitrogênio líquido, que congela o tecido; por laser, que destrói o tecido; com ácido tricloroacético 70% a 90%, que provoca a coagulação química das proteínas; com podofilina a 15% (antimitótica); por meio de cirurgia, com a retirada do tecido e medicamentos. Ainda, existem plantas medicinais utilizadas para tratar o HPV, porém ainda em pesquisa.⁽²⁰⁾

Os medicamentos utilizados são imiquimode e podofilotoxina. O imiquimode (Ixium®) é um creme dermatológico, sendo que seu mecanismo de ação é desconhecido. Ele modifica a resposta imunológica favorecendo as lesões específicas da pele. É indicado no tratamento de verrugas externas genitais e anais causadas pelos HPV.⁽²¹⁾ A podofilotoxina (Wartec®) é um medicamento antiviral utilizado no tratamento de verrugas anogenitais que afetam principalmente o pênis, em homens, e a genitália externa feminina, além da região perianal em ambos os sexos.⁽²²⁾

Plantas com propriedades terapêuticas de diferentes espécies vegetais também têm sido utilizadas no tratamento do HPV, como a *Baccharis articulata*. Essa planta é nativa do Sul e Sudeste brasileiro, amplamente empregada na medicina popular, com efeitos biológicos já relatados tais como: atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, analgésica, antidiabética, anti-hepatotóxica, antimutagênica e relaxante muscular.⁽²³⁾

O tratamento do câncer cervical depende da localização, tamanho e tipo histológico do tumor, além da idade e condições gerais de saúde da mulher. Dependendo da situação, após tratamento cirúrgico, é indicada a quimioterapia concomitante à radioterapia.⁽²³⁾ No tratamento quimioterápico são utilizados alguns agentes antineoplásicos como: bleomicina, carboplatina, cisplatina e doxorubicina.⁽²⁴⁾

Baseado nas informações pesquisadas, concluímos que o câncer de colo do útero pode ser prevenido, detectado precocemente pelo exame de Papanicolaou e tratado. Verificamos que os conhecimentos sobre os mecanismos moleculares do vírus HPV e seu envolvimento na carcinogênese já estão bem estabelecidos, porém ainda são necessários estudos em medicamentos para cura ou controle do câncer. Concluímos que a construção do conhecimento de forma interdisciplinar nos dará suporte para trabalharmos com saúde no mundo atual.

MATERIAL DIDÁTICO

O material didático, desenvolvido como folder, foi escrito em linguagem acessível para que as mulheres tivessem uma melhor compreensão sobre a prevenção do câncer de colo do útero. A princípio foi difícil transformar a linguagem científica (acadêmica) em uma linguagem popular, sem perder os conceitos ou significados, porém, com o tempo, achamos uma forma de orientar as mulheres com relação aos cuidados com a sua saúde. Esse material foi distribuído para os Agentes Comunitários de Saúde e para mulheres residentes no bairro Rugowski do município de Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil.

DISCUSSÃO

Construir o conhecimento, sendo ele apresentado de forma fragmentada, é um grande desafio. E esse desafio foi o que motivou os professores a propor o trabalho. Nessa proposta, os acadêmicos foram desafiados a realizar um trabalho sobre o câncer do colo do útero de forma interdisciplinar. É importante destacar que, para atingirem o objetivo, outras disciplinas também foram necessárias, como as desenvolvidas em semestres anteriores, como também sentiu-se a necessidade de buscar mais informações em disciplinas de semestres ainda não cursados na graduação.

Como mencionado no início do presente artigo, a forma como foram avaliados foi a elaboração de um artigo único para todas as disciplinas, contemplando e articulando todas as disciplinas trabalhadas no semestre (bioquímica, genética, imunologia, farmacognosia, farmacotécnica, farmacologia e práticas profissionais), que foi apresentado em um seminário integrativo realizado na última semana do semestre, além do *folder* desenvolvido, que foi distribuído na comunidade. Vale ressaltar que, neste artigo, não se tem a pretensão de discutir os dados como requer uma pesquisa científica, mas apenas relatar o trabalho realizado de forma interdisciplinar sobre o câncer de colo do útero. Desta forma, foi possível um melhor entendimento sobre o assunto, por parte dos acadêmicos, envolvendo as diversas áreas, e isto contribuiu para o desenvolvimento do trabalho e para a construção do conhecimento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nas informações pesquisadas, concluímos que, quando se pesquisa um problema, é muito difícil separar o mesmo por disciplinas, como acontece na formação, sendo que muitos assuntos se interconectam ou se dialogam de forma interdisciplinar.

Constatamos que a comunidade aceita bem esse tipo de orientação, principalmente por parte dos acadêmicos e

sob a forma de *folder*, que pode ser consultado ou revisto em suas casas e que também pode servir multiplicador de informações.

Abstract

Interdisciplinary is an exchange, involves the combining of two or more different academic disciplines, in the goals connecting and building knowledge, bringing great contributions teaching-learning process. The aim of this study was to use an interdisciplinary study of cervical cancer and develop an educational folder. The didactic sequence proposed as a methodological tool was: presentation of the situation; how to; for whom; the initial production and final production. The work took place in the fourth semester of pharmacy course. We concluded that it is possible to connect different disciplines in the construction of knowledge, that the community accepts it and the folder can serve as a multiplier of information.

Keywords

Interdisciplinary research; Health education; Cervical Intraepithelial Neoplasm

REFERÊNCIAS

1. Fazenda ICA. (Org.). Dicionário em construção: interdisciplinaridade 2ª ed. São Paulo: Cortez; 2002.
2. Saviani D. Desafios da construção de um sistema nacional articulado de educação. *Trab. educ. saúde.* 2008;6(2):213-32.
3. Zimmermann E, Hartmann AM. Desafios da Prática Interdisciplinar no Ensino Médio. In: VII Encontro de Pesquisa em Educação da Região Centro Oeste, 2006, Cuiabá. Anped - Centro Oeste VIII EPECO - Comunicações Orais. 2006;01:01-01.
4. Zabala A. As sequências didáticas e as sequências de conteúdos. A Prática Educativa - como ensinar. Tradução Ernani F. da Fonseca Rosa. Porto Alegre: Artmed; 1998.
5. Ausubel DP, Novak JD, Hanesian H. Psicologia educacional. Rio de Janeiro, Interamericana. Tradução para português de Eva Nick et al., da segunda edição de Educational psychology: a cognitive view; 1980.
6. Boente ANP, Braga G. Metodologia Científica Contemporânea para Universitários e Pesquisadores. Rio de Janeiro; Brasport; 2004.
7. Brasil, Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016/ Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: MS/INCA, 2015. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>Acesso: 17 ago. 2016.
8. Pinto AP, Tulio S, Cruz OR. Cofatores do HPV na oncogênese cervical. *AMB Rev. Assoc. Med. Bras.* 2002; 48(1):73-8.
9. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. *Cad. Saúde Pública.* 2009; 25(5):953-64.
10. Tucunduva LTCM, Sá VHLC, Koshimura ET, Prudente FVB, Santos AF, Samano EST, Costa LJM e Giglio AD. Estudo da atitude e do conhecimento dos médicos não oncologistas em relação às medidas de prevenção e rastreamento do câncer. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2004;50(3):257-62.
11. Consolaro MEL, Engler SSM. Citologia Clínica Cérvico-Vaginal. São Paulo: Rocca Ltda, 2012.
12. Souto R, Falhari JPB, Cruz AD. O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. *Rev. Bras. Cancerol.* 2005; 51(2): 155-160.
13. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. 11ª Ed. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
14. Gompel C, Koss LG. Introdução à Citopatologia Ginecológica. Editora: Roca. 2006.

15. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário nacional da farmacopeia brasileira. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012. 224 p. [acesso em 18 nov 2014]. Disponível em:
16. Gontijo RC, Derchain SF, Martins CR, Sarian LOZ, Bragança JF, Zeferino LC, Silva SM. Avaliação de métodos alternativos à citologia no rastreamento de lesões cervicais: detecção de DNA-HPV e inspeção visual. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2004;26(4):269-75.
17. Angioli R, Lopez S, Aloisi A, Terranova C, Cicco C, Scaletta G, et al. Ten years of HPV vaccines: State of art and controversies. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016;102:65-72.
18. Borsatto AZ, Vidal MLB, Rocha RCNP. Vacina contra o HPV e a Prevenção do Câncer do Colo do Útero: Subsídios para a Prática. *Rev. bras. Cancerol.* 2011;57(1):67-74.
19. Camara GNNL, Cruz MR, Veras VS, Martins CRF. Os Papilomavírus humanos-HPV: Carcinogênese e imunogênese. *Univ. Ciênc. Saúde.* 01 (01):159-68. [acesso em 18 nov 2014]. Disponível em <http://dx.doi.org/10.5102/ucs.v1i1.502>
20. Wolschick NM, Consolaro MEL, Suzuki LE, Boer CG. Câncer do colo do útero: tecnologias emergentes no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. *RBAC.* 2007;39(2):123-29.
21. Ixium®: Imoquimode. Rio de Janeiro. Farmoquímica S/A. Farm. Responsável: Dra. Márcia Weiss I. Campos - CRF-RJ 4.499. Bula de remédio. [acesso em 19 nov 2013].
22. Wartec®. Podofilotoxina. São Paulo. Laboratório Stiefel Ltda. Farm. Responsável Waldir A. K. Bonetti CRF-SP 12.381. Bula de remédio. [acesso em 19 nov 2013].
23. Silveira GF, Giubel SR, Morais KS, Comunello LN, Gosmann G, Buffon A, et al. Viabilidade de diferentes linhagens celulares de câncer de cérvix uterino humano após tratamento com extratos de *Baccharis articulata*. In: Salão de Iniciação Científica (23: 2011 out. 3-7: UFRGS, Porto Alegre, RS). UFRGS. Porto Alegre. RS. 2012. [acesso 18 de nov 2014]. Disponível em <<http://hdl.handle.net/10183/46990>>
24. Silva MB, Fonseca CA, Rodrigues AJL. Terapia medicamentosa do câncer. In: III Seminário de Iniciação Científica e I Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação da UEG. 2005, Anápolis. Anápolis: UEG, 2005. [acesso 18 de nov 2014]. Disponível em <http://www.prp2.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inic-cien/eventos/sic2005/arquivos/saude/terapia_cancer.pdf>.

Correspondência

Vera Regina Medeiros Andrade
: Rua Universidade das Missões, 464,
98.802-470 – Santo Ângelo, RS
Fone: (0XX) 55 3313 7998

Incidência de enteroparasitoses em pacientes atendidos por um hospital universitário da cidade de Goiânia, GO, Brasil

Incidence of enteroparasitosis in patients admitted to a university hospital in Goiania, GO, Brazil

Nubia Siqueira Damaceno¹

Tatiane Luiza da Costa²

Resumo

Objetivo: O presente estudo teve como objetivo avaliar a distribuição de enteroparasitos por cidade de Goiás e por região da cidade de Goiânia, de acordo com o grupo etário e sexo, em pacientes atendidos pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, no período de 2012 a 2014. **Métodos:** Estudo retrospectivo, cujos dados foram obtidos a partir do banco de dados do laboratório clínico do HC/UFG e de prontuários arquivados pelo SAMIS. As variáveis analisadas foram: idade, sexo, cidade de origem e parasito encontrado. **Resultados:** A prevalência de parasitismo foi de 23,4%. O grupo etário que apresentou maior número de indivíduos parasitados foram as crianças (53,8%). *Giardia lamblia* foi o parasito mais frequente na população (53,4%). Dos pacientes provenientes de Goiânia (71,7%), o maior número de indivíduos parasitados era residente da região Leste da cidade (26,9%). Os pacientes da região norte apresentaram a maior variedade de parasitos; sete espécies. **Conclusão:** Pode-se inferir que apesar das melhoras nas condições de saneamento e higiene ocorridas nos últimos anos, as enteroparasitoses ainda são um problema frequente em nossa população necessitando de medidas de educação em saúde e melhorias nas condições sanitárias da população para reduzir esses índices.

Palavras-chave

Protozoários; Helmintos; Enteroparasitoses; Prevalência

INTRODUÇÃO

Parasitoses são doenças causadas por parasitos, que são seres vivos com capacidade de retirar de outros organismos os recursos necessários para a sua sobrevivência. As sociedades egípcias há 2.700 anos, o império Inca da América do Sul e até populações orientais em 400 a.C. descreveram a ocorrência de doenças e infecções provocadas por parasitos.⁽¹⁾

De acordo com a OMS, cerca de 3,5 bilhões de pessoas estão infectadas por enteroparasitos. As doenças parasitárias e infecciosas ainda permanecem entre as principais causas de morte no mundo, estima-se entre 2 e 3 milhões de óbitos por ano.⁽²⁻⁴⁾

No Brasil, a frequência de parasitoses é elevada. Em algumas regiões do país, como o Nordeste, as parasitoses intestinais ainda são responsáveis por altos índices de mortalidade devido a doenças diarreicas, principalmente em crianças menores de 5 anos.^(5,6)

As doenças parasitárias são reconhecidas como um indicador de desenvolvimento socioeconômico de um país, constituindo um problema frequente de saúde pública, que afeta principalmente indivíduos jovens, levando a um atraso no desenvolvimento corporal e baixo rendimento escolar.⁽⁷⁾

Dentre os fatores que favorecem a susceptibilidade às enteroparasitoses destacam-se as condições socioeconômicas da população, uma vez que as parasitoses intestinais possuem distribuição cosmopolita, porém as maiores prevalências são observadas nos países em desenvolvimento, como o Brasil.⁽⁸⁾ A insuficiente expansão dos sistemas de saneamento e a ineficácia da educação sanitária, tanto pela ausência de planejamento estratégico para saúde como pela descontinuidade dos programas, contribuem para o surgimento de doenças, e para a manutenção da ocorrência de enteroparasitoses na população.⁽⁹⁾

Dados da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB), realizada em 2008 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), revelam que o serviço de

¹Biomédica Residente. Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Goiás – UFG. Goiânia, GO, Brasil.

