

ISSN 2448-3877



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Suplemento Especial de Análises Clínicas
Volume 51 - Número 01 | Supl. 01 | Ano 2019



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

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

Editor Emérito/Honorary Editor
Mateus Mandu de Souza (RJ)

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

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

Volume 51 - Suplemento 1 - 2019
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)
Secretária-Geral/General Secretary

Mauren Isfer Anghebem (PR)
Secretária/Secretary

André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/Treasurer

Paulo Aparecido Brandão Pinto (SP)
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



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 Citology

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), Luiz 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 Commissions

Coordenador Geral/General Coordinator

Luiz Fernando Barcelos (RS)

Comissão de Congressos/Congress Commission

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

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 5** Hepatite E: uma revisão
Hepatitis E: a review
Franz RS, Kluge M, Hoffmann ER, Souza RS, Machado Junior PSA, Dienstmann G
- 10** Patogênese, diagnóstico e tratamento da mielofibrose
Pathogenesis, diagnosis and treatment of myelofibrosis
Christofolletti LD, Felipe KB, Scaravelli NG, Vituri CL

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/UPDATE

- 18** Prevenção do câncer de pâncreas: uma atualização
Pancreas cancer prevention: an update
Souza RC, Mastrocola MMB, Pereira F, Haas P

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 24** Correlação da hemoglobina glicada com a glicemia de jejum no diagnóstico do *diabetes mellitus*
Correlation of glycated hemoglobin with fasting glucose in diabetes mellitus diagnosis
Moreira RB, Moraes AA, Mendes RCD, Schmitz WO
- 30** Respostas nos lípidos e nas lipoproteínas séricas ao aconselhamento nutricional exclusivo para indivíduos dislipidêmicos
Lipid and lipoprotein impact after exclusive nutritional counseling in dyslipidemic individuals
Kinchoku H, Castanho V, Faria EC
- 35** Uma comparação analítica entre dois métodos utilizados para determinação do LDL colesterol
An analytical comparison between two methods used for determining LDL cholesterol
Vieira MC
- 41** O *diabetes mellitus* tipo 2 e outros fatores de risco para DAC em pacientes com infarto agudo do miocárdio
Type 2 diabetes mellitus and other risk factors for CHD in patients with acute myocardial infarction
Anghebem MI, Zaparolli ATR, Marques GT, Picheth G
- 47** Estudo comparativo entre o teste rápido e o teste de Elisa na triagem sorológica da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana
A comparative study between the rapid test and the Elisa test in serological screening for human immunodeficiency virus
Arruda DMM, Costa TB, Carvalho PG
- 51** Avaliação do perfil imune dos acadêmicos do curso de biomedicina da Ulbra/Carazinho-RS frente à hepatite B através dos marcadores sorológicos anti-HBs e anti-HBc
Immune profile evaluation of biomedicine students at Ulbra/Carazinho-RS to hepatitis B by anti-HBs and anti-HBc serological markers
Miozzo R, Ehrhardt A
- 56** Soroprevalência da hepatite A em universitários da região metropolitana de São Paulo
Hepatitis A seroprevalence in university students from the São Paulo metropolitan region
Yamamoto YI, Cunha RAF, Costa APP

Sumário/Contents

- 61** Frequência de testes rápidos positivos para HIV em um hospital público de Alagoas
HIV positive rapid test frequency in a public hospital in Alagoas
Costa CRS, Maia ES, Lessa EEA, Rodrigues MML
- 66** Prevalência de anticorpos anti-Hantavírus na população do município de Palmas-PR
Prevalence of anti-Hantavirus antibodies in the population of Palmas city-PR
Araujo RT, Cartensen S, Raboni SM, dos Santos CND, Bordignon JC
- 70** Prevalência da hepatite B nos doadores de sangue em Santa Maria-RS em um período de 20 anos
Hepatitis B seroprevalence in blood donors in Santa Maria-RS in a period of 20 years
Cabral BM, Paula HL, Athayde ML, Machado MM
- 75** Avaliação da frequência de soroconversão contra o vírus da hepatite B (HBV) nos profissionais vacinados e não vacinados, lotados no Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, Joinville-SC
Frequency evaluation of seroconversion against hepatitis B virus (HBV) in health care workers vaccinated and non-vaccinated from Hans Dieter Schmidt Hospital, Joinville-SC
Moreira S, Borges PM, Adamovski M
- 80** Prevalência da sífilis em pacientes atendidas em um hospital público de Porto Alegre
Syphilis prevalence in patients attended in a public hospital in Porto Alegre
Mendonça JD, Filippou L, Saraiva PJ, Fuentesfria AM
- 84** Análise dos exames de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos para antígenos celulares
Analysis of indirect immunofluorescence antibody tests against cellular antigens
Ribeiro MT, Oliveira TB
- 89** Métodos de diagnóstico molecular e controle terapêutico da Hepatite C
Methods of molecular diagnosis and monitoring therapy of the Hepatitis C
Cordeiro MR, Hirata RDC
- 99** Avaliação da peroxidação lipídica e das enzimas marcadoras de danos hepáticos em camundongos submetidos ao estresse alcoólico
Evaluation of lipid peroxidation and enzymatic markers of liver in mice subjected to alcoholic stress
Gomes-Rochette NF, Bezerra CF, Silva AS, Almada CN, Silva ACM, Nunes-Pinheiro DCS, Mota EF, Melo DF
- 104** Avaliação do padrão histopatológico de teratomas diagnosticados em hospital público de Maceió no período de 2000 a 2007
Evaluation of teratoma histopathological standard diagnosed in Maceió public hospital in the period 2000 to 2007
Santos JP, Costa EMN, Silva SN, Silva Neto JC, Caldas RAA, Leite LAC
- 107** Picroindigo-carmim: coloração múltipla alternativa
Picroindigocarmine: alternative multiple staining
Sant'Anna GS, Willand E de F
- 112** Perfil de pacientes com diagnóstico de lesões intraepiteliais cervicais atendidas no serviço de saúde pública do município de Panambi-RS
Patient profile with intraepithelial cervical lesion diagnosis attended in the public service of the Panambi City-RS
Friedrich LW, Beber ARC, Vargas VRA

Sumário/Contents

- 118** Prevalência de câncer do colo uterino na fronteira Brasil-Argentina
Prevalence of cervical cancer in Brazil-Argentina border
Calil LN, Oliveira PM, Coelho RP, Moreira CM, Fuentefria AM
- 123** Presença de células endocervicais em esfregaços citológicos com alterações em células escamosas: estudo de prevalência
Endocervical cell presence in cytological smears with squamous cell changes: study of prevalence
Oliveira DF, Sampaio NCN, Souza NLA, Tavares SBN, Figueiredo Alves RRF, Rabelo-Santos SH
- 128** Correlação entre citologia oncológica e a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) na detecção do papilomavírus humano na cérvix uterina
Correlation between oncology cytology and polymerase chain reaction technique (PCR) for detection of human papillomavirus in the uterine cervix
Lima MC, El Bayeh FM, Menegaz SYFC, Rodrigues THD, Vilarinho KR, Canevarolo CGM, Vieira GS, Béla SR
- 134** Avaliação citológica do fluido papilar obtido por aspiração automática pelo HALO™ Mamo Cito Test
Cytological evaluation of nipple fluid aspiration obtained by automatic suction by HALO™ Mamo Cito Test
Mansur S, Zonta MA, Vemame F, Filassi JR, Longatto Filho A
- 139** Análise dos resultados de exames citopatológicos realizados em uma Unidade Básica de Saúde
Analysis of the cytopathological exams results performed in a Basic Health Units
Barbosa YC, Aguiar MIF, Rabêlo PPC, Rolim ILTP, Campos LFG, Scrivener MFA, Maia MS
- 145** Controle de qualidade em laboratórios de análises clínicas da cidade de Anápolis-GO
Quality control in clinical laboratories of Anápolis city-GO
Lima DF, Jaime JC
- 155** Análise dos resultados de exames bioquímicos realizados em um laboratório de pequeno porte
Analysis of biochemistry exam results performed in a small laboratory
Alonso I, Martins Júnior M

RELATO DE CASO / CASE REPORT

- 166** Dificuldades transfusionais em paciente aloimunizado: um relato de caso
Transfusion difficulties in alloimmunized patient: a case report
Munhoz E, Sá MC, Koti ANJ, Turra MRS, Silva MC, Spinosa AA, Giovenazzi MG, Saito M

169 INSTRUÇÕES AOS AUTORES / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Hepatite E: uma revisão

Hepatitis E: a review

Roberta Silveira Franz¹

Mariana Kluge¹

Elias da Rosa Hoffmann¹

Rannier Souza de Souza¹

Paulo Sérgio Albeche Machado Junior¹

Guilherme Dienstmann¹

Resumo

O vírus da hepatite E (HEV), classificado inicialmente por como não-A, não-B e não-C, trata-se de um vírus não envelopado, de RNA fita simples e polaridade positiva. É endêmico da Ásia, Oriente Médio e norte da África. A transmissão ocorre via rota fecal-oral, principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados, associado, portanto, a condições sanitárias precárias. O contato com animais infectados, especialmente suínos, também pode ser uma forma de contágio do HEV. O quadro clínico da hepatite E é semelhante ao da hepatite A, evoluindo para um bom prognóstico. Todavia, o HEV pode causar complicações maiores em gestantes, levando a um quadro de hepatite fulminante, cuja taxa de mortalidade pode chegar entre 15% e 20%. O diagnóstico é basicamente sorológico, por meio de imunoenaios enzimáticos. A hepatite E apresenta uma baixa prevalência em áreas não endêmicas, incluindo o Brasil, embora ocorra alta prevalência entre suínos, que podem servir de reservatórios para o vírus.

Palavras-chave

Hepatites virais; hepatite E; HEV

INTRODUÇÃO

O vírus da hepatite E (HEV) foi identificado, pela primeira vez, em um surto em NovaDelhi (Índia) entre 1955 e 1956, denominado hepatite não-A e não-B.⁽¹⁾ Somente em 1990, sua caracterização molecular foi realizada e passou a ser chamado de HEV.⁽²⁾ Trata-se de um vírus não envelopado com diâmetro de 27nm a 34 nm de simetria icosaédrica. Possui um genoma de RNA fita simples de polaridade positiva, pertencente ao gênero *Hepevirus*, sendo atualmente classificado em quatro sorotipos.⁽³⁾

A transmissão dá-se por via fecal-oral, disseminada principalmente pela água e também através de contatos com animais infectados, especialmente suínos.⁽⁴⁾ Diferentemente do vírus da hepatite A, o HEV parece afetar principalmente adultos jovens, o que não é comum para um vírus transmitido pela via fecal-oral. Outra importante diferença é a alta taxa de mortalidade observada em gestantes infectadas por HEV, que pode variar entre 15% a 20%.⁽⁵⁾ Uma maior ocorrência de surtos é observada em regiões em desenvolvimento, tais como Ásia, Oriente Médio e norte da África.⁽⁶⁾

MATERIAL E MÉTODOS

Artigo de revisão bibliográfica sobre hepatite E entre 1957 até o presente momento, por meio de pesquisa de

artigos científicos indexados nas bases Medline/PubMed e SciELO. Utilizaram-se como critério de busca as seguintes palavras-chave: hepatites virais, hepatite E e HEV.

O VÍRUS DA HEV

Em relação à sua organização genômica, o HEV apresenta três regiões distintas em seu RNA: região ORF1, ORF2 e ORF 3.^(7,8) A ORF1 é considerada a maior região, sendo constituída por 5.079 nucleotídeos de comprimento, responsável pela síntese de enzimas envolvidas na replicação viral. A ORF2 é responsável pela síntese de proteínas estruturais que compõem o capsídeo viral. A ORF3, por sua vez, parece estar envolvida com a regulação da interação do vírus com a célula hospedeira.^(5,9)

GENÓTIPOS DO HEV

Entre o final dos anos 80 e começo dos anos 90, ensaios sorológicos pioneiros sobre o HEV foram descritos, principalmente na África e Ásia. Em outros continentes, como na Europa e Américas, foram descritos casos aleatórios, provavelmente viajantes vindos de áreas endêmicas.⁽¹⁰⁾ A prevalência de HEV em áreas não endêmicas também foi avaliada em diversos estudos, resultando no mapeamento e classificação em quatro genótipos, e ainda na presença

¹Acadêmico de Biomedicina da Universidade Feevale. Universidade Feevale – Novo Hamburgo-RS, Brasil.

Instituição: Universidade Feevale – Novo Hamburgo-RS, Brasil.

Artigo recebido em 25/11/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

de alguns isolados em diferentes regiões.^(5,11) De acordo com esta classificação, os genótipos 1 e 2 podem ser encontrados em humanos, ao passo que os genótipos 3 e 4 são achados de mamíferos não humanos.^(11,12)

Em relação à sua distribuição geográfica, o genótipo 1 tem uma alta prevalência nas regiões norte, centro e sudeste asiático, assim como no norte da África, sendo responsável por epidemias e pequenos surtos, caracterizando uma região endêmica. É considerado o genótipo mais conservado e distingue-se em cinco subtipos (1a, 1b, 1c, 1d e 1e).^(11,13) O genótipo 2 foi primeiramente isolado na América do Norte, apresentando-se como uma epidemia, sendo posteriormente, na Nigéria, citados casos esporádicos. Os subtipos conhecidos para o genótipo 2 são 2a e 2b.^(11,13) O genótipo 3 foi isolado em homens e animais, principalmente em suínos, em regiões de países industrializados. Foram encontrados casos humanos de hepatite E com este genótipo em indígenas na América do Norte e do Sul, mas também em vários países da Europa, Japão e países do Pacífico.^(14,17) No Brasil, o genótipo 3 foi encontrado em criações de suínos em São Paulo, Mato Grosso e Rio de Janeiro.^(18,19) Mais recentemente, no estado do Rio de Janeiro, foi encontrado um caso humano.⁽¹⁹⁾ O genótipo 4 predomina principalmente na China e com uma maior incidência em Taiwan.^(11,13)

Em suma, os genótipos 1 e 2 são encontrados em regiões tropicais e subtropicais, sendo responsáveis pelas epidemias nas quais a transmissão se dá principalmente por contaminação fecal da água potável. Os genótipos 3 e 4 são responsáveis pela hepatite E aguda propriamente dita, sendo as variantes genéticas que apresentam maior número de subtipos, onde a 3 apresenta dez (3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f, 3g, 3h, 3i, 3j) e a 4 apresenta sete (4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 4f e 4g).⁽¹⁴⁾

HEV E GRAVIDEZ

Embora a infecção por HEV seja de evolução benigna na grande maioria dos casos, em gestantes apresenta-se particularmente severa.⁽²⁰⁾ Um estudo em Ludhiana (Índia) avaliou 65 gestantes que apresentavam icterícia, das quais 25 foram positivas para a pesquisa de anticorpos IgG anti-HEV. A mortalidade por HEV foi de 12%, sendo o parto prematuro a principal complicação observada.⁽²¹⁾ Dentre os fatores de risco mais associados à infecção de HEV em gestantes encontram-se baixos níveis socioeconômicos e menores níveis de escolaridade.^(22,23) Em Nova Delhi, Índia, verificou-se uma alta proporção de hepatite fulminante em gestantes causada por HEV, especialmente no terceiro trimestre de gestação, quando o risco chegou a 52% em infecções por HEV e apenas 15% para as demais hepatites virais.⁽²⁴⁾ Outro estudo conduzido em gestantes na Índia identificou o HEV como responsável por 75% dos ca-

sos de hepatites fulminantes, com uma taxa de mortalidade de 39,1% contra 11,7% de hepatites não-E.⁽²⁵⁾ Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de um quadro mais severo da doença durante a gravidez permanecem desconhecidos, embora se suspeite que as alterações hormonais e imunológicas durante a gestação possam estar relacionadas, uma vez que poderiam facilitar a replicação viral e reduzir a resposta imune.⁽²⁶⁾

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

Surtos de hepatite E são mais frequentes em locais onde há condições precárias de saúde, e estão fortemente associados a más condições sanitárias e de higiene.⁽²⁷⁻²⁹⁾ Fontes de água contaminada com o vírus são importantes veículos de transmissão do HEV, especialmente em corpos hídricos que recebem efluentes com alta contaminação fecal.⁽³⁰⁻³²⁾ Ao tentar buscar um grupo de risco, um estudo realizado em Baltimore, EUA, avaliou a soroprevalência do HEV através de imunoensaio enzimático (EIA) em homossexuais masculinos usuários de drogas injetáveis (UDI) e doadores de sangue. Os resultados revelaram a presença de anti-HEV em 15,9% (47/295) dentre os homossexuais, 23% (68/295) dentre os UDIs e 21,3% (64/300) dentre os doadores de sangue. Estes resultados indicam uma não correlação entre a infecção de HEV com grupos de risco, diferente do observado neste mesmo estudo em relação ao vírus da hepatite A, também de transmissão fecal-oral. O anti-HAV foi detectado em 32,3% dos homossexuais, 66,4% dos UDIs e 16% dos doadores de sangue.⁽³³⁾

Uma série de casos envolvendo a transmissão de suínos a humanos são relatados, apontando estes animais como potenciais reservatórios do vírus. A transmissão pode ocorrer tanto pelo contato direto com os animais ou com seus dejetos, causando, na maioria dos casos, infecções subclínicas.^(4,34,35) Entre os animais, a transmissão também já foi evidenciada, podendo ser tanto por contato direto, quanto pela rota fecal-oral.⁽³⁶⁻³⁷⁾ Um estudo realizado na Espanha constatou a prevalência de anticorpos IgG anti-HEV em 18,8% de trabalhadores em contato com suínos, enquanto que entre os trabalhadores não expostos aos animais apenas 4,1% foram soroprevalentes.⁽³⁴⁾ Um estudo semelhante feito na Carolina do Norte, EUA, detectou anticorpos anti-HEV em 10,9% dos trabalhadores em contato com suínos e em 2,4% dos não expostos.⁽³⁸⁾ Estes estudos apontam a hepatite E como uma zoonose, uma vez que indivíduos expostos a suínos apresentam um risco maior de infecção.

HEV NA AMÉRICA LATINA

Estudos epidemiológicos conduzidos no Brasil revelam que, embora presente, o HEV possui uma baixa taxa

de prevalência. Trinta et al. avaliaram a presença de IgG anti-HEV por imunoenensaio enzimático em diferentes grupos populacionais no estado do Rio de Janeiro. A prevalência de HEV foi de 2,1% em pacientes com hepatite viral aguda não-A e não-B, 6,2% em pacientes em hemodiálise, 4,3% em doadores de sangue, 11,8% em usuários de drogas injetáveis, 1% em gestantes e 2,1% em indivíduos provenientes de zona rural. Apenas os indivíduos oriundos de zona urbana não apresentaram soropositividade para HEV.⁽³⁹⁾ Bortoliero et al. avaliaram a presença de anticorpos IgG anti-HEV em doadores de sangue no município de Londrina, Paraná, através de imunoenensaio enzimático. Dos 966 indivíduos testados, 23 (2,3%) foram positivos para HEV. Não se constatou associação entre fatores socioeconômicos ou a presença de HAV.⁽⁴⁰⁾ Um estudo realizado em Manguinhos, Rio de Janeiro, avaliou a presença de HAV e HEV em 699 indivíduos de baixo nível socioeconômico, revelando a prevalência de 87% para HAV e 2,4% para HEV.⁽⁴¹⁾ No estado de Mato Grosso, Assis et al. avaliaram a prevalência de HAV e HEV em 487 crianças entre 2 e 9 anos. Enquanto que a prevalência do HAV chegou a 86,4%, a do HEV ficou em 4,5%, condizente com os demais estudos epidemiológicos realizados no país.⁽⁴²⁾

Em Montevidéu, Uruguai, nove casos esporádicos de infecção aguda por HEV foram detectados entre novembro de 2009 e junho de 2011, todos em região urbana.⁽⁴³⁾ Em Buenos Aires, Argentina, Rey et al. analisaram por ELISA 5.196 pacientes, dentre eles doadores de sangue, pacientes submetidos a cirurgias invasivas e crianças, revelando a presença de IgG anti-HEV em 1,8% do total da amostra. Em Lima, Peru, foi detectado em um grupo de 191 trabalhadores de uma empresa de tratamento de água e esgoto a prevalência para HEV de 10,47%.⁽⁴⁴⁾ Em Havana, Cuba, de 209 amostras de soro humano analisadas, 71,3% foram positivas para HAV, enquanto que somente 5,3% foram reagentes para HEV.⁽²⁶⁾

Em relação aos suínos, um estudo de soroprevalência conduzido no estado de Mato Grosso verificou a presença de anticorpos IgG anti-HEV, por imunoenensaio enzimático, em 81,2% (211/260) dos animais testados.⁽⁴⁵⁾ No estado do Rio de Janeiro, Vitral et al. detectaram a presença de anticorpos IgG anti-HEV em roedores selvagens, bovinos, cães, frangos, suínos e trabalhadores envolvidos com a criação de suínos. A prevalência de IgG anti-HEV em suínos chegou a 97,3% nos animais com idade acima de 25 semanas. Estes estudos apontam estes animais como possíveis reservatórios de HEV, o que pode acarretar na transmissão a humanos.⁽⁴⁶⁾

TRATAMENTO E PROFILAXIA

Por não haver um tratamento específico, e geralmente a doença evolui para uma cura espontânea (com exceção

ao quadro de hepatite fulminante),⁽⁹⁾ admite-se que é muito importante a profilaxia para regiões endêmicas, a fim de se evitar o contágio com o vírus. Água tratada e esgoto sanitário fazem parte de algumas das medidas de saúde pública, bem como evitar o consumo de frutos do mar crus, sobretudo em áreas carentes em saneamento básico e áreas portuárias.⁽⁹⁾ Até o presente momento não há vacinas disponíveis comercialmente para a hepatite E, embora estudos estejam sendo conduzidos para o seu desenvolvimento.⁽⁵⁾

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Devido ao fato do não conhecimento do HEV, até 1990 o seu diagnóstico baseava-se na exclusão dos outros vírus causadores de hepatites sendo definida como hepatite não-A, não-B e não-C.⁽⁴⁷⁾ Atualmente, para a confirmação da exposição ao HEV, são feitos testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-HEV (IgA, IgG, IgM). Os IgM são os anticorpos encontrados nos primeiros meses da soroc conversão, representando infecção aguda ou recente contato com o agente viral. Os IgG, por sua vez, indicam o desenvolvimento da resposta imune frente a uma exposição ao vírus. A detecção pode também ser feita em amostras de sangue ou fezes através do RNA do HEV por RT-PCR, confirmando assim sua infecção recente.⁽⁴⁸⁾

O teste imunoenzimático mais utilizado no diagnóstico para identificação do HEV é o ELISA (*enzyme linked immuno sorbent assay*), porém poucos testes estão disponíveis comercialmente. Nesse teste são utilizados antígenos recombinantes derivados das diferentes cepas virais.⁽⁴⁹⁾ Testes de ELISA anti-HEV baseados na proteína da ORF2 ou proteína estrutural têm demonstrado mais resultados laboratoriais do que aqueles baseados na combinação de antígenos ORF2 e ORF3 do HEV.^(50,51)

O ELISA é o teste de escolha para muitos estudos epidemiológicos de infecções causadas pelo HEV, tanto em países endêmicos como não endêmicos, apresentando grande variação quando analisados em diferentes kits, tais como variações na susceptibilidade, e, conseqüentemente, nas estimativas de soroprevalência.^(48,52) Em países desenvolvidos, as taxas de soroprevalência têm apontado variações entre 0,26% e 31%, o que explica diferentes testes de diagnóstico usados nas condições epidemiológicas locais, tanto pelas diferentes cepas como também pela deficiência ou apresentação de outras espécimes susceptíveis.⁽⁵²⁾ No entanto, vários estudos estão sendo realizados com a intenção de avaliar a concordância entre a susceptibilidade, especificidade e soroprevalência.⁽⁵³⁾

Myint et al. compararam cinco testes para avaliação do anti-HEV com o teste de referência RT-PCR. Foram utilizadas nesta pesquisa amostras de um surto em 1998 na Indonésia. As sensibilidades de todos os kits de ELISA foram maiores para as amostras provenientes de casos sin-

tomáticos.⁽⁵³⁾ Como atualmente os kits de ELISA disponíveis para detecção do HEV são para os antígenos derivados de genótipos 1 e 2, e a ocorrência do genótipo 3 em regiões não endêmicas, Herremans et al. avaliaram os testes Genelabs (ELISA) e o RecomBlot da Mikrogen para detecção de IgM e IgG em condições de baixa endemicidade. Foi feita a comparação com 16 portadores do genótipo 3 do HEV, oito portadores com o genótipo 1, controles saudáveis e mais 101 casos de portadores das demais hepatites. A especificidade para detecção de IgM nos testes ELISA (98%) e RecomBlot (97%) foi comparável ao indicado pelos fabricantes. Porém, para IgG isso não foi observado (93% ELISA e 66% RecomBlot) quando comparados aos valores reportados pelos fabricantes de 98% e 95%, respectivamente. Neste estudo concluiu-se que a combinação do ELISA e do imunoblot é necessária para melhorar a especificidade e a sensibilidade em regiões de baixa endemicidade.⁽⁵⁴⁾

Devido a essa variabilidade nos resultados das pesquisas para detecção de HEV, com diferentes genótipos, poucos fabricantes de kits para detecção, dificuldade de obtenção dos mesmos, sendo a maioria importada, e junto à falta de igualdade nos resultados de diferentes testes, ainda restam dúvidas sobre quais antígenos devam ser utilizados para produzir testes com sensibilidade e especificidade ideais para detecção de anticorpos anti-HEV. Com isso, é necessária uma padronização internacional para se obter uma uniformidade e reprodutibilidade.

Agradecimentos

Agradecemos a orientação do professor Gustavo Muller Lara.

Abstract

Hepatitis E virus (HEV), initially classified as non-A, non-B and non-C, is a non-enveloped virus, RNA single-strand and positive polarity. It is endemic to Asia, the Middle East and North Africa. Transmission occurs via the fecal-oral route, mainly by ingestion of contaminated food and water, associated, therefore, with poor sanitary conditions. Contact with infected animals, especially pigs, can also be a form of HEV infection. The clinical picture of hepatitis E is similar to that of hepatitis A, evolving to a good prognosis. However, HEV can cause major complications in pregnant women, leading to a fulminant hepatitis, with a mortality rate of 15%-20%. The diagnosis is basically serological, through enzymatic immunoassays. Hepatitis E has a low prevalence in non-endemic areas, including Brazil, although there is a high prevalence among swine, which can serve as reservoirs for the virus.