²Doutora em Medicina Tropical. Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Goiás – UFG. Goiânia, GO, Brasil.

Instituição: Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Goiás – UFG. Goiânia, GO, Brasil.

Artigo recebido em 01/04/2016

Artigo aprovado em 06/06/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600496

esgotamento sanitário nos municípios brasileiros ainda não alcançou uma condição satisfatória, alcançando apenas 55,2% das sedes municipais.⁽¹⁰⁾ A deficiência no saneamento básico favorece as portas de entradas ideais para os parasitas, que infectam o homem de forma passiva ou ativa.^(11,12)

O desenvolvimento de programas de controle e erradicação de parasitoses envolve diagnóstico, prevenção e tratamento das doenças parasitárias, além da caracterização epidemiológica, gerando dados relevantes para o desenvolvimento de programas de prevenção.⁽⁷⁾

O presente estudo teve como objetivo avaliar a distribuição de enteroparasitos por cidade de Goiás e por região da cidade de Goiânia, de acordo com o grupo etário e sexo, em pacientes atendidos pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, no período de 2012 a 2014.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo retrospectivo foi realizado no Hospital das Clínicas, da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG), Goiânia, Brasil. O HC/UFG é um hospital geral de ensino público vinculado ao Sistema Único de Saúde (SUS) e é uma referência no cuidado de saúde terciário, atendendo a diversas especialidades. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFG (Protocolo nº 855.670).

Foram incluídos no estudo todos os pacientes que realizaram exame parasitológico de fezes (EPF), independente da idade ou sexo, no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014. As variáveis analisadas foram as seguintes: sexo, idade, cidade de origem e parasito encontrado. A técnica utilizada pelo laboratório clínico do HC/UFG para a realização dos EPF foi a sedimentação espontânea (método de Lutz, Hoffman, Pons e Janer),^(13,14) com tempo de sedimentação de 24 horas, seguida da preparação de lâminas do sedimento corado com Lugol a 1% e observação ao microscópio.

Os resultados dos exames foram obtidos através do *software* Laudos® versão 1.0.73, utilizado para emissão de laudos no Sistema de Apoio e Diagnóstico. Dados como idade, sexo e origem dos pacientes foram obtidos através dos prontuários arquivados pelo Serviço de Arquivo Médico e Informação de Saúde (SAMIS). Para o tratamento e análise dos dados utilizou-se Microsoft Excel 2013 e SPSS Statistics versão 22.0 para Windows.

RESULTADOS

No período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014, foram analisadas pelo laboratório clínico do HC/UFG, 619 amostras fecais. das quais 23,4% (n=145) mostraram-se

positivas para a presença de um ou mais enteroparasitos (espécies comensais e patogênicas).

Dos pacientes com exame parasitológico positivo, 71,7% (n=104) eram provenientes da cidade de Goiânia, GO, e 28,3% (n=41) provenientes de outras cidades do estado de Goiás, principalmente Aparecida de Goiânia e Trindade. Quanto ao sexo, 50,3% (n=73) eram do sexo feminino e 49,7% (n=72) do sexo masculino. A idade dos indivíduos variou de 1 a 89 anos. A Tabela 1 apresenta as características dos pacientes com EPF positivo.

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos pacientes com EPF positivo atendidos pelo HC/UFG, no período de 2012 a 2014

Características	N	%
Sexo (n=145)		
Masculino	72	49,7
Feminino	73	50,3
Idade (n=145)		
Criança (1-11)	78	53,8
Adolescente (12-18)	11	7,6
Adulto (19-60)	43	29,7
Idoso (a partir de 60)	13	8,9
Cidade de origem (n=145)		
Anápolis	1	0,69
Aparecida de Goiânia	11	7,58
Araçu	1	0,69
Aragarças	1	0,69
Aruanã	2	1,37
Bela vista de Goiás	1	0,69
Catalão	1	0,69
Crixás	1	0,69
Goiânia	104	71,7
Goianira	1	0,69
Guapó	2	1,37
Inhumas	2	1,37
Ipameri	1	0,69
Mara Rosa	1	0,69
Nova Veneza	1	0,69
Novo Mundo	1	0,69
Palmeiras de Goiás	1	0,69
Santa Terezinha de Goiás	1	0,69
São Luiz dos Montes Belos	1	0,69
São Miguel do Araguaia	1	0,69
São Simão	1	0,69
Senador Canedo	2	1,37
Trindade	6	4,13

Protozoários foram encontrados em 76,5% (n=111) das amostras positivas, e helmintos em 27,5% (n=40). Os parasitos encontrados com maior frequência foram *Giardia lamblia* (53,4%), *Ascaris lumbricoides* (20,2%) e *Entamoeba coli* (19,0%). A Tabela 2 mostra a distribuição dos parasitos encontrados.

Tabela 2 - Distribuição dos parasitos intestinais encontrados no EPF dos pacientes atendidos pelo HC/UFG, no período de 2012 a 2014

Parasito	N	%
Protozoário		
<i>Endolimax nana</i>	5	3,1
<i>Entamoeba coli</i>	31	19,0
<i>Giardia lamblia</i>	87	53,4
Helminto		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	33	20,3
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0,6
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2	1,2
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,6
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	1,2
<i>Trichuris trichiura</i>	1	0,6
Total*	163	100

*Incluindo mono e poliparasitismo

Poliparasitismo foi observado em 11,7% (n=17) das amostras: 15 apresentaram biparasitismo e duas apresentaram poliparasitismo. Das associações entre parasitos, a mais prevalente foi entre *Entamoeba coli* e *Giardia*

lamblia, com nove casos. Foram observados também casos de associação entre *Giardia lamblia* e *Strongyloides stercoralis* (um caso), *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* (dois casos), *Ascaris lumbricoides* e *Hymenolepis diminuta* (um caso), *Giardia lamblia* e *Ascaris lumbricoides* (dois casos), *Entamoeba coli*, *Ascaris lumbricoides* e *Enterobius vermicularis* (um caso), e *Entamoeba coli*, *Ascaris lumbricoides* e *Hymenolepis nana* (um caso).

Com relação aos pacientes com EPF positivo residentes na cidade de Goiânia (n=104), foi observado que 26,9% (n=28) dos indivíduos eram provenientes da região leste, 21,2% (n=22) da região noroeste, 13,5% (n=14) da região norte, 13,5% (n=14) da região oeste, 12,5% (n=13) da região sudoeste, 10,5% (n=11) da região sul e 1,9% (n=2) da região central da cidade.

Apesar de a região leste apresentar o maior número de casos de indivíduos parasitados dentre as regiões analisadas, a região norte foi a que apresentou a maior variedade de espécies (sete espécies) como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Frequência absoluta de parasitos intestinais encontrados no EPF de pacientes atendidos pelo HC/UFG, no período de 2012 a 2014, por região da cidade de Goiânia, GO.

	Centro	Sul	Sudoeste	Leste	Noroeste	Norte	Oeste	Total
Protozoário								
<i>Endolimax nana</i>	0	1	0	0	1	2	1	5
<i>Entamoeba coli</i>	0	3	1	7	6	2	2	21
<i>Giardia lamblia</i>	1	6	9	18	15	6	10	65
Helminto								
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	2	5	6	1	4	2	21
<i>Enterobius vermicularis</i>	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Hymenolepis nana</i>	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	0	0	0	1	1	0	2
<i>Trichuris trichiura</i>	0	0	0	0	0	1	0	1
Total*	2	12	15	32	24	17	16	118

*Incluindo mono e poliparasitismo.

DISCUSSÃO

As taxas de infecção por parasitos intestinais representam um importante indicador das condições sanitárias de uma população. A presença desses parasitos quase sempre está relacionada a condições precárias de saneamento e higiene, e ao baixo desenvolvimento socioeconômico.⁽¹⁵⁾

Neste estudo, a prevalência de parasitos intestinais (23,4%) foi inferior à obtida em outros estudos semelhantes realizados em outras regiões de Goiás e em outros estados brasileiros. Um estudo realizado em pacientes atendidos pelo serviço público de saúde da região sudeste de

Goiás, na cidade de Cumari, apresentou 36,2% de positividade para algum enteroparasito.⁽¹⁶⁾ Em estudo realizado em pacientes atendidos por um hospital universitário na cidade de Salvador, Bahia, a prevalência foi de 35,2%,⁽¹⁷⁾ também superior aos valores encontrados neste estudo. Os pacientes atendidos no HC/UFG são, em sua maioria, pacientes com doenças crônicas, em atendimento multidisciplinar, submetidos a tratamentos prolongados, que incluem possivelmente o uso de antiparasitários como uma medida protetiva.⁽¹⁸⁾ Tal fato poderia justificar a baixa prevalência de parasitos intestinais observadas nos indivíduos incluídos no estudo.

Além das características citadas anteriormente, e de aspectos regionais e relacionados às condições de saneamento e higiene da população, um outro fator que poderia estar associado à baixa prevalência de parasitos observada neste estudo seria a sensibilidade da metodologia utilizada para a realização dos EPF (método de Lutz, Hoffman, Pons e Janer).^(13,14) Muitas vezes, o número de formas parasitárias eliminadas nas fezes é pequeno, havendo a necessidade de se recorrer a outras metodologias complementares para sua concentração e colorações mais específicas, como a hematoxilina férrica.⁽¹⁹⁾

O grupo etário que apresentou o maior número de amostras positivas, neste estudo, foram crianças. Este resultado corresponde às expectativas, visto que as crianças estão mais susceptíveis a adquirir parasitoses, tanto pela falta de conhecimentos e hábitos inadequados de higiene como pela baixa imunidade existente contra os parasitos.⁽²⁰⁾

Com relação aos parasitos encontrados, a maioria foi de protozoários (76,5%), de forma semelhante ao observado em estudos realizados no sudeste de Goiás⁽¹⁶⁾ e nas regiões nordeste⁽¹⁷⁾ e sul⁽²¹⁾ do país. A baixa prevalência de helmintos em comparação aos protozoários, observada no presente estudo e em estudos supracitados, reflete a mudança no perfil epidemiológico dos parasitos intestinais. Quando levamos em consideração estudos realizados na década de 70 e 80 na cidade de Goiânia⁽²²⁾ e em outras regiões do Brasil, é possível observar um predomínio de helmintos em relação aos protozoários.^(23,24) Tal mudança pode estar relacionada com o fator cultural da automedicação com anti-helmínticos.^(18,25)

O parasito mais prevalente foi *Giardia lamblia* (53,4%), de forma semelhante ao estudo realizado na região sudeste de Goiás,⁽¹⁶⁾ mas de forma divergente aos resultados obtidos em estudos realizados em Minas Gerais, onde a prevalência de *Giardia lamblia* foi de apenas 9,5%,⁽¹⁹⁾ e no Paraná, em que a prevalência foi de 8,4%.⁽²¹⁾ Tais resultados refletem as condições sanitárias e culturais da população de Goiás, como a utilização de água de cisterna, o hábito de frequentar córregos e rios para a recreação, que podem, muitas vezes, estar contaminados por cistos de *Giardia lamblia*. Outra forma de contaminação pode ocorrer pela ingestão de alimentos higienizados inadequadamente, o que os torna um veículo de transmissão de ovos e cistos.⁽¹⁶⁾

Uma outra possibilidade para a alta prevalência de *Giardia lamblia* encontrada neste estudo pode estar associada a uma provável contaminação da rede pública de abastecimento de água, devido ao fato deste protozoário ser resistente à ação do cloro utilizado no tratamento da água.^(26,27)

A ocorrência de poliparasitismo foi de 11,7%, muito inferior à observada em estudos realizados em Ilhéus, Bahia,

em que a ocorrência de poliparasitismo foi de 63,5%, sendo observados casos em que estavam presentes até seis espécies parasitárias diferentes na mesma amostra,⁽⁶⁾ e no Paraná, em que a ocorrência de poliparasitismo foi de 42,1%.⁽²¹⁾

Considerando-se a origem da população, com exame parasitológico positivo, foi verificada a predominância de parasitos em moradores da cidade de Goiânia (71,7%). Os maiores números de casos de parasitismo observados na cidade de Goiânia foram nas regiões leste (26,9%), noroeste (21,2%) e norte (13,5%), sendo que a região norte da cidade foi a que apresentou a maior variedade de espécies de parasitos (sete espécies). Tais dados refletem a ineficiência das condições sanitárias básicas vivenciadas pelos moradores dessas áreas incluindo qualidade da água, qualidade e acesso a rede de esgoto e coleta de lixo, visto que estas regiões apresentam, em muitos de seus bairros, projetos urbanísticos precários e problemas em sua infraestrutura.^(28,29) Além desses fatores, a falta de informação, nutrição inadequada, hábitos de higiene ineficientes e dificuldade de acesso aos serviços de saúde podem favorecer a aquisição de parasitos intestinais pela população.⁽³⁰⁾

CONCLUSÃO

Pode-se inferir que, apesar da melhora nas condições de saneamento e higiene ocorridas nos últimos anos, as enteroparasitoses são um problema frequente em nossa população. Medidas de educação em saúde e a melhoria nas condições sanitárias da população são fundamentais para diminuir esses índices. Tais medidas são eficientes, baratas e por vezes negligenciadas e subestimadas.

Abstract

Objective: This study aimed to evaluate the distribution of enteroparasites by city of Goiás and part of the city of Goiânia, according to age group and sex, in patients treated at the Hospital das Clínicas, Federal University of Goiás, in the 2012 period 2014. **Methods:** A retrospective study, whose data were obtained from the clinical laboratory database of HC / UFG and records filed by SAMIS. The variables analyzed were: age, gender, home town and parasite found. **Results:** The prevalence of parasitism was 23.4%. The age group with the highest number infected individuals were children (53.8%). *Giardia lamblia* is the most common parasite in the population (53.4%). Patients from Goiânia (71.7%), the highest number of infected individuals was a resident of the eastern region of the city (26.9%). Patients in the northern region had the largest variety of parasites; seven species. **Conclusion:** It can be inferred that despite improvements in sanitation and hygiene in the last years, intestinal parasites are still a frequent problem in our population in need of education measures in health and improvements in the health conditions of the population to reduce these rates.