Keywords

Viral hepatitis; hepatitis E; HEV

REFERÊNCIAS

1. Viswanathan R: Infectious hepatitis in Delhi (1955-56): a critical study. *Indian J Med Res* 1957, 45:1.
2. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science* 1990, 247 (4948): 1335.
3. Hepatitis E virus. In: ICTVdB - The Universal Virus Database [http://ictvdb.bio-mirror.cn/ICTVdB/00.084.0.01.001.htm]
4. Zheng Y, Ge S, Zhang J, Guo Q, Ng MH, Wang F, et al. Swine as a principal reservoir of hepatitis E virus that infects humans in eastern China. *J Infect Dis*. 2006;193(12):1643-9.
5. Wang L, Zhuang H. Hepatitis E: an overview and recent advances in vaccine research. *World J Gastroenterol*. 2004 Aug 1;10(15): 2157-62.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Viral Hepatitis A to E: An Overview [http://wwwnc.cdc.gov/travel/pdf/yellowbook-2012-map-03-06-distribution-hepatitis-e-infection.pdf]
7. Khudyakov YuE, Favorov MO, Jue DL, Hine TK, Fields HA. Immunodominant antigenic regions in a structural protein of the hepatitis E virus. *Virology*. 1994;198(1):390-3.
8. Tam AW, Smith MM, Guerra ME, Huang CC, Bradley DW, Fry KE, et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. 1991;185 (1):120-31.
9. Paraná R, Schinoni MI: Hepatitis E. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2002;35(3):247-53.
10. Ferreira CT, Silveira TR: Hepatites virais: atualizao. *J Pediatr (Rio J)*. 1997; 73:367-76.
11. Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol*. 2006;16(1):5-36.
12. Maila HT, Bowyer SM, Swanepoel R. Identification of a new strain of hepatitis E virus from an outbreak in Namibia in 1995. *J Gen Virol*. 2004;85(Pt 1):89-95.
13. Schlauder GG, Frider B, Sookoian S, Castano GC, Mushahwar IK: Identification of 2 novel isolates of hepatitis E virus in Argentina. *J Infect Dis*. 2000;182(1):294-7.
14. Schlauder GG, Desai SM, Zanetti AR, Tassopoulos NC, Mushahwar IK. Novel hepatitis E virus (HEV) isolates from Europe: evidence for additional genotypes of HEV. *J Med Virol*. 1999;57(3):243-51.
15. Meng X. Recent advances in hepatitis E virus. *J Viral Hepat*. 2010;17(3):153-61.
16. Okamoto H: Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2007;127(2):216-28.
17. Paiva HH, Tzaneva V, Haddad R, Yokosawa J. Molecular characterization of swine hepatitis E virus from Southeastern Brazil. *Braz. J. Microbiol.* [online]. 2007, vol.38, n.4, pp.693-698. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822007000400020&lng=en
18. dos Santos DR, Vitral CL, de Paula VS, Marchevsky RS, Lopes JF, Gaspar AM, et al. Serological and molecular evidence of hepatitis E virus in swine in Brazil. *Vet J*. 2009;182(3):474-80.
19. Drobeniuc J, Favorov MO, Shapiro CN, Bell BP, Mast EE, Dadu A, et al. Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine. *J Infect Dis*. 2001;184(12):1594-7.
20. Boccia D, Guthmann JP, Klovstad H, Hamid N, Tatay M, Ciglenecki I, et al. High mortality associated with an outbreak of hepatitis E among displaced persons in Darfur, Sudan. *Clin Infect Dis*. 2006; 42(12):1679-84.
21. Yuel VI, Kaur V. HEV infection in pregnancy. *J Obstet Gynecol India* Vol. 56, No. 2 : March/April 2006 Pg 146-148.
22. Oncu S, Oncu S, Okyay P, Ertug S, Sakarya S. Prevalence and risk factors for HEV infection in pregnant women. *Med Sci Monit*. 2006;12(1):CR36-39.
23. Begum N, Devi SG, Husain SA, Kumar A, Kar P. Seroprevalence of subclinical HEV infection in pregnant women from north India: A hospital based study. *Indian J Med Res* 2009, 130:709-13.
24. Patra S, Kumar A, Trivedi SS, Puri M, Sarin SK. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann Intern Med*. 2007;147(1):28-33.

25. Beniwal M, Kumar A, Kar P, Jilani N, Sharma J. Prevalence and severity of acute viral hepatitis and fulminant hepatitis during pregnancy: a prospective study from North India. *Indian J Med Microbiol.* 2003;21(3):184-5.
26. Navaneethan U, Al Mohajer M, Shata MT. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008 Nov;28(9):1190-9.
27. Howard CM, Handzel T, Hill VR, Grytdal SP, Blanton C, Kamili S, et al. Novel risk factors associated with hepatitis E virus infection in a large outbreak in northern Uganda: results from a case-control study and environmental analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(5):1170-3.
28. Labrique AB, Zaman K, Hossain Z, Saha P, Yunus M, Hossain A, et al. Population seroprevalence of hepatitis E virus antibodies in rural Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 81(5):875-81.
29. Toole MJ, Claridge F, Anderson DA, Zhuang H, Morgan C, Otto B, et al. Hepatitis E virus infection as a marker for contaminated community drinking water sources in Tibetan villages. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 74(2):250-4.
30. Ahmad T, Waheed Y, Tahir S, Safi SZ, Fatima K, Afzal MS, et al. Frequency of HEV contamination in sewerage waters in Pakistan. *J Infect Dev Ctries.* 2010 Dec 23;4(12):842-5.
31. Kitajima M, Matsubara K, Sour S, Haramoto E, Katayama H, Ohgaki S. First detection of genotype 3 hepatitis E virus RNA in river water in Cambodia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103(9):955-7.
32. Hazam RK, Singla R, Kishore J, Singh S, Gupta RK, Kar P. Surveillance of hepatitis E virus in sewage and drinking water in a resettlement colony of Delhi: what has been the experience? *Arch Virol.* 2010 Aug;155(8):1227-33.
33. Thomas DL, Yarbough PO, Vlahov D, Tsarev SA, Nelson KE, Saah AJ, et al. Seroreactivity to hepatitis E virus in areas where the disease is not endemic. *J Clin Microbiol.* 1997;35(5):1244-7.
34. Galiana C, Fernández-Barredo S, García A, Gómez MT, Pérez-Gracia MT. Occupational exposure to hepatitis E virus (HEV) in swine workers. *Am J Trop Med Hyg.* 2008 Jun;78(6):1012-5.
35. Choi IS, Kwon HJ, Shin NR, Yoo HS. Identification of swine hepatitis E virus (HEV) and prevalence of anti-HEV antibodies in swine and human populations in Korea. *J Clin Microbiol.* 2003;41(8):3602-8.
36. Kasornrondkua C, Guenette D, Huang F, Thomas P, Meng XJ, Halbur P. Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *J Clin Microbiol.* 2004;42(11):5047-52.
37. Bouwknegt M, Teunis PF, Frankena K, de Jong MC, de Roda Husman AM. Estimation of the likelihood of fecal-oral HEV transmission among pigs. *Risk Anal.* 2011;31(6):940-50.
38. Withers MR, Correa MT, Morrow M, Stebbins ME, Seriwatana J, Webster WD, et al. Antibody levels to hepatitis E virus in North Carolina swine workers, non-swine workers, swine, and murids. *The Am J Trop Med Hyg.* 2002;66(4):384-8.
39. Trinta KS, Liberto MIM, Paula VS, Yoshida CFT, Gaspar A. Hepatitis E virus infection in selected Brazilian populations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2001;96(1):25-29.
40. Bortoliero AL, Bonametti AM, Morimoto HK, Matsuo T, Reiche EM. Seroprevalence for hepatitis E virus (HEV) infection among volunteer blood donors of the Regional Blood Bank of Londrina, State of Paraná, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2006 Mar-Apr;48(2): 87-9.
41. Santos DCM, Souto FJD, Santos DRL, Vitral CL, Gaspar AMC. Seroepidemiological markers of enterically transmitted viral hepatitis A and E in individuals living in a community located in the North Area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2002; 97(5):637-40.
42. Assis SB, Souto FJ, Fontes CJ, Gaspar AM. Prevalence of hepatitis A and E virus infection in school children of an Amazonian municipality in Mato Grosso State. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002 Mar-Apr;35(2):155-8. [Article in Portuguese].
43. Mirazo S, Ramos N, Russi JC, Gagliano G, Arbiza J. Detection and molecular characterization of sporadic cases of acute human hepatitis E virus infection in Uruguay. *Arch Virol.* 2011 Aug;156(8):1451-4.
44. Rey JA, Findor JA, Daruich JR, Velazco CC, Igartua EB, Schmee E, et al. Prevalence of IgG Anti-HEV in Buenos Aires, a Nonendemic Area for Hepatitis E. *J Travel Med.* 1997;4(2):100-01.
45. Guimarães FR, Saddi TM, Vitral CL, Pinto MA, Gaspar AM, Souto FJ. Hepatitis E virus antibodies in swine herds of Mato Grosso state, Central Brazil. *Braz. J. Microbiol.* [Internet]. 2005;36(3):223-226. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822005000300004&lng=en
46. Vitral CL, Pinto MA, Lewis-Ximenez LL, Khudyakov YE, Santos DR, Gaspar AMC. Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2005, 100(2):117-122.
47. Jameel S. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *Expert Rev Mol Med.* 1999 Dec 6;1999:1-16.
48. Mushahwar IK. Hepatitis E virus: molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *J Med Virol.* 2008 Apr;80(4):646-58.
49. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis.* 2008 Nov;8(11): 698-709.
50. Meng X, Wiseman B, Elvinger F, Guenette D, Toth T, Engle R, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J Clin Microbiol.* 2002;40(1):117-22.
51. Obriadina A, Meng JH, Ulanova T, Trinta K, Burkov A, Fields HA, Khudyakov YE. A new enzyme immunoassay for the detection of antibody to hepatitis E virus. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Dec;17 Suppl 3:S360-4.
52. Bendall R, Ellis V, Ijaz S, Ali R, Dalton H. A comparison of two commercially available anti-HEV IgG kits and a re-evaluation of anti-HEV IgG seroprevalence data in developed countries. *J Med Virol.* 2010 May;82(5):799-805.
53. Myint KS, Endy TP, Gibbons RV, Laras K, Mammen MP Jr, Sedyaningsih ER, et al. Evaluation of diagnostic assays for hepatitis E virus in outbreak settings. *J Clin Microbiol.* 2006 Apr;44(4):1581-3.
54. Herremans M, Bakker J, Duizer E, Vennema H, Koopmans M. Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 May;14(5):562-8.

Correspondência

Roberta Silveira Franz

Universidade Feevale

ERS-239, 2755

93352-000 – Novo Hamburgo-RS, Brasil

Patogênese, diagnóstico e tratamento da mielofibrose

Pathogenesis, diagnosis and treatment of myelofibrosis

Larissa Duarte Christofoletti¹

Karina Bettega Felipe²

Natalia Gazzoni Scaravelli³

Cidonia de Lourdes Vituri⁴

Resumo

A mielofibrose primária (MP) é uma desordem mieloproliferativa crônica caracterizada pela hiperplasia e fibrose medular. A fibrose está relacionada à liberação de fatores de crescimento hematopoiéticos, dentre eles o fator derivado de plaquetas (PDGF), que estimula a proliferação de fibroblastos, com consequente depósito de fibras colágenas e reticulínicas. O desenvolvimento de fibras de colágeno no lugar do tecido hematopoiético normal é o responsável pela maioria dos sintomas da doença: fadiga, anemia, aumento da circunferência abdominal, perda de peso, dores musculares e ósseas dentre outros. A hepatoesplenomegalia e a presença de um tumor no hipocôndrio esquerdo são os achados físicos mais relatados. As alterações hematológicas são variáveis e se devem ao distúrbio anatômico da MO e parcialmente à hematopoiese extramedular com leve anemia. Há necessidade de uma biópsia medular para a elucidação da fibrose, uma vez que, na maioria das vezes, a aspiração da MO resulta em uma punção seca. O exame histopatológico revela o aumento da reticulina fibrilar, do colágeno e dos fibroblastos. O diagnóstico laboratorial é baseado principalmente em alterações no hemograma, mielograma e no exame histopatológico da MO do paciente. As alterações séricas, a presença de anormalidades cromossômicas e a ocorrência de metaplasia mieloide auxiliam no diagnóstico. O tratamento da doença é paliativo, não sendo conhecida nenhuma terapia capaz de inibir o processo fibrótico. Dessa forma, o tratamento é direcionado às complicações específicas da doença, visando amenizar os sintomas e melhorar a qualidade de vida do paciente.

Palavras-chave

Mielofibrose; mieloproliferativa; hematopoiese extramedular

INTRODUÇÃO

A mielofibrose primária (MP) é uma desordem mieloproliferativa crônica de etiologia desconhecida,⁽¹⁾ caracterizada pela hiperplasia e fibrose medular,⁽²⁾ crescimento de células neoplásicas em locais fora da medula óssea (MO), hematopoiese extramedular, leucoeritroblastos no sangue periférico e alterações no número de plaquetas e granulócitos.⁽³⁾

A mielofibrose com metaplasia mieloide é uma síndrome na qual as evidências morfológicas de proliferação de fibroblastos e deposição excessiva de colágeno na MO acompanham-se de metaplasia mieloide em órgãos como o fígado, o baço e os linfonodos, locais ativos da hematopoiese extramedular. Geralmente o grau da hematopoiese extramedular tende a acompanhar a extensão da fibrose da MO.⁽⁴⁾

Incidência

A MP é uma desordem observada principalmente em pacientes de meia-idade e idosos. Embora alguns relatos tenham citado a ocorrência da doença em crianças ou até mesmo em bebês, pelo menos 60% dos casos ocorrem em indivíduos com idade entre 50 e 70 anos de idade, sem qualquer predileção por sexo, sendo mais comumente em caucasianos que em outras raças.^(4,5)

Aproximadamente há cinco casos por 100 mil habitantes/ano e a sobrevida mediana em três anos é de 52%.⁽¹⁾

Etiologia e patogênese

A hiperplasia de megacariócitos, típica dos estados mieloproliferativos em geral, está diretamente envolvida com a proliferação dos fibroblastos e consequente fibrose medular. Isso leva a uma megacariocitopoiese ineficiente, com

¹Aluna de Mestrado de Farmácia-Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis-SC, Brasil.

²Aluna de Mestrado da Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis-SC, Brasil.

³Mestre pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis-SC, Brasil.

⁴Profa Dra da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis-SC, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Florianópolis-SC, Brasil.

Artigo recebido em 18/02/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

consequente morte intramedular de megacariócitos e liberação dos fatores de crescimento. Estes, por sua vez, atuam estimulando a proliferação dos fibroblastos e a produção de colágeno, que, associada à inibição da atividade da collagenase, leva à fibrose medular.⁽⁶⁾ Dentre os fatores de crescimento que podem estimular a proliferação dos fibroblastos pode-se citar o fator derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento e transformação (TGF- β) e o fator de crescimento epidérmico (EGF).⁽¹⁾

FATORES DE CRESCIMENTO

Os fatores de crescimento são glicoproteínas secretadas pelas células estromais que atuam na sobrevivência, proliferação e diferenciação das células hematopoiéticas. Esses fatores são classificados de acordo com o tipo de receptor de membrana celular em: família das citocinas e família dos receptores de tirosina quinase resumidos na Tabela 1.⁽⁷⁾

Tabela 1 - Principais fatores de crescimento que agem na MP

Fator de crescimento	Origem	Alvo	Receptor
PDGF PM:30.000	plaquetas célula endotelial macrófagos	fibroblastos células musculares lisas células gliais	tirosina quinase
EGF PM:6.045	Glandula de Brunner glandula.submaxilar	queratinócitos células endoteliais fibroblastos	tirosina quinase
TGF- β PM:25.000	plaquetas	queratinócitos hepatócitos fibroblastos osteoblastos	três receptores alta afinidade
FGF Pm:16.400	cérebro retina corpo lúteo macrófago rim próstata tireoide	células endoteliais fibroblastos condrócitos células gliais células epiteliais osteoblastos queratinócitos	alta afinidade sem endocitose do complexo FGF-FGF-R

TGF- β

O fator β de crescimento e transformação (TGF- β) é sintetizado pelos megacariócitos agindo no aumento da síntese e no acúmulo de proteínas da MEC e regulando a atividade dos genes envolvidos na síntese da mesma.⁽⁸⁾

Esse fator é responsável pelo aumento de fibronectina, tenascina, proteoglicanos e colágenos do tipo I, III e IV, observados nos estágios mais avançados da doença.^(8,9) Tem poder angiogênico⁽⁹⁾ e bloqueia a degradação da MEC pelo decréscimo da síntese de proteases collagenase-like e aumento da expressão de inibidores de proteases.^(8,9)

PDGF

O PDGF é um fator de crescimento derivado de plaqueta e é uma molécula dímera feita de um sistema de PDGF e receptor de PDGF que ativa a tirosina quinase pela indução durante a ligação do receptor dímero e autofosforilação.⁽¹⁰⁾

O PDGF estimula o crescimento e a divisão de células fibroblásticas, atua também como fator quimiostático para fibroblastos, neutrófilos e monócitos, sendo responsável pela proliferação de fibroblastos na MP.⁽⁹⁾ É um potente mitógeno para células de origem mesenquimal como fibroblastos, células musculares lisas e outras, sendo capaz

de estimular a proliferação, quimiotaxia e sobrevivência das células normais e células alteradas como as do câncer, arteriosclerose e doença fibrótica.⁽¹¹⁾

EGF

Fator de Crescimento Epidérmico (EGF): presente nos grânulos das plaquetas. Estudos mostram que ele coopera com o PDGF e TGF- β no estímulo para fibroblastos crescerem na MO.⁽⁸⁾

VEGF

Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF): trata-se de uma citocina multifuncional que contribui na angiogênese. Ela permite o extravasamento de proteínas do plasma para o espaço extravascular, alterando a MEC e favorecendo a angiogênese e o crescimento de fibroblastos.⁽⁸⁾

Sintomas

O início dos sintomas da MP é geralmente silencioso, por vários anos, com progressão lenta da doença em muitos casos, sendo que um quarto dos casos é assintomático no diagnóstico.⁽⁴⁾

Os sintomas mais comuns da MP podem ser observados na Tabela 2.^(5,12)

Tabela 2 - Sintomas comuns em pacientes que apresentam MP

Anemia	Vanucchi, 2009; Runge; Gregante, 2005
Aumento da circunferência abdominal	Berk, 1993
Fadiga	Rapaport, 1990; Athens, 1998; Runge; Gregante, 2005
Perda de peso	Rapaport, 1990; Athens, 1998; Runge; Gregante, 2005
Palidez	Jamra; Lorenzi, 1983; Verrastro; Lorenzi; Neto, 1996; Lorenzi, 1999
Dores musculares	Jamra; Lorenzi, 1983; Verrastro; Lorenzi; Neto, 1996; Lorenzi, 1999
Dores ósseas	Berk, 1993
Sudorese noturna	Rapaport, 1990; Runge; Gregante, 2005
Saciedade prematura	Rapaport, 1990; Runge; Gregante, 2005
Diarreia	Runge; Gregante, 2005
Edema periférico	Runge; Gregante, 2005

Achados Físicos

Os achados físicos mais comuns em pacientes com MP podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3 - Achados físicos comuns em pacientes com MP

Esplenomegalia	Athens, 1998; Berk, 1993
Hepatomegalia	Berk, 1993
Tumor no hipocôndrio esquerdo	Jamra; Lorenzi, 1983

DADOS LABORATORIAIS

Sangue

As alterações no sangue são variáveis. A Tabela 4 resume as principais alterações hematológicas encontradas em pacientes com MP.

A princípio, as hemácias são normocíticas e normocrômicas com discreta poiquilocitose. Observa-se policromasia e uma discreta reticulocitose de 2% a 5%. O achado de alguns normoblastos e, algumas vezes, precursores

Tabela 4: Principais alterações hematológicas em pacientes com MP

Hemoglobina	9-13 mg/dL (leve anemia)	Berk, 1993
Morfologia das hemácias	Eritrócitos em forma de lágrima, ovais e nucleados; aniso e poiquilocitose acentuadas	Rapaport, 1990; Athens, 1998; Berk, 1993
Granulócitos	Leucometria variável; presença de leucócitos imaturos	Berk, 1993
Plaquetas	Plaquetometria geralmente aumentada; presença de megatrombócitos e fragmentos de megacariócitos	Athens, 1998; Berk, 1993
Fosfatase alcalina	Variável	Berk, 1993

eritroides ainda mais jovens é muito comum. A anisocitose, a poiquilocitose, a policromasia, o pontilhado basofílico e a normoblastose são mais graves à medida que a doença progride; portanto, esses achados e o crescimento do baço podem ser suficientemente característicos para indicarem diagnóstico.⁽⁴⁾ Células fragmentadas e células em alvo também podem ser observadas.⁽⁵⁾

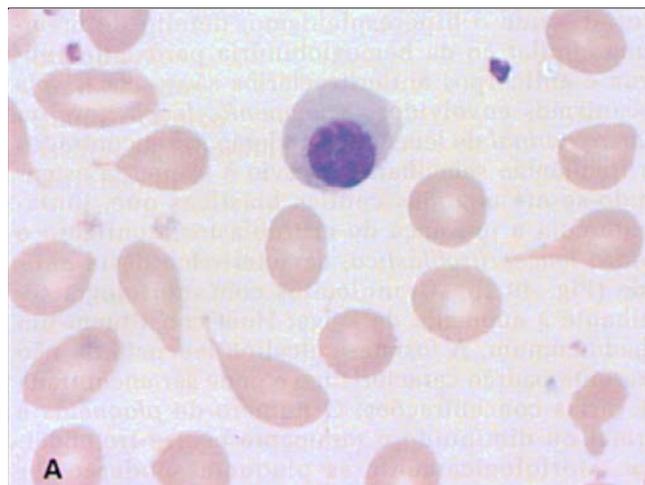


Figura 1. Esfregaço de sangue periférico com eritroblastos e hemácias em lágrima.

A sobrevivência da hemácia está quase invariavelmente diminuída, sendo frequente o sequestro esplênico. Os estudos eritrocinéticos mostram uma eritropoiese bastante ineficaz.⁽⁴⁾

A anemia está presente na maioria dos pacientes e se apresenta de leve a moderada no momento do diagnóstico, com hemoglobina variando entre 9 g/dL e 13 g/dL.⁽⁴⁾

As leucometrias são variáveis, estando aumentadas em aproximadamente 50% dos pacientes, normal em cerca de 1/3 dos pacientes e baixa nos 15% restantes. Mais tipicamente, a contagem fica na faixa de 15.000 a 30.000/mm³, porém foram observados até 70.000/mm³.⁽⁴⁾

A contagem de eosinófilos e basófilos está frequentemente aumentada, mesmo nos pacientes com leucopenia.^(5,13) O número de linfócitos comumente está normal.⁽⁵⁾ É típico um certo grau de imaturidade do granulócito no sangue periférico incluindo a presença de até 10% de formas jovens. Entretanto, essa condição não sugere necessariamente a evolução para leucemia aguda, sobretudo quando também existem números proporcionais de promielócitos, mielócitos e metamielócitos. A anomalia de Pelger-Huet adquirida é um outro aspecto típico no esfregaço do sangue periférico.⁽⁴⁾

A concentração de fosfatase alcalina do leucócito é variável, porém com frequência normal ou aumentada.⁽⁴⁾ A reação da fosfatase alcalina serve para diferenciar a MP da leucemia mieloide crônica, visto que a fibrose medular

pode ser encontrada em todas essas situações englobadas sob a denominação de síndromes mieloproliferativas.^(6,7)

A deficiência de peroxidase dos neutrófilos pode-se fazer acompanhar por uma deficiência de funcionamento destes, tendo sido ainda descritas várias outras anormalidades funcionais. Foi citada ainda uma liberação defeituosa de lactoferrina pelos neutrófilos. Tal liberação poderia constituir-se num defeito no controle por *feed-back* negativo (supressão) da granulopoiese, o que, por sua vez, poderia resultar num aumento da atividade mieloproliferativa.⁽⁵⁾

O número de plaquetas está aumentado por ocasião do diagnóstico em aproximadamente 50% dos pacientes,⁽⁵⁾ estando associada a um grande aumento na reserva esplênica.⁽⁴⁾ A plaquetometria tende a cair pouco a pouco com o passar do tempo, sendo comum a trombocitopenia na fase final da doença.^(4,5) Graus extremos de trombocitose podem constituir-se na principal característica da doença em alguns pacientes, um achado que enfatiza a dificuldade na diferenciação entre trombocitemia primária e mielofibrose.⁽⁵⁾ Do ponto de vista morfológico, os megatrombócitos e os fragmentos megacariocíticos são extremamente comuns.^(4,5)

Medula óssea

Descrevem-se três fases no quadro anatômico da medula na MP: na primeira fase há hiperplasia medular; na fase seguinte, a MO mostra áreas de fibrose e áreas com precursores hematopoiéticos; já a terceira fase caracteriza-se por mielofibrose franca, com resíduos de tecido hematopoiético escassos, de permeio a fibras colágenas.^(6,7,12)

As tentativas de aspirar a MO tem como resultado quase invariável uma punção seca, mesmo quando a medula está em grande celularidade.⁽⁴⁾ Por isso, geralmente é preciso fazer a biópsia da MO, seja percutânea ou cirúrgica, para confirmar o diagnóstico.⁽⁴⁾

Esfregaços bem sucedidos de aspirados de medula podem não exibir qualquer anormalidade, mas com mais frequência está aumentada a proporção de precursores dos neutrófilos e de megacariócitos. São observados micro e macromegacariócitos bem como uma assincronia nuclear citoplasmática e inclusões nucleares fibrilares, apresentando ligações cruzadas.⁽⁵⁾

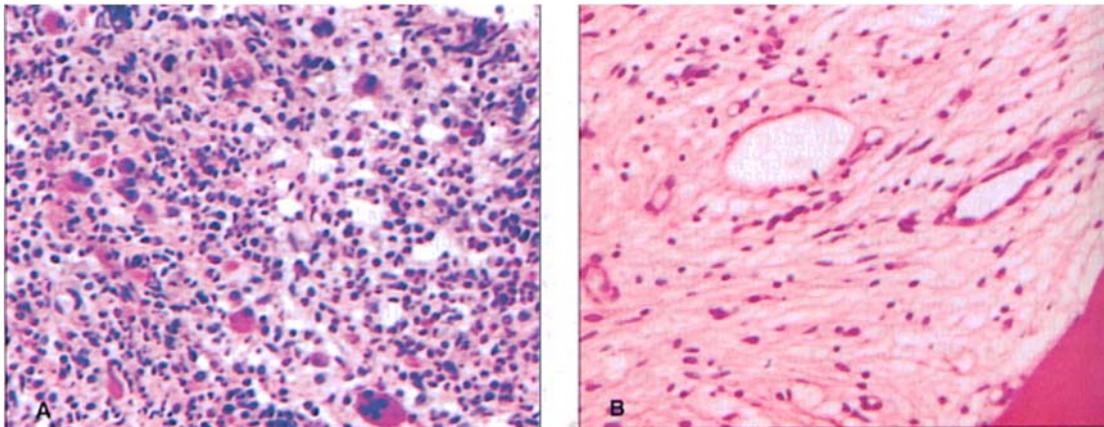


Figura 2. Corte histológico da medula óssea corada pela hematoxilina-eosina. (A) - Fase hiperplásica; (B) - Fase fibrótica.

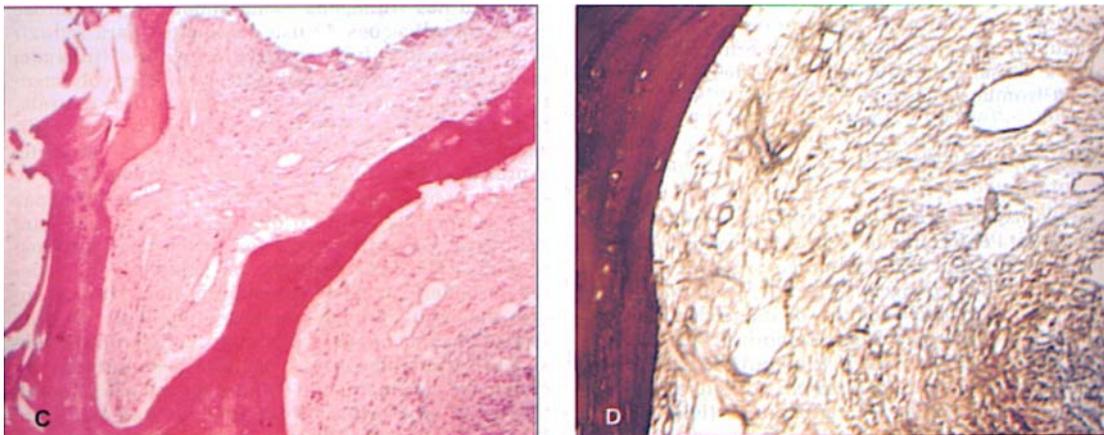


Figura 3. Corte histológico da medula óssea: (C) - Fase fibrótica, corada com hematoxilina-eosina; (D) - Fibras reticulíneas coradas com a coloração de Gomori.

Há necessidade de uma biópsia medular para a elucidação da fibrose. Em praticamente todos os pacientes, graus variáveis de fibrose são detectados. Observa-se também o aumento da reticulina fibrilar, do colágeno e dos fibroblastos.⁽¹³⁾

Também são notados grupos de megacariócitos, com muitos megacariócitos atípicos, sinusoides dilatados da MO, e maiores quantidades de mastócitos nas biópsias, particularmente em áreas adjacentes à fibrose.^(5,6,7,12,14) Há o aumento nas fibras de reticulina através da impregnação com prata (coloração de Gomori) nas áreas nas quais talvez não se consiga evidenciar colágeno maduro. Já a coloração com hematoxilina-eosina (HE) permite observar a celularidade da medula.⁽⁴⁾

Anormalidades cromossômicas

Estudos verificam anormalidades cromossômicas e de mutação do gene N-ras.⁽⁵⁾

Alterações citogenéticas são observadas em até 50% dos pacientes, incluindo anormalidades do cromossomo del(20q 11q13), del(13q12q22), trissomia dos cromossomos 1 q, 8 e 9 e monossomia/deleções envolvendo o cromossomo 7.^(4,15)

Anomalias dos cromossomos 5 e 20 também ocorrem com grande frequência. Não há cromossomo Ph1; os casos em que essa anomalia foi descrita representam muito provavelmente exemplos atípicos de leucemia mieloide crônica.⁽⁴⁾

Soro

As principais alterações séricas encontradas em pacientes com MP foram descritas na Tabela 5.

Ocorrem níveis séricos normais ou levemente elevados da vitamina B12 bem como das proteínas que conjugam a vitamina B12, porém os valores não são tão gritantes quanto aqueles vistos na leucemia granulocítica crônica.⁽⁴⁾

Tabela 5 - Alterações séricas comuns em pacientes com MP

Vitamina B12	Normal/levemente aumentada	Berk, 1993
Ácido úrico	Aumentado	Rapaport, 1990; Athens, 1998; Berk, 1993
Desidrogenase láctica (LDH)	Elevada	Athens, 1998; Berk, 1993
AST	Levemente aumentada	Berk, 1993
ALT	Levemente aumentada	Berk, 1993
Bilirrubina	Levemente aumentada	Berk, 1993
Ferro	Normal/ reduzido em hemorragias; aumentado em hiper-hemólise	Verrastro; Lorenzi; Neto, 1996; Lorenzi, 1999)

A hiperuricemia causada pela maior produção de ácido úrico é comum, o que sugere que está ocorrendo um aumento significativo na velocidade de turnover total do tecido hematopoiético.^(4,5,13)

A concentração da desidrogenase láctica sérica (LDH) está elevada na maioria dos pacientes, provavelmente refletindo uma mielopoiese ineficaz.^(4,5) O nível de fosfatase alcalina sérica também está aumentado, porém esse aumento provavelmente reflete a doença óssea e não a hepática.^(5,13)

O ferro pode estar normal ou reduzido quando ocorrem hemorragias. Nos casos de hiper-hemólise, o ferro sérico costuma estar aumentado.^(6,7)

Outras alterações laboratoriais são elevações discretas dos níveis séricos das transaminases e da bilirrubina e aumentos discretos da muramidase.⁽⁴⁾

Punção de gânglio linfático e de baço

Tanto na leucemia mieloide crônica quanto na mielofibrose podem ser palpados linfonodos pouco aumentados de tamanho. A punção dos mesmos com agulha evidencia sempre um grande número de granulócitos jovens e maduros no material obtido, caracterizando a metaplasia mieloide que aparece nos tecidos linfoides nas síndromes mieloproliferativas. O baço também é sede dessa metaplasia, observada sempre que se faz a punção do órgão ou pelo exame histopatológico de material obtido após a esplenectomia.^(6,7)

Crítérios para o diagnóstico de mielofibrose primária

Os critérios para o diagnóstico de mielofibrose com metaplasia mieloide incluem:

- *Crítérios necessários:* fibrose da MO difusa e ausência do cromossomo Filadelfia ou rearranjo BCR-ABL nas células sanguíneas periféricas;
- *Crítérios opcionais:* esplenomegalia de qualquer grau, anisopoiquilocitose com dacriócitos, circulação de células mieloides imaturas, circulação de eritroblastos, agrupamentos de megacarioblastos e megacariócitos anômalos nas seções da MO, metaplasia mieloide.⁽¹⁴⁾

O diagnóstico da mielofibrose com metaplasia mieloide pode ser feito se as seguintes combinações estiverem presentes: os dois critérios necessários, mais quaisquer dois critérios opcionais quando a esplenomegalia estiver presente, ou os dois critérios necessários mais quaisquer quatro critérios opcionais quando a esplenomegalia estiver ausente.⁽¹⁴⁾

Complicações e evolução da doença

A evolução da MP caracteriza-se por esplenomegalia progressiva e hepatomegalia um pouco menor. Geralmente

a esplenomegalia acompanha-se de anemia e trombocitopenia progressiva.⁽⁴⁾

A anemia pode ser tão severa que o paciente só consegue sobreviver à custa de repetidas transfusões. Embora a anemia se deva primeiramente à insuficiência na produção de hemácias, em alguns pacientes o sequestro esplênico contribui significativamente para a sua gravidade.⁽¹³⁾

A trombocitopenia pode levar a um sangramento anormal. Entretanto, pacientes que não apresentam nenhum distúrbio no número de plaquetas também podem sangrar anormalmente devido a defeitos qualitativos da função plaquetária. Se for necessária uma cirurgia, devem ser administrados concentrados de plaquetas para controlar o sangramento pós-operatório.⁽¹³⁾

A evolução da mielofibrose para um quadro de policitemia vera (PV) tem sido citada, mas com maior frequência ela se transforma em leucemia de tipo aguda, com blastos mieloides ou com grande componente de megacarioblastos.⁽⁷⁾

Além da mielofibrose de evolução crônica, existe uma forma de mielofibrose aguda que não tem esplenomegalia tão marcante. Tal forma aguda evolui de modo rápido, com anemia acentuada, estado geral muito comprometido e frequentes hemorragias. AMO é muito hipocelular, fibrosada e esclerosada (osteomieloesclerose), com blastos atípicos. Essa doença corresponde à leucemia aguda rara, de tipo megacariocítico, a LMA-M7 da classificação FAB.^(6,7)

As complicações da doença podem incluir hipertensão portal, infarto do baço e de outros locais da hematopoiese, causando linfadenopatia, derrames pleurais, ascite (superfícies serosas), processos de pneumonia, hematúria e compressão da medula espinhal e raízes nervosas (espaços paraespinhal e epidural).⁽¹⁴⁾

PROGNÓSTICO

O prognóstico da MP permanece pobre quando comparado com outras desordens mieloproliferativas e não obteve mudança significativa durante os últimos vinte anos.⁽¹⁶⁾

O prognóstico da mielofibrose depende da fase em que se apresenta a doença, a qual implica maior ou menor quantidade de fibrose instalada.⁽⁷⁾

O quadro histopatológico medular pode revelar hiperplasticidade, especialmente de megacariócitos, fibrose discreta ou fibrose difusa colágena. Os achados anatômicos e hematológicos dependem da propensão da doença e, por sua vez, orientam o prognóstico.⁽⁷⁾

Tamanho aumentado do baço e do fígado, febres, suores noturnos, perda de peso, cariótipo anormal, idade avançada, altas taxas de precursores mieloides imaturos no sangue, aumento de reticulina e colágeno, hematopoiese intrasinusoidal e trombocitopenia também são considerados importantes fatores de um mau prognóstico.^(16,17)

Mortalidade por MP inclui anemia progressiva e desconforto abdominal decorrente da esplenomegalia.⁽¹⁸⁾ As principais causas de morte são infecção, hemorragia, falha progressiva da medula, complicações decorrentes da hipertensão portal, insuficiência cardíaca, mortalidade pós-esplenectomia e transformação em leucemia aguda.^(5,14) Esta pode ocorrer em aproximadamente 15% dos pacientes e é comumente mieloblástica ou mielomonoblástica, podendo envolver também a linhagem megacariocítica, eritrocítica e linfóide.⁽⁹⁾ Foi observada a morte atribuível também à insuficiência renal, insuficiência hepática ou trombose.^(5,14)

Sugerem um bom prognóstico: baço e fígado de tamanhos normais e um bom estado histológico da MO.⁽¹⁷⁾

TRATAMENTO

Não se chegou a um consenso sobre o tratamento ótimo da metaplasia mieloide agnoscênica ou da mielofibrose pós-policitemica. Não existe até agora qualquer tratamento eficaz que iniba o processo fibrótico.⁽⁴⁾ Além disso, nenhuma das formas terapêuticas convencionais mostrou-se capaz de prolongar a sobrevida e nem apresentou um efeito benéfico consistente sobre o processo patogênico básico subjacente à mielofibrose.⁽⁵⁾ Assim, o tratamento é paliativo e direcionado às complicações específicas, visando amenizar os sintomas e melhorar a qualidade de vida do paciente.^(5,14)

Visto que os pacientes com mielofibrose exibem variabilidade no progresso de sua doença e uma faixa de sobrevida variável, muitos pacientes não necessitam de terapia por períodos prolongados. Geralmente, os pacientes assintomáticos apenas devem ser observados.⁽⁵⁾ A maioria dos hematologistas não realiza qualquer tratamento específico no tratamento assintomático, à exceção do emprego de 200 mg a 400 mg/dia de alopurinol para evitar as complicações da hiperuricemia.⁽⁴⁾

O tratamento convencional da anemia consiste em transfusões, para manter a hemoglobina em níveis razoáveis, e de uma suplementação com folato.^(5,6,7) A eritropoetina pode ser usada em pacientes com um certo grau de anemia, com algum resultado.⁽⁶⁾ Entretanto, no caso de anemia severa utiliza-se terapia com andrógenos e corticosteroides.^(5,4,14) São administradas grandes doses de andrógenos aos pacientes numa tentativa de aumentar a eritropoiese efetiva,^(6,7,13) mas são de valor questionável e podem provocar um aumento esplênico posterior e retenção de fluidos.⁽¹³⁾ Foi relatado que a terapia androgênica melhora a função medular em aproximadamente 40% dos pacientes.⁽⁹⁾

Deve-se continuar o tratamento por pelo menos três meses para verificar se determinado preparado é eficaz, sendo que alguns hematologistas argumentam que os pacientes que não respondem a um androgênio podem acabar respondendo a outro.⁽⁴⁾ Caso não seja observada a melho-

ra após três a seis meses, a terapia deverá ser descontinuada. Entretanto, deve ser enfatizado que o benefício da terapia por andrógenos em casos de mielofibrose é ainda objeto de debates. Os esteroides das adrenais não têm efeitos comprovadamente benéficos em casos de mielofibrose.⁽⁵⁾

Como a MP é uma doença crônica, as subseqüentes transfusões podem levar a um aumento nas concentrações séricas de ferro, devendo ser implantada uma terapia de quelação do ferro.⁽⁹⁾

Alopurinol deve ser usado para manutenção dos níveis séricos de ácido úrico para, dessa forma, evitar a nefropatia por uratos e cálculos renais, e também como profilaxia contra ataques de gota secundária.^(5,13)

A falta de uma terapia realmente eficaz para a mielofibrose juntamente com os efeitos causados pela esplenomegalia sugere a redução do tecido esplênico como a terapia para essa desordem.⁽¹⁹⁾

A redução direta do tecido esplênico pode ser realizada pelo uso de agentes citotóxicos, por irradiação ou pela remoção do órgão. As respostas aos agentes citotóxicos são variáveis e podem resultar em uma mielossupressão significativa.⁽¹⁹⁾

Pequenas doses de radiação são usadas para reduzir o tamanho do baço e costumam proporcionar alívio aos sintomas dolorosos decorrentes da esplenomegalia,^(6,7,13) sendo que a resposta ao tratamento dura por aproximadamente quatro a seis meses.⁽⁹⁾

A radioterapia é usada com maior frequência em pacientes com indicação para esplenectomia sem hipertensão portal e são candidatos a uma cirurgia de alto risco. Todas as dosagens recomendadas provêm de estudos observacionais anteriores, que fornecem informações, embora limitadas, sobre as dosagens em que possam se esperar efeitos benéficos ou tóxicos. Porém, com base nas informações disponíveis, não se pode prescrever nenhuma dosagem ou esquema de radiação apropriado para todos os pacientes, devendo a terapia ser individualizada.⁽²⁰⁾

A radioterapia continua útil no tratamento de áreas de dor óssea localizada, de implantes hematopoiéticos serosos que levam a derrames, ou de tumores hematopoiéticos extramedulares sintomáticos, principalmente aqueles que comprimem o cérebro e a medula.⁽⁴⁾

A quimioterapia é defendida por alguns autores tendo como base o raciocínio de que a mielofibrose é uma desordem da proliferação clonal das células-tronco hematopoiéticas.^(5,6,7) A hidroxiureia é o agente quimioterápico mais usado e pode diminuir o tamanho do fígado e do baço, diminuir ou eliminar sintomas constitucionais, reduzir o número de plaquetas e, em alguns casos, levar a um aumento na concentração de hemoglobina. O efeito da terapia dura aproximadamente quatro a cinco meses, sendo de grande toxicidade, levando ao encerramento da terapia.⁽⁹⁾

Tentou-se o transplante de MO por técnicas convencionais e após a manipulação cirúrgica da cavidade medular óssea no esforço de proporcionar um microambiente melhor para a medula transplantada. Só foram descritos sucessos ocasionais, e esse procedimento deve ser considerado altamente experimental.⁽⁴⁾ Porém, Harrison (2004) cita que é possível curar alguns pacientes com o transplante, mas devido a altos riscos de mortalidade relacionados ao procedimento, essa técnica é realizada somente em pacientes jovens com um pobre prognóstico.

O transplante de célula hematopoiética alogênica está sendo aplicado em pacientes idosos com MP obtendo-se resultados satisfatórios/estimulantes. É um tratamento com potencial curativo para os pacientes com doador na família (irmãos), mas também para pacientes sem doadores relacionados.⁽²¹⁾

Por ser uma terapia com potencial curativo, os pacientes candidatos ao transplante devem fazê-lo antes de desenvolverem risco. A hora ideal para o transplante permanece indeterminada, porém os estudos sugerem que os melhores resultados são obtidos no início da doença.⁽²²⁾

O transplante de células-tronco é uma opção nos pacientes jovens,⁽¹⁴⁾ no entanto, a maioria cursa a doença em idade avançada.

A talidomida também vem sendo usada como uma alternativa no tratamento da mielofibrose.^(23,24) Seu exato mecanismo de ação ainda não é conhecido, mas as hipóteses incluem uma diminuição dos níveis do fator de necrose tumoral (TNF), a inibição da interleucina 12 e produção e coestimulação de linfócitos CD18. Estudos mostram que a talidomida tem propriedades antiangiogênicas, provavelmente por bloquear a ação de potentes fatores angiogênicos como o FGF- β e o VEGF.⁽²⁴⁾

ESTUDOS FUTUROS

A grande expressão de PDGF contribui para o desenvolvimento de doenças e ajuda a desenvolver antagonistas específicos para o PDGF. Esses agonistas incluem anticorpos bloqueadores ou anticorpos mais evoluídos contra as isoformas de PDGF ou receptores de PDGF, bem como receptores kinases inibidores de baixo peso molecular para PDGF.

Os antagonistas seletivos de PDGF podem ser utilizados em modelos pré-clínicos, assim como, em tratamento de pacientes, têm impulsionado pesquisa para o desenvolvimento do PDGF em algumas doenças como arteriosclerose, desordens fibróticas e desordens malignas causadas pela ativação autócrina e parácrina de receptores de PDGF.⁽¹⁰⁾ Dada à complexidade do processo patogênico da MP, propostas alvo necessitam envolver vias ou agentes múltiplos.

Abstract

The primary myelofibrosis (MP) is a chronic myeloproliferative disorder characterized by hyperplasia and marrow fibrosis. The characteristic fibrosis of this is related to the release of hematopoietic growth factors, among them the derived factor plaquets (PDGF), that stimulates the proliferation of fibroblasts, with subsequent deposit of collagen and reticulin fibers. The development of collagen fibers in the place of normal hematopoietic tissue is responsible for the majority of symptoms of the disease: fatigue, anemia, abdominal obesity, weight loss, muscle and bone pains, others. Hepatosplenomegaly and the existence of a tumor in the left handle are the most reported physical findings. The hematologic abnormalities are variable and are consequence of an anatomical disorder of MO and partly to extramedullary hematopoiesis with mild anemia. There is the need for a bone marrow biopsy to elucidate the fibrosis, since, in most cases, the aspiration of the MO results in a dry puncture. The histopathology exam show us an increase in fibrillar reticulin, collagen and fibroblasts. Laboratory diagnosis is mainly based on alterations in the hemogram, mielogram, and histopathologic exam of the patient's MO. The changes in serum, the presence of chromosomal abnormalities and the existence of myeloid metaplasia help in the diagnosis. The treatment of the disease is palliative, and there is no known therapy capable of inhibiting the fibrotic process. Thus, the treatment is directed at specific complications of the disease, in order to reduce the symptoms and improve the quality of life of the patient.

Keywords

Myelofibrosis; myeloproliferative; extramedullary hematopoiesis

REFERÊNCIAS

- Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia Fundamentos e Prática. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- Giraudier S, Chagraoui H, Komura E, Barnache S, Blanchet B, LeCouedic JP, et al. Overexpression of FKBP51 in idiopathic myelofibrosis regulates the growth factor independence of megakaryocyte progenitors. *Blood*. 2002 Oct 15;100(8):2932-40.
- Champlin R, Golden DW. As Leucemias. In Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson. Harrison - Medicina Interna. 14ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 1998.
- Berk PD. Doenças Mieloproliferativas. In: Cecil RL, Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC. Cecil - tratado de medicina interna. 19.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- Athens JW. Mielofibrose. In Lee RG, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. Wintrobe - Hematologia Clínica. 9ª ed. São Paulo: Manole, 1998.
- Verrastro T, Lorenzi TF, Neto SW. Hematologia e Hemoterapia: fundamentos de morfologia, patologia e clínica. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996.
- Lorenzi TF. Manual de Hematologia - Procedência e Clínica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Médica e Científica LTDA, 1999.
- Le Bousse-Kerdilès MC, Martyré MC. Dual implication of fibrogenic cytokines in the pathogenesis of fibrosis and myeloproliferation in myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Ann Hematol*. 1999 Oct;78(10):437-44.
- Reilly JT. Idiopathic myelofibrosis: pathogenesis, natural history and management. *Blood Rev*. 1997 Dec;11(4):233-42.
- Heldin CH. Platelet-derived growth factor - an introduction. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004Aug;15(4):195-6.
- McGary EC, Weber K, Mills L, Doucet M, Lewis V, Lev DC, et al. Inhibition of platelet-derived growth factor-mediated proliferation of osteosarcoma cells by the novel tyrosine kinase inhibitor STI571. *Clin Cancer Res*. 2002 Nov;8(11):3584-91.
- Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A. Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. *CA Cancer J Clin*. 2009 May-Jun;59(3):171-91.
- Rapaport SI. Introdução a Hematologia. 1ª ed. São Paulo: Harper & Row do Brasil LTDA., 1978.
- Runge MS, Gregante MA. Medicina Interna de Netter. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- O'Brien S, Tefferi A, Valent P. Chronic myelogenous leukemia and myeloproliferative disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2004:146-62.
- Ozen S, Ferhanoglu B, Senocak M, Tüzüner N. Idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia): clinicopathological analysis of 32 patients. *Leuk Res*. 1997 Feb;21(2):125-31.
- Cervantes F. Prognostic factors and current practice in treatment of myelofibrosis with myeloid metaplasia: an update anno 2000. *Pathol Biol (Paris)*. 2001 Mar;49(2):148-52.
- Elliott MA, Tefferi A. Splenic irradiation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a review. *Blood Rev*. 1999 Sep;13(3):163-70.
- Mesa RA, Elliott MA, Tefferi A. Splenectomy in chronic myeloid leukemia and myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood Rev*. 2000 Sep;14(3):121-9.
- Elliott MA, Tefferi A. Splenic irradiation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a review. *Blood Rev*. 1999 Sep;13(3):163-70.
- Snyder DS, Palmer J, Stein AS, Pullarkat V, Sahebi F, Cohen S, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation following reduced intensity conditioning for treatment of myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006 Nov;12(11):1161-8.
- Kerbauy DM, Gooley TA, Sale GE, Flowers ME, Doney KC, Georges GE, et al. Hematopoietic cell transplantation as curative therapy for idiopathic myelofibrosis, advanced polycythemia vera, and essential thrombocythemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007 Mar;13(3):355-65.
- Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams hematology. 7ª ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2006.
- Borges LG, Fröhlich PE. Talidomida - novas perspectivas para utilização como antiinflamatório, imunossupressor e antiangiogênico. *Rev.Assoc. Med. Bras.* [Internet]. 2003 Jan; 49(1): 96-102. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302003000100041&lng=en.
- Jamra M, Lorenzi TF. Leucócitos/ Leucemias/ Linfomas. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1983.

Correspondência

Cidônia de Lourdes Vituri

Departamento de Análises Clínicas
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC
Florianópolis-SC, Brasil
e-mail: cids@ccs.ufsc.br

Prevenção do câncer de pâncreas: uma atualização

Pancreas cancer prevention: an update

Raquel Cardoso de Souza¹

Marília Mainard Beran Mastrocola¹

Franciele Pereira²

Patrícia Haas³

Resumo

O câncer de pâncreas é um dos cânceres de menor incidência e de maior mortalidade, devido principalmente à dificuldade de diagnóstico e ao mau prognóstico. Tendo em vista a dificuldade de tratamento, remissão e cura desta neoplasia, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica com o intuito de apresentar os principais tipos de cânceres de pâncreas, bem como as principais dietas que podem contribuir para o desenvolvimento desta doença, além de apresentar as principais ferramentas diagnósticas para detecção deste tipo de câncer. Diferentes padrões alimentares já vêm sendo relacionados ao surgimento do câncer, principalmente aqueles que acometem os sistemas gastrointestinais. Países com dietas ricas em proteínas, gorduras e carboidratos apresentam altos índices de câncer de pâncreas entre a população que é cometida por algum tipo de câncer. Este trabalho serve como um alerta para a sociedade, seja ela científica ou não, pois busca esclarecer que o melhor tratamento para esta doença é a prevenção com a adoção de hábitos alimentares mais saudáveis.

Palavras-chave

Pâncreas; neoplasia; prevenção

INTRODUÇÃO

O câncer de pâncreas é uma doença com mau prognóstico, sendo considerado talvez como uma das neoplasias mais agressivas e fatais. Considerando a sua alta incidência e elevada letalidade, muitos esforços vêm sendo realizados em busca da identificação de fatores de risco e genéticos que possam estar implicados e de recursos terapêuticos que possam alterar esse quadro.⁽¹⁾

O risco de se desenvolver o câncer de pâncreas aumenta após os 50 anos de idade, principalmente na faixa entre 65 e 80 anos, havendo uma maior incidência no sexo masculino, sendo raro antes dos 30 anos e aumentando com o avanço da idade: de 10/100 mil casos entre 40 e 50 anos para 116/100 mil entre 80 e 85 anos, conforme a Tabela 1.⁽²⁾ A maioria vai sucumbir à sua doença dentro de um ano após o diagnóstico, com uma taxa de sobrevivência global em cinco anos ocorrendo em apenas 5% – um resultado que não alterou significativamente desde a década de 1970. A grande maioria (80% ou mais) dos casos de câncer de pâncreas é diagnosticada após o câncer se espalhar para os linfonodos regionais ou metástases mais distal.⁽³⁾

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho apresenta-se na forma descritiva e delimitada a partir de uma revisão bibliográfica nas bases de dados, no período de abril a junho de 2010. Primeiramente, fez-se uma busca de reconhecimento em sítios de pesquisa na rede mundial de computadores (ScienceDirect, Scopus, SciELO, ScienceFinder, PubMed, DATASUS).

A pesquisa foi baseada nas palavras do dicionário médico para termos (MeSH), descritores e operadores booleanos. A primeira pesquisa foi conduzida da seguinte forma: [(câncer e alimentos), and (Câncer de pâncreas) and (Câncer de pâncreas e alimento) and (hábitos alimentares e câncer)]. As pesquisas nos bancos de dados subsequentes foram ajustadas de acordo com as especificações necessárias para os bancos de dados, mantendo semelhantes palavras no processo de busca.