Keywords

Protozoa; Helminths; Enteroparasitoses; Prevalence

REFERÊNCIAS

- Menghi CI. Parasites in the time tunnel. *Rev Argent Microbiol*. 2010 Oct-Dec;42(4):245-6. [Article in Spanish].
- de Silva NR1, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol*. 2003 Dec;19(12):547-51.
- Organização Mundial de Saúde. The world health report 2004 - changing history. Geneva: WHO; 2004.
- Robertson LJ, Van Der Giessen JW, Batz M.B, Kojima M, Cahill S. Have food borne parasites finally become a global concern? *Trends Parasitology* 2013; 29: 101-113.
- Vasconcelos IAB, Oliveira JW, Cabral FRF, Coutinho HDM, Menezes IRA. Prevalência de parasitoses intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, Estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. *Acta Scientiarum* 2011;33(1):35-41.
- Carneiro Santos HL, Fernandes Martins LA, Saramago Peralta RH, Peralta JM, Werneck de Macedo H. Frequency of amoebiasis and other intestinal parasitoses in a settlement in Ilhéus City, State of Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014 Jan-Feb; 47(1):101-4.
- Monteiro AMC, Silva EF, Almeida KS, Sousa JJN, Mathias LA, Babtista F, Freitas FLC. Parasitoses intestinais em crianças de creches públicas localizadas em bairros periféricos do município de Coari, Amazonas, Brasil. *Rev. Pat. Trop* 2009;38(4):284-90.
- Santos SA, Merlini LS. Prevalência de enteroparasitoses na população do município de Maria Helena, Paraná. *Ciência e Saúde coletiva* 2010;15(3):899-905.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - PNSB. IBGE: Rio de Janeiro, 2000.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de saneamento básico 2008- PNSB. IBGE: Rio de Janeiro, 2010.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Saneamento básico no Brasil: avanços e desafios. In: Atlas nacional do Brasil Milton Santos. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.
- Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8. ed. rev. Brasília, D.F.: Ministério da Saúde, 2012. 448 p., il. (Série B. Textos básicos de saúde). ISBN 9788533416574.
- Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *PRJ Public Health Trop Med*1934;9: 281-98.
- Lutz A. O Schistosoma mansoni e a schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1919;11:121-55.
- UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância), Situação Mundial da Infância. Brasília: Unicef; 1995.
- Borges WF, Marciano FM, Oliveira HB. Parasitos intestinais: elevada prevalência de Giardia lamblia em pacientes atendidos pelo serviço público de saúde da região sudeste de Goiás, Brasil. *Rev. Pat. Trop* 2011;40 (2):149-57.
- Santos LP, Santos FL, Soares NM. Prevalência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos no Hospital Universitário Professor Edgar Santos, Salvador- Bahia. *Rev. Pat. Trop* 2007;36(3): 237-46.
- Frei F, Juncansen C, Ribeiro-Paes JT. Levantamento epidemiológico das parasitoses intestinais: viés analítico do tratamento profilático. *Cad. Saúde Pública* 2008;24(12):2919-25.
- Rocha MO, Mello RT. (Col.). Técnicas básicas: Exames parasitológicos de fezes. In: Neves DP. Parasitologia Humana. 11a. ed. São Paulo: Atheneu; 2005. cap 56.
- Menezes AL, Lima VMP, Freitas MTS, Rocha MO, Silva EF, Dolabella SS. Prevalence of intestinal parasites in children from public daycare centers in the city of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2008;50(1):57-9.
- Takizawa MGMH, Falavigna DLM, Gomes ML. Enteroparasitosis and their ethnographic relationship to food handlers in a tourist and economic center in Paraná, Southern Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2009;51(1):31-5.
- Evangelista A, Komma MD, Santos MAQ. Prevalência de parasitos intestinais em Goiânia. *Rev. Pat. Trop* 1972;1(1):51-61.
- Rodrigues EC, Souza GAC, Martins WA, Soibelman I, Meira AR, Faustino NC, Prado ARF. Levantamento das condições de saúde de alunos dos estabelecimentos de ensino primário da Secretaria nos Negócios da Educação do Governo do Estado, no município de São Paulo Brasil. *Rev. Saúde Pública* 1972;6(4):343-59.
- Schall VT, Jurberg T, Willcox HPF, Cavalcante FG, Bagno S. Esquistossomose mansoni autóctone e outras parasitoses intestinais em escolares do bairro Alto da Boa Vista, da cidade do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 1985;18(3):169-74.
- Elliott DE, Summers RW, Weintock JV. Helminths as governors of immune-mediated inflammation. *Int J Parasitol*. 2007 Apr;37(5): 457-64.
- Cacciò SM, De Giacomo M, Aulicino FA, Pozio E. Giardia cysts in wastewater treatment plants in Italy. *Appl Environ Microbiol*. 2003 Jun;69(6):3393-8.
- Almeida A, Moreira MJ, Soares S, Delgado Mde L, Figueiredo J, Silva E, et al. Presence of Cryptosporidium spp. and Giardia duodenalis in drinking water samples in the north of Portugal. *Korean J Parasitol*. 2010 Mar;48(1):43-8.
- VIII EREGEO, 8, 2003, Cidade de Goiás. Anais. Rio de Janeiro: UFRJ, 2003. 21 p.
- Fonseca LN. A (Re) Invenção da Ação Coletiva: participação urbana, conflitualidades e segregação socioespacial em Goiânia. 2008. 161 f. Dissertação (Mestrado em Sociologia) - Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2008.
- Ferreira H, Lala ERP, Monteiro MC, Raimondo ML. Estudo epidemiológico localizado da frequência e fatores de risco para enteroparasitoses e sua correlação com o estado nutricional de crianças em idade pré-escolar: parasitoses intestinais e desenvolvimento infantil. *Publ UEPG Ciênc Biol Saúde* 2006; 12 (4): 33-40.

Correspondência

Nubia Siqueira Damaceno

Hospital das Clínicas- Universidade Federal de Goiás
1ª Avenida, s/n - Setor Leste Universitário
74605-020 – Goiânia, GO

Indicadores do monitoramento interno da qualidade dos exames citopatológicos do Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO)

Internal quality monitoring indicators of citopathological exams of Clinical Laboratory of Goiás Pontifical Catholic University (PUC-GO)

Amanda Christina de Paula¹

Nathany Gomes de Souza¹

Thairine Carrijo do Prado¹

Andrea Alves Ribeiro²

Resumo

Objetivo: Avaliar a qualidade dos exames citopatológicos do Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (LAC-PUC-GO), de acordo com os indicadores da qualidade da fase analítica para o exame citopatológico, utilizando os índices que avaliam a qualidade, de acordo com o recomendado pelo Ministério da Saúde. **Métodos:** Os dados foram coletados no DATASUS através do SISCOLO alimentado pelo banco de dados do LAC-PUC-GO no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013. Os índices dos diagnósticos citopatológicos foram realizados utilizando Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia. **Resultados:** Do total de 7.015 exames citopatológicos realizados no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013, 99,5% foram classificados como satisfatórios, 91,8% exames citopatológicos negativos, 0,5% insatisfatórios e 7,7% exames alterados. O índice de positividade analisado no período de cinco anos alcançou uma média de 7%. O percentual de exames compatíveis com HSIL apresentou uma média de 1% e encontra-se dentro do esperado pelos índices de rastreamento até 2%; o percentual ASC/satisfatório foi baixo em 2009 (3%) e 2010 (2%) e alto em 2013 (7%), enquanto que a média de todos os anos foi de 4%; já a média da razão do percentual de ASC/SIL dois manteve-se dentro dos limites recomendados. **Conclusão:** O monitoramento interno da qualidade é uma ferramenta usada no auxílio diagnóstico, garantindo assim uma maior acurácia dos exames citopatológicos.

Palavras-chave

Neoplasias do colo do útero; Controle de qualidade; Indicadores de qualidade; Assistência à Saúde

INTRODUÇÃO

O câncer do colo uterino (CCU) é o terceiro tumor mais frequente na população feminina, atrás apenas do câncer de mama e do colorretal. A estimativa em 2014, segundo o Ministério da Saúde, foi de 15.590 novos casos, sendo a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil.⁽¹⁾

Alguns tipos oncogênicos do Papilomavírus Humano (HPV) geralmente provocam lesões precursoras para o câncer do colo do útero (CCU), as quais são conhecidas como lesões intraepiteliais cervicais.^(2,3) Para detectar essas lesões, a principal estratégia é fazer o diagnóstico precoce,

pois o CCU é uma doença de evolução lenta, que varia de 10 a 20 anos para que a invasão se estabeleça.⁽⁴⁾

Conhecido internacionalmente, o exame preventivo (Papanicolaou) é o método mais barato, adequado e prático para o rastreamento do CCU. É preconizado que as mulheres com idade entre 25 a 64 anos e que já entraram em atividade sexual sejam submetidas ao exame.⁽¹⁾

As lesões precursoras, quando diagnosticadas precocemente, apresentam um grande potencial de cura, chegando a 100%, sendo 80% dos casos tratados em âmbito ambulatorial.⁽⁵⁾ Por isso, as ações de rastreamento e detecção precoce são tão importantes.

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO). Goiânia, GO, Brasil.

²Biomédica, Doutora em Medicina tropical área de concentração (Microbiologia), Professora Assistente I- Pontifícia Universidade Católica (PUC-GO), Goiânia, GO, Brasil.

Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO).

Conflito de interesse: Sem conflito de interesses

Suporte financeiro: Todos os gastos para a elaboração deste manuscrito foram custeados pelo autor responsável.

Artigo recebido em 15/09/2016

Artigo aprovado em 05/01/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700534

A realização de exames citopatológicos do colo uterino envolve profissionais qualificados e, levando em consideração a subjetividade do método, necessita de experiência e conhecimento do escrutinador.⁽⁶⁾

Os resultados citológicos falsos negativos (FN) variam de 6% a 56% e ocorrem na fase pré-analítica (erros de coleta) e analítica (erro de escrutínio e interpretação do diagnóstico).^(7,8) Segundo dados da literatura, aproximadamente 2% a 62% dos resultados FN são atribuídos a causas anteriores à sua entrada no laboratório, erros na coleta do material, nos procedimentos de coloração e análise microscópica, no escrutínio do esfregaço ou na interpretação dos diagnósticos.

De acordo com a legislação brasileira (RDC 302/2005), os programas de controle interno e externo da qualidade devem ser implementados e executados nos laboratórios clínicos, com a finalidade de detectar erros diagnósticos, contemplando todas as etapas do processo, sobretudo no que se refere à diminuição de resultados FN. Portanto, esses programas visam melhorar a acurácia e a confiabilidade dos laudos citopatológicos.⁽¹⁰⁾

O Monitoramento Interno da Qualidade (MIQ) corresponde a um sistema de controle da qualidade dos exames realizados através da avaliação de critérios que monitoram as amostras quando são enviadas ao laboratório até a emissão do laudo citopatológico. Isto permite a identificação de falhas, proporcionando melhorias e medidas corretivas.⁽⁶⁾

Os métodos de avaliação recomendados pela Portaria Nº 3.388, de 30 de dezembro de 2013, que redefinem a qualificação nacional em citopatologia na prevenção do câncer do colo do útero, são chamado de QualiCito. No âmbito da Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas é realizada a revisão aleatória de 10% dos esfregaços negativos; revisão rápida de 100% dos esfregaços negativos e insatisfatórios; pré-escrutínio rápido de todos os esfregaços e revisão dos esfregaços selecionados com base em critérios clínicos de risco, contidos no Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia.^(11,12)

De acordo com controle interno da qualidade, na revisão com base em critérios clínicos, revisão rápida de 100%, o re-escrutínio ou o pré-escrutínio rápido apresentaram melhor desempenho, pois foram também avaliados, posteriormente, em exames de rotina.⁽¹³⁾ Em países como Canadá e Reino Unido, a revisão rápida de 100% das lâminas é feita nos laboratórios rotineiramente. Este método foi descrito, primeiramente, por Baker e Melcher, os quais mostraram que é possível detectar núcleos anormais de 30 a 60 segundos.⁽¹⁴⁾ Em Goiás, o Laboratório Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG) também realiza igualmente este método de MIQ.⁽¹³⁾

O controle externo da qualidade aplicado em laboratórios da rede pública é praticado pelos Laboratórios de Monitoramento Externo de Qualidade (LabMEQ).⁽¹⁵⁾ Este

serviço tem como finalidade padronizar os critérios citomorfológicos, reduzir o percentual de resultados FN, Falso-Positivos (FP) e, conseqüentemente, melhorar os indicadores de qualidade dos exames e promover a educação continuada de profissionais que atuam na realização dos exames citopatológicos.⁽¹⁶⁾

O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade dos exames citopatológicos do Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (LAC-PUC-GO), de acordo com os indicadores da qualidade da fase analítica para o exame citopatológico, utilizando os índices que avaliam a qualidade, de acordo com o recomendado pelo Ministério da Saúde.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo analítico e descritivo, no qual os dados foram coletados no DATASUS, através do Sistema de Informações do Câncer (SISCOLO),^(17,18) alimentados pelo banco de dados do LAC-PUC-GO. As relações entre os diagnósticos citopatológicos foram realizadas de acordo com o preconizado no Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia, estratificados no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013, visando analisar o controle de qualidade, por meio dos indicadores do MIQ.⁽¹²⁾

O presente estudo verificou o percentual de exames positivos em relação ao total de exames satisfatórios e aplicou os cálculos com base nas variáveis necessárias. Os indicadores foram selecionados por meio do SISCAN, utilizando quatro desses.⁽¹⁹⁾ Seguem descritas suas fórmulas:

1- Índice de positividade (IP):

Fórmula:

$$\frac{\text{Nº de exames alterados em determinado local e ano} \times 100}{\text{Total de exames satisfatórios}}$$

Foi determinada uma classificação do percentual de positividade:

- Muito baixa: abaixo de 2,0%
- Baixa: Entre 2,0% a 2,9%
- Esperada: entre 3,0% e 10%
- Acima do esperado: acima de 10%, deve se considerar que os prestadores podem atender serviços de referência secundária em patologia do colo do útero

2- Percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL):

A Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) representam as lesões verdadeiramente precursoras do câncer do colo do útero, ou seja, o percentual de exames compatíveis com HSIL. É um indicador que mede a capacidade de detecção de lesões precursoras. É esperado um resultado de até 2,0%.

Fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de exames HSIL} \times 100}{\text{Total de exames satisfatórios}}$$

3- Percentual de exames compatíveis com atípias de significado indeterminado em células escamosas (ASC):

As Células Escamosas Atípicas (ASC) compõem um caso de dúvida diagnóstica, no qual os achados citológicos, caracterizados pela presença de alterações celulares, são insuficientes para o diagnóstico de lesão intraepitelial. Este indicador mede indiretamente a qualidade dessa etapa, mas impossibilita a avaliação isolada da qualidade do processo. Espera-se que, no máximo 4% a 5% de todos os exames sejam classificados como ASC. Valores superiores merecem avaliação e podem ser úteis para a orientação de reciclagem junto aos profissionais do laboratório.

Fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de exames com ASC-US e ASC-H} \times 100}{\text{Total de exames satisfatórios}}$$

4 - Razão Atípias escamosas de significado indeterminado/Lesões intraepiteliais escamosas (Razão ASC/SIL):

A razão ASC/SIL permite identificar o baixo desempenho profissional no rastreamento. Recomenda-se uma relação ASC/SIL não superior a três.

Fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de ex. compatíveis com ASC-US e ASC-H}}{\text{N}^\circ \text{ de exames com LSIL e HSIL}}$$

ÉTICA

Este trabalho foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUC- Goiás, segundo o protocolo número 235.376.

RESULTADOS

O Laboratório Clínico da PUC-GO realizou, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), um total de 7.015 exames citopatológicos, no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013. Desses, 99,5% (6/981/7015) foram classificados como satisfatórios. Neste período, observaram-se 91,8% exames citopatológicos negativos, 0,5% insatisfatórios e 7,7% exames alterados (Tabela I).

Tabela 1 - Prevalência de exames citopatológicos realizados nos anos de 2009 a 2013 no LAC-PUC-GO

Ano	Negativo		Insatisfatório		Nº de exames alterados		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
2009	1100	94	8	0,6	63	5,4	1171	100
2010	1029	95,5	5	0,5	44	4,1	1078	100
2011	884	92	6	0,6	68	7,1	958	100
2012	1518	92,2	7	0,5	122	7,4	1647	100
2013	1911	88,5	8	0,3	242	11,2	2161	100
Total	6442	91,8	34	0,5	539	7,7	7015	100

A Tabela 2 demonstra a prevalência das anormalidades citológicas, entre 2009 a 2013. Com um total de 7,7% (539/7015) de alterações observadas no período analisado, dessas anormalidades, foram obtidos 2,5% (179/7015) de células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas (ASC-US - *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*), 2,3% (165/7015) de células escamosas atípicas de significado indeterminado, não sendo possível afastar lesão de alto grau (ASC-H) 1,7% (124/7015) de lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL - *Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion*) e as principais lesões precursoras de CCU, lesão intraepitelial de alto grau, compreendendo neoplasias intraepiteliais cervicais graus II e III (HSIL - *Squamous Intraepithelial Lesion*). A prevalência foi de 0,9% (65/7015) dos casos. Os diagnósticos de células glandulares atípicas, possivelmente neoplásicas (AGC-NEO - *Atypical Endocervical Cells*)

Tabela 2 - Prevalência de anormalidades citológicas nos exames realizados nos anos de 2009 a 2013 no LAC PUC GO

Ano	Negativos		Insatisfatórios		ASC-US		ASC-H		LSIL		HSIL		AGC-NEO		Carcinoma		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2009	1100	94	8	0,6	26	2,3	12	1	12	1	11	0,9	0	0	2	0,2	1171	100
2010	1029	95,5	5	0,5	16	1,4	10	0,9	13	1,2	5	0,5	0	0	0	0	1078	100
2011	884	92	6	0,6	19	1,9	24	2,6	19	1,9	6	1	0	0	0	0	958	100
2012	1518	92,2	7	0,5	58	3,5	20	1,2	31	1,9	13	0,7	0	0	0	0	1647	100
2013	1911	88,5	8	0,3	60	2,8	99	4,6	49	2,2	30	1,3	4	0,3	0	0	2161	100
Total	6442	91,8	34	0,5	179	2,5	165	2,3	124	1,7	65	0,9	4	0,3	2	0,1	7015	100

ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H: atypical squamous cells of undetermined significance cannot exclude high grade squamous intraepithelial lesion LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: Squamous intraepithelial lesion high grade; AGC-NEO: Atypical endocervical cells, favor neoplastic significance

corresponderam a 0,2% (4/7015) dos casos e 0,1% (2/7015) de carcinomas escamosos foram encontrados. A prevalência de casos insatisfatórios foi de 0,5% (34/7015).

A Tabela 3 apresenta os indicadores do MIQ. No ano de 2013, observou-se um IP de 11%, este resultado encontra-se acima do recomendado para os laboratórios que prestam serviços para o SUS. No entanto, o IP analisado neste laboratório no período de cinco anos alcançou uma média de 7%.

O percentual de exames compatíveis com HSIL apresentou uma média de 1%, encontrando-se dentro do esperado pelos índices de rastreamento até 2%. A porcentagem de ASC/satisfatório encontrou-se baixa, nos anos de 2009 (3%) e 2010 (2%) e alta, em 2013 (7%), enquanto que a média de todos os anos foi de 4%. Já a média da razão do percentual de ASC/SIL foi 2, mantendo-se dentro dos limites recomendados pelo MS/ INCA, de até três.

Tabela 3 - Indicador de qualidade interna dos anos 2009 a 2013 do LAC PUC GO

Ano	Indicadores de qualidade do MIQ			
	Índice de positividade (IP)	Percentual de exames compatíveis com HSIL	Percentual de ASC / Satisfatórios	Percentual de ASC / Satisfatórios
2009	5%	1%	3%	2
2010	4%	0,5%	2%	1
2011	7%	1%	5%	2
2012	7%	1%	5%	2
2013	11%	1%	7%	2

HSIL: Squamous intraepithelial lesion high grade; ASC: Atypical squamous cells; SIL: Squamous intraepithelial lesion

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostram que, no decorrer dos anos, houve um aumento do IP: 5%, 4%, 7% e 11% respectivamente.

A média do IP dos cinco anos estudados foi de 7%. Esse índice encontra-se dentro dos valores previstos e propostos pelo MS/INCA que é de 3% a 10% para laboratórios credenciados ao SUS, segundo a Portaria Nº 3.388, de 30 de Dezembro de 2013, conceituado como laboratório tipo I, ou seja, laboratórios públicos e privados que prestam serviço ao SUS.⁽¹¹⁾

Já no ano de 2013, este índice foi de 11%, o qual se apresentou acima do esperado. Esse aumento pode ter sido em decorrência da introdução de novos postos de atendimento da região noroeste de Goiânia (PSF Vila Mutirão) e da região Sul (CSF Jardim Mariliza, CSF Parque Atheneu e CSF Ville de France), o que pode ter colaborado para uma mudança no perfil das mulheres atendidas, conseqüentemente, um maior número de exames citopatológicos e alterações encontradas.

A partir do ano de 2007, o laboratório em estudo passou a realizar o MEQ, enviando todas as lâminas positivas, insatisfatórias e 10% das negativas selecionadas aleatoriamente ao LABMEQ e a participar do programa de educação continuada.⁽¹⁵⁾ De acordo com os relatórios enviados mensalmente pelo LABMEQ, percebe-se que a porcentagem de exames citopatológicos discordantes é baixa,

enquanto que os exames citopatológicos considerados concordantes obtiveram uma média de 85,6%, 87,2%, 95,9%, 86,9% e 90,6% nos anos de 2009 a 2013. Esses dados comprovam o aumento no IP devido à uniformização dos critérios citomorfológicos e aprimoramento dos citologistas.

No Brasil, a maioria dos laboratórios de citopatologia apresenta IP abaixo do esperado, caracterizando uma não consolidação do controle interno de qualidade nesses serviços. Bortolon et al., 2012, em seu estudo, concluiu que 53% dos laboratórios brasileiros apresentam IP abaixo de 2%. Na região centro-oeste, cerca 39% dos laboratórios apresentaram positividade "muito baixa" e maior do que 3%. Em Goiás, 38% dos laboratórios apresentaram IP <2%, 18% com IP entre 2% a 2,9% e 44% dos prestadores com IP >3%.

A razão entre ASC e os exames satisfatórios foi de 7% no ano de 2013, acima do limite recomendado, que é de 4% a 5%. Devido a esse elevado percentual, deve ser realizada nova análise para verificar a causa do erro e retificar esse aumento, que pode influenciar nos resultados dos índices de qualidade do MIQ.

De acordo com a história natural do CCU, esses erros têm impacto negativo menor devido ao alto percentual de regressão espontânea, cerca de 70% a 90%.⁽²⁰⁾ As estatísticas mundiais relatam que aproximadamente 10% das pacientes com alterações citológicas indeterminadas irão desenvolver lesões intraepiteliais de alto grau, onde é necessário o uso da colposcopia e do exame histopatológico.⁽²¹⁾

O laboratório em estudo tem como MIQ a revisão dos esfregaços selecionados com base em critérios clínicos de risco e 10% das amostras negativas aleatórias, todas as alteradas e insatisfatórias. As amostras que tiverem discordância interobservadores são avaliadas por um terceiro citopatologista e estes entram em consenso para que seja liberado o diagnóstico final. Os métodos de avaliação são recomendados pelo e Qualicito e Manual de Gestão da Qualidade.^(11,12) Esse mesmo método é utilizado no Instituto Nacional do Câncer – INCA, apresentando, no período de julho de 2013 a junho de 2014, a média do IP de 7,2%, sendo recomendado para laboratórios de grande rotina.⁽²⁾ Cada laboratório faz a escolha do melhor método de acordo com a quantidade de exames realizados na rotina e pelo número de profissionais.

O MIQ é essencial para garantia de qualidade em citopatologia, resultando em uma melhor eficácia para a abordagem das questões em educação continuada, o que leva à obtenção de indicadores confiáveis que atendam às normas estabelecidas pela Qualicito e pela literatura nacional e internacional.^(2,11)

De fato, tanto a incidência quanto a mortalidade por CCU podem ser reduzidas com programas de rastreamento organizado, ativos e bem gerenciados. Uma expressiva redução na morbimortalidade por essa doença foi alcançada, nos países desenvolvidos, após a implantação de programas de rastreamento de base populacional, a partir de 1950 e 1960.⁽²²⁾ Os países que implantaram esse programa reduziram a incidência da doença para menos de 10 casos por 100 mil mulheres por ano.⁽²³⁾

CONCLUSÃO

Em face dos resultados, o MIQ é uma ferramenta de auxílio diagnóstico, evitando erros na fase analítica, através da revisão de no mínimo 10% dos negativos e todos os exames alterados e insatisfatórios, por mais de um profissional, garantindo, assim, uma maior acurácia dos exames citopatológicos. No entanto, é de fundamental importância manter uma vigilância regular da qualidade da coleta das amostras cervicais, seu processamento e análise. Vale ressaltar que o MEQ como parte integrante da estratégia de garantia e melhoria contínua da qualidade em citopatologia, com finalidade de certificação da realização dos exames citopatológicos, reduzindo, dessa maneira, o percentual de casos FN e FP; assim como os programas de educação continuada para a uniformização dos critérios citomorfológicos entre os citologistas.

Agradecimentos

Agradecemos à equipe técnica do Laboratório Clínico da PUC Goiás. Agradecemos à Dr^a. Andrea Alves Ribeiro pelo suporte, pelas correções e incentivos.

Abstract

Objective: To evaluate the quality of the cytopathological exams of the Clinical Laboratory of the Pontifical Catholic University of Goiás (LAC-PUC-GO), according to the quality indicators of the analytical phase for the cytopathological examination, using the indexes that evaluate the quality, according to the Recommended by the Ministry of Health. **Methods:** The data were collected in DATASUS through SISCOLO fed by the LAC-PUC-GO database from January 2009 to December 2013. The cytopathological diagnosis indices were performed using a Quality Management Manual for Cytopathology Laboratory. **Results:** A total of 7.015 cytological examinations from January 2009 to December 2013, these 99,5% were classified as satisfactory 91.8% negative cytopathology, 0.5% unsatisfactory and 7,7% abnormal tests. The positive rates analyzed in the five-year period reached an average of 7%. The percentage of exams compatible with HSIL averaged 1%, is in line with expectations by tracking rates up to 2%, the ASC/satisfactory percentage was lower in 2009 (3%) and 2010 (2%) and high in 2013 (7%), while the average of all years was 4%, as the average ratio of the percentage of ASC/SIL two is within the recommended limits. **Conclusion:** The internal quality monitoring It is a tool used for the diagnosis, thus ensuring greater accuracy of cervical screening

Keywords

Uterine Cervical Neoplasms; Quality Control; Quality Indicators; Health Care

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação-Geral de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2015: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro; 2015.
2. Araujo Jr. MLC, Santana DA, Almeida LB, Quintana SBS, Silva GRF, Fonseca RCSP. Quality in cytopathology: an analysis of the internal quality monitoring indicators of the Instituto Nacional de Câncer. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2015; Apr 51(2):102-107. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442015000200102&lng=en. <http://doi.org/10.5935/1676-2444.20150018>.
3. Pinho AA, Mattos MCFI. Validade da citologia, cervicovaginal na detecção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas de colo de útero. J Bras Patol Med Lab. 2002 July;38:225-31.
4. Manrique EJC, Souza NLA; Tavares, SBN, Zeferino LC, Amaral, RG. Desempenho da metodologia de revisão rápida de 100% em esfregaços citopatológicos do colo do útero com e sem informações clínicas. Rev Inst Adolfo Lutz. 2012; 71(1): 172-7.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Prevenção do Câncer do Colo do Útero. Manual Técnico para Laboratórios. 2002; Brasília, DF, 19 p.
6. Bortolon PC, Silva MAF, Corrêa FM, Dias MBK, Knupp VMAO, Assis M, Claro IB. Avaliação da Qualidade dos Laboratórios de Citopatologia do Colo do Útero no Brasil Revista Brasileira de Cancerologia 2012; 58(3): 435-44
7. Halford JA, Wright RG, Ditchmen EJ. Quality assurance in cervical cytology screening. Comparison of rapid rescreening and the PAPNET Testing System. Acta Cytol. 1997 Jan-Feb;41(1):79-81.
8. Pias AA, Vargas VRA. Avaliação dos exames citológicos de papanicolaou com células epiteliais atípicas e respectivos exames colposcópicos com relação aos exames histopatológicos. RBAC. 2009;41(2):155-60.
9. Amaral RG, Ribeiro AA, Miranda FAD, Tavares N, Lindany N, Souza A, Albuquerque P. Fatores que podem comprometer a qualidade dos exames citopatológicos no rastreamento do câncer do colo do útero. Public Health. 2006;38(1): 2004-06.
10. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 out. 2005. Seção 1, p. 33.

11. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.388, de 30 de dezembro de 2013. Institui a Qualificação Nacional em Citopatologia na prevenção do câncer do colo do útero (QualiCito), no âmbito da Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília (DF); 2013 December 13. Seção 1, p. 42.
12. Ministério da Saúde. Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação-Geral de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. 2012; Manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia. Rio de Janeiro: INCA.
13. Manrique EJC. A revisão rápida de 100% é eficiente na detecção de resultados falsos-negativos dos exames citopatológicos cervicais e varia com a adequabilidade da amostra: uma experiência no Brasil. Rev Bras Ginecol Obstet. Rio de Janeiro. 2007; 29(8):402-07.
14. Tavares SB, Alves de Sousa NL, Manrique EJ, Pinheiro de Albuquerque ZB, Zeferino LC, Amaral RG. Improvement in the routine screening of cervical smears: A study using rapid prescreening and 100% rapid review as internal quality control methods. Cancer Cytopathol. 2011 Dec 25;119(6):367-76.
15. Laboratório de Monitoramento Externo de Qualidade (LabMeq) [Internet]. [Acesso em setembro de 2015]. <http://www.ead.farmacia.ufg.br>.
16. Ázara CZS, Araújo ES, Magalhães JC, Amaral RG. Avaliação dos Indicadores da Qualidade dos Exames Citopatológicos do Colo do Útero de Laboratórios Privados do Estado de Goiás Credenciados pelo Sistema Único de Saúde Assessment of Quality Indicators in Cervical Cytopathology Tests from Unified Health Sy. Rev. bras. cancerol; 60(4):295-303, out.-dez.2014.
17. Ministério da Saúde (BR). Portal da Saúde: Datasus [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; [Acesso em março de 2015]. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br/DATASUS/index.php>.
18. Ministério da Saúde (BR). Sistema de informação do controle do câncer de mama (SISMAMA) e do câncer do colo do útero (SISCOLO): manual gerencial/Instituto Nacional de Câncer. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Divisão de Apoio à Rede de Atenção Oncológica [Internet]. 2011 [acesso em junho de 2014]. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/Sistema_de_informacao_do_controle_do_cancer_de_mama.pdf.
19. Ministério da Saúde (BR). Sistema de informação do câncer (SISCAN): manual preliminar de apoio à implantação/ Instituto Nacional de Câncer. Coordenação Geral de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede [Internet]. 2013. Disponível em: (http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/controle_cancer) e no Portal do INCA (<http://www.inca.gov.br>).
20. Derchain SFM, Longatto Filho AL, Syrjanen KJ. Neoplasia intraepitelial cervical: Diagnóstico e Tratamento. Rev Bras Ginecol Obstet. 2005;27(7):425-33.
21. Koss LG, Gompel C. Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. Roca. 2006; v. 261, n. 5: 137-43.
22. Ferlay J. Cancer incidence and mortality worldwide. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010. (IARC Câncer Base, n. 10).
23. Geneva: World Health Organization; 2007. Prevention. Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmes, module 2 2007; p. 42-8.

Correspondência

Thairine Carrijo do Prado
Avenida Manchester - 00
Condomínio Metrôpoles apto. 301-p
Bairro Jardim Novo Mundo
74703-010 - Goiânia - GO

Análise qualitativa e quantitativa da microbiota das mãos dos funcionários de um posto de saúde

Qualitative and quantitative analysis of the hands microbiota from the employees of a health center

Daiana Gauer¹

Gabriela Kniphoff da Silva²

Resumo

Introdução: As Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (IRAS) referem-se àquelas adquiridas durante a prestação dos cuidados de saúde, e a principal via de transmissão de microrganismos ocorre através das mãos dos profissionais da saúde. **Objetivo:** Identificar e quantificar os agentes microbianos presentes nas mãos dos funcionários do posto de saúde. **Métodos:** Foram analisadas amostras microbiológicas, coletadas com um *swab* com meio de transporte Stuart, das mãos de 29 funcionários da respectiva unidade de saúde e da superfície de alguns utensílios de comum uso entre os funcionários e pacientes. Estes foram incubados e devidamente identificados através de provas bioquímicas e físicas. E, após, submetidas ao teste de sensibilidade aos antibióticos. **Resultados:** Dentre os 52 microrganismos isolados e identificados, a bactéria de maior prevalência foi o *Staphylococcus aureus* (44%), seguida de *Staphylococcus* sp. (33%) e *Escherichia coli* (15%). As outras bactérias identificadas foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* sp. e *Enterobacter aerogenes*. Constatou-se que 28,9% (n = 15) das bactérias identificadas apresentavam resistência a quatro ou mais antibióticos. Houve também o isolamento de *S. aureus* (72%), *Staphylococcus* sp. e *E. aerogenes* (14%) em utensílios como mesa, maçanetas e balcões. **Conclusão:** As mesmas bactérias encontradas nas mãos dos funcionários também foram encontradas em utensílios de comum utilidade entre os profissionais e clientes, sugerindo que há transmissão cruzada de microrganismos em unidade de saúde pública, e ressaltando a importância da correta higienização das mãos com água e sabão durante as mais variadas atividades exercidas durante o atendimento ao paciente.

Palavras-chave

Higiene das mãos; Contaminação; Saúde Pública

INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são infecções cuja aquisição está relacionada a um procedimento assistencial ou à hospitalização, como, por exemplo, pneumonias hospitalares, infecções do trato urinário associadas a cateter, diarreias e surtos de infecções virais, adquiridas durante a prestação dos cuidados de saúde.^(1,2) Elas representam, atualmente, além de uma preocupação dos órgãos de saúde, um problema de ordem social, ética e jurídica, devido às complicações na vida dos usuários e o risco a que são submetidos,⁽³⁾ bem como causam um período de internação hospitalar prolongado, aumento da resistência antimicrobiana, gastos excessivos e alta taxa de mortalidade e morbidade.⁽⁴⁾

As IRAS acometem cerca de 5% a 10% dos pacientes hospitalizados e o principal meio de transmissão é por meio das mãos contaminadas dos profissionais de saúde,⁽⁵⁾ cujas mãos são fonte e veículo de transmissão de microrganismos entre os diversos pontos corporais de um mesmo paciente e entre pacientes.⁽⁶⁾ O ambiente assistencial também tem importante papel na epidemiologia dessas infecções, já que superfícies contaminadas, frequentemente usadas por profissionais, como equipamentos, mesas, estetoscópios e até mesmo a vestimenta, como os jalecos, aventais e uniformes, podem servir como fonte de transmissão, principalmente pelas mãos.⁽¹⁾ Assim, realizar a higienização das mãos durante as atividades profissionais no cuidado com o paciente contribui para a prevenção de IRAS, por se tratar da interrupção da principal forma de transmis-

¹Biomédica. Univates – Lajeado, RS, Brasil.

²Biomédica, Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas pela UNISC, Mestre em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS, Professora da Univates – Lajeado, RS, Brasil.

Instituição: Univates – Lajeado, RS, Brasil.

Artigo recebido em 10/07/2016

Artigo aprovado em 28/11/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600522

são de patógenos, além de atender as exigências legais e éticas, promover a segurança e a qualidade da atenção prestada ao paciente,^(7,8) e ainda atuar na proteção dos profissionais de saúde e na prevenção da contaminação do ambiente hospitalar e assistencial,⁽⁵⁾ ressaltando que o tratamento destas infecções custa muito mais do que o valor anual gasto com agentes antissépticos usados na higiene das mãos.⁽⁹⁾

A microbiota das mãos é composta por bactérias residentes e transitórias. A microbiota residente se encontra nas camadas mais profundas da pele, sendo assim mais difícil de ser removida. Já a transitória, que coloniza a camada mais superior da pele, é de fácil remoção pela lavagem das mãos. Ela normalmente é adquirida pelo contato com os pacientes ou com superfícies contaminadas.^(10,11)

Geralmente, a colonização das mãos durante as mais variadas atividades clínicas é tão grande que a higienização das mesmas com água e sabão não é capaz de eliminar as bactérias, e, assim, as mãos dos profissionais da saúde podem se tornar permanentemente colonizadas com uma microbiota patogênica adquirida no ambiente de trabalho.⁽¹⁰⁾ Em decorrência disso, em 2007, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou o programa "Cuidado Limpo é Cuidado Seguro", que destaca cinco momentos para a realização da higienização das mãos: antes do contato com paciente, antes da realização do procedimento asséptico, após exposição a fluidos corporais, após contato com paciente e após contato com ambiente próximo ao paciente.⁽⁶⁾

A higienização das mãos consiste na fricção manual de toda a sua superfície, punhos e dedos, utilizando sabão e água, por um tempo aproximado de trinta segundos.⁽³⁾ E tem como principal objetivo a remoção da maior quantidade de microrganismos da microbiota transitória e de alguns da residente, de pelos, de células descamativas, de suor, de sujidade e de oleosidade, sendo assim a principal medida de prevenção da transmissão cruzada de microrganismos.⁽¹²⁾

Os profissionais da área da saúde, além da longa jornada de trabalho, apresentam também uma grande quantidade de atividades a serem realizadas. Dessa forma, é comum observar a realização da técnica de lavagem das mãos de forma rápida e distraída, o que pode aumentar o número de infecções.⁽⁸⁾ Estima-se que, numa UTI, se necessite lavar as mãos quarenta vezes no tempo de uma hora, o que significa que o profissional gastaria 1/3 de seu tempo de trabalho lavando as mãos. Por isso, a adesão à higienização das mãos pelos profissionais da saúde é baixa, raramente excedendo 40% dos profissionais nos estudos realizados, podendo variar entre os setores, a categoria profissional e as condições de trabalho.⁽⁹⁾

Diante do exposto, o presente estudo investigou a presença de contaminação microbiana nas mãos dos funcionários de um posto de saúde, com o intuito de minimizar as

infecções cruzadas e motivar, se necessário, hábitos adequados de higiene e controle microbiano, por meio de programas e incentivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo prospectivo, de caráter quantitativo e qualitativo, com a amostra composta pelos funcionários (n = 29) de um posto de saúde de uma cidade do interior do Rio Grande do Sul.

As coletas foram realizadas em outubro de 2015 quando os funcionários participantes da pesquisa foram convidados e orientados sobre os procedimentos por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Também foi aplicado um questionário sobre os hábitos de cada participante. A coleta do material biológico foi realizada antes e após o turno de trabalho de cada indivíduo, pela fricção de um *swab* estéril sobre toda a superfície plantar da mão dominante, inclusive entre os dedos.

Foram incluídos no estudo todos os funcionários do posto de saúde, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, que aceitaram participar do estudo. Foram excluídos dois voluntários que tiveram que sair do ambiente de trabalho antes do final de seu expediente para uma visita domiciliar.

Também foi coletado material de alguns utensílios de uso comum entre pacientes e profissionais, como maçanetas das portas, mesas dos consultórios e balcão da recepção.

Os *swabs* foram acondicionados em caixa térmica e transportados até um laboratório terceirizado, onde foram feitas as análises de identificação e sensibilidade microbiana.

Análise microbiológica

Cada *swab* com meio de transporte Stuart (Absorve) coletado foi inoculado, separadamente, em placas estéreis de agar sangue de carneiro desfibrinado (Laborclin), que foram colocadas em uma estufa com temperatura de 37°C por um período de 24 horas. Após este período, as placas foram retiradas e naquelas em que houve crescimento de mais de cinquenta unidades formadoras de colônias (UFC), se fez a identificação por meio de provas bioquímicas e físicas (teste de oxidase, catalase e coagulase), com o kit de enterobactérias da Laborclin, conforme CLSI, 2014.⁽¹³⁾

Análise de sensibilidade microbiana

Após todas as cepas bacterianas serem devidamente identificadas, foram submetidas ao teste de sensibilidade frente aos principais antibióticos para cada classe dos principais microrganismos com importância clínica, por meio do teste de antibiograma. O método utilizado foi o método semiquantitativo de difusão em disco, também conhecido como método de Kirby & Bauer, onde diversos discos, no

qual estão contidos antibióticos diferentes, são distribuídos em zonas distintas de uma placa de agar Mueller Hinton (Oxoid), cultivadas com as bactérias identificadas anteriormente. Após a incubação em estufa com temperatura de 37° por 18 a 24 horas, foi analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo, então, medido o tamanho de cada halo para a identificação de sensibilidades ou resistências apropriadas, de acordo com a espécie bacteriana em análise. Os antibióticos usados foram amicacina (30 µg), amoxicilina + clavulanato (20/10 µg), ampicilina (10 µg), azitromicina (15 µg), cefepime (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg), imipenem (10 µg), levofloxacina (5 µg), meropenem (10 µg), norfloxacina (10 µg), penicilina G 10U, rifampicina (5 µg) e tetraciclina (30 µg). Para a seleção de bactérias multirresistentes foram selecionadas as cepas que apresentaram o fenótipo de resistência a quatro ou mais agentes antimicrobianos testados.

Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Univates (Coep/Univates), atendendo os preceitos éticos previstos na Resolução n° 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, sob parecer de número 1.153.403.

Os resultados foram disponibilizados em tabelas do Excel® e disponibilizados em gráficos e tabelas, com frequência absoluta e relativa.

Este trabalho foi realizado com os recursos provenientes do Centro Universitário Univates, não havendo conflitos de interesse.

RESULTADOS

A amostra foi composta por um total de 29 funcionários do posto de saúde, com faixa etária entre 21 e 54 anos de idade, sendo 90% (n = 26) do sexo feminino e 10% (n = 3) do sexo masculino. Quanto à categoria profissional e setor de trabalho, 38% (n = 11) eram profissionais da enfermagem, entre enfermeiros, técnicos e acadêmicos de enfermagem, 21% (n = 6) do setor administrativo, 13% (n = 4) funcionários da farmácia interna da unidade de saúde, 7% (n = 2) do setor de higienização e 21% (n = 6) de outros profissionais de nível superior, entre médicos, nutricionista, farmacêutico e dentista.

A condição para que o indivíduo fosse considerado colonizado foi a presença de mais de 50 UFC. Assim, oito dos indivíduos não apresentaram crescimento de microrganismos, tanto na entrada quanto na saída de seu turno de trabalho (Tabela 1). Já dos 21 profissionais que apresentaram crescimento, obtivemos o isolamento de 45 microrganismos diferentes, 49% (n = 22) foram na entrada e 51% (n = 23) na saída do turno de trabalho (Tabela 2).

Tabela 1 - Distribuição de crescimento microbiano, conforme o setor e categoria do profissional da saúde, dados expressos em números absolutos.

Setor/Categoria	Negativos	Positivos	Total
Higienização	1	1	2
Enfermagem	3	8	11
Administração	2	4	6
Farmácia	0	4	4
Ensino Superior	2	4	6
Total	8	21	29

Tabela 2 - Distribuição dos isolados microbianos, conforme o setor e categoria do profissional da saúde, dados expressos em números absolutos

Setor/Categoria	Entrada	Saída	Total
Higienização	1	1	2
Enfermagem	7	11	18
Administração	5	3	8
Farmácia	6	5	11
Ensino Superior	3	3	6
Total	22	23	45

Dentre os 52 microrganismos isolados e identificados (Figura 1), a bactéria de maior prevalência foi *Staphylococcus aureus*, presente em 23 (44%) isolados, seguida de *Staphylococcus sp.*, em 17 (33%) isolados, e *Escherichia coli*, em oito (15%) dos isolados. As outras bactérias identificadas foram *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), em dois isolados, *Shigella sp.* e *Enterobacter aerogenes*, presentes em apenas um isolamento cada.

Nos utensílios analisados foram identificados cinco isolados de *S. aureus* (72%), um isolado de *Staphylococcus sp.* (14%) e um isolado de *E. aerogenes* (14%). O *S. aureus* foi isolado em todas as amostras de utensílios, o que nos dá um total de 100% de contaminação em superfícies por este microrganismo, conforme Tabela 3.

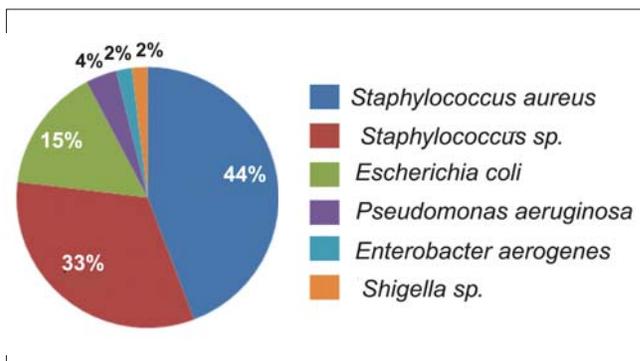


Figura 1. Total de microrganismos isolados e identificados nas mãos de utensílios.

Tabela 3 - Microrganismos isolados na entrada e saída do turno de trabalho do profissional de saúde, juntamente com os achados em utensílios, dados expressos em números absolutos

Tipo de microrganismo	Entrada	Saída	Utensílios	Total
Cocos Gram Positivos	17	17	6	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	11	5	23
<i>Staphylococcus sp.</i>	10	6	1	17
Bastonetes Gram Negativos	5	6	1	12
<i>Escherichia coli</i>	5	3	0	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	2	0	2
<i>Shigella sp.</i>	0	1	0	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	1	1
Fungos Leveduriformes	2	2	0	4
Fungos Filamentosos	0	2	0	2

No presente estudo, constatou-se também que, dentre os microrganismos isolados, 15 apresentaram multirresistência a antibióticos, sendo dez (66%) da espécie *S. aureus* e três (20%) da espécie *E. coli*. *Staphylococcus sp.* e *E. aerogenes* também apresentaram multirresistência (um isolado de cada).

O *S. aureus* apresentou elevado índice de resistência para o antimicrobiano penicilina G (83%), seguido da azitromicina (65%) e ampicilina (57%). Porém, apresentou 100% de sensibilidade ao ciprofloxacina e 95% para a gentamicina e norfloxacina.

Entre os isolados de *E. coli*, o antibiótico que apresentou maior resistência foi o levofloxacina (62,5%), seguido do imipenem e tetraciclina (50% cada) e amoxicilina + clavulanato e cefotaxima (37,5% de resistência em ambas). No entanto, apresentou-se sensível aos demais antibióticos testados.

As bactérias *Staphylococcus sp.* apresentaram maior resistência a penicilina (88%) azitromicina (64%) e clindamicina (47%), mas apresentaram grande sensibilidade a gentamicina (90%). A única *E. aerogenes* isolada apresentou resistência a ampicilina, imipenem, levofloxacina e norfloxacina, sensibilidade apresentou somente a amoxicilina + clavulanato e aos demais antibióticos testados apresentou valor intermediário.

O total de isolados multirresistentes nas mãos dos profissionais foi de 11 (73%) dos microrganismos, e a classe profissional que apresentou maior número de isolados multirresistentes aos antibióticos testados foi a farmácia, seguida da enfermagem (Figura 2).

Apesar de todos os pesquisados concordarem que a correta higienização das mãos reduz a taxa de infecções, apenas 65,5% (n = 19) lavam com frequência suas mãos durante as mais diversas atividades de seu dia a dia. Por meio do questionário aplicado, também se constatou que 86,2% (n = 25) fazem uso de substância à base de álcool para a higienização das mãos e que 20,7% (n = 6) acham que ela substitui a lavagem com água e sabão. Sobre os produtos disponíveis para a lavagem das

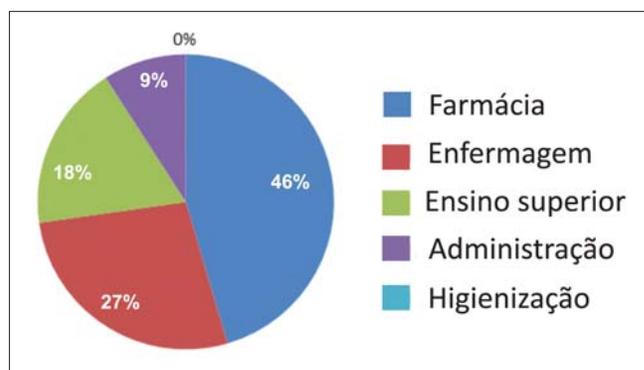


Figura 2. Total de microrganismos multirresistentes isolados nas mãos dos funcionários conforme setor/categoria.

mãos 86,2% (n = 25) acham os produtos adequados e 82,4% (n = 24) aprovam também a infraestrutura e número de lavabos disponíveis no local de trabalho.

Quando questionados se já realizaram algum tipo de treinamento sobre a higienização ou lavagem das mãos, somente 31% (n = 9) responderam que sim, porém, não na unidade de saúde em questão.

DISCUSSÃO

As mãos dos profissionais de saúde já foram identificadas como fonte de surtos de infecção em serviços de saúde, causados por várias bactérias Gram-negativas multirresistentes, como *Acinetobacter sp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Klebsiella pneumoniae*. Com relação às bactérias Gram-positivas, as evidências também apontam para as mãos dos profissionais de saúde como uma das principais responsáveis pela disseminação destes patógenos.⁽¹²⁾

Dentre os microrganismos isolados das mãos dos profissionais, foi observado um número maior de isolados do tipo cocos Gram-positivos. Esses microrganismos, em particular o *S. aureus*, são considerados os principais agentes de infecção hospitalar.⁽¹⁴⁾ O *S. aureus* causa principalmente infecções de corrente sanguínea, relacionada a cateteres e infecções de pele e partes moles, mas é também um dos agentes mais frequentes de pneumonias associadas à ventilação mecânica.⁽¹⁵⁾

Os dados concordam com outro estudo, que identificou *Staphylococcus sp.* nas mãos e sob as unhas de profissionais de saúde, estudantes e visitantes em ambiente hospitalar, revelando que 50% estavam colonizados, sendo 7% por *S. aureus*, e destes, 1% multirresistente a antibióticos.⁽¹⁶⁾

Outro achado importante foi a identificação de *E. coli* em 67% dos bacilos Gram-negativos isolados. A *E. coli* está presente no trato intestinal do homem e outros animais, portanto, a presença deste microrganismo significa contaminação por material fecal.⁽¹⁷⁾ Concordando com o estudo,

Machado et al.⁽¹⁸⁾ identificaram *E. coli* em 29,17% das mãos e fossas nasais dos manipuladores de alimentos de um ambiente hospitalar. Outro estudo também mostra o predomínio de 32,5% desta bactéria nas mãos, vestimenta, superfícies, utensílios e instrumentos de comum utilização entre os funcionários de um hospital público de Goiás.⁽¹⁹⁾

O conhecimento sobre a presença de *E. coli* nas mãos de profissionais da saúde não é recente. Em 1990, Barros identificou a presença deste microrganismo nas mãos dos funcionários da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, o que o levou a analisar os sabões disponíveis para a higienização das mesmas nos diversos setores do Hospital, e, dentre os quatro tipos de sabões analisados, um estava contaminado.⁽²⁰⁾

Na presente pesquisa, houve o crescimento de dois isolados de *P. aeruginosa*, ambos durante a saída de funcionários do mesmo setor, o que pode nos indicar alguma contaminação ambiental, já que somente estes dois funcionários trabalham neste setor. A *P. aeruginosa* é uma bactéria extremamente versátil, por ter a capacidade de sobreviver em água e outros ambientes com restrição de nutrientes, e por causar infecções oportunistas, geralmente do trato respiratório, urinário e também sanguíneas. É a causa mais comum de infecções no ouvido e por queimaduras e é frequente colonizador de equipamentos médicos.^(15,21)

Investigações de surtos de *P. aeruginosa* em unidades de terapia intensiva neonatal comprovaram que os microrganismos foram transmitidos pelas mãos dos profissionais de saúde, as quais foram contaminadas por antissépticos utilizados para a higienização das mesmas.⁽¹⁴⁾

Podemos observar que, do total de microrganismos isolados, 22 foram na entrada e 23 na saída do turno de trabalho, o que nos indica uma estabilidade no crescimento e transmissão de microrganismos. Porém, na equipe de enfermagem houve um crescimento de 37% de achados no final do expediente de trabalho, o que pode indicar uma inadequada higienização das mãos.

Um estudo sobre a frequência da higienização das mãos em uma unidade de terapia intensiva revelou que era esperado que os profissionais da equipe de enfermagem realizassem a higienização das mãos 298 vezes, entretanto, a adesão foi de apenas 15% dos profissionais. E para os médicos, era esperado que as suas mãos fossem higienizadas 34 vezes, porém esse procedimento ocorreu somente 9 vezes.⁽¹⁴⁾ Já outro estudo do mesmo espectro, revelou, na categoria médica, que entre os 80 registros esperados de higienização das mãos, somente 14 foram realizados, e, destes, 12 de forma incorreta. Na categoria de enfermagem, dos 748 registros de oportunidades, 247 foram realizadas, e, destas, 196 de forma incorreta.⁽⁴⁾

Souza et al.⁽²²⁾ observaram que em 56,2% das oportunidades de higienização das mãos observadas, ela não foi

aderida, sendo que a classe profissional que mais higienizou suas mãos foi a dos fisioterapeutas (53,5%) e a menor, dos técnicos de enfermagem (29,2%).

O antibiograma apontou elevado índice de resistência à penicilina G pelo *S. aureus*; dados semelhantes foram observados em outro estudo, que apresentou 76% de resistência deste antibiótico sobre este microrganismo.⁽²³⁾

O perfil de resistência das amostras de *E. coli* revelou taxas elevadas de resistência a levofloxacim, imipenem e tetraciclina. Porém, apresentaram 100% de sensibilidade a ampicilina, ciprofloxacim, amicacina, norfloxacim e gentamicina. Na pesquisa de Braios et al.,⁽²⁴⁾ a *E. coli* apresentou resistência a ampicilina (52,1%) e tetraciclina (29,1%). Contudo, um estudo realizado no hospital regional do município de Morrinhos, GO encontrou cepas de *E. coli* resistentes a ampicilina e eritromicina.⁽²⁵⁾ Assim, o presente estudo apresentou resultados diferentes aos demais, resultado esse que pode ser explicado pela evolução natural das bactérias para superar as condições adversas que encontram, o que justifica a existência de tantas variedades da mesma espécie bacteriana. Elas podem desenvolver a capacidade de produzir substâncias tóxicas, que facilitam sua adesão ao epitélio do hospedeiro. Também possuem condições de produzir componentes celulares que dificultam a sua eliminação pelo sistema imunológico do hospedeiro. O conjunto destas "habilidades" ajuda na determinação do seu grau de virulência e patogenicidade.⁽²⁶⁾

No presente estudo, foram avaliados utensílios de uso comum entre os funcionários e os pacientes da unidade de saúde, como maçanetas e superfícies de mesas. Nos cinco utensílios analisados, houve o crescimento de sete microrganismos, e, destes, quatro (57%) apresentaram multirresistência aos antibióticos testados. O reservatório natural dos microrganismos pode ser os pacientes infectados, ou, ainda, e em muitos casos, os próprios profissionais da área da saúde, que atuam como carreadores. Entretanto, utensílios ou equipamentos contaminados por estes agentes podem ser o reservatório ambiental. Dessa forma, a transmissão de bactérias multirresistentes pode ocorrer de forma cruzada, pelos profissionais de saúde, tanto pelo contato direto entre um paciente e outro, como pelo contato indireto, devido ao manuseio de utensílios ou superfícies contaminadas.⁽²⁷⁾

Por meio da pesquisa, podemos observar que as bactérias isoladas das mãos dos funcionários também foram encontradas em utensílios de comum utilidade entre os profissionais e pacientes, sugerindo que a transmissão cruzada de microrganismos em unidades de saúde pública é possível. Ressalta-se assim a importância da correta higienização das mãos com água e sabão durante as mais variadas atividades exercidas durante o atendimento ao paciente.