ANATOMIA E FISIOLOGIA PANCREÁTICA

O pâncreas humano é a maior glândula digestiva do corpo caudal ao estômago e oposto ao fígado, ao longo do trato intestinal, justapondo-se a vários vasos sanguíneos,

¹Farmacêutica Bioquímica – Universidade Federal de Santa Catarina Campus Araranguá (UFSC) – Araranguá-SC, Brasil.

²Acadêmica de fisioterapia – Universidade Federal de Santa Catarina Campus Araranguá (UFSC) – Araranguá-SC, Brasil.

³Professora. Universidade Federal de Santa Catarina Campus Araranguá (UFSC) – Araranguá-SC, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina Campus Araranguá (UFSC) – Araranguá-SC, Brasil.

Artigo recebido em 05/07/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

incluindo a aorta, a veia cava inferior, a veia e a artéria mesentéricas superiores, mantendo contato direto com as veias portal e esplênica.⁽⁴⁾ Anatomicamente, o pâncreas pode ser dividido em subunidades múltiplas chamadas ácinos, células exócrinas que secretam enzimas digestivas; ilhotas de Langerhans (células endócrinas), que secretam insulina, glucagon e outros hormônios; e ductais que, juntamente com o suprimento de sangue, se coordenam para regular o equilíbrio nutricional.⁽⁴⁾

A função exócrina do pâncreas é executada por células acinares que segregam enzimas digestivas e outros componentes não enzimáticos do duodeno. O suco pancreático é secretado mais abundantemente em resposta à presença de quimo nas porções superiores do intestino delgado, e as características do suco pancreático são determinadas, em parte, pelos tipos de alimentos existentes no quimo.⁽⁴⁾

A função endócrina do pâncreas é executada pelas ilhotas de Langerhan, que são agrupamentos de células, compactos e esféricos, que se espalham por todo o tecido exócrino mais abundante. Eles consistem de quatro tipos diferentes de células que segregam hormônios para o sangue, tendo como função controlar a homeostase da glicose.⁽⁵⁾ O fenótipo celular dos tumores pancreáticos reflete aproximadamente três tipos celulares encontrados no pâncreas normal humano: células ductais dos grandes ductos e ductulares/centroacinares, células acinares (pâncreas exócrino) e células endócrinas (pâncreas endócrino).⁽⁶⁾

Câncer de pâncreas endócrino

O câncer de pâncreas endócrino é pouco comum e acomete as ilhotas de Langerhans, sendo pertencente ao grupo das neoplasias neuroendócrinas.⁽⁷⁾ Os tumores neuroendócrinos do pâncreas são notáveis pela capacidade de secretar hormônios diversos na circulação sanguínea, causando, assim, de acordo com o tipo e a quan-

tidade do hormônio produzido, síndromes características (Tabela 1).

Câncer de pâncreas exócrino

É uma patologia que acomete a porção exócrina do pâncreas (aproximadamente 80% do órgão).⁽⁸⁾ Os tumores do pâncreas exócrinos são classificados histologicamente em: benignos (cistadenoma seroso, cistadenoma mucinoso e adenoma mucinoso intraductal), tumores de potencial incerto (neoplasia cística mucinosa com displasia moderada, neoplasia mucinosa papilífera intraductal com displasia moderada e neoplasia sólida pseudopapilífera) e malignos (descritos na Tabela 2).

CÂNCER E PADRÕES ALIMENTARES

Há várias evidências de que a alimentação tem um papel importante nos estágios de iniciação, promoção e propagação do câncer, destacando-se entre outros fatores de risco.⁽⁹⁾ Desta forma, o conceito de que a alimentação e o estado nutricional podem influenciar o câncer tem despertado o interesse de estudiosos há muito tempo, porém, um maior interesse pelas causas nutricionais do câncer começou apenas a ocorrer a partir das décadas de 1960 e 1970, caracterizadas pelo aumento substancial no consumo de gorduras, carnes e bebidas alcoólicas, bem como pelo decréscimo no consumo de frutas e cereais.⁽¹⁰⁾

Em países como os Estados Unidos, onde a dieta é rica em carboidratos, gorduras e carne vermelha,⁽¹¹⁾ o câncer de pâncreas apresenta elevada incidência, como relatado pelo estudo de Lowenfels e colaboradores em 2002.⁽¹²⁾ Outras pesquisas em países como Holanda, Uruguai, Argentina, Brasil, Itália e Espanha apontam a ingestão de carne como um fator relevante no desenvolvimento de tal neoplasia.⁽¹³⁾

Tabela 1 - Tumores neuroendócrinos do pâncreas, hormônios secretados e síndromes

Tumor	Produto secretado	Sintomas na síndrome
Insulinoma	Insulina	Hipoglicemia, distúrbios neurológicos
Glucagonoma	Glucagon	Diabetes, rash cutâneo, estomatite
Gatrinoma	Gastrina	Dor abdominal, úlceras, diarreia, sangramento gastrointestinal
Somatostatina	Somatostatina	Diabetes, esteatorreia, acloridria
Ppoma	Polipeptídeo pancreático	Altas taxas séricas de polipeptídeo pancreático, mas clinicamente silencioso
Vipoma	Polipeptídeo intestinal vasoativo	Diarreia aquosa, hipocalemia, acloridria. Quando completa, a síndrome é conhecida como síndrome de Verner-Morrison
ACTHoma	ACTH	Síndrome de Cushing (obesidade, fraqueza muscular, intolerância à glicose e hipertensão)
Carcinoide	Serotonina	Síndrome carcinoide (diarreia e flushing)
Carcinoma misto (ductal/endócrino)	Raro, qualquer peptídeo anteriormente mencionado, associado ao componente ductal	Prognóstico não estabelecido. Diferenciação ductal em 25%-30% das células. Estes tumores podem ser classificados segundo o padrão TNM

Fonte: Costa OL, et al. (2002)

Tabela 2 - Tumores malignos do pâncreas exócrino

Tumores malignos	Características
Adenocarcinoma ductal	Responsável por mais de 90% das neoplasias do pâncreas. Cerca de 80% dos adenocarcinomas acometem pessoas entre os 60-80 anos. O sexo masculino, a ascendência judaica asquenaze e a etnia negra contribuem com chance 2 vezes maior quando comparados a pacientes sem estas características demográficas. Este tipo metastam-se precocemente para os linfonodos regionais (90%) e para os linfonodos mediastinais e supra-claviculares. ⁽¹⁴⁾
Tumores císticos mucinosos	Representam aproximadamente 2% a 5% dos tumores do pâncreas. O seu diagnóstico é feito entre a quinta e sétima década de vida, em geral secundário à investigação de sintomas pouco específicos como a epigastralgia, ou pela origem de sintomas compressivos abdominais, e acometem mais frequentemente as mulheres que os homens. ⁽²²⁾
Tumores mucinosos intraductais	Acometem, na sua maioria, mais homens na sexta década de vida. Trata-se de neoplasias revestidas por epitélio colunar produtor de mucina, porém, em vez de formarem cistos não comunicantes com o sistema ductal normal do órgão, originam estruturas vegetantes de aspecto papilífero dentro da luz de grandes ductos pancreáticos, com dilatação destes. ⁽⁶⁾
Tumores císticos serosos	Constituem neoplasias epiteliais císticas que se originam das células ductulares/centro-acinares, ricas em glicogênio. A grande maioria corresponde a tumores benignos, representando 1% a 2% dos tumores de pâncreas exócrino. Comprometem mais comumente indivíduos do sexo feminino (70%) na sexta década de vida. Localizam-se mais frequentemente no corpo e cauda do pâncreas (50% a 70%). ⁽²¹⁾
Carcinoma de células acinares	O carcinoma de células acinares representa aproximadamente 1% dos tumores do pâncreas exócrino. Com poucas exceções, o carcinoma de célula acinar ocorre durante a quinta e sétima décadas de vida. As células tumorais produzem enzimas pancreáticas que, ocasionalmente, podem circular sistemicamente e causar poliartrite e necrose de gordura subcutânea. ⁽²⁷⁾
Tumores sólidos pseudopapilíferos	Trata-se de um grupo de neoplasias raras, de origem indeterminada, na maioria dos casos benignas, que comprometem preferencialmente mulheres adolescentes ou jovens que têm bom prognóstico. Muitas vezes são assintomáticas e não há elevação de marcadores tumorais séricos. ⁽⁶⁾
Pancreatoblastoma	O pancreatoblastoma é uma neoplasia comumente encontrada em crianças e jovens. O tumor possui diferenciação acinar, contém ninhos de células escamosas e, ocasionalmente, apresenta grupos de células neuroendócrinas. ⁽²⁸⁾

CÂNCER DE PÂNCREAS - PRINCIPAIS CLASSES DE ALIMENTOS CARCINOGENÉTICOS

Proteínas: No grupo das proteínas, as de origem animal são as mais frequentemente relacionadas com o aumento do risco para câncer pancreático.⁽¹⁴⁾ As carnes, principalmente as vermelhas, contêm inúmeros carcinógenos, como as aminas heterocíclicas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e compostos N-nitrosos formados endogenamente ou durante o processamento em altas temperaturas.⁽¹⁵⁾

As aminas heterocíclicas encontram-se entre as substâncias mutagênicas conhecidas mais potentes, causando tumores em animais de experimentação. São metabolizadas pelo citocromo P-450 dos microsomas hepáticos em mutagênicos ativos, as N-hidroxilaminas, as quais são convertidas em compostos capazes de se unir à guanina, afetando a replicação e a transcrição do DNA; já a toxicidade dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos se dá pela formação de produtos intermediários reativos, responsáveis pelos efeitos carcinogênicos.⁽¹⁶⁾ Os alimentos altamente proteicos aumentam a secreção de colecistoquinina, que poderia estar relacionada ao desenvolvimento de câncer de pâncreas.⁽¹¹⁾

Segundo Mochizuki,⁽¹⁷⁾ uma dieta rica em proteína pode estimular a liberação de colecistoquinina uma vez que a presença de grande quantidade de tripsina na luz intestinal

estimula a sua produção podendo causar hiperplasia e hipertrofia das células acinares pancreáticas.

Gorduras: O papel do lipídio na carcinogênese pode variar de acordo com a origem e composição. Acredita-se que a elevada ingestão de gordura promove aumento na produção de ácidos biliares, que são mutagênicos e citotóxicos.⁽⁹⁾ No aquecimento excessivo das gorduras, como na fritura de alimentos, formam-se produtos tóxicos ou cancerígenos, entre os quais acroleína e peróxidos. Isso ocorre porque temperaturas elevadas aceleram os processos oxidativos e de degradação dos lipídios. No processo de fritura, três componentes são responsáveis pelas mudanças ocorridas na estrutura dos lipídios: umidade do alimento (promove hidrólise dos triglicerídeos), contato do óleo ou gordura com o oxigênio (promove alterações oxidativas) e alta temperatura do processo, aproximadamente 180°C.⁽¹⁶⁾

Açúcares: Os polissacarídeos, assim como as gorduras, retardam o esvaziamento gástrico promovendo a elevação dos níveis de colecistoquinina, gastrina e secretina, já que a presença de alimentos na cavidade estomacal funciona como estímulo para a secreção destes hormônios pelo pâncreas. Alguns autores têm investigado se o consumo elevado de certos polissacarídeos – presentes em pães, cereais e massas – predispõem ao câncer de pâncreas.⁽¹⁸⁾

A ingestão elevada de dissacarídeos, como a sacarose, tem sido fortemente associada à neoplasia de pâncreas. Dietas com elevada ingestão de açúcar leva à hiperinsulinemia, que pode ser carcinogênica por alterar o ciclo celular.⁽¹¹⁾

DIAGNÓSTICO DO CÂNCER DE PÂNCREAS

O câncer de pâncreas é de difícil diagnóstico devido à sua localização, dentre outros aspectos. Como mencionado anteriormente, este órgão localiza-se entre o estômago, fígado e intestino, áreas extremamente irrigadas por vasos sanguíneos que facilitam sua disseminação. Além disso, a ausência de sintomatologia clínica torna o diagnóstico precoce raro.⁽¹⁹⁾ Um estudo realizado em 2002, por Costa et al.,⁽²⁰⁾ apresentou as dificuldades quanto ao diagnóstico, avaliação prognóstica e conduta em sete pacientes portadores de tumores neuroendócrinos do pâncreas. O estudo relatou diferentes manifestações clínicas nos pacientes, indo desde a ausência de sintomas (o mais comum), passando por sintomas inespecíficos, como fraqueza muscular, perda de peso, vômito, diarreia, chegando a dores epigástricas e na área superior do abdome.

O diagnóstico do câncer tem evoluído consideravelmente nos últimos anos, tal fato apresenta relevância ainda maior quando atrelado ao câncer de pâncreas, pois o prognóstico ruim torna a detecção primária da doença uma das poucas alternativas de vida para os pacientes. Sendo assim, o diagnóstico diferencial de tumores no pâncreas possibilita a tomada de decisão na conduta do tratamento da doença. Machado et al.⁽²¹⁾ exemplifica esta afirmação através do diagnóstico de imagem (ressonância nuclear magnética, tomografia computadorizada e ultrassonografia) para a diferenciação de cistoadenomas serosos e mucinosos. O tipo mucinoso exibe um potencial de maior malignidade enquanto que os cistoadenomas do tipo serosos são considerados benignos sem tendência a malignização, permitindo uma maior racionalização terapêutica.

O diagnóstico por imagem dos diferentes tipos de câncer de pâncreas tem sido uma ferramenta útil, entretanto o estágio da doença é um fator determinante para o resultado fidedigno. Isto porque em situações patológicas que envolvem adenocarcinoma, o diagnóstico por imagem nas fases iniciais da doença não é possível. Técnicas como tomografia computadorizada e ressonância magnética não conseguem detectar tumores menores que 1 cm, sendo detectável apenas quando a massa tumoral é maior que 1 cm a 2 cm. Uma alternativa complementar à tomografia computadorizada e ressonância magnética é a ecoendoscopia, sendo considerada atualmente o padrão ouro no diagnóstico de neoplasias císticas primárias do pâncreas.⁽²²⁾ Esta técnica fornece a morfologia das lesões, possibilitando, por meio de punção guiada em tempo real, a colheita de material para avaliação citológica e dos marcadores tumorais.

Em paralelo ao diagnóstico de imagem está o diagnóstico laboratorial, que é uma peça chave na elucidação de casos como os abordados por Sá et al.,⁽²³⁾ onde a dosagem das enzimas pancreáticas – amilase: 2.847 U/L (valor normal: 25 a 125 U/L) e lipase: 280 U/L (valor normal: 2 a 18 U/L) – direcionaram a investigação clínica para uma patologia pancreática, o que foi confirmado pelo diagnóstico de imagem e por biópsia. As dosagens laboratoriais rotineiras dão suporte a uma investigação laboratorial mais específica, como, por exemplo, os marcadores tumorais, normalmente dosados quando há suspeita de um tumor. A existência de um único marcador tumoral que permita o diagnóstico de câncer de pâncreas é pouco provável. Algumas pesquisas têm avaliado os diferentes marcadores tumorais apresentando-se pouco conclusivos,⁽²⁴⁾ pois, até o momento, o papel dos marcadores tumorais é limitado. Segundo Ardengh et al.,⁽¹⁹⁾ nenhum marcador demonstrou ser útil na avaliação de uma população assintomática. Contudo, estudos como os realizados por Ma Z et al.⁽²⁵⁾ apontam que a dosagem dos marcadores tumorais no soro é um método de diagnóstico efetivo e não invasivo, ou, ainda, uma ferramenta para o prognóstico do câncer de pâncreas.

MARCADORES TUMORAIS

Os principais marcadores tumorais relacionados ao diagnóstico de neoplasias pancreáticas são o CA 19-9,⁽²⁶⁾ um antígeno glicoproteico que foi definido a partir do meio de cultura celular da linhagem de cancro colorretal de ratos, o CEA (Antígeno Carcinoembrionário), uma glicoproteína solúvel que tem sido relatado por ser bastante elevado em pacientes com câncer do trato digestivo, e o CA 242, que está associado a glicoconjugados expressos em mucina e predominantemente encontrado no soro de pacientes com câncer de pâncreas.⁽²⁴⁾ Como não houve avanço importante nos últimos anos na busca de um novo antígeno específico para a caracterização do câncer pancreático, a busca por testes laboratoriais de diagnóstico em um estágio inicial da doença mudou. A combinação de marcadores tumorais passou a ser utilizada, superando as deficiências do uso de marcadores simples e, assim, melhorando a sensibilidade e especificidade do teste. No estudo realizado por Ma Z. et al.,⁽²⁵⁾ os resultados demonstraram que uma combinação de marcadores tumorais pode aumentar a eficácia diagnóstica quando comparada à detecção do marcador único. A pesquisa revelou uma melhora significativa na sensibilidade do diagnóstico por meio da combinação de CA19-9 e CEA, porém não aplicado à especificidade (Tabela 3).

Globalmente, o uso de uma associação dos dois marcadores, CA19-9 e CEA, poderia melhorar a eficácia diagnóstica em câncer de pâncreas e como também ser de

grande importância na seleção dos grupos de alto risco para o diagnóstico precoce. Existem ainda outros marcadores disponíveis para o diagnóstico do câncer de pâncreas, entre eles o CA 50, o Span-1, o Dupan-2 e CA 125 mesotelina.⁽²⁴⁾

Tabela 3 - Sensibilidade e especificidade dos marcadores no diagnóstico do câncer pancreático

Marcadores	Sensibilidade (%)	Especificidade
CEA	45	75
CA 19-9	80	43
CA 242	60	76
CEA+CA+ 19-9	37	84
CEA+CA 242	30	92
CA19-9+CA 242	59	77
CEA+CA19-9+CA242	29	96

Fonte: Ni XG, et al. (2004)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os avanços no diagnóstico de câncer de pâncreas mostraram-se de grande valia quando relacionados ao prognóstico de sobrevivência dos pacientes. Entretanto, mesmo com o desenvolvimento de técnicas que possibilitem o diagnóstico precoce, os tumores pancreáticos ainda se mantêm entre os piores tipos de cânceres, devido à sua alta agressividade e difícil tratamento. Porém, é preciso entender que mesmo com toda a tecnologia empregada no desenvolvimento de técnicas mais elaboradas, sensíveis e específicas, a remissão da doença fica associada a ações preventivas, como a adoção de hábitos alimentares mais saudáveis. Portanto, o trabalho buscou enfatizar que os maus hábitos alimentares podem ser um fator importante para o surgimento do câncer de pâncreas e pode ser evitado.

Abstract

Pancreatic cancer is one of the smallest cancers incidence and mortality, this due the difficulty of diagnosis and poor prognosis. In view of the difficulty of treatment, remission and cure this neoplasm the aim of this study was to conduct a literature review in order to present the main types of pancreas cancers as well as the main diets that can contribute to the development of this disease as well as presenting the main diagnostic tools for the detection of this type of cancer. Different food standards are already being linked to the emergence of cancer, particularly those that affect the gastrointestinal systems. Countries with diets rich in protein, fats and carbohydrates present high rates of pancreatic cancer among the population that is committed by any type of cancer. This work serves as a warning to society whether or not scientific because it seeks to clarify that the best treatment for this disease is prevention, with the adoption of healthier eating habits.

Keywords

Pancreas; neoplasm; prevention

REFERÊNCIAS

- Moreira LS, Dani R. Tumores do pâncreas exócrino. Gastroenterologia Essencial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- Brasil Ministério da Saúde. Câncer de Pâncreas. INCA, 2010 - Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pancreas>. Acesso em: 04/06/2010.
- International Cancer Genome Consortium (ICGC). Pancreatic Cancer - Ductal adenocarcinoma. Disponível em: <http://www.icgc.org/icgc/cgp/68/392/810>. Acesso em: 05/06/2010.
- Cleaver O, Melton DA. Desenvolvimento do pâncreas endócrino. Em Joslin - Diabetes Mellitus, 14.ed, p. 36-50, Porto Alegre: ArtMed, 2009.
- Ganong WF. Fisiologia Médica, 22ª ed, Rio de Janeiro: McGraw-Hill Ltda, 2006. Ltda.
- Filho GB. Bogliolo Patologia. 7a. ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007
- Rubin E, Gorstein F, Rubin R, Schwartz R, Strayer D. Rubin Patologia - Bases Clinicopatológicas da Medicina. 4a ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2007.
- Ries LG, Young JLJ, Keel GE, Eisner MP, Lin YD, Horner MJD. Cancer Survival Among Adults: U.S. SEER Program, 1988-2001 - Patient and Tumor Characteristics. National Cancer Institute, SEER Program.
- Garófalo A, Avesani CM, Camargo KG, Barros ME, Silva SRJ, Taddei JAAC, et al. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. ieta e câncer: um enfoque epidemiológico. Rev. Nutr. [Internet]. 2004;17 (4):491-505. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400009&lng=en.
- Heidor R, Chagas CEA, Ong TP, Moreno FS. Minerais e Câncer, Biodisponibilidade de Nutrientes, 3ª.ed., Barueri, SP: Manole, 2009.
- Hart AR, Kennedy H, Harvey I. Pancreatic cancer: a review of the evidence on causation. Clin Gastroenterol Hepatol. 2008 Mar; 6(3): 275-82.
- Heinen MM, Verhage BA, Goldbohm RA, Van der Brandt PA. Meat and fat intake and pancreatic cancer risk in the Netherlands Cohort Study. Int J Cancer. 2009 Sep 1;125(5):1118-26.
- Lowenfels AB, Maisonneuve P. Epidemiologic and etiologic factors of pancreatic cancer. Hematol Oncol Clin North Am. 2002 Feb; 16(1):1-16.
- Brasil. Ministério da Saúde. Tipos de Câncer. INCA, 2007 - Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pancreas>. Acesso em: 04/06/2010.
- Lucenteforte E, Talamini R, Bosetti C, Polesel J, Franceschi S, Serraino D, et al. Macronutrients, fatty acids, cholesterol and pancreatic cancer. Eur J Cancer. 2010 Feb;46(3):581-7.
- Marques AC, Valente TB, Rosa CS. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. Rev. Nutr. [Internet]. 2009 Apr;22(2):283-293. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732009000200010&lng=en.
- Mochizuki M. O papel da ressecção vascular no câncer de pâncreas. Hepcentro, 2001. Disponível em: www.hepcentro.com.br/neoplasia_pancreas.htm. Acesso em: 05/06/2010.
- Moraes VM. Evolução do padrão alimentar e tendências da mortalidade por câncer de pâncreas, nas capitais do Brasil, 1980-1997. Dissertação de mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2002.
- Ardengh JC, Coelho N, Osvaldt AB. Câncer do pâncreas em fase inicial: é possível identificá-lo através dos instrumentos científicos e propedêuticos atualmente disponíveis? Arq. Gastroenterol., v. 45, n. 2, São Paulo, apr/jun, 2008.
- Costa OL, Zago MP, Santos MCS, Musso C, Louro ID. Apudomas pancreáticos: um desafio para clínicas e cirurgiões. Rev. Col. Bras. Cir v.29, n.1, Jan/Fev, 2002.

21. Machado MCC, Machado MAC, Montagnini AL, Jukemura J, Cunha JEM, Campion JP, et al. Tumores císticos do pâncreas: estudo de 73 casos. *Rev. Bras. Pâncreas*, v.1, n.2, p.26-30, 1997.
22. Guaraldi S, Sá E, Romano SE, Carvalho ACP. O papel da ecoendoscopia no diagnóstico das neoplasias císticas primárias do pâncreas. *Radiol. Bras.* 2005;38 (6):451-8.
23. Sá RG, Teixeira CMLO, Machado LG, Bonfante HL, Chaves AMC, Chebli JMF, Oliveira RB. Poliartrite e Nódulos Subcutâneos como Primeira Manifestação de Carcinoma de Pâncreas. *Rev. Bras. Reumatol*, v. 47, n.45, p.387-389, set/out, 2007
24. Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2007 Apr;33(3):266-7.
25. Ma Z, Ma Q, Wang Z. An evaluation of the diagnostic value of CA 19-9 and CEA levels in patients with pancreatic cancer. *Journal of Nanjing Medical University*, v.23, n.3, p.199-202, 2009.
26. Malaguarnera M, Cristaldi E, Cammalleri L, Colonna V, Lipari H, Capici A, et al. Elevated chromogranin A (CgA) serum levels in the patients with advanced pancreatic cancer. *Arch Gerontol Geriatr.* 2009 Mar-Apr;48(2):213-7.
27. Tatli S, Mortelet KJ, Levy AD, Glickman JN, Ros PR, Banks PA, et al. CT and MRI features of pure acinar cell carcinoma of the pancreas in adults. *AJR Am J Roentgenol.* 2005 Feb;184(2):511-9.
28. Naik VR1, Jaafar H, Leow VM, Bhavaraju VM. Pancreatoblastoma: a rare tumour accidentally found. *Singapore Med J.* 2006 Mar;47(3): 232-4.
26. Ni XG, Bai XF, Mao YL, Shao YF, Wu JX, Shan Y, et al. The clinical value of serum CEA, CA 19-9, and CA 242 in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2005 Mar;31 (2):164-9.

Correspondência

Patrícia Haas

Universidade Federal de Santa Catarina

Araranguá-SC, Brasil

e-mail: patricia.haas@ufsc.br

Correlação da hemoglobina glicada com a glicemia de jejum no diagnóstico do diabetes mellitus

Correlation of glycated hemoglobin with fasting glucose in diabetes mellitus diagnosis

Regiane de Brito Moreira¹

Ariéu Azevedo Moraes²

Rita de Cassia Dorácio Mendes³

Wanderlei Onofre Schmitz⁴

Resumo

A glicemia de jejum é o método mais utilizado no diagnóstico da diabetes e da HbA_{1c} para avaliação do controle glicêmico do paciente. O objetivo deste trabalho foi correlacionar as dosagens de glicemia de jejum com os valores de HbA_{1c}. Foram avaliados 360 pacientes, atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Dourados-MS. A glicemia e a HbA_{1c} foram dosadas em equipamento automatizado Metrolab 2300 plus (Wiener). A HbA_{1c} foi dosada pela metodologia de imunoturbidimetria (método certificado pelo NGSP). Os pacientes foram divididos em: grupo 1 - com HbA_{1c} e glicemia de jejum dentro dos valores de referência; grupo 2 - HbA_{1c} dentro dos valores de referência e glicemia de jejum acima dos valores de referência; grupo 3 - HbA_{1c} acima dos valores de referência e glicemia de jejum dentro dos valores de referência; e grupo 4 com HbA_{1c} e glicemia de jejum acima dos valores de referência. Dos pacientes analisados, 80 apresentam glicemia normal (81,1±12,2 mg/dL); 277 apresentaram glicemias alteradas (171,3 ± 59,1 mg/dL); 18 apresentaram HbA_{1c} dentro da faixa terapêutica (6,76±0,5%) e 342 apresentaram HbA_{1c} acima dos valores de referência (9,25±1,28%). A glicemia de jejum e a HbA_{1c} apresentaram uma correlação elevada (r= 0,7886) e a HbA_{1c} deve ser utilizada no diagnóstico dos pacientes diabéticos, pois permite ampliar o diagnóstico dos pacientes em 18%, sendo que este resultado é determinante na conduta médica para estes indivíduos.

Palavras-chave

Diabetes; hemoglobina glicada; glicemia de jejum; controle glicêmico

INTRODUÇÃO

Por décadas o diagnóstico da diabetes tem sido baseado na glicemia de jejum, na glicemia pós-prandial e no teste oral de tolerância a glicose (TOTG). O grau de controle glicêmico no paciente diabético tem sido comumente avaliado através da glicemia de jejum e através da determinação da hemoglobina glicada (HbA_{1c}). A glicemia de jejum é o método mais utilizado na avaliação do controle glicêmico e reflete os valores de glicemia no momento da dosagem. Como a glicemia sofre uma grande variabilidade durante o dia, este método é pouco sensível para a avaliação do perfil da glicemia plasmática do paciente.⁽¹⁾

Já a avaliação da HbA_{1c} permite um acompanhamento da possível média da glicemia do paciente, pois a hemácia, que é extremamente permeável à glicose, faz

com que a hemoglobina do interior da hemácia fique exposta às concentrações de glicose semelhantes as concentrações de glicose plasmática, sofrendo a hemoglobina, assim, um processo de glicação. A HbA_{1c} acumula-se dentro das hemácias, sendo originada da ligação da glicose ao aminoácido valina N-terminal da cadeia beta da hemoglobina A, sendo esta uma reação não dissociável no processo de gênese da HbA_{1c}, observando-se a formação de uma base de Schiff denominada de aldimina ou pré-A_{1c}.^(2,3) A HbA_{1c} representa aproximadamente 80% da fração das hemoglobinas A1, as outras frações da hemoglobina A1 originam-se da ligação de outros elementos à porção valina N-terminal da cadeia beta da hemoglobina A. Quando o processo de glicação ocorre em outros pontos da cadeia beta e na cadeia alfa, origina-se a molécula de hemoglobina glicada Ao. O somatório de to-

¹Biomédica formada no Centro Universitário da Grande Dourados – Unigran – Dourado-MS, Brasil.

²Professor Especialista em Hematologia e Hemoterapia pela Universidade para o Desenvolvimento do Estado e do Pantanal - Uniderp Campo Grande-MS, Brasil.

³Professora Mestra em Ciências da Saúde pela Universidade de Brasília – UNB. Professora do Curso de Nutrição do Centro Universitário da Grande Dourados Unigran – Dourado-MS, Brasil.

⁴Professor Doutor em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Londrina – UEL Londrina-PR. Chefe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD – Dourado-MS, Brasil.

Instituição: Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD – Dourado-MS, Brasil.

Artigo recebido em 27/02/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

das as frações da hemoglobina A1 e A0 resulta na chamada hemoglobina glicada total. O ritmo de formação desse composto é diretamente proporcional à concentração de glicose plasmática, sendo que esta molécula pode dissociar-se ou formar uma cetoamina estável, não mais dissociável, agora denominada de HbA_{1c}.⁽⁴⁾

Em um indivíduo não diabético, cerca de 4% a 6% do total da hemoglobina apresenta-se glicada, enquanto que, no diabético com descontrole acentuado, esta porcentagem pode atingir concentração duas a três vezes acima do valor de referência. Uma vez obtido o controle da glicemia, os níveis de HbA_{1c} podem voltar à normalidade.^(3,5)

Os valores da HbA_{1c} refletem a concentração média da glicemia sanguínea pelo período de dois a três meses antes do exame, fornecendo informações para avaliar o tratamento do paciente diabético, além de rastrear o controle da glicose sanguínea dos pacientes diabéticos.⁽⁶⁾ Estudos cinéticos da formação da HbA_{1c} sugerem que a reação de glicação da hemoglobina é uma reação de primeira ordem e ocorre em condições de equilíbrio, sendo o tempo requerido para se alcançar um ponto médio entre o valor inicial e um novo valor constante, em torno de 30 a 35 dias.⁽⁷⁾

Com as novas diretrizes adotadas pela Associação Americana de Diabetes (ADA),⁽⁸⁾ os níveis de HbA_{1c} podem ser considerados como um critério de diagnóstico, e trabalhos mais recentes sugerem que pacientes que apresentam níveis elevados de HbA_{1c} tendem a apresentar com maior frequência complicações resultantes do *diabetes mellitus* (DM) no futuro. A grande vantagem da HbA_{1c} está no fato de que ela não sofre grandes flutuações como a glicose plasmática e está diretamente relacionada ao risco de complicações em pacientes com DM tipo 1 e tipo 2.⁽³⁾

AADA não recomendava o uso da HbA_{1c} para o diagnóstico da diabetes, em parte devido à falta de padronização dos testes; agora, com a padronização dos testes e a certificação destes testes pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) e pelo *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), fica garantida a uniformidade dos resultados. Tanto que a ADA orienta que, se o valor de HbA_{1c} for de 5,7% a 6,4%, estes valores já podem identificar os pacientes com alto risco de desenvolver DM, e o termo pré-diabéticos pode ser aplicado para estes pacientes; já valores acima de 6,5% associados a outros critérios podem diagnosticar o paciente como diabético. Com a adoção destes novos valores, os valores de referência tradicionais deverão ser repensados e novos diagnósticos de diabetes serão feitos com base nestes novos parâmetros. AADA também propõe um cálculo para, através da HbA_{1c}, chegar à glicemia média dos pacientes e assim ter-se uma ideia mais fidedigna do perfil glicêmico médio deste paciente (Glicemia média = $(28,7 \times \text{HbA}_{1c}) - 46,7$).⁽⁸⁾ Recentemente, a Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) sugeriu, em nota, que os laboratórios de

análises clínicas acrescentassem o valor da glicemia média associada ao valor da HbA_{1c} nos seus laudos, melhorando assim o controle dos pacientes com DM.

Com base nos estudos do UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*), estabeleceu-se que os níveis de HbA_{1c} acima de 7% estão associados a um risco maior de complicações crônicas. Por esta razão, o início do tratamento deve ser implementado quando o valor de HbA_{1c} for superior a 7%, sendo este valor um limite superior aceitável para um paciente com DM bem controlado. Vale ressaltar que, para a ADA, também valores inferiores a 7% já são considerados um bom controle para pacientes adultos sem complicações, mas o valor de 8% de HbA_{1c} é indicado como meta de tratamento para pacientes idosos, com outras complicações associadas e quadros graves de hipoglicemia.^(8,9,10)

Ocorre uma complexa relação entre a glicemia e a HbA_{1c}, pois não só a glicemia média influencia na glicação, mas também os picos glicêmicos que ocorrem no pós-prandial são responsáveis por grande parte da glicação da HbA_{1c} e estes picos glicêmicos têm relação direta com os índices glicêmicos dos alimentos ingeridos pelo paciente, tornando assim a relação da glicemia com a glicação da hemoglobina algo muito complexo. Estudos em pacientes com DM do tipo 1, indicam que, para cada 1% de variação da HbA_{1c}, ocorre uma variação de 35 mg/dL da glicemia. Em pacientes com DM do tipo 2, a relação entre glicemia e HbA_{1c} parece ser ainda mais complexa devido aos vários níveis diferentes de sensibilidade à insulina que estes pacientes apresentam. Em geral, os níveis glicêmicos apresentam uma correlação menor com a HbA_{1c} nos pacientes com DM tipo 2 do que em pacientes com DM tipo 1, podendo trazer assim maior dificuldade para avaliação das variações dos níveis glicêmicos e monitoramento de pacientes com DM tipo 2.⁽⁷⁾

O objetivo deste trabalho foi avaliar os valores de glicemia de jejum e HbA_{1c} dos pacientes com DM tipo 2, correlacionando as dosagens de glicemia de jejum com os valores de HbA_{1c} nesses pacientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização e recrutamento da amostra

Foram selecionados 360 pacientes com diagnóstico de DM do tipo 2, de ambos os sexos e que faziam seu controle glicêmico (glicemia de jejum e HbA_{1c}) no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados (HU-UFGD) de Dourados-MS. Os pacientes foram orientados sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN) número 160/07. Os pacientes foram divididos

em quatro grupos: grupo 1 – com HbA_{1c} e glicemia de jejum dentro dos valores de referência; grupo 2 – HbA_{1c} dentro dos valores de referência e glicemia de jejum acima dos valores de referência; grupo 3 – HbA_{1c} acima dos valores de referência e glicemia de jejum dentro dos valores de referência; e grupo 4 com HbA_{1c} e glicemia de jejum acima dos valores de referência.

Coleta do material

Foram analisadas amostras de sangue obtidas de pacientes em jejum de 10 horas, sendo coletados, através de punção venosa de veia cubital, aproximadamente 5 mL de sangue total em tubos a vácuo, contendo anticoagulante EDTA, e tubo sem anticoagulante para separação do soro humano. A glicemia e a HbA_{1c} foram dosadas em equipamento automatizado Metrolab 2300 plus da marca Wiener. A HbA_{1c} foi doseada pela metodologia de imunoturbidimetria (método certificado pelo NGSP) e a glicemia pela metodologia enzimática colorimétrica de ponto final, ambos os kits comerciais da marca Gold Analisa, sendo considerado como ponto de corte entre valores normais a alterados o valor de 7,3% para a HbA_{1c} (valor de referência: Bom controle – 6,7% a 7,3%; Controle regular – 7,4% a 9,1%; Controle ruim \geq 9,1%) e para a glicemia (valor de referência: 65 mg/dL a <100 mg/dL). Como os pacientes neste estudo não foram separados por idade, por complicações associadas e não sabemos qual o alvo de tratamento da HbA_{1c} que o médico adotou para o tratamento destes pacientes, optou-se por manter os valores sugeridos pelo Kit para o bom controle glicêmico.

Análise estatística

Os dados encontrados apresentaram distribuição normal, foram expressos por média \pm desvio padrão, sendo utilizados os testes de qui-quadrado (χ^2), Teste T de Student e Correlação de Pearson. Na avaliação, os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 360 pacientes analisados, 15 apresentaram HbA_{1c} e glicemia de jejum dentro dos valores de referência (grupo 1); 3 apresentaram HbA_{1c} dentro dos valores de referência e glicemia de jejum acima dos valores de referência (grupo 2); 65 apresentaram resultados com HbA_{1c} acima dos valores de referência e glicemia de jejum dentro dos valores de referência (grupo 3) e, por fim, 277 (a grande maioria) apresentaram HbA_{1c} e glicemia de jejum acima dos valores de referência (grupo 4). Estes resultados indicam que a maioria dos pacientes que apresentaram glicemia alterada também apresentam a HbA_{1c} elevada, indicando com isso uma relação direta entre a

hiperglicemia e o aumento da glicação da hemoglobina. Provavelmente, os três pacientes do grupo 2 que apresentaram um glicemia elevada (106, 102 e 102 mg/dL), com HbA_{1c} dentro dos valores de referência, tinham um diagnóstico precoce e um quadro de diabetes muito inicial; isso se deve pelo fato de estes pacientes apresentarem ainda algum controle glicêmico, não havendo uma glicação substancial da hemoglobina destes pacientes. Comprova-se assim que a HbA_{1c} dentro dos valores de referência raramente ocorre em pacientes com a glicemia acima dos valores de referência e, quando isso ocorre, estes valores são bem próximos aos limites de referência, como nestes casos.

Já o quadro inverso, com HbA_{1c} elevada e glicemia de jejum normal, é relativamente comum e foi apresentado por 65 pacientes, cerca de 18,1% da amostra, seguindo as regras sugeridas pela ADA,⁽⁸⁾ onde a HbA_{1c} elevada deve ser usada como diagnóstico para a diabetes, e estes pacientes já seriam considerados diabéticos. Na prática, infelizmente, a maioria dos pedidos médicos de rotina solicita apenas a glicemia de jejum para o diagnóstico de diabetes, não há inclusão da HbA_{1c} para o diagnóstico; ela é solicitada, na nossa realidade laboratorial, apenas para os pacientes já diagnosticados, para o controle do tratamento. Esta falta de solicitação da HbA_{1c} faz com que não sejam diagnosticados 18,1% dos pacientes avaliados, o que representa uma perda muito grande para estes pacientes que deveriam ter sido diagnosticados como diabéticos, mas acabaram sendo considerados normoglicêmicos. As consequências do diagnóstico tardio para estes pacientes é um atraso no início do tratamento para a DM e o surgimento de várias complicações associadas à doença, tais como: cetoacidose diabética, quadros de hiperglicemia severos, microlesões vasculares, neuropatia, nefropatia e retinopatia, trazendo assim graves sequelas para estes pacientes no futuro.

Estes pacientes apresentam um controle parcial da sua glicemia durante os momentos de jejum, que é quando realizamos os exames laboratoriais para verificar o controle de sua glicemia, mas é durante os momentos de ingestão de alimentos que estes pacientes apresentam seus picos muito altos de glicemia, promovendo uma maior glicação da hemoglobina durante estes períodos, levando assim a valores de HbA_{1c} acima dos valores de referência mesmo com valores de glicemia de jejum normais. Como o tempo de meia vida de uma hemácia é cerca de 120 dias, só haverá alterações na glicação da hemoglobina meses após o início do aumento da glicemia destes pacientes. Elevações da HbA_{1c} com glicemia de jejum normal indicam um descontrole da glicemia de longa data nestes pacientes.

Ao se utilizar o teste de qui-quadrado para verificar a associação entre as duas variáveis (glicemia de jejum e

HbA_{1c}), chegou-se a um valor estatisticamente significativo ($\chi^2 = 86,5$; $p < 0,001$), o que indica a rejeição de H₀ (não há relação entre a glicemia e a HbA_{1c}), aceitando H₁, onde existe uma associação forte entre glicemia de jejum e HbA_{1c}.

Os valores de glicemia de jejum dos pacientes com valores normais diferem estatisticamente dos valores de glicemia alterada (Figura 1). Os 80 pacientes com glicemia considerada normal (média $81,1 \pm 12,2$ mg/dL; mediana 82 mg/dL) apresentam um valor médio de HbA_{1c} de $8,1 \pm 0,97\%$ (mediana 8%). Pelos valores de glicemia, estes pacientes não seriam diagnosticados como pacientes diabéticos, mas, ao se utilizar a HbA_{1c} como parâmetro para diagnósticos, estes pacientes já seriam considerados diabéticos. Considerando o cálculo sugerido pela ADA para chegar a uma glicemia média, os valores de 8,1% de HbA_{1c} destes pacientes sugeririam um valor médio de glicemia de aproximadamente 185,7 mg/dL, valor este muito próximo dos valores médios de glicemia de jejum encontrados nos outros 280 pacientes que apresentaram glicemias alteradas (média $171,3 \pm 59,1$ mg/dL; mediana 154 mg/dL). Nossos dados são corroborados pelos valores encontrados em estudos realizados pela ADA,⁽⁸⁾ mostrando que este padrão se repete no mundo inteiro.

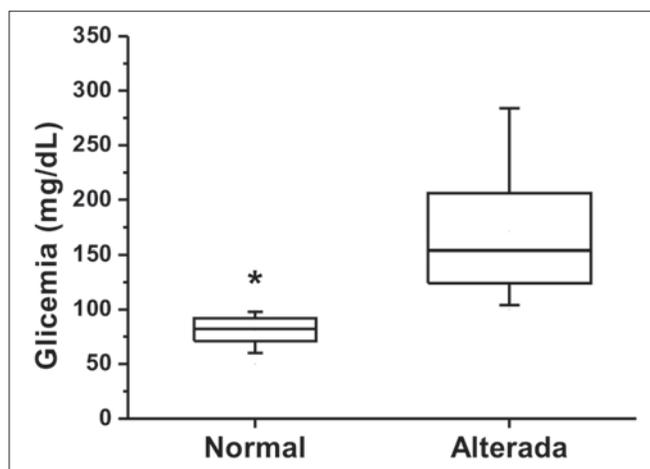


Figura 1. Valores da dosagem de glicemia de jejum dos pacientes com DM do tipo 2. Médias \pm desvio padrão. * $p < 0,05$ (percentil 25%, 75%).

Também é importante frisar que, dentre os pacientes com glicemias consideradas normais, 12 pacientes (15%) apresentaram valores compatíveis com um quadro de hipoglicemia e, destes 12 pacientes, 8 (10%) apresentaram eventos hipoglicêmicos e ainda assim apresentaram suas HbA_{1c} acima do valor de referência estabelecido pela ADA. Este quadro é preocupante não só devido às graves consequências da hipoglicemia para os pacientes, como quedas, acidentes e diminuição da capacidade cognitiva, podendo também mascarar o diagnóstico de um paciente

diabético. Já os pacientes com hiperglicemia apresentaram uma ampla variação dos seus valores como pode ser observado na Figura 1, sendo que 83 destes pacientes apresentaram glicemias acima de 200 mg/dL, o que indica um possível quadro de diabetes descompensado ou falta de adesão destes pacientes ao tratamento.

De acordo com Gross et al.,⁽¹¹⁾ quando os pacientes são diagnosticados com o diabetes, estes iniciam diversas modalidades de tratamento para corrigir a hiperglicemia, procurando atingir o melhor controle metabólico possível, isto é, níveis de glicose em jejum < 100 mg/dL ou HbA_{1c} (7% a 8%), que deve ser o limite máximo estabelecido pelo seu médico. Devido a isso, estes pacientes se submetem a intervenções terapêuticas, como o uso de hipoglicemiantes orais, insulino terapia, e até mesmo dietas muito rigorosas; conseqüentemente, até a adequação destes tratamentos para a realidade de cada paciente podem surgir situações que podem levar a quadros de hipoglicemia.

Cipriano⁽¹²⁾ cita que pacientes que tenham glicemia de jejum > 100 e < 126 mg/dL já apresentam um quadro de intolerância à glicose, podendo ser considerados como pré-diabéticos, e esta definição está de acordo com as orientações dadas pela ADA.

Apesar deste critério diagnóstico, estes pacientes são considerados saudáveis e passaram a ter uma condição de pré-diabetes, condição que, na maioria das vezes, precede o diabetes e geralmente não causa sintomas. Existem evidências de que mesmo antes da doença se manifestar por completo, tanto nas alterações da glicemia ou pelos sintomas característicos, já ocorrem lesões microvasculares nos indivíduos pré-diabéticos, elevando seus riscos cardiovasculares. Então, conhecendo estes riscos, tanto o médico quanto o paciente podem se empenhar no tratamento do pré-diabetes, tomando medidas preventivas para que essa condição não evolua. Estas medidas são de baixo custo, geralmente envolvem uma dieta adequada e balanceada, perda de peso e exercícios físicos regularmente.⁽¹³⁾

Na dosagem da HbA_{1c}, 18 pacientes apresentaram valores dentro das metas terapêuticas de HbA_{1c}, sendo o valor médio de $6,76 \pm 0,5\%$ (mediana 7%), com uma tendência a valores inferiores (Figura 2); já os 342 pacientes que apresentaram HbA_{1c} acima dos valores terapêuticos obtiveram uma média de $9,25 \pm 1,28\%$ (mediana 9%), com uma nítida tendência a valores elevados (Figura 2). Os valores de HbA_{1c} encontrados no nosso estudo foram semelhantes aos valores encontrados no estudo citado por Galizzi,⁽¹⁴⁾ que, com 100 pacientes normais e diabéticos, encontrou a taxa percentual de 6,86% de HbA_{1c} em pacientes normais, semelhante aos valores encontrados em nossos pacientes com a HbA_{1c} controlada; já em 47 diabéticos do tipo 2, os índices foram 10,9%, também próxi-

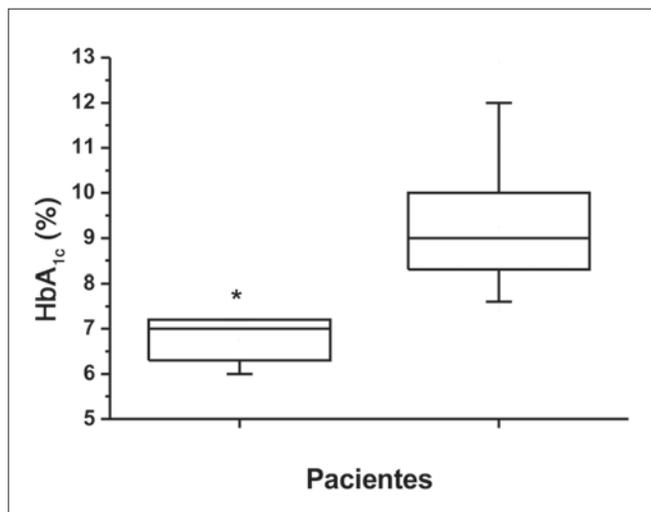


Figura 2. Avaliação da hemoglobina glicada dos pacientes com DM do tipo 2. Médias \pm desvio padrão. * $p < 0,05$ (percentil 25%, 75%).

mos aos valores encontrados em nossos pacientes diabéticos do tipo 2 com HbA_{1c} alterada (9,25 \pm 1,28%).

Baseados em dados do DDCT e UKPDS, recomenda-se atingir valores de HbA_{1c} menores que 7%. Este foi o valor alcançado pelos pacientes tratados intensivamente nos ensaios clínicos e no qual há uma diminuição considerável das complicações crônicas da doença. A ADA recomenda que medidas terapêuticas adicionais devem ser implantadas quando os valores de HbA_{1c} excederem 8%. Devido a essa última recomendação, muitos clínicos não tratam os pacientes com diabetes tão intensamente como deveriam, e deixam para intensificar o controle glicêmico só quando os valores de HbA_{1c} destes pacientes são maiores que 8%. Como os valores de HbA_{1c} encontrados nos nossos pacientes (9,25 \pm 1,28%) estão bem acima da meta de 7% preconizada, isso sugere uma falha no tratamento destes pacientes, seja por parte do clínico, seja por falta de adesão do paciente.⁽⁷⁾

Na tentativa de correlacionar os valores de glicemia de jejum com os valores de HbA_{1c}, foi utilizada a Correlação de Pearson (Figura 3), onde se observa uma correlação forte ($r = 0,7886$) entre estes dois parâmetros. Nossos resultados foram semelhantes àqueles encontrados por Rohlfing et al.,⁽¹⁵⁾ que encontraram uma correlação de ($r = 0,69$); já Sartori et al.⁽¹⁶⁾ encontraram uma correlação bem menor ($r = 0,55$) entre a glicemia de jejum e a HbA_{1c}. Uma explicação para a baixa correlação da glicemia de jejum com a HbA_{1c} pode ser o tamanho amostral deste estudo – 53 pacientes – versus 360, em nosso estudo. Esta correlação forte entre a glicemia de jejum e a HbA_{1c} só reforça a necessidade de incluirmos a dosagem da HbA_{1c} no *screening* para o diagnóstico de diabetes e que a alteração da HbA_{1c} deve ser utilizada para o diagnóstico dos pacientes.

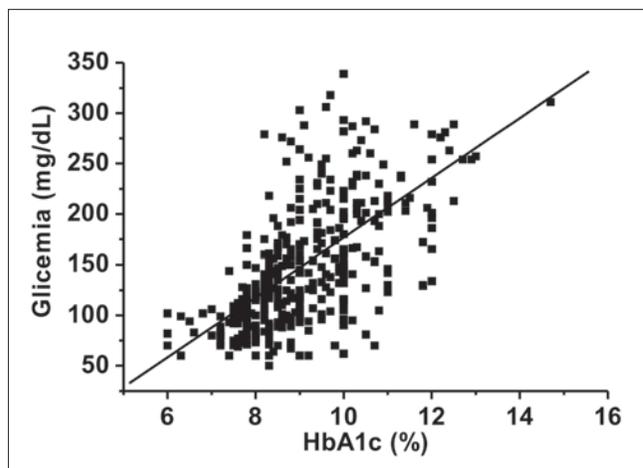


Figura 3. Correlação da glicemia sanguínea com a hemoglobina glicada dos pacientes diabéticos; $r = 0,7886$ (Correlação de Pearson).

CONCLUSÕES

O diabetes é considerada uma pandemia acometendo um grande número de indivíduos de qualquer condição socioeconômica, configurando-se como problema de saúde pública, de alta relevância, visto que sua incidência e prevalência vem aumentando expressivamente nos últimos anos. No nosso estudo ficou bem claro que a glicemia de jejum está diretamente associadas com a HbA_{1c} imprescindível no diagnóstico do paciente diabético, pois sua inclusão nos pedidos de exame de rotina podem permitir o diagnóstico de 18,1% dos pacientes avaliados que, sem a HbA_{1c}, ficariam sem diagnóstico. Neste sentido, deve-se recomendar sempre a solicitação destes dois exames para o diagnóstico dos pacientes suspeitos de serem diabéticos e não só solicitar estes exames para o acompanhamento do tratamento dos pacientes já diagnosticados, adotando dosagens periódicas de glicemia de jejum e HbA_{1c} na população em geral, melhorando assim os índices de diagnóstico e propiciando um tratamento precoce para estes indivíduos.

Agradecimentos

À equipe de pesquisa do Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN, que, em conjunto com os profissionais do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, possibilitou a realização deste trabalho.

Abstract

Fasting glucose is the most widely used method for diagnosing diabetes and HbA_{1c} to evaluation of patient's glycemic control. The aim of this study was to correlate the fasting glycemia with HbA_{1c} values. Were evaluated 360 patients treated at the Clinical Laboratory of the University Hospital of Dourados-MS. The fasting glucose and HbA_{1c} were analyzed in automated equipment Metrolab 2300 plus (Wiener). HbA_{1c} was

assayed by immunoturbidimetric methodology (method certified by NGSP). Patients were divided into: Group 1 – with HbA_{1c} and fasting glucose levels inside the reference values; Group 2 – HbA_{1c} within the reference values and fasting glucose above the reference values; Group 3 – HbA_{1c} above the reference values and fasting glucose levels inside the reference values; and group 4 with HbA_{1c} and fasting glucose levels above the reference values. In the patients studied, 80 patients have normal glucose (81,1 ± 12,2 mg/dL); 277 patients had altered glucose levels (171,3 ± 59,1 mg/dL); 18 patients had HbA_{1c} inside the therapeutic range (6,76 ± 0,5%) and 342 patients had HbA_{1c} above the reference values (9,25 ± 1,28%). Fasting glucose and HbA_{1c} showed a high correlation ($r = 0.7886$) and HbA_{1c} should be used in the diagnosis of diabetic patients because it allows expanding the diagnosis of patients in 18%, and this result is a determining factor in medical management for these individuals.