Contudo, é importante salientar que, de acordo com os diferentes códigos de ética nas diversas profissões de cuidado ao paciente, quando estes colocam em risco a

saúde dos indivíduos, podem ser responsabilizados por imperícia, negligência ou imprudência.⁽²⁸⁾

CONCLUSÕES

Entende-se que os ambientes assistenciais podem estar contaminados, existindo assim o risco de transmissão, porém, pesquisas relacionadas a este tema ocorrem normalmente em ambientes hospitalares. Os dados obtidos no presente estudo ressaltam que o ambiente assistencial de saúde pública também é um meio de concentração, transmissão e disseminação de microrganismos patogênicos. E isso vai contra o foco principal das unidades básicas de saúde, que é a prevenção.

A principal medida para o controle de doenças infecciosas é a higienização das mãos, sendo que os nossos resultados mostraram que os profissionais reconhecem essa ação como uma estratégia para a prevenção das IRAS, mas subestimam a correta adesão, talvez por falta de estímulo e assistência de seus supervisores, já que todos informaram não terem treinamento sobre a correta higienização das mãos pelo local em que trabalham.

Dessa forma, os dados obtidos nessa pesquisa ressaltam a importância de programas efetivos de educação, destacando a necessidade da correta higienização das mãos. Além disso, novos estudos sobre o assunto devem ser realizados em outras unidades públicas de saúde, a fim de se verificar a presença ou não de patógenos no local, contribuindo com a prevenção de infecções cruzada.

Abstract

Introduction: Infections related to health assistance refer to those acquired during the provision of health care, and the main route of transmission of microorganisms occurs through the hands of health professionals. **Objective:** This study aims to identify and qualify the microbial agents present in the hands from the employees of a health center. **Methods:** Microbial samples were analyzed, collected by a swab with Stuart mode of transport, from the hands of 29 employees of the respective healthcare center and the surface of some common utensils used among employees and patients. These samples were incubated and properly identified through biochemical and physical evidences. After, they were subjected to the antibiotic sensitivity test. **Results:** Among the 52 isolated and identified microorganisms, the most prevalent bacteria was *Staphylococcus aureus* (44%), followed by *Staphylococcus sp.* (33%), and *Escherichia coli* (15%). The other identified bacteria were *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sp.* and *Enterobacter aerogenes*. It was found that 28.9% ($n = 15$) of identified bacteria were resistant to four or more antibiotics. There was also the isolation of *S. aureus* (72%), *Staphylococcus sp.* and *Enterobacter aerogenes* (14%) on items like tables, door knobs and countertops. **Conclusion:** The same bacteria that were found in the hands of the employees have also been found in common use utensils between professionals and patients, suggesting that there is cross-transmission of microorganisms in public health center, and highlighting the importance of proper hand sanitizing with soap and water before several activities carried during patient care.

Keywords

Hand hygiene; Contamination; Public health

REFERÊNCIAS

- Oliveira AC, Silva MDM, Garbaccio JL. Vestuário de profissionais de saúde como potenciais reservatórios de microrganismos: uma revisão integrativa. *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis, 2012 Jul-Set;21(3):684-91.
- Mello MHC, Leal ACAM. Controle das infecções na assistência à saúde relacionada à higienização das mãos. *Revista Interd.* v. 8, n. 1, p. 91-97, jan. fev. mar. 2015.
- Martini AC. Lavagem das mãos no olhar de trabalhadores de enfermagem. Porto Alegre, 2003.
- Primo MGB et al. Adesão à prática de higienização das mãos por profissionais de saúde de um Hospital Universitário. *Rev. Eletr. Enf.* [Internet]. 2010;12(2):266-71.
- Araujo AP, et al. Análise da Higienização das Mãos pelos profissionais de Saúde em ambiente Hospitalar durante dois meses. *Revista Saúde e Ciência online*, 2015; 4(3): 44-54.
- Bathke J et al. Infraestrutura e adesão a higienização das mãos: desafios a segurança do paciente. *Ver. Gaúcha Enferm.* 2013; 34(2):78-85.
- Mendonça AP et al. Lavagem das mãos: adesão dos profissionais de saúde em um unidade de terapia intensiva neonatal. *Acta Scientiarum. Health Sciences.* Maringá, v.25, no.2, p.147-153, 2003.
- Santos FM e Gonçalves VS. Lavagem das mãos no controle da infecção hospitalar: um estudo sobre a execução da técnica. *Revista Enfermagem Integrada - Ipatinga: Unileste-MG-V.2-N.1-Jul./Ago.2009.*
- Rocha LA. Microbiota das mãos de enfermeiras, estudantes universitários e técnicos de laboratório associada à lavagem higiênica. Uberlândia - MG, 2007.
- Custódio J et al. Avaliação microbiológica das mãos de profissionais da saúde de um hospital particular de Itumbiara, Goiás. *Ver. Ciênc. Méd., Campinas*, 18(1):7-11, jan./fev., 2009.
- Oliveira DGM, Souza PR, Watanabe E, Andrade D. Avaliação da higiene das mãos na perspectiva microbiológica. *Rev Panam Infectol*, 2010;12(3):28-32.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Segurança do paciente: Higienização das mãos. Brasília: 2009.
- CLSI (Clinicaland Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100 - S24. Vol. 34, nº1. Wayne, PA, USA, 2014.
- Palos MAP, Silva DVB, Gir E, Canini SR, Anders PS, Leão LSN, et al. Microbiota das mãos de mães e de profissionais de saúde de uma maternidade de Goiânia. *Rev Eletr Enf* 2009;11:573-578. [Internet]. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n3/v11n3a14.htm>.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Investigação e controle de bactérias multirresistentes. Brasília: 2007.
- Felix CCP, Miyadahira AMK. Avaliação da Técnica de lavagem das Mãos executado por alunos de graduação de enfermagem. *Rev. esc. enferm. USP* [Internet]. 2009 Mar;43(1):139-145. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342009000100018&lng=en.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller, MA. *Microbiologia Médica*. 6ª ed. Editora Elsevier, Rio de Janeiro, 2010.
- Machado JR et al. Avaliação microbiológica em manipuladores de alimentos. *Revista Medicina (Ribeirão Preto)* 2009;42(4):461-5.
- Feitosa SB, Araújo RB de, Costa PGM da, Vieira J, Oliveira MBR de, Carneiro LC.. Estudo de enterobactérias no hospital público de Morrinhos-GO. Resumo apresentado no VI Seminário de Iniciação Científica, vinculado ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq). Universidade Estadual de Goiás. Anápolis – GO ISSN1981-4356.out. 2008. Disponível em: www.researchgate.net/publication/267972631_-_Estudo_de_Enterobacterias_No_Hospital_Publico_de_Morrinhos_-_GO. Acessado em 16 de novembro de 2015.

20. Barros RCN, Nogueira RA. A equipe de saúde e a lavagem das mãos no controle das Infecções Hospitalares. R. Bras. Enferm., Brasília, 43(1,2,3/4):64-70, jan./dez.1990.
21. Koneman EW, et al. Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas Colorido. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.
22. de Souza LM, Ramos MF, Santos da Silva Becker E, da Silva Meirelles LC, Monteiro SA. Adherence to the five moments for hand hygiene among intensive care professionals. Rev Gaucha Enferm. 2015 Dec;36(4):21-8.
23. Vanzo SP, Azevedo RSP. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos: perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. Hig. Aliment; 17(104/105):114-123, jan.,-fev. 2003
24. Braoios A, Turatti RF, Meredija LCS, Campos TRSC, Denadai FHM. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. J Bras Patol Med Lab. 2009 ;45 (6):449-56;
25. Carneiro LC, Carvalhares TT, Pesquero MA, Quintanal CQ, Feitosa SB, Filho JE, et al. Identificação de bactérias causadoras de infecção hospitalar e avaliação da tolerância a antibióticos. NewsLab 2008; 86:106-114.
26. Araguaia M. Escherichia coli; Brasil Escola. Disponível em <<http://WWW.brasilecola.com/biologia/escherichia-coli.htm>>. Acesso em 24 de novembro de 2015.
27. Alves IA et al. Isolamento de bactérias multirresistentes coletadas dos espêculos utilizados em coletas de exames citopatológicos em postos de saúde da rede pública de um município de médio porte no rio grande do sul. Revista de Iniciação Científica da ULBRA - N°10-2012.
28. Witczak MVC, Machado JAA. O ato de higienizar as mãos e a produção psicossocial de sentidos no trabalho. J Infect Control 2015; 4 (2): 54-5.

Correspondência

Gabriela Kniphoff da Silva
Rua Avelino Tallini, 171 - Bairro Universitário
95900-000 – Lajeado, RS

Meningite eosinofílica: relato de caso

Eosinophilic meningitis: Case report

Mayara Caldas Ramos Cunha¹

Valéria Pereira Salgado²

Denise Rezende³

Thiago Noronha¹

Ricardo Ambrosio Fock⁴

Resumo

A meningite eosinofílica é uma reação inflamatória causada na grande maioria das vezes por parasitas. Por meio da análise quimiocitológica do líquido cefalorraquidiano (LCR), o laboratório clínico é responsável por detectar a presença de eosinófilos e contribuir para o diagnóstico final de meningite eosinofílica, diferenciando-a de outras causas etiológicas de meningites. Neste relato de caso, uma criança deu entrada no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo com sinais e sintomas de meningite e foi diagnosticada com meningite eosinofílica devido ao resultado clínico e a análise quimiocitológica do LCR. Exames sorológicos no LCR para identificação do agente causador foram encaminhados para centros de referência e, embora a identificação do agente causador não tenha sido estabelecida, este relato de caso nos mostra a importância do laboratório clínico na identificação de eosinófilos no LCR e no encaminhamento de amostras para os centros de referência/pesquisa, auxiliando no aprimoramento ou desenvolvimento de testes diagnósticos bem como na melhoria de ações de saúde pública.

Palavras-chave

Meningite; Eosinofilia; Parasitos

INTRODUÇÃO

Meningite é um processo inflamatório das meninges, que são um conjunto de membranas que revestem e protegem o sistema nervoso central (SNC), medula espinhal, tronco encefálico e encéfalo. Este processo inflamatório pode ser potencialmente fatal devido à geração de diversos estímulos que podem comprometer órgãos nobres do SNC, órgãos esses que apresentam reduzida taxa de regeneração. A meningite é geralmente causada por agentes infecciosos, como bactérias, vírus, fungos ou parasitas, embora também possa ser causada por agentes não infecciosos, por exemplo, as células cancerosas, drogas, doenças do sistema imunológico, entre outros.⁽¹⁾

As meningites virais e bacterianas recebem maior atenção, do ponto de vista da saúde pública, por sua magnitude e a capacidade de causar surtos epidêmicos. De acordo com dados do Ministério da Saúde (GT- Meningite/UVRI-SINAN/Devit/SVS/MS), o número de casos de meningite no Brasil é em torno de 20 mil ao ano, sendo que 82% dos casos são causados por vírus e bactérias e 18% não

são especificados. Dentre os casos não especificados destacam-se os causados por parasitas, uma vez que podem aparecer de forma esporádica, podendo, entretanto, causar surtos epidêmicos.⁽¹⁾

Dentre os agentes etiológicos parasitários, *Angiostrongylus*, *Toxocara*, *Schistosoma* e *Cysticercus* merecem destaque por sua maior incidência em causar meningites eosinofílicas.

A meningite eosinofílica causada por *Angiostrongylus cantonensis* é uma doença emergente no Brasil e destaca-se a importância de sua notificação bem como a atuação de centros de saúde em compilar informações sobre diversos aspectos da infecção humana e o seu modo de transmissão.⁽²⁾ O *Angiostrongylus cantonensis* é um parasita comumente encontrado em roedores, onde se reproduzem e garantem a continuidade da espécie. As suas larvas, eliminadas nas fezes dos roedores, são costumeiramente ingeridas por caracóis. No Brasil, destaca-se a disseminação do parasita favorecida por um grande aumento do número de caracóis terrestres, especialmente da espécie *Achatina fulica*, chamado de caramujo Africano Gigante, que

¹Msc / Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo, SP, Brasil.

²PharmD / Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo, SP, Brasil.

³PhD / Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo, SP, Brasil.

⁴Livre Docente / Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo, SP, Brasil.

Instituição: Hospital Universitário da Universidade de São Paulo. Divisão de Laboratório Clínico. São Paulo, SP, Brasil.

Artigo recebido em 10/05/2016

Artigo aprovado em 14/12/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600507

se disseminou por todas as regiões do país. Dessa forma, o homem se contamina com *Angyostrongylus cantonensis* pela ingestão ou contato com muco de caracóis infectados, que podem ser encontrados em vegetais crus contaminados.

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de meningite eosinofílica no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo em 2015 e alertar sobre a importância do laboratório clínico no diagnóstico de meningites eosinofílicas e direcionamento do diagnóstico final.