Keywords

Diabetes; glycated hemoglobin; fasting glycemia; glycemic control

14. Galizzi J. Métodos de laboratório aplicados à clínica: Técnica e interpretação. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
15. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA_{1c}. Analysis of glucose profiles and HbA_{1c} in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2002;25(2):275-8.
16. Sartori MS, Aragon FF, Padovani CR, Pimenta Wde P. Contribution of post-breakfast plasma glucose to the glycemic control of type 2 diabetic patients. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006;50(1):53-9.

Correspondência

Wanderlei Onofre Schmitz

Rua Ranulfo Saldivar, 458 - Parque Alvorada

79823-420 – Dourados - MS, Brasi.

Telefone para contato: (67) 3426-7442 ou (67) 8114-4110

e-mail- wandererita@ig.com.br

REFERÊNCIAS

1. Gross JL, Ferreira SRG, Oliveira JE. Glicemia pós-prandial. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003;47(6):728-38.
2. Picheth G. Hemoglobina glicada (HbA_{1c}): O que você precisa saber. *Laes & Haes*, 1, (123), 90-108, 2000.
3. Sumita NM, Mendes ME, Sobreiro Junior IF. Papel do HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) para dosagem da hemoglobina glicada no controle do Diabetes mellitus. *Neswlab*, 57, 2003.
4. Bem AF, Kunde J. A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do diabetes mellitus. *J Bras Patol Med Lab*. 2006;42(3):185-91.
5. Rodrigues TC, Lima MHM, Nozawa MR. O controle do Diabetes Mellitus em usuários de uma unidade básica de saúde, Campinas, SP. *Cienc. cuid. saúde*. , 5 (1);41-49, 2006.
6. Fischbach, F. Manual de enfermagem: exames laboratoriais e diagnósticos. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
7. Camargo JL, Gross JL. Glycohemoglobin (GHb): clinical and analytical aspects. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004 Aug;48(4):451-6. [Article in Portuguese].
8. American Diabetes Association (ADA) Standards of Medical Care in Diabetes-2010 *Diabetes Care*. 2010 Jan; 33(Suppl 1): S11–S61. Corrigido em: *Diabetes Care*. 2010 March; 33(3): 692.
9. Gomes MB, Portavales MO, Faria AM, Guerra KR, Cunha EF, Clemente ELS. Variabilidade intra-individual do controle glicêmico em pacientes com diabetes tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 578-583, Oct. 2003. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000500012&lng=en&nrm=iso>. access on 04 June 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302003000500012>.
10. Sumita NM, Andriolo A. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. *J Bras Patol Med. Lab.* [online]. 2008;44(3):169-74. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442008000300003&lng=en&nrm=iso>
11. Gross JL, Silveiro SP, Camargo JL, Reichelt AJ, Azevedo MJ. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. *Arq Bras Endocrinol Metab* [Internet]. 2002;46(1):16-26. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302002000100004&lng=en.
12. Cipriano DO, Lima HV, Souza AAS, Silva MCFC, Santos ACO. Frequência de indivíduos com intolerância à glicose de jejum em um hospital universitário: comparação de critérios diagnósticos. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [online]. 2006;42(6):419-23. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442006000600003&lng=en.
13. American Diabetes Association (ADA). Standards of Medical Care in Diabetes - 2015. *Diabetes Care*. 2015;38(1):01-93.

Respostas nos lípides e nas lipoproteínas séricas ao aconselhamento nutricional exclusivo para indivíduos dislipidêmicos

Lipid and lipoprotein impact after exclusive nutritional counseling in dyslipidemic individuals

Harumi Kinchoku¹

Vera Castanho²

Eliana Cotta de Faria³

Resumo

O objetivo foi avaliar os efeitos do aconselhamento nutricional individual sobre lípides e lipoproteínas séricas em indivíduos dislipidêmicos após 3, 6 e 12 meses de tratamento exclusivamente dietético. Participaram 129 pacientes do Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas/ Unicamp, sem uso de fármaco hipolipemiante. Os participantes foram classificados em três grupos de acordo com o tempo de seguimento nutricional (3, 6 ou 12 meses). Foram orientados quanto a restrição de gorduras saturadas ($\leq 7\%$) e colesterol (≤ 200 mg/dia) na dieta. Na hipertrigliceridemia, os carboidratos simples e o consumo de bebidas alcoólicas foram restritos. A análise estatística mostrou redução de 16% para o colesterol total e 19% para o colesterol não HDL, após 3 meses de orientação dietética. Com 6 meses, houve redução de 13% para o colesterol, 30% para os triglicérides, 9% para o LDL colesterol e 17% para o colesterol não HDL. Após 12 meses, houve queda de 14% para o colesterol e 27% para os triglicérides. Não houve diferenças nas respostas do perfil lipídico e das lipoproteínas quando se compararam os grupos estudados. Foram observados resultados favoráveis no perfil lipídico com aconselhamento nutricional individual a partir de três meses de seguimento dietético. O tempo do aconselhamento não influenciou a resposta dos lípides e lipoproteínas séricas.

Palavras-chave

Aconselhamento nutricional; dislipidemias; dieta

INTRODUÇÃO

No Brasil, a doença cardiovascular (DCV) é considerada a principal causa de mortalidade e a segunda causa de internação no Sistema Único de Saúde.⁽¹⁾

Entre os mais importantes fatores de risco para a aterosclerose estão as dislipidemias, que representam o aumento ou diminuição das lipoproteínas plasmáticas, envolvidas direta e indiretamente, por vários mecanismos, no processo aterotrombótico.⁽²⁾

Vários são os mecanismos em que os componentes da dieta influenciam as concentrações de lípides e lipoproteínas plasmáticos.

O colesterol da dieta altera as concentrações plasmáticas de lipoproteínas, devido à baixa regulação da atividade dos receptores de LDL (lipoproteína de baixa densidade) das superfícies celulares, diminui a remoção de LDL e

de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) plasmáticas e aumenta a velocidade da conversão de VLDL para LDL.⁽³⁾

A gordura saturada com exceção do ácido esteárico aumenta a concentração sérica de LDL-C (colesterol de LDL), por reduzir a síntese e a atividade dos receptores de LDL, pela diminuição da expressão de RNA mensageiro e da fluidez da membrana, reduzindo a remoção de LDL da circulação. Por outro lado, a gordura trans aumenta a concentração de LDL-C e têm o inconveniente de reduzir as concentrações de HDL-C (colesterol de HDL).⁽⁴⁾

Diets com altas concentrações de carboidratos e álcool, podem causar ou agravar a hipertrigliceridemia, pelo aumento da síntese hepática de triglicérides e da produção de VLDL bem como pela redução no catabolismo das lipoproteínas ricas em triglicérides.⁽⁵⁾

A modificação da dieta é uma das primeiras medidas no controle de fatores de risco para a doença arterial

¹Divisão de Nutrição e Dietética do Hospital de Clínicas da Unicamp - Cidade Universitária - Zeferino Vaz s/n - Campinas-SP, Brasil

²Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas, Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas - Unicamp - Campinas-SP, Brasil

Artigo elaborado a partir da dissertação de tese de mestrado de Harumi Kinchoku intitulada: "Efeitos do aconselhamento nutricional em pacientes dislipidêmicos segundo sexo, idade e tempo de tratamento", 2007, Unicamp.

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - Unicamp - Campinas-SP, Brasil

Artigo recebido em 09/02/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

coronariana aterosclerótica (DAC). A terapia nutricional tem como objetivos reduzir as concentrações elevadas de colesterol total (C), lipoproteínas de baixa densidade e triglicérides (TG), assim como aumentar as concentrações de lipoproteínas de alta densidade.^(2,6)

As recomendações nutricionais para o tratamento das dislipidemias indicados pela III Diretriz sobre Dislipidemias do NCEP (National Cholesterol Education Program)⁽⁶⁾ incluem entre outras medidas, a restrição de gorduras saturadas $\leq 7\%$ e colesterol $\leq 200\text{mg}/\text{dia}$ para a hipercolesterolemia; a restrição da ingestão de álcool e de quantidades excessivas de carboidratos ($>60\%$), dos açúcares simples e da quantidade de gorduras para a hipertrigliceridemia.⁽⁷⁾

O National Cholesterol Education Program⁽⁶⁾ recomenda a dieta como tratamento exclusivo para os indivíduos que apresentam baixo risco de DCV, durante período de 3 a 6 meses, antes de iniciar a terapia medicamentosa.

No Brasil há poucos estudos que avaliam a eficácia do tratamento dietético em indivíduos dislipidêmicos.^(8,9) O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do aconselhamento nutricional exclusivo nos lípides e lipoproteínas plasmáticas, após 3, 6 ou 12 meses em 129 indivíduos atendidos no Ambulatório de Dislipidemias de um Hospital Público Universitário do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com 129 indivíduos, 56 do sexo masculino e 73 do sexo feminino, com idades entre 20 e 73 anos, atendidos no Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas (HC) da Unicamp, encaminhados para acompanhamento nutricional e orientação para implantação de melhores hábitos no estilo de vida, na Divisão de Nutrição do HC.

O critério de exclusão adotado foi o uso de medicação hipolipemiante por, no mínimo, 30 dias antes e/ou durante o período de aconselhamento nutricional. Outras medicações utilizadas pelos mesmos foram mantidas.

As amostras de sangue foram coletadas pela manhã após jejum de 12 horas, com ausência de atividade física intensa nas últimas 24 horas. As análises bioquímicas foram realizadas na Seção de Bioquímica Clínica do Hospital de Clínicas da Unicamp em um sistema automatizado, utilizando métodos enzimáticos colorimétricos. O LDL-C foi estimado pela equação de Friedewald,⁽¹⁰⁾ para valores de TG abaixo de $400\text{mg}/\text{dL}$. O colesterol não-HDL (NHDL-C) foi obtido utilizando-se a seguinte fórmula: $C - \text{HDL-C} = \text{NHDL-C}$.⁽⁶⁾

Os valores de referência para o diagnóstico das dislipidemias foram baseados na V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias⁽¹¹⁾ que define os seguintes critérios: hipercolesterolemia isolada (LDL-C $\geq 160\text{mg}/\text{dl}$), hipertrigliceridemia isolada (TG $\geq 150\text{mg}/\text{dL}$), hiperlipidemia mista

(LDL-C $\geq 160\text{mg}/\text{dL}$ e TG $\geq 150\text{mg}/\text{dL}$) e para HDL-C baixo (homens HDL-C $<40\text{mg}/\text{dL}$ e mulheres $<50\text{mg}/\text{dL}$) isolada ou em associação a aumento de LDL-C ou de TG que está distribuída nos três tipos anteriores de dislipidemias.

Os fatores de risco para a DAC, além da dislipidemia, foram definidos como: idade (≥ 45 homens e ≥ 55 mulheres), hipertensão arterial (pressão arterial $\geq 140:90\text{mmHg}$), diabetes mellitus (glicemia de jejum $\geq 126\text{mg}/\text{dL}$), a presença de tabagismo independente do número de cigarros consumidos e a presença de história familiar prematura de DCV em parentes de primeiro grau (<55 anos em homens e <65 anos em mulheres).

Para a classificação do estado nutricional foi utilizado o índice de massa corpórea (IMC = peso/altura²), e para identificar a presença de risco para desenvolvimento de doenças metabólicas, a medida da circunferência da cintura (CC).^(12,13)

Os participantes foram classificados em três grupos de acordo com o tempo de seguimento nutricional: grupo 3, n=24, 3 meses de acompanhamento; grupo 6 (6 meses), n=62 e grupo 12 (12 meses), n=43.

A história dietética foi obtida utilizando-se o recordatório alimentar de 24 horas que incluiu informações sobre o consumo e o preparo dos alimentos.⁽¹⁴⁾

As orientações foram realizadas após avaliação quantitativa e qualitativa da anamnese alimentar e consistiram em adequar o consumo de calorias das gorduras totais, em especial as gorduras saturadas ($\leq 7\%$ das calorias totais) e a ingestão do colesterol ($\leq 200\text{mg}/\text{dia}$). A ingestão de fibras e os demais nutrientes foi orientada de acordo com o tipo de dislipidemia e a presença de outras patologias. Os participantes também receberam orientações quanto à seleção, técnica de preparo, quantidade de alimentos e possíveis substitutos.

Nos casos de hipertrigliceridemia, o consumo de carboidratos simples e de bebidas alcoólicas foi restrito e nos casos de concentrações acima de $300\text{mg}/\text{dL}$, o consumo de gorduras totais também foi reduzido ($<20\%$ do VET). Na hiperlipidemia mista foram recomendadas ambas as orientações.⁽¹¹⁾

A prescrição dietética foi individualizada de acordo com a necessidade do participante, sendo que aqueles que apresentavam excesso de peso (80% do total dos pacientes estudados) foi orientado dieta hipocalórica com restrição gradativa das calorias.⁽¹⁵⁾

A adesão à orientação nutricional foi avaliada por meio de entrevista, na qual o participante foi questionado quanto ao seguimento do plano alimentar, dificuldades e dúvidas apresentadas; pela variação nas concentrações séricas de lípides e lipoproteínas plasmáticas comparando-se os resultados de exames laboratoriais no momento da entrevista com os iniciais, além do acompanhamento dos parâmetros antropométricos (peso e IMC).

O seguimento clínico e nutricional foi realizado com no mínimo duas e no máximo três consultas. A primeira consulta ocorreu com trinta a noventa dias após a intervenção nutricional. A frequência e o intervalo entre as demais consultas foram estabelecidos de acordo com a resposta à orientação nutricional e à gravidade da dislipidemia.

O estudo foi aprovado pelo comite de etica e pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, sendo o número do protocolo 647/2005.

Análises estatísticas

Para a análise estatística foi utilizado o programa SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 6.12. Utilizaram-se os testes Wilcoxon, Qui-quadrado, teste Exato de Fischer, Kruskal-Wallis com pós-teste Dunn, Friedman e análise de covariância (Ancova).

O nível de significância adotado foi de 5% com valores limítrofes de $p > 5$ e $< 10\%$.

RESULTADOS

As características clínicas, antropométricas e o perfil de lipídeos e lipoproteínas plasmáticas iniciais dos participantes foram semelhantes nos três grupos (Tabela 1).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores iniciais, finais e o percentual de alteração de lipídeos e lipoproteínas com a correção para variações do peso corporal.

Quando os valores iniciais e finais foram comparados, observou-se, no grupo 3, uma redução de 16% para o C e 19% para o NHDL-C. Já no grupo 6, 13% para o C, 30% para o TG, 9% para o LDL-C e 17% para o NHDL-C. O grupo 12 mostrou queda de 14% para o C e 27% para o TG (Tabela 2).

Na comparação entre os grupos, a magnitude da resposta do C (16%) e do TG (30%) foi maior com três meses de acompanhamento. Aos seis meses, o LDL-C (9%) e o VLDL-C (23%) apresentaram maior magnitude e, aos 12 meses, o HDL-C (4%) teve melhor resposta.

Não foram observadas diferenças significativas quando se comparou a resposta do perfil lipídico e das lipoproteínas entre os três grupos (Tabela 2).

A frequência média de consultas com a nutricionista no grupo 3 (duas consultas) foi menor em relação aos grupos 6 e 12 (três consultas, $p < 0.0001$). Observou-se também uma importante redução no peso corpóreo dos participantes que apresentavam sobrepeso ou obesidade embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa em todos os grupos (Tabela 2).

Tabela 1. Características clínicas dos participantes

Grupos	Grupo 3*	Grupo 6*	Grupo 12*
Variáveis	(n=24)	(n=62)	(n=43)
Sexo (M/F)	10/14	29/33	17/28
Idade (anos)	50±9	42±12	50±10
CC (cm)	95±13	92±13	89±14
Hipercolesterolemia (%)	17	22	32
Hipertrigliceridemia (%)	8	13	9
Hiperlipidemia Mista (%)	75	64	56
HDL-C baixo (%)	37	45	28
Hipertensão Arterial (%)	46	39	35
Diabete Melito (%)	8	10	16
AF <55a M e <65a F (%)	8	10	9
Idade ≥ 45a M ≥ 55a F (%)	50	47	47
Tabagismo (%)	16	13	11

*Grupos 3, 6 ou 12 meses de dieta; dados como média±DP, CC (circunferência da cintura), AF (antecedente familiar precoce de DAC), Hipercolesterolemia (colesterol ≥ 160 mg/dL), Hipertrigliceridemia (triglicérides ≥ 150 mg/dL), Hiperlipidemia Mista (colesterol ≥ 160 mg/dL e triglicérides ≥ 150 mg/dL), HDL-C baixo (HDL-C <40 mg/dL para homens e <50 para mulheres) expressos em (%). *testes estatísticos = Kruskal-Wallis e Post-hoc Dunn: $p \geq 0,05$.

Tabela 2 - Parâmetros antropométricos e bioquímicos iniciais e após orientação dietética exclusiva

Grupos	Grupo 3			Grupo 6			Grupo 12		
	inicial	final	diferença	inicial	final	diferença	inicial	final	diferença
Peso (kg)	80±16	76±16	-4±4	75 14	73 14	-4±5	74±16	71±16	3±4
IMC	29±4	28±4	-4±4	28±5	28±5	-4±5	28±4	27±4	-4±5
C total (mg/dl)	273 ±59	228±60 ^a	-16±13	260 ±53	221±44 ^d	-13±14	263 ±40	222±34 ⁱ	-14±12 ^{1,3}
TG (mg/dl)	444 ±357	213±118	-35±34	369 ±303	208±133 ^e	-30±34 ¹	312 ±28 ¹	188±155 ^j	-27±35 ¹
LDL-C (mg/dl)	184 ±73	145±63 ^b	-0,1±40	155 ±60	137±44 ^f	-9±36	166 ±55	141±34	-1,5±56
HDL-C (mg/dl)	45±17	51±38	-1±17	45 ±16	45±16	3±24	52 ±17	52±23	4±29
NHDL-C (mg/dl)	236±55	180±57 ^c	-19±16	216 ±49	176±41 ^g	17±16 ^{1,2}	214 ±39	176±43 ^l	-15±17 ^{1,2}
VLDL-C (mg/dl)	40±18	37±17	-9±30	45 ±20	35±17 ^h	-23±30	35 ±17	29±17 ^m	-20±35

Grupos 3, 6 ou 12 meses de dieta; dados como média ± DP; colesterol total (C), triglicérides (TG), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), não HDL colesterol (NHDL-C), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C); * testes estatísticos Kruskal-Wallis e Post-hoc com Dunn; $p \geq 0,05$ para todas as variáveis; Wilcoxon com ajuste para diferenças % peso (Ancova) para diferença entre o valor inicial e final: $p < 0.001$ para C (a), $p < 0.03$ para LDL-C (b), $p < 0.004$ para NHDL-C (c) para o grupo 3; $p < 0.001$ para C (d), TG (e), NHDL-C (g), VLDL-C (h), $p < 0.04$ LDL-C (f), Grupo 6: $p < 0.001$ para C (i), TG (j), NHDL-C (l), VLDL-C (m). Friedman para comparação das diferenças percentuais de cada parâmetro entre os grupos: $p = 0.009$ (1-2) grupo 6, $p = 0.02$ (1,2); $p < 0.001$ (1,3) grupo 12

DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho brasileiro enfocando o efeito do tempo de orientação dietética exclusiva em pacientes dislipidêmicos.

O estudo demonstrou que o aconselhamento nutricional exclusivo e individualizado em portadores de dislipidemias foi efetivo na redução de lípides e lipoproteínas séricas.

Observamos que o tempo de aconselhamento nutricional não influenciou nas respostas de lípides e lipoproteínas, em acordo com estudos prévios desenvolvidos por Ammerman,⁽¹⁶⁾ que avaliou a efetividade de um programa de intervenção nutricional em uma comunidade rural, e por Jenkins,⁽¹⁷⁾ que avaliou os efeitos da dieta NCEP III acrescida de alimentos com propriedades funcionais, em hipercolesterolêmicos.

Apesar do tempo de orientação nutricional não ter influenciado nas respostas, reduções favoráveis foram observadas com três meses para o C e o TG, com seis meses para o C, o LDL-C e o TG; e com 12 meses para o C e o TG, dados corrigidos para a variação do peso corporal (Tabela 2). Além disso, após três meses, os efeitos parciais já foram observados e foi observada uma maior frequência de parâmetros responsivos significativos aos seis meses.

Observou-se também um aumento de 3% e 4% para HDL-C após seis e 12 meses, embora essas variações não tenham sido estatisticamente significativas (Tabela 2).

Este estudo mostrou semelhantes reduções nas concentrações de C em relação à metanálise de Yu-Poth et al.,⁽¹⁸⁾ que avaliaram os efeitos da intervenção da dieta passo II do NCEP sob os fatores de risco de DCV, em diferentes tempos de seguimento nutricional.

As reduções nas concentrações de C e TG após três meses de dieta foram maiores em comparação ao estudo desenvolvido por Batista,⁽¹⁰⁾ que avaliou o impacto da atenção nutricional na redução das concentrações de colesterol em pacientes atendidos em duas unidades básica de saúde da periferia de Belo Horizonte-MG.

Por outro lado, os resultados obtidos após seis meses de dieta foram semelhantes aos encontrados por Sartorelli⁽¹⁹⁾ para redução de C, por Walden⁽²⁰⁾ para redução da LDL-C, e por Jacob⁽²¹⁾ e Watts⁽²²⁾ para redução de TG (dieta hipogordurosa).

Traeden⁽²³⁾ avaliou a efetividade da intervenção nutricional em indivíduos hipercolesterolêmicos após um ano, com resultados semelhantes a este estudo na redução de C e TG.

O presente estudo reitera a importância das orientações dietéticas para os pacientes atendidos em um Ambulatório de Hospital Público Universitário as quais proporcionaram redução do colesterol em 16%, TG em 30% e LDL-C em 9%. Os resultados obtidos mostraram-se maiores em relação aos coeficientes de variação biológica para cada

parâmetro avaliado exceto para o LDL-C (C=6%, TG=23%, LDL-C=9,5%).⁽²⁴⁾

Embora a introdução da medicação hipolipemiante tenha sido necessária em cerca de 30% dos participantes, as reduções obtidas com acompanhamento dietético repercutem sobre uma menor necessidade de intervenção medicamentosa bem como na possibilidade de redução de doses no tratamento de pacientes dislipidêmicos. Este estudo reforça a necessidade de inclusão da reeducação alimentar no Sistema Único de Saúde (SUS) cujo efeito é necessário, eficaz e viável.

Recomenda-se a aplicação desta experiência terapêutica positiva em outros Serviços de Saúde uma vez que no Brasil a doença cardiovascular é a principal causa de mortalidade, morbidade e hospitalização no SUS.

Abstract

Objective: The aim of the study was to evaluate the responses of plasma lipid and lipoproteins to 3, 6, or 12 month of nutritional counseling.

Methods: One-hundred and twenty nine dyslipidemic subjects comprised the study, treated at the Dyslipidemia Outpatient Clinic of the State University Hospital of Campinas without use of lipid-lowering drug. Participants were classified into three groups according to the nutritional follow-up (3, 6 or 12 months). Were oriented about the restriction of saturated fats $\leq 7\%$ and cholesterol ≤ 200 mg/day in the diet. For hypertriglyceridemia, simple carbohydrates and alcohol beverage consumption were restricted.

Results: The statistical analysis showed 16% reduction in total cholesterol and 19% in non-HDL cholesterol, after three months of dietary guidance. With six months, there was a reduction of 13% in total cholesterol, 30% in triglycerides, 9% in LDL cholesterol and 17% in non-HDL cholesterol. After 12 months, a drop of 14% in cholesterol and 27% in triglycerides. There were no differences in the responses of serum lipids and lipoproteins when comparing the groups. Favorable results were observed in lipid profile with individual nutritional counseling from three months of dietary follow-up. **Conclusion:** Nutritional counseling time did not influenced the response of serum lipids and lipoproteins.

Keywords

Nutritional counseling; dyslipidemias; diet

REFERÊNCIAS

1. Brasil, Ministério da Saúde. Datasus [internet]. Informações de Saúde.gov.br [acesso em 2015 nov 20]. Disponível em <http://tabnet.datasus.gov.br>
2. Bertolami MA, Bertolami A. Epidemiologia das dislipidemias. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2006;1:24-30.
3. American Heart Association Nutrition Committee, Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. Circulation. 2006;114(1):82-96. Erratum in: Circulation. 2006 Dec 5;114(23):e629. Circulation. 2006 Jul 4;114(1):e27.
4. Grundy SM. Lipid Disorders. Dietary therapy of hyperlipidemia. New York: Gower Medical Publishing 1990.
5. Shaefer EJ. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. Am J Clin Nutr. 2002;75(2):191-212.
6. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285(19):2486-97.

7. Pejic RN, Lee DT. Hipertriglyceridemia. *J Am Board Fam Med.* 2006;19(3):310-6.
8. Ciorlia LAS. Dietary intervention and plasma cholesterol level in electricity workers. *Arq Bras Cardiol.* 1997;68(1):21-5. [Article in Portuguese].
9. Batista MCR, Franceschini SCC. Impacto da atenção nutricional na redução das concentrações de colesterol sérico de pacientes atendidos em serviços públicos de saúde. *Arq Bras Cardiol.* 2003;80(2):162-6.
10. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
11. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol.* 2013 Oct;101(4 Suppl 1):1-20. [Article in Portuguese].
12. World Health Organization. Preventing and managing the global epidemic report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva 1997; 3-5.
13. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity related health risk. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(3):379-84.
14. De Hoog S. Avaliação do Estado Nutricional. In: Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 9ª Edição. 1998:526-67.
15. Pi-Sunyer FX. Obesidade In: Tratado de Nutrição Moderna na Saude e na Doença. 9ª Edição. 2003:1510.
16. Ammerman AS, Keyserling TC, Atwood JR, Hosking JD, Zayed H, Krasny C. A randomized controlled trial of a public health nurse directed treatment program for rural patients with high blood cholesterol. *Prev Med.* 2003;36(3):340-51.
17. Jenkins DJ, Kendall CW, Faulkner DA, Nguyen T, Kemp T, Marchie A, et al. Assessment of the longer-term effects of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods in hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2006;83(3):582-91.
18. Yu-Poth S, Zhao G, Etherton T, Naglak M, Jonnalagadda S, Kris-Etherton PM. Effects of the National Cholesterol Education Program's Step I and Step II dietary intervention programs on cardiovascular disease risk factors. A meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999;69(4):632-46.
19. Sartorelli, DS, Sciarra EC, Franco LJ, Cardoso MA. Beneficial effects of short-term nutritional counselling at the primary health-care level among Brazilian adults. *Public Health Nutr.* 2005;8(7):820-5.
20. Walden CE, Retzlaff BM, Buck BL, McCann BS, Knopp RH. Lipoprotein lipid response to the National Cholesterol Education Program step II diet by hypercholesterolemic and combined hyperlipidemic women and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(2):375-82.
21. Jacobs B, De Angelis-Schierbaum G, Egert S, Assmann G, Kratz M. Individual serum triglyceride responses to high-fat and low-fat diets differ in men with modest and severe hypertriglyceridemia. 2004;134(6):1400-5.
22. Watts GF. Nutrition and metabolism: nutritional therapy for disordered triglyceride metabolism and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol.* 2010;21(6):545-7.
23. Traeden UI1, Holm L, Sandström B, Andersen PK, Jarden M. Effectiveness of a dietary intervention strategy in general practice: effects on blood lipids, health and well-being. *Public Health Nutr.* 1998;1(4):273-81.
24. Handbook of Lipoprotein Testing. 2nd ed, edited by Nader Rifai. American association for Clinical Chemistry, 2000.

Correspondência

Harumi Kinchoku

Rua Eurico Palazzo, 160

13087-770 – Campinas–SP, Brasil

Telefone para contato: (19) 35217238 FAX 35217569

e-mail: harumi@hc.unicamp.br

Uma comparação analítica entre dois métodos utilizados para determinação do LDL colesterol

An analytical comparison between two methods used for determining LDL cholesterol

Marcos da Costa Vieira

Resumo

O presente trabalho tem como tema uma comparação analítica entre dois métodos utilizados para determinação do LDL-colesterol, um método homogêneo direto e outro indireto estimativo utilizando a fórmula de Friedewald, com o objetivo de verificar a ocorrência de diferenças significativas entre ambos os métodos. Para sua realização, além da pesquisa bibliográfica, foi feita pesquisa laboratorial na qual foram coletados dados de 233 amostras aleatórias de pacientes que se dirigiram espontaneamente a um laboratório particular com requisição médica para realizar as dosagens de LDL-colesterol, HDL-colesterol, colesterol total e triglicérides. Na análise dos dados obtidos, encontraram-se diferenças estaticamente significativas entre as duas metodologias propostas, que se acentuam a depender dos níveis dos triglicérides e, também, do colesterol total, além da boa precisão do método direto, enquanto que o método estimativo é pouco preciso. O LDL-colesterol desempenha papel importante como marcador de risco aterogênico, sendo utilizado para avaliação e diagnóstico do risco cardíaco e estabelecimento e acompanhamento de tratamentos adequados. Para sua correta utilização é importante ter métodos laboratoriais precisos e exatos.

Palavras-chave

Colesterol; LDL; LDL direto; LDL indireto; fórmula de Friedewald

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidades no mundo. Dentre elas, destaca-se a aterosclerose, doença inflamatória ativa e crônica, que inicia na primeira década de vida, possui longo período assintomático, caracterizada por disfunção dos endotélios, processo inflamatório e obstrução progressiva da luz arterial por placas de ateroma (placas de gordura) e trombos.⁽¹⁾

Dentre as principais enfermidades provindas da aterosclerose estão o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral isquêmico. Como fatores de risco para o desenvolvimento da doença arterial coronariana encontramos fatores hereditários, a hipertensão, o diabetes, o tabagismo, a falta de atividade física, o estresse e as dislipidemias, que são alterações metabólicas das lipoproteínas circulantes decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico, ocasionando repercussão nos seus níveis séricos e tem sido demonstrada como um fator de risco importante na mortalidade por doença arterial coronariana.⁽²⁾

Nas dislipidemias, a elevação dos níveis plasmáticos de colesterol total, juntamente com um aumento da fração colesterol de baixa densidade (LDL-colesterol) e/ou redução dos níveis plasmáticos de colesterol de alta densidade (HDL-colesterol) e também o aumento de triglicérides, têm sido usados como indicadores de ateromas e, também, associados a acidente vascular cerebral. Devido à sua participação no desenvolvimento das placas ateroscleróticas, o LDL-colesterol tem uma relação direta no surgimento de doença arterial coronariana, constituindo-se assim como um dos principais marcadores de risco aterogênico.⁽³⁾ Por isso, a determinação laboratorial da fração LDL-colesterol vem sendo utilizada para avaliar o risco de doença arterial coronariana, com objetivos preventivos, diagnósticos ou para acompanhar o tratamento que se baseia na redução dessa fração.

Existem vários métodos para determinação laboratorial da fração LDL-colesterol. Devido ao baixo custo e facilidade de execução, a maioria dos laboratórios utiliza um método indireto estimativo: o cálculo pela fórmula de Friedewald. No entanto, o valor calculado do LDL-colesterol

Farmacêutico bioquímico. Pós-graduando em Análises Clínicas – Atualiza Pós-Graduação, Universidade Castelo Branco – Salvador-BA, Brasil.

Artigo apresentado à Atualiza e à Universidade Castelo Branco, como pré-requisito para obtenção do Certificado de Conclusão do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Análises Clínicas – Salvador-BA - 2011.

Instituição: Atualiza e Universidade Castelo Branco – Salvador-BA, Brasil.

Artigo recebido em 01/06/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

é baseado em uma série de pressupostos: erros metodológicos podem se acumular, pois a fórmula exige três análises separadas, ou seja, colesterol total, triglicérides e HDL-colesterol; presume-se proporção constante de colesterol e triglicérides nas partículas de VLDL.⁽⁴⁾ Esse método possui também várias restrições na sua utilização, pois não é aplicável para concentrações de triglicérides superiores a 400 mg%, em amostras contendo quilomícrons e em pacientes com hiperlipoproteinemia Tipo III.⁽⁵⁾ Por outro lado, fabricantes têm desenvolvido métodos diretos homogêneos que surgem como uma opção de determinação laboratorial da fração LDL-colesterol, de fácil execução, sem as limitações do método indireto estimativo; entretanto, certo grau de variabilidade ainda persiste nesta metodologia.⁽⁴⁾

Desta forma, o tema deste trabalho trata de um estudo comparativo entre duas metodologias utilizadas para determinação laboratorial do LDL-colesterol: um método direto homogêneo e o método indireto estimativo pela fórmula de Friedewald, que reside sua justificativa na importância da determinação laboratorial da fração LDL-colesterol para avaliação e diagnóstico correto do risco cardíaco e a determinação e acompanhamento de tratamentos adequados; portanto, a escolha de um método mais preciso e exato a ser utilizado para a determinação dos níveis sanguíneos dessa fração é de extrema significância. Assim, este trabalho teve como objetivo principal verificar a ocorrência de diferenças significativas entre os dois métodos.

Para a realização deste trabalho, além da pesquisa bibliográfica, foi feita pesquisa laboratorial onde se coletaram dados de amostras de sangue analisadas de pacientes que procuraram, espontaneamente, um laboratório de análises clínicas particular da cidade de Valença-BA, para realizar as dosagens de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides, durante o período de 06/08/2010 a 05/11/2010. Para a comparação entre os resultados obtidos pelos dois métodos utilizou-se o teste estatístico "t" pareado de Student.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A IMPORTÂNCIA DO LDL-COLESTEROL COMO MARCADOR ATEROGÊNICO

Nos países em desenvolvimento, inclusive o Brasil, as doenças cardiovasculares estão entre as principais causas de mortalidade e vêm apresentando elevações rápidas e substanciais. Persistindo essa tendência, a Organização Mundial de Saúde projeta um agravamento desse quadro de morbidade e mortalidade prevendo um quadro de epidemia de doença cardiovascular caso não sejam tomadas medidas preventivas.⁽⁶⁾

Além do tabagismo, hipertensão, diabetes, sedentarismo e obesidade, as alterações no metabolismo das lipoproteínas, ou seja, as dislipidemias, despontam como um dos mais importantes fatores de risco para doença

cardiovascular.⁽²⁾ Estudos realizados já comprovaram que a diminuição dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol está associada a uma diminuição da incidência da doença cardiovascular, e outros estudos provaram que há uma relação direta no surgimento da doença cardiovascular com elevados níveis de LDL-colesterol devido à sua participação no desenvolvimento das placas ateroscleróticas, constituindo-se assim como um dos principais marcadores de risco aterogênico.⁽³⁾

De acordo com Xavier et al.,⁽⁴⁾ a V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento da Sociedade Brasileira de Cardiologia define categorias para os valores do LDL-colesterol em ótimo abaixo de 100 mg%; desejável, entre 100 a 129 mg%; limítrofe, entre 130 a 159 mg%; alto, entre 160 a 189 mg%; e muito alto a partir de 190 mg%. Segundo Cordova et al.,⁽⁵⁾ o *National Cholesterol Education Program*,⁽⁷⁾ devido a essas faixas de valores serem estreitas estabelece critérios para a utilização de metodologias para a dosagem do LDL-colesterol, as quais devem atender a um erro analítico não maior que 12%, com imprecisão menor que 4% e inexatidão, também, menor que 4%.

Ainda de acordo Cordova et al.,⁽⁵⁾ o método usado como referência para determinar o LDL-colesterol é a ultracentrifugação, porém é de elevado custo, tornando-se inviável seu emprego na rotina laboratorial. Na prática, o que se verifica é que a maioria dos laboratórios utiliza, para a determinação do LDL-colesterol, o método indireto estimativo pela fórmula de Friedewald devido à sua facilidade e ao seu baixo custo, inclusive. No entanto, este método baseado em cálculos a partir das concentrações do colesterol total, do HDL-colesterol e dos triglicérides, apresenta várias limitações, tais como: não deve ser aplicado para concentrações de triglicérides superiores a 400 mg%, em amostras contendo quilomícrons; e em pacientes com disbeta-lipoproteinemia. E, também, de acordo com Sposito et al.,⁽⁸⁾ há imprecisão do uso da equação em pacientes com hepatopatia colestatia crônica, diabetes melito ou síndrome nefrótica.

Recentemente, fabricantes têm desenvolvido métodos diretos homogêneos para a determinação do LDL-colesterol, que, além de criarem expectativas de atender os critérios estabelecidos pelo *National Cholesterol Education Program* para a utilização de metodologias para a dosagem do LDL-colesterol, superam as limitações existentes ao utilizarem o método indireto estimativo; porém, são métodos ainda de alto custo, o que limita seu uso disseminado pelos laboratórios.⁽⁹⁾

Portanto, devido à forte associação do LDL-colesterol com doenças coronarianas e relacionado à mortalidade, é importante ter ao alcance dos laboratórios métodos mais exatos e precisos, contribuindo para evitar enganos diagnósticos e tratamentos equivocados.

MATERIAL E MÉTODOS

Os métodos de pesquisa empregadas na realização deste estudo foram da documentação indireta, através da pesquisa bibliográfica, e da documentação direta, através da pesquisa experimental.

O presente estudo avaliou 233 amostras de sangue de uma população heterogênea, de ambos os sexos, diversas idades, a partir de 10 anos de idade, com jejum em torno de 12 horas, que, no período compreendido de três meses do ano 2010, dirigiram-se espontaneamente a um laboratório particular, na cidade de Valença-BA, com solicitação médica para realização de exames de colesterol total, triglicérides, HDL colesterol, LDL colesterol. Os dados pessoais dos indivíduos foram tratados com o devido sigilo.

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa e armazenadas em tubo com gel separador, que, após coagulação completada, eram centrifugados e encaminhados para a realização dos ensaios.

Na realização dos ensaios foi utilizado o equipamento para automação Selectra Jr (Vital Scientific, Holanda). A determinação do colesterol total, triglicérides e HDL-colesterol foram realizadas com reagentes Kovalent (Alemanha). Para a determinação do LDL-colesterol, optou-se por um método homogêneo sem etapas de centrifugação para medição direta do LDL-colesterol, fabricado pela Diasys (Alemanha). Em uma primeira etapa, o LDL colesterol é selecionadamente protegido enquanto que as lipoproteínas não-LDL colesterol são enzimaticamente processadas. Em uma segunda etapa, o LDL colesterol é liberado e determinado seletivamente em uma reação enzimática de produção de cor. O HDL colesterol foi determinado, com reagentes Kovalent, por um método direto homogêneo, sem etapas de centrifugação, pelo qual complexos antígenos-anticorpo são formados com as lipoproteínas: LDL colesterol, VLDL e quilomícrons de maneira que somente o HDL colesterol é determinado seletivamente através de uma reação enzimática. O colesterol total e triglicérides foram determinados utilizando-se método enzimático fotocolorimétrico com reagentes Kovalent.

Todos os testes foram calibrados em triplicata utilizando o calibrador Topkal para o colesterol total e triglicérides e Topkal HDL/LDL específico para os respectivos testes, da empresa Kovalent. As dosagens do colesterol total e triglicérides no soro dos pacientes foram determinadas em duplicata. O equipamento Selectra Jr. foi programado utilizando-se as respectivas programações fornecidas pelo fabricante dos kits. O LDL colesterol determinado pelo método indireto estimativo foi obtido utilizando-se a fórmula de Friedwald: LDL colesterol = colesterol total - HDL colesterol - triglicérides/5.⁽¹⁰⁾

Diariamente era utilizado no equipamento um controle interno fornecido pelo Programa Nacional de Controle de

Qualidade da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, cumprindo as regras de Westgard para o gráfico de Levey-Jennings; os índices de coeficiente de variação (C.V.) obtidos durante o período do experimento atendem as recomendações do *National Cholesterol Education Program*⁽⁷⁾ respectivamente: triglicérides – 2,9%; colesterol total – 2,2%; HDL- colesterol – 3,1%; LDL- colesterol (direto) – 1,8%.

Por uma melhor acurácia, dividiram-se os resultados dos pacientes em grupos de acordo com as faixas dos valores referenciais para triglicérides e colesterol total. No caso dos triglicérides:

Grupo 1 – amostras de soro de pacientes com valores até 150 mg%; grupo 2 – amostras de soro de pacientes com valores de 151 a 200 mg%; grupo 3 – amostras de soro de pacientes com valores de 201 a 400 mg%; amostras de soro de pacientes com triglicérides acima de 400 mg% não foram incluídas visto a própria fórmula de Friedwald não recomendar sua aplicação nessa situação.

Os grupos para o colesterol total foram: grupo 1 – amostras de soro de pacientes com valores até 200 mg%; grupo 2 – amostras de soro de pacientes com valores de 201 a 239 mg%; grupo 3 – amostras de soro de pacientes com valores a partir de 240mg%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise dos resultados foram calculadas as médias e desvios padrão para todas as variáveis quantitativas, no total e de acordo com seus grupos de estudo. As comparações entre as duas medidas de LDL-c (calculado e dosado) foram feitas pelo teste 't' pareado, por tratar-se de dados dos mesmos pacientes. A associação da diferença entre essas duas medidas foi estimada pelo coeficiente de correlação de Pearson (r). Foram considerados significativos todos os testes com valores de probabilidade 5%, ou seja, P<0,05.

A Tabela 1 a seguir mostra os valores médios e desvios padrão do LDL-c calculado e dosado. Apresenta também o valor de t = 8,05, com probabilidade P< 0,001, ou seja, altamente significativo, mostrando ainda que a diferença média é 5,54 (±10,5), ou seja, os valores calculados são em média maiores que os valores dosados.

As correlações entre as duas medidas de LDL-c e entre o LDL-c calculado com triglicérides e com colesterol total são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1 - Médias, desvios padrão e respectivo teste 't'

	Média	N	Desvio Padrão	Teste t pareado
LDL-c calculado	122,43	233	38,3	t = 8,05 P < 0,001
LDL-c dosado	116,89	233	30,3	

Tabela 2 - Correlações entre LDL-c (calculado e dosado) com TG e com colesterol total

		LDL calculado	Triglicérides	Colesterol total
LDL-c dosado	r (coeficiente de correlação)	0,980	0,249	0,948
	P (probabilidade)	0,000	0,000	0,000
	N	233	233	231
LDL-c calculado	r (coeficiente de correlação)		0,166	0,952
	P (probabilidade)		0,011	0,000
	N		233	231

Pode-se observar que existe alta correlação entre as duas medidas de LDL ($r=0,98$; $P<0,001$), assim como existe correlação significativa entre as duas medidas de LDL e triglicérides e também com colesterol total.

Quando se analisa a diferença entre as duas medidas de LDL-c e se estima a correlação entre essa diferença e triglicérides, assim como com colesterol total, observa-se que não há correlação significativa com os valores de triglicérides ($r= -0,112$; $P=0,089$). Ou seja, a maior ou menor diferença entre as duas medidas não aumenta ou diminui com os valores de TG.

Por outro lado, a correlação das diferenças entre as duas medidas com o colesterol total aumenta significativamente conforme aumenta o colesterol total ($r= 0,743$; $P<0,001$). Ou seja, quanto maior o valor do colesterol total, maior será a diferença (para maior) entre as duas medidas.

A Tabela 3 mostra essas correlações e as Figuras 1 e 2 ilustram os dados de triglicérides. Como pode ser observado na Figura 2, as maiores diferenças estão no grupo entre 150 a 200 mg% e, portanto, não existe um direcionamento significativo de acordo com o valor de triglicérides.

Tabela 3 - Correlações entre as diferenças (LDL calculado e dosado) e TG e colesterol total.

	Média	Triglicérides	Colesterol total
r (coeficiente de correlação)		-0,112	0,743
P (probabilidade)		0,089	0,000

As Figuras 3 e 4 ilustram os dados das diferenças com o colesterol total, e observa-se que, nesse caso, quanto maior o valor do colesterol total, maior a diferença média entre as duas medidas de LDL-c.

A Tabela 4 mostra os valores médios e desvios padrão do LDL-c calculado e dosado, para cada grupo de

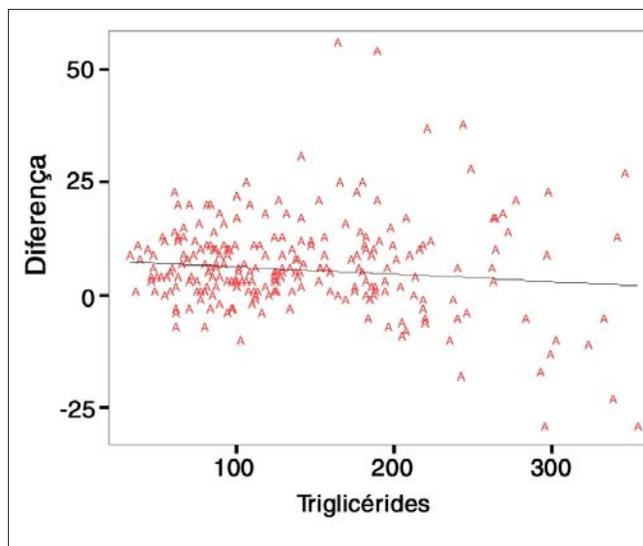


Figura 1. Distribuição dos valores das diferenças entre LDL-c calculado e dosado e triglicérides.

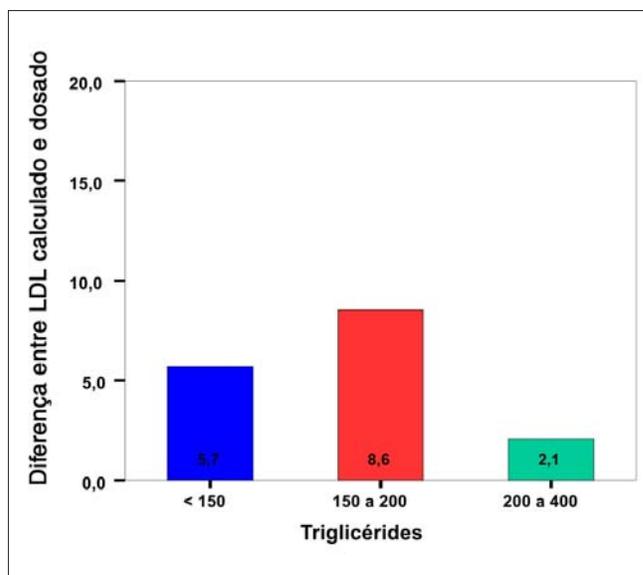


Figura 2. Médias das diferenças entre LDL-c calculado e dosado nos três grupos de triglicérides.

triglicérides. Apresenta também os respectivos valores de t e suas probabilidades. Pode-se observar que existe diferença altamente significativa ($P < 0,001$) nos dois primeiros grupos, porém no grupo triglicérides acima de 200 mg% não aparece diferença significativa entre as duas medidas de LDL.

Na Tabela 5 observa-se que nos valores mais baixos de colesterol total (<200) não existe diferença significativa entre os dois testes de LDL-c. No entanto, à medida que o valor de colesterol total aumenta, a diferença entre as duas medidas passam a ser altamente significativas ($P < 0,001$)

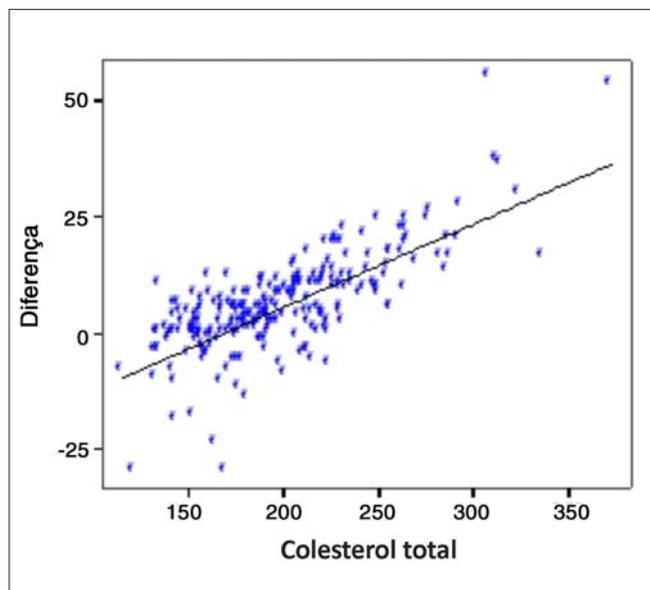


Figura 3. Distribuição dos valores das diferenças entre LDL-c calculado e dosado e colesterol total.

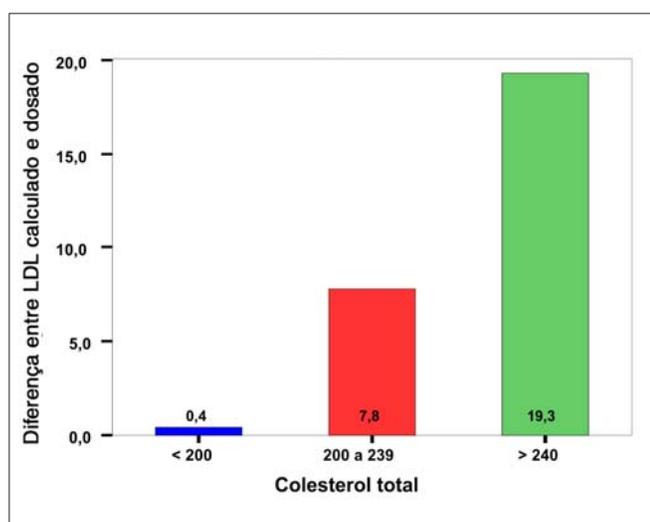


Figura 4. Médias das diferenças entre LDL-c calculado e dosado nos três grupos de colesterol total.

Tabela 4 - Médias, desvios padrão e respectivo teste 't' dos valores de LDL-c, separados pelos três grupos de triglicérides

mg%		Média	N	Desvio Padrão	Teste t pareado
TG <150	LDL-c calculado	116,22	142	31,94	t = 9,71 P < 0,001
	LDL-c dosado	110,51	142	26,52	
TG 150 a 200	LDL-c calculado	139,11	45	41,37	t = 4,60 P < 0,001
	LDL-c dosado	130,56	45	31,68	
TG 200 a 400	LDL-c calculado	125,30	46	47,94	t = 0,91 P = 0,367
	LDL-c dosado	123,22	46	34,68	

Tabela 5 - Médias, desvios padrão e respectivo teste 't' dos valores de LDL-c, separados pelos três grupos de colesterol total

mg%		Média	N	Desvio Padrão	Teste t pareado
Colesterol total <200	LDL-c calculado	96,20	128	19,062	t = 0,65 P = 0,518
	LDL-c dosado	95,79	128	15,322	
Colesterol total 200 a 239	LDL-c calculado	137,85	65	15,023	t = 9,09 P < 0,001
	LDL-c dosado	130,03	65	11,893	
Colesterol total > 240	LDL-c calculado	184,18	38	29,238	t = 10,54 P < 0,001
	LDL-c dosado	164,87	38	22,434	

CONCLUSÃO

Neste trabalho, os dados obtidos demonstraram que os resultados do LDL-colesterol pelo método estimativo utilizando a fórmula de Friedewald e pelo método direto a depender dos níveis de triglicérides e colesterol total apresentam diferenças estatisticamente significativas. Principalmente, quando se avaliam os respectivos dados de acordo com os níveis de colesterol, verifica-se que o método estimativo apresenta em medida maior discrepância no LDL quando o colesterol total é maior. Por outro lado, comparando-se os resultados obtidos pelos dois métodos de acordo com o níveis de triglicérides, observa-se que apresenta em medida discrepância maior conforme decresce o valor de triglicérides.

Alem disso, observou-se, no método direto utilizado neste trabalho, boa precisão e coeficiente de variação baixo que atendem as exigências do *National Cholesterol Education Program*; por outro lado, o método estimativo pela fórmula de Friedewald é pouco preciso, pois a diferença com o LDL-c dosado vai de -30 a +55, ou seja, valores significativamente altos.

É necessário haver novos estudos para que se conheça melhor as metodologias existentes, com o objetivo de se ter métodos cada vez melhores, utilizados de forma ampla pelos laboratórios, evitando erros diagnósticos e de monitoramento das enfermidades decorrentes das dislipidemias.

Abstract

The present work has as its theme a comparison between two analytical methods for determination of LDL-cholesterol, a homogeneous method direct and one indirect estimate using the Friedewald formula, with the objective of verifying the occurrence of significant differences between both methods. For its realization, beyond the literature search, laboratory research was conducted where data was collected from 233 random samples of patients who went voluntarily to a private laboratory with a medical statement to accomplish the assay of LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, total cholesterol and triglycerides. In analyzing the data obtained, it demonstrated statistically significant differences between the two methodologies proposed that stress is dependent on the triglyceride levels and also in total cholesterol, as well as good accuracy the direct method, while the estimation method is inaccurate. LDL-

cholesterol plays an important role as a marker of atherogenic risk, being used for evaluation and diagnosis of cardiac risk and establishing and monitoring appropriate treatment. For its correct use is important to have precise and accurate laboratory methods.