RELATO DO CASO

G.M.S, do sexo masculino, com 7 anos de idade, branco, com residência em São Paulo, previamente hígido, encaminhou-se ao pronto socorro do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo com queixa de cefaleia há 12 dias e febre (38,9°C) há 3 dias. Teve vômitos no dia anterior e diminuição da ingestão alimentar. Na entrada apresentava-se em regular estado geral, desidratado, sem sinais meníngeos. A tomografia de crânio evidenciou sinais de

hipertensão craniana, espessamento e hiperdensidade meníngea, associados a sinais de edema vasogênico nos hemisférios cerebelares, indicando um processo infeccioso ou inflamatório. O leucograma apresentou leucocitose (14.690 /mm³) com eosinofilia (1.542 / mm³).

O exame quimiocitológico do líquido cefalorraquidiano (LCR) apresentou-se ligeiramente turvo e incolor com celularidade aumentada (164 células/mm³), eosinofilia (33%) (Figura 1A e 1B), proteínas discretamente aumentadas (69,9 mg/dL, VR= 15-45mg/dL), glicose levemente diminuída (47mg/dL, VR= 50- 80mg/dL) e Pandy positivo, confirmando o diagnóstico de meningite eosinofílica. O tratamento foi iniciado imediatamente com 0,3 mg/kg de dexametasona, uma vez por dia e evoluiu bem com melhora da cefaleia e das demais queixas. O diagnóstico de meningite eosinofílica foi confirmado pelos exames clínicos e laboratoriais. Entretanto, não foi possível a identificação do agente etiológico por testes sorológicos auxiliares para identificação de *Toxocara*, *Angiostrongylus*, *Schistosoma* e *Cysticercus* encaminhados para o Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

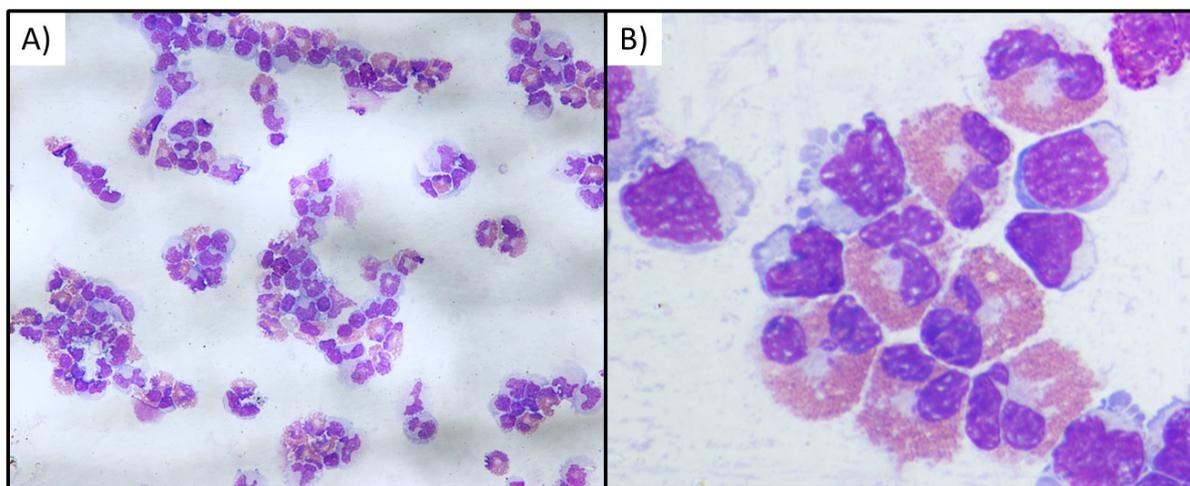


Figura 1A. Eosinófilos no LCR (aumento: 200 x; coloração de May-Grünwald) e Figure 1B – Eosinófilos no LCR (aumento: 1000 x; coloração de May-Grünwald).

DISCUSSÃO

O diagnóstico de meningite é baseado principalmente nas manifestações clínicas e no exame do LCR, um dos primeiros testes laboratoriais a ser solicitado e realizado. O exame do LCR consiste na análise bioquímica e na análise citológica, feita pela contagem de células totais e pelo diferencial. O exame do LCR, além de ser importante para o diagnóstico de meningite, permite orientar a indicação para realização de exames complementares necessários para identificação do agente etiológico.

Os sintomas clínicos da meningite eosinofílica são geralmente os mesmos que o de outras formas de meningites causadas por vírus e/ou bactérias. No entanto, na análise do LCR, os eosinófilos são raramente encontrados em meningites virais ou bacterianas, e a presença de eosinófilos no LCR é encontrada exclusivamente quando a meningite é causada por parasitas ou fungos.⁽²⁾

No caso atual, a análise quimiocitológica do LCR demonstrou resultados compatíveis com meningite eosinofílica, uma vez que, nesse tipo de meningite, geralmente o LCR apresenta-se ligeiramente turvo com discreto

aumento de proteína, discreta diminuição de glicose e eosinofilia maior de 10%.⁽²⁾ Os resultados dos testes sorológicos no LCR para *Toxocara*, *Angiostrongylus*, *Schistosoma* e *Cysticercus* apresentaram-se não reagentes. Entretanto, devido à dificuldade e limitações técnicas no isolamento do agente etiológico, os resultados não reagentes são comumente encontrados. Os testes imunológicos e moleculares podem auxiliar na identificação do agente etiológico, no entanto o imunodiagnóstico não é possível nas fases iniciais da infecção, além de diversos testes imunológicos não serem encontrados comercialmente por estarem ainda em desenvolvimento. E os testes moleculares, que são capazes de detectar o parasita na fase inicial, também não são encontrados em escala comercial.

Dessa forma, o diagnóstico de meningite eosinofílica pode ser apenas presuntivo, e a epidemiologia, nestes casos, pode ajudar no diagnóstico final. Na hipótese de meningite eosinofílica causada por *Angiostrongylus cantonensis*, o diagnóstico é geralmente presuntivo e estabelecido por sinais clínicos típicos de meningite, com cefaleia severa; no recordatório alimentar do paciente, verificando a possibilidade de ingestão de mariscos crus; na avaliação das condições de moradia e a proximidade com ambientes infestados de caracóis terrestres; bem como a presença proeminente de eosinófilos no LCR.

Neste relato de caso evidenciou-se que o paciente era proveniente de região típica aonde o encontro de caracóis terrestres é comum, além de apresentar característica quimiofisiológica do LCR compatível com meningite eosinofílica causada por *Angiostrongylus cantonensis*. De acordo com Sawanyawisuth & Sawanyawisuth, o LCR de pacientes com *Angiostrongylus cantonensis* também pode aparecer ligeiramente turvo, assemelhando-se à água de coco, que é patognomônico da angiostrongilíase.⁽³⁾ Sobre as características bioquímicas, Punyagupta et al. relataram níveis normais de glicose e níveis normais ou ligeiramente elevados de proteína.⁽⁴⁾

A subdetecção de eosinófilos no LCR contribui para subestimar a prevalência de meningite eosinofílica; desta forma, na análise do LCR, a preparação da lâmina, coloração do sedimento, bem como os conhecimentos sobre a importância da diferenciação adequada de leucócitos no LCR são relevantes para conduzir adequadamente o diagnóstico final da doença e prevenir uma possível endemicidade.⁽⁵⁾ Assim, os laboratórios clínicos cooperam com futuras pesquisas científicas, bem como no aperfeiçoamento de metodologias e técnicas imunológicas, enviando material suspeito para centros de referência para completa identificação do agente etiológico, contribuindo para o aprimoramento de dados de notificação compulsória das meningites e o estabelecimento de novas ações de saúde pública.

Abstract

Eosinophilic Meningitis is an inflammatory reaction mainly caused by parasites. Performing Cerebrospinal Fluid (CSF) analysis, the clinical laboratory is responsible for detecting the presence of eosinophils, and contributes to the final diagnosis of eosinophilic meningitis, differing from the other causes of meningitis. In the current case report, a child came to the emergency room of the University Hospital of the University of São Paulo presenting signs and symptoms of meningitis and was diagnosed with eosinophilic meningitis based on the clinical outcome and in the CSF differential cell count result. Serological CSF tests for final etiologic agent identification were performed in reference centers and although the identification of the causative agent has not been established, this case report shows the importance of the clinical laboratory for the identification of eosinophils in the CSF. Additionally, it is highlighted the importance in sending samples for reference laboratories/research centers to assist the improvement or development of new diagnostic tests and the advance in public health actions.

Keywords

Meningitis; Eosinophilia; Parasites

REFERÊNCIAS

1. Portal da Saúde - Ministério da Saúde. Meningites. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/meningites>. Acessado em: 01 Junho, 2015.
2. Morassutti AL, Thiengo SC, Fernandez M, Sawanyawisuth K, Graeff-Teixeira C. Eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*: an emergent disease in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014 Jul;109(4):399-407.
3. Sawanyawisuth K; Sawanyawisuth K. Drug target in eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Infect Disord Drug Targets*. 2010 Oct;10(5):322-8.
4. Punyagupta S, Juttijudata P, Bunnag T. Eosinophilic meningitis in Thailand. Clinical studies of 484 typical cases probably caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Am J Trop Med Hyg*. 1975 Nov;24(6 Pt 1):921-31.
5. Graeff-Teixeira C, da Silva AC, Yoshimura K. Update on Eosinophilic Meningoencephalitis and Its Clinical Relevance. *Clin Microbiol Rev*. 2009 Apr;22(2):322-48.

Correspondência

Ricardo Ambrosio Fock

Av. Professor Lineu Prestes, 2565 – Butantã
Universidade de São Paulo
05508-000 – São Paulo, SP



INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde [OMS], do International Committee of Medical Journal Editor [ICMJE] e do Workshop ICTRP. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínico-laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: Australian New Zealand Clinical Trials Registry [ANZCTR], International Standard Randomised Controlled Trail Number [SRCTN], Netherlands Trial Register [NTR], UMIN Clinical Trials Registry [UMIN-CTR], WHO International Clinical Trials Registry Platform [ICTRP]. No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>) do Ministério da Saúde [DECIT/MS], Organização Panamericana de Saúde [OPAS] e Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz]

é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por pareceristas/ revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados pelos pareceristas/ revisores serão informados imediatamente aos autores.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: trabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/abstract.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg" ou ".tif" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e de preferência, familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title <i>Incluir versão em Português</i>
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title <i>Incluir versão em Português</i>
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Abstract <i>Incluir versão em Português</i>
Palavras-Chave <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords <i>Incluir versão em Português</i>
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (exceto quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.

AUTORES: Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [Medical Subject Headings], elaborado pelo NLM [National Library of Medicine]. Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

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

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas

de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou ".tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excel em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excel, caso não seja possível converter para formato ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* [Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédicas] pelo *International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE]* (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2611814/ (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em *List of Journals Indexed in Index Medicus [National Library For Medicine]* (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chama-da Numérico. Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

- Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula "e" entre os sobrenomes;
 - Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";
 - Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;
 - Nomes contendo mais de um sobrenome deverão ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";
 - Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;
 - Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.
- Alguns exemplos de citações:
- **Um/duos autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁵⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.

- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.

- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: *Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec*. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

- **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidiodomycosis. *Clin Dermatol*. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. *Singapore Med J*. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui

S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. *Intern Med.* 2012;51(20):2967-71.

• **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.

• **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettkenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

• **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. *Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária.* 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. *Bases da parasitologia médica.* 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Penteado MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. *Ética em pesquisa: temas globais.* Brasília: Editora UNB; 2008.

Teses, Dissertações e Monografias:

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. *Análise da expressão gênica no dermatófito Trichophyton rubrum mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes.* São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. *Espécies de Candida isoladas de pacientes leucêmicos.* In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes.* Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. *Relatório de atividades: 2006.* Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niêro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform).* *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis [periódicos na internet].* 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgp/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.

• **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brigido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. In: 4o. Congresso Virtual de Micologia de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **Sistema de Gestão de Publicações (SGP)**, no endereço: www.sgponline.com.br/rbac/sgp. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de *login* e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de *fast-track* poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de *fast-track* deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da *Revista Brasileira de Análises Clínicas* - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/____/____.

Materiais de Referência PNCQ

Este ano trabalhamos para disponibilizar os Materiais de Referência PNCQ para o seu Laboratório.



Trabalhamos para disponibilizar esse produto que é essencial para monitorar a precisão e exatidão das medições analíticas em termos de qualificação e calibração de instrumentos.

Produzidos em estrutura própria e exclusiva, as amostras de Material de Referência do PNCQ obedecem aos mais rigorosos padrões de qualidade, rastreáveis aos padrões NIST (National Institute of Standards and Technology).

MATERIAIS DE REFERÊNCIA PNCQ DISPONÍVEIS PARA AQUISIÇÃO:

Bioquímica – MR PNCQ:

Ácido úrico, Cálcio, Cloretos, Magnésio, Potássio, Sódio, TGO, TGP, Triglicerídeos e Uréia.

Microbiologia – MR PNCQ: Padrão ATCC de 2ª geração das seguintes bactérias:

Burkholderia cepacia, *Citrobacter freundii* (complexo), *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*), *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus gallolyticus* (*bovis*).

Vitamina D – MR PNCQ: Valores certificados pelo PNCQ, rastreáveis pelo padrão NIST e validados internamente por HPLC/Espectrofotometria de Massas.

Toxicologia – MR PNCQ: Valores certificados pelo PNCQ :

- Álcoois e Cetonas
- Compostos inorgânicos
- Compostos orgânicos
- Metais na urina e soro rastreáveis pelo padrão NIST
- Sangue Total: Cádmiu, Chumbo, Hemoglobina, Manganês, Mercúrio e Selênio.

Em constante evolução, a linha será ampliada em breve.



Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

Nossas Certificações:



O PNCQ é acreditado pelo Cgcre como Provedor de Ensaio de Proficiência em conformidade com a ISO/IEC 17.043 sob o número 0013



Empresa certificada pela ABNT em conformidade com a ABNT NBR ISO 9001:2008 sob o número 23.008/04



Rua Vicente Licínio, 193 - Tijuca
Rio de Janeiro | RJ | CEP: 20270-340
Tel/Fax: 55 (21) 2569 - 6867
e-mail: pncq@pncq.org.br
Site: www.pncq.org.br