Keywords

Cholesterol; LDL; LDL direct; indirect LDL; Friedewald formula

REFERÊNCIAS

1. Kerber SL, Antunes AGV, Cavalett C. Avaliação do perfil lipídico em alunos de 10 a 18 anos em uma escola particular do município de Carazinho-RS. Rev Bras Anal Clín. Rio de Janeiro, vol. 42(3): 231-234, 2010.
2. Moreira RO, Santos RD, Martinez L, Saldanha FC, Pimenta JL, Feijoo J, et al. Lipid profile of patients with increased risk for cardiovascular events in daily clinical practice. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2006;50(3):481-9. [Article in Portuguese].
3. Siqueira AF, Abdalla DS, Ferreira SR. LDL: from metabolic syndrome to instability of the atherosclerotic plaque. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2006;50(2):334-43. [Article in Portuguese].
4. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad M H, Rocha V Z, Sposito AC, et al. V Diretriz Brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose do departamento da sociedade brasileira de cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2013;101(4Supl.1): 1-22.
5. Cordova CMM, Rudi SC, Deise JI, Cordova MM. Avaliação da dosagem direta do colesterol-ldl em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. Arq. Bras. Cardiol. [Internet]. 2004; 83(6):476-81. Acessível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2004001800006&lng=en
6. Santos RD, et al. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. Arq Bras Cardiol., v.77, (supl III), p. 1-48, 2001.
7. NCEP. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). Circulation 1994; 89:1329-1345.
8. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al. Arq. Bras. Cardiol. [Internet]. 2007;88(Suppl 1): 2-19. Acesso em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007000700002&lng=en.
9. Piva JPJ, Fernandes TRL. Comparação analítica de valores de ldl-colesterol utilizando a dosagem direta e o cálculo pela fórmula de Friedewald. Rev. Bras. Anal. Clín., Rio de Janeiro, v.40, n.4, p.279-283, 2008.
10. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972;18(6):499-502.

Correspondência

Marcos da Costa Vieira

e-mail: atualiza@atualizacursos.com.br

O diabetes mellitus tipo 2 e outros fatores de risco para DAC em pacientes com infarto agudo do miocárdio

Type 2 diabetes mellitus and other risk factors for CHD in patients with acute myocardial infarction

Mauren Isfer Anghebem^{1,2}

Angela Thaís Rizzon Zapparoli¹

Geovanna Trovisco Marques¹

Geraldo Picheth²

Resumo

A hiperglicemia crônica associada ao diabetes promove a disfunção endotelial e, conseqüentemente, complicações vasculares e falência de múltiplos órgãos, especialmente o coração. O infarto agudo do miocárdio (IAM) é a principal causa de morte entre os indivíduos com *diabetes mellitus* (DM). Considerando as elevadas frequência e morbimortalidade do DM e IAM em todas as populações, estudos epidemiológicos para investigar sua prevalência e características na população brasileira são pertinentes. O objetivo deste estudo transversal retrospectivo foi avaliar a prevalência de DM tipo 2 (DM2) e outros fatores de risco para doença arterial coronariana (DAC) em pacientes com IAM. Foram analisados resultados laboratoriais e de prontuários de 198 pacientes atendidos em um hospital universitário do Sul do Brasil, com diagnóstico clínico-laboratorial de IAM. Apenas 40 pacientes atenderam aos critérios de inclusão, sendo que 23 desses eram portadores de DM2. A hipertensão foi o fator de risco para DAC mais frequente entre os pacientes avaliados (82,5%), seguida de DM2 (57,5%), tabagismo (45%) e dislipidemia (30%). Nossos resultados reforçam a necessidade de se implementarem e ampliarem programas de saúde pública voltadas ao controle dos fatores de risco para DAC como principal ferramenta para reduzir o risco de IAM.

Palavras-chave

Diabetes; complicações macrovasculares; infarto agudo do miocárdio

INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* (DM) é definido como um grupo de desordens metabólicas, caracterizado por um estado de hiperglicemia, resultante de defeitos na secreção da insulina, na sua ação ou ambas as situações. Além das altas concentrações de glicose sanguínea, estão presentes anormalidades no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos.⁽¹⁾

O DM está associado com o aumento da morbidade e mortalidade decorrente do desenvolvimento de complicações microvasculares, como nefropatia, retinopatia e neuropatia, e macrovasculares, como acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio (IAM), sendo o último a maior causa de morte entre os pacientes com DM.^(2,3) O risco de mortalidade por doença cardiovascular é três vezes maior em homens diabéticos sem outros fatores de risco quando comparados a indivíduos sem a patologia.^(4,5)

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de origem multifatorial que ocorre em resposta à agressão endotelial, com formação de uma placa de ateroma. A ruptura da placa pode culminar em um infarto agudo do miocárdio (IAM), principal manifestação clínica da aterosclerose.⁽⁶⁾

As razões para a manifestação de aterosclerose acelerada em pacientes diabéticos ainda não são completamente compreendidas. Foram sugeridos como mecanismos prováveis os efeitos tóxicos diretos da glicose sobre o epitélio vascular, a resistência à insulina e a associação do DM a outros fatores de risco, como a obesidade e dislipidemias.⁽⁷⁾ Isso significa dizer que, entre os fatores que desencadeiam a aterosclerose acelerada, pode se destacar a disfunção endotelial induzida pela hiperglicemia. As vias envolvidas no metabolismo da glicose estão implicadas na disfunção endotelial, onde o estresse oxidativo é o processo comum a todas elas.⁽⁸⁾ Processos pró-inflamatórios

¹Programa de Pós-Graduação - Especialização em Análises Clínicas. Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba-PR, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná – Curitiba-PR, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Paraná – Curitiba-PR, Brasil.

Artigo recebido em 19/10/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

e pró-coagulantes, como o aumento na agregação plaquetária e disfunção na fibrinólise, além das alterações no metabolismo dos lipídeos e dislipidemias, também contribuem para o risco aumentado para doenças cardiovasculares em indivíduos com DM.⁽⁹⁾

O presente estudo avaliou a prevalência de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e outros fatores de risco para doença arterial coronariana (DAC) em pacientes com IAM atendidos em um hospital universitário do Sul do Brasil. Esta análise é relevante uma vez que as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte no Brasil, e cerca de 10% da população brasileira tem DM.⁽¹⁰⁾ Além disso, aproximadamente 50% dos pacientes com DM desconhecem sua condição, favorecendo o desenvolvimento de complicações macrovasculares, como o IAM.⁽¹¹⁾ Esse panorama reflete a necessidade de estudos que forneçam dados laboratoriais e epidemiológicos sobre essas patologias, face ao seu grande impacto socioeconômico.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra e critérios de inclusão e exclusão

Foram analisados, em estudo retrospectivo, dados laboratoriais e prontuários de 198 pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial de IAM atendidos em um hospital universitário do Sul do Brasil.

Foram incluídos neste estudo indivíduos de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, que foram hospitalizados em decorrência de IAM. A presença de informações no prontuário sobre fatores de risco para doença arterial coronariana (DAC), como a presença de DM2, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemias (DISL) ou tabagismo (TAB), assim como resultados laboratoriais de glicemia ou hemoglobina glicada, marcadores de função renal (creatinina, ureia, sódio e potássio), creatinoquinase (CK) e CK-MB massa realizados durante o período da hospitalização por IAM, foram considerados como critérios de inclusão. Os dados obtidos no prontuário são anotados por profissional médico, que segue protocolos específicos do serviço, garantindo a confiabilidade das informações. Os exames laboratoriais são realizados por laboratório que segue legislação vigente - RDC 302/2005 e realiza ensaios de proficiência, controle interno e externo de qualidade.

Após a seleção dos sujeitos de pesquisa por meio de análise dos dados laboratoriais e prontuários médicos, dos 198 pacientes, quarenta (20,2%) atenderam aos critérios de inclusão.

Os critérios para diagnóstico laboratorial de diabetes foram valores de glicemia de jejum iguais ou maiores a 126 mg/dL, e/ou valores de glicemia casual iguais ou maiores que 200 mg/dL na presença de sintomas clássicos de diabetes (poliúria, polifagia e polidipsia), valores de hemoglobina glicada iguais ou superiores a 6,5%, seguindo as

diretrizes da Associação Americana de Diabetes.⁽¹⁾ Ainda, foram considerados diabéticos aqueles indivíduos cujo histórico clínico relatava esta condição.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (CAAE: 01389212.4.0000.0020; Parecer número: 22596).

Análises estatísticas

As análises dos dados antropométricos, clínicos e laboratoriais obtidos dos prontuários e banco de dados laboratoriais foram realizadas utilizando-se o programa Statistica 8.0 (StatSoft Inc, Tulsa OK, USA).

As variáveis contínuas foram testadas para a normalidade pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Variáveis com distribuição normal foram comparadas com o teste t de Student. As variáveis sem distribuição normal foram analisadas com o teste de Mann-Whitney. Variáveis discretas foram comparadas com o teste exato de Fisher bidirecional.

Valores de probabilidade (p) menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

A compilação dos principais fatores de risco associados aos pacientes em estudo está apresentada na Tabela 1.

Os quarenta indivíduos selecionados para este estudo apresentaram idade variando entre 43 e 83 anos. A média e o desvio padrão, bem como a amplitude de variação para idade para homens e mulheres foram, respectivamente, 60,4 ± 9 anos (43 a 76 anos) e 62 ± 14 anos (44 a 83 anos), não sendo significativamente diferentes entre os sexos (p=0,631, teste t de Student).

Foram avaliados fatores de risco para Doença Arterial Coronariana (DAC) como DM2, TAB, HAS e DISL. Tais informações foram coletadas do prontuário médico dos avaliados.

Neste estudo, a HAS foi o fator de risco para DAC mais frequente entre os pacientes avaliados (82,5%), seguida de DM2 (57,5%), tabagismo (45%) e, por fim, dislipidemia (30%).

Tabela 1 - Distribuição entre gênero dos fatores de risco para DAC em pacientes com IAM

40 indivíduos com IAM	Fatores de Risco para DAC			
	DM2 n (%)	Tabagismo n (%)	Hipertensão Arterial n (%)	Dislipidemia n (%)
	23 (57,5%)	18 (45,0%)	33 (82,5%)	12 (30,0%)
Masculino (n=31)	18 (78,3)	16 (88,9)	26 (78,8)	9 (75,0)
Feminino (n=9)	5 (21,7)	2 (11,1)	7 (21,2)	3 (25,0)
p*	1,000	0,149	0,645	1,000

n = número de indivíduos (frequência em relação ao total); DAC = Doença Arterial Coronariana; p*, teste exato de Fisher bidirecional

Dos quarenta indivíduos com diagnóstico de IAM, 10% (três homens e uma mulher) não apresentaram nenhum dos fatores de risco para DAC avaliados neste estudo.

A Figura 1 ilustra a distribuição das frequências de fatores de risco para DAC isolados e agrupados. Dezoito homens e cinco mulheres, totalizando 23 indivíduos (57,5%), atendiam aos critérios para diagnóstico de DM2, sendo então considerados pacientes diabéticos. Quatro pacientes infartados (três homens e uma mulher) apresentaram, simultaneamente, todos os fatores de risco para DAC ava-

liados neste estudo. Entre os pacientes com DM2, 22 tinham HAS, 11 eram tabagistas e oito eram dislipêmicos

Após a análise dos fatores de risco para DAC associados ao DM, a presença de HAS foi diferente entre indivíduos com e sem DM ($p=0,005$). Já a idade, TAB, DISL e concentrações plasmáticas de CK e CK-MB massa não foram diferentes, conforme sumarizado na Tabela 2.

Os marcadores de função renal avaliados neste estudo (creatinina, ureia, sódio e potássio) não foram associados ao IAM ou a outros fatores de risco ($p>0,05$).

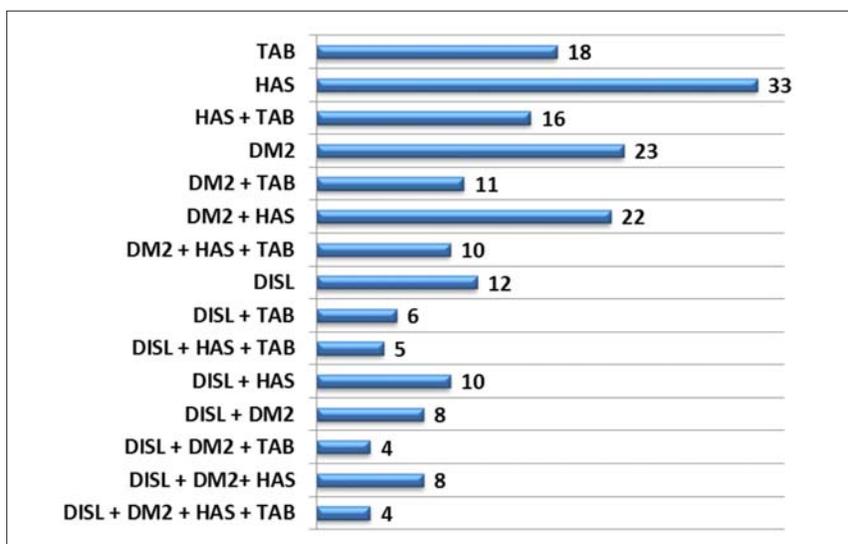


Figura 1. Distribuição dos fatores de risco para DAC isolados e agrupados, em todo o grupo estudado. DISL: Dislipidemia; DM2: Diabetes mellitus tipo 2; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; TAB: Tabagismo.

Tabela 2 - Fatores de risco para DAC na presença e ausência de DM2

Variáveis	DM2 - (n=17)	DM2 + (n=23)	p*
Idade em anos (média ± DP)	61,6 ± 8,2	60,2 ± 10,8	0,651
Hipertensão arterial (n;%)	11 (64,7%)	22 (95,6%)	0,005
Tabagismo (n;%)	7 (41,2%)	11 (47,8%)	0,676
Dislipidemia (n;%)	4 (23,5%)	8 (34,8%)	0,442
	Mediana (Intervalo interquartil)	Mediana (Intervalo interquartil)	
Glicemia (mg/dL)	87 (83 - 98)	130 (103 - 138)	0,001
Glicemia (mg/dL)	87 (83 - 98)	130 (103 - 138)	0,001
Creatino quinase (U/L)	652 (340 - 1303)	491 (282 - 1162)	0,267
CK-MB massa (U/L)	92 (31 - 132)	34 (32 - 133)	0,520

n: número de indivíduos; DM2 +: presença de diabetes mellitus tipo 2; DM2 -: ausência de diabetes mellitus tipo 2; p*: Teste do Chi-quadrado; p#: Teste de Mann-Whitney

DISCUSSÃO

O mundo está enfrentando uma crescente epidemia de diabetes, a qual tem atingido proporções devastadoras. O impacto das complicações diabéticas em termos econômicos é enfatizado pelo consumo dos recursos do

sistema de saúde pelos pacientes diabéticos quando comparado com qualquer outra doença. Cerca de 39 milhões de reais no ano de 2000 foram gastos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) com a hospitalização por diabetes. Este elevado custo é justificado pela alta permanência hospitalar, associada à severidade das complica-

ções da patologia, o que demanda procedimentos altamente complexos.⁽¹²⁾

O Brasil, que em 2000 ocupava o oitavo lugar entre os dez países com maior número de casos de diabetes (4,6 milhões), ocupará a sexta posição em 2030, quando contará com 8,9 milhões de pessoas diagnosticadas.⁽¹³⁾

Nosso estudo selecionou quarenta pacientes com diagnóstico de IAM e analisou a prevalência de fatores de risco para DAC entre os sujeitos da pesquisa. A aterosclerose é um processo inflamatório, sistêmico e silencioso. A formação da placa de ateroma inicia com a agressão ao endotélio do vaso, que pode ser causada por diversos fatores, como o tabaco,⁽¹⁴⁾ ambiente inflamatório,⁽¹⁵⁾ altas concentrações de lipoproteínas aterogênicas e a hipertensão arterial.⁽¹⁶⁾ A hiperglicemia também é um desses fatores, já que as vias envolvidas no metabolismo da glicose estão implicadas na disfunção endotelial, etapa crucial para o início da aterosclerose.^(8,17) Com base nessas premissas foi analisada a presença de DM2, tabagismo, HAS e dislipidemias entre os pacientes infartados.

A HAS foi o fator de risco para DAC mais frequente entre os pacientes deste estudo (82,5%), seguida de DM2 (57,5%), tabagismo (45%) e, por fim, dislipidemia (30%).

Alguns estudos reforçam a necessidade de análises baseadas no sexo, já que as diferenças entre homens e mulheres podem ser marcantes.^(18,19) Um estudo que avaliou a prevalência de fatores de risco cardiovascular em adultos encontrou frequência de tabagismo e hipertensão superior em homens comparado às mulheres,⁽²⁰⁾ diferente de nossos resultados. Quando a frequência de DM2, TAB, HAS e DISL foi comparada entre os sexos (Tabela 1), homens e mulheres não apresentam diferenças na presença dos fatores de risco para DAC, apesar das diferentes proporções entre os gêneros.

Quatro pacientes infartados (três homens e uma mulher) apresentaram simultaneamente todos os fatores de risco para DAC avaliados neste estudo. A hipertensão arterial é um achado frequente em pacientes com IAM, e quando associada a outras comorbidades vasculares e fatores de risco, como o DM, idade avançada, e tabagismo, compõe um perfil de risco bem mais grave que o perfil de pacientes infartados normotensos.⁽²¹⁾ Em um estudo que avaliou a prevalência de comorbidades entre pacientes hospitalizados em decorrência de IAM, a combinação de fatores de risco para DAC mais comum entre os infartados também foi a de HAS e DM.⁽²²⁾ O DM e a HAS estão associados a um aumento de mortalidade em pacientes com IAM.⁽²³⁾

O diabetes tipo 2 (DM2) é o mais frequente dentre os tipos de diabetes (aproximadamente 95%) e resulta de um defeito progressivo na secreção e/ou ação da insulina 1. Indivíduos com DM2 normalmente apresentam alterações no metabolismo dos lipídeos (dislipidemias), hipertensão e sobrepeso ou obesidade.⁽²⁴⁾

O DM2 é um fator de risco independente para doenças cardiovasculares,⁽²⁵⁾ e a estreita relação entre DM e doenças cardiovasculares tem sido confirmada em várias populações.⁽²⁶⁻²⁸⁾ Alguns mecanismos podem estar envolvidos com a manifestação precoce de aterosclerose em indivíduos com DM2, entre eles estão: o efeito tóxico direto da glicose sobre as células endoteliais que não conseguem regular a entrada de glicose,⁽²⁹⁾ o estresse oxidativo, que leva à disfunção endotelial,⁽⁸⁾ a redução na produção de óxido nítrico, fator derivado do endotélio que inibe praticamente todas as vias envolvidas na aterosclerose,⁽³⁰⁾ e a disfunção de células progenitoras endoteliais.^(7,31)

Pacientes com DM2 têm duas a quatro vezes maior risco de mortalidade cardiovascular que indivíduos não diabéticos. Além disso, pacientes diabéticos são menos propensos a sobreviver a um primeiro IAM que indivíduos sem DM2.⁽³²⁾ Esses dados nos estimularam a realizar este estudo, onde a prevalência de DM2 foi de 57,5%. Praticamente todos os pacientes diabéticos incluídos neste estudo possuíam também outros fatores de risco associados. Dos 23 pacientes com DM2, 22 tinham HAS, 11 eram tabagistas e oito eram dislipêmicos.

A média de idade dos pacientes foi de 60,8 ± 9 anos (60,4 ± 9 anos para homens e 62 ± 14 anos para mulheres), não sendo significativamente diferentes (p=0,6306, test t de Student) entre os sexos. A prevalência de IAM normalmente é maior após os 55 anos, dado compatível com a média de idade encontrada na nossa população.⁽³³⁾ Quando a população de pacientes infartados estudada é composta por jovens adultos (< 45 anos), eles são predominantemente do sexo masculino, e o tabagismo é o principal fator de risco associado.⁽³⁴⁾

Embora menos frequente entre os indivíduos do sexo feminino, a frequência de tabagismo na amostra estudada foi significativa (45%). A relação entre o tabagismo e complicações cardiovasculares está bem estabelecida e demonstrada em inúmeros trabalhos que associam o envolvimento do tabaco na gênese da alteração vascular.⁽³⁵⁻³⁷⁾ Face à elevada frequência de tabagistas entre os pacientes hospitalizados por IAM, é possível sugerir que as campanhas antitabaco não estão atingindo com eficácia este público.

Pacientes com insuficiência renal têm risco aumentado para o desenvolvimento de DAC.⁽³⁸⁾ Neste estudo foram avaliados alguns marcadores de função renal, como a creatinina, ureia, sódio e potássio, porém os mesmos não foram associados ao IAM ou a outros fatores de risco para DAC (dados não reportados; p>0,05).

Este estudo tem algumas limitações. Devido ao pequeno número amostral, a estratificação dos pacientes quanto à idade e ao sexo ficou prejudicada, impossibilitando maiores análises estatísticas. Também não foi possível analisar a relação entre o tempo do DM2 e outros fatores de risco, já que esta informação não estava disponível.

vel no prontuário médico. À medida que o DM se desenvolve, ocorre uma progressão acelerada da aterosclerose, base fisiopatológica de doenças cardiovasculares, como o IAM. Esse dado é preocupante, pois quase metade dos indivíduos com diabetes está sem diagnóstico, o que significa que não tem conhecimento de sua condição e dos riscos atrelados a ela.⁽³⁹⁾ A prevenção do DM, aderindo a um estilo de vida saudável, e o controle dos fatores de risco para doenças cardiovasculares (hiperglicemia, hipertensão, tabagismo e dislipidemias) são as principais ferramentas para reduzir o risco de IAM. Neste contexto, medidas educativas desempenham importante papel, inclusive na redução dos custos envolvidos com tais patologias.

CONCLUSÕES

A fisiopatologia do diabetes ainda não é completamente conhecida, mas sabe-se que a hiperglicemia crônica do diabetes leva, em longo prazo, ao comprometimento micro e macrovascular.⁽⁴⁰⁾ Levando-se em consideração a relevância do DM no âmbito da saúde pública há a necessidade de se realizarem estudos epidemiológicos para investigar sua prevalência e estimular a implantação de medidas para redução de fatores de risco, principalmente para doenças cardiovasculares. O presente estudo encontrou 57,5% de diabéticos entre os indivíduos hospitalizados em um hospital universitário do Sul do Brasil em decorrência de IAM. Chama atenção neste estudo a alta prevalência da HAS, que constitui fator de risco importante para síndromes onde ocorre comprometimento endotelial, como o DM e aterosclerose. Estudos como o presente estimulam a promoção de políticas de saúde educativas e preventivas, além de facilitar a estratificação dos pacientes, a prevenção das complicações associadas às patologias e o direcionamento do tratamento clínico mais adequado.

Abstract

The chronic hyperglycemia associated with diabetes promotes endothelial dysfunction and thus vascular complications and multiple organ failure, especially the heart. The acute myocardial infarction (AMI) is the leading cause of death among subjects with diabetes mellitus (DM). Considering the high frequency and mortality of AMI and DM in all populations, epidemiological studies that investigate its prevalence and characteristics are relevant in the Brazilian population. The aim of this retrospective cross-sectional study was to evaluate the prevalence of type 2 diabetes (T2DM) and other risk factors for coronary artery disease (CAD) in patients with AMI. We analyzed laboratory results and medical records of 198 patients treated at a university hospital in Southern Brazil, with clinical and laboratory diagnosis of AMI. Only 40 patients met the inclusion criteria, and 23 of these were patients with T2DM. Hypertension was the most common risk factor for CAD (82.5%), followed by DM2 (57.5%), smoking (45%) and dyslipidemia (30%). Our results reinforce the need to implement and expand public health programs aimed at controlling risk factors for CAD as the main tool to reduce the risk of AMI.

Keywords

Diabetes; Macrovascular complications; Acute myocardial infarction

REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012;35 Suppl 1:S64-71.
2. Yamagishi S. Cardiovascular disease in recent onset diabetes mellitus. *J Cardiol*. 2011;57(3):257-62.
3. Dailey G. Overall mortality in diabetes mellitus: where do we stand today? *Diabetes Technol Ther*. 2011 13:S65-74.
4. Hansen MB, Jensen ML, Carstensen B. Causes of death among diabetic patients in Denmark. *Diabetologia*. 2012;55(2):294-302.
5. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16:434-44.
6. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afíune Neto A, Souza AD, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88 Suppl 1:2-19.
7. Tousoulis D, Kampoli AM, Stefanadis C. Diabetes mellitus and vascular endothelial dysfunction: current perspectives. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012;10(1):19-32.
8. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.
9. Nandish S, Wyatt J, Bailon O, Smith M, Oliveros R, Chilton R. Implementing cardiovascular risk reduction in patients with cardiovascular disease and diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2011; 108(3 Suppl):42B-51B.
10. Datasus. Indicadores e Dados Básicos - IDB - Brasil - 2009. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabnet.exe?idb2009/g01.def>. Acesso em 17 de outubro de 2011.
11. Georg AE, Duncan BB, Toscano CM, Schmidt MI, Mengue S, Duarte C, et al. Economic analysis of a screening program for diabetes mellitus in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2005; 39(3):452-60.
12. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. Disponível em: www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/cnhd/publicacoes/home.htm. Acesso em: 06 mai 2011.
13. Moraes SA, Freitas IC, Gimeno SG, Mondini L. Prevalência de diabetes mellitus e identificação de fatores associados em adultos residentes em área urbana de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, 2006: Projeto OBEDIARP. *Cad Saude Publica*. 2010;26(5):929-41.
14. Yatsuya H, Folsom AR; ARIC Investigators. Risk of incident cardiovascular disease among users of smokeless tobacco in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2010;172(5):600-5.
15. Motykova E, Zlatohlavek L, Prusikova M, Lanska V, Ceska R, Vasickova L, et al. Lifestyle modification induced weight loss and changes of cardiometabolic risk factors including lowering of inflammatory response in obese children. *Neuro Endocrinol Lett*. 2011;32(Suppl2):55-9.
16. Sugiura T, Dohi Y, Yamashita S, Yamamoto K, Wakamatsu Y, Tanaka S, et al. Impact of lipid profile and high blood pressure on endothelial damage. *J Clin Lipidol*. 2011;5(6):460-6.
17. Bornfeldt KE, Tabas I. Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis. *Cell Metab*. 2011;14(5):575-85.
18. Rodrigues SL, Baldo MP, Capingana P, Magalhães P, Dantas EM, Molina M del C, et al. Gender distribution of serum uric acid and cardiovascular risk factors: population based study. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(1):13-21.
19. Mujtaba SF, Rizvi SN, Talpur A, Younis F, Minhas K, Farooqui Z. Gender based differences in symptoms of acute coronary syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2012;22(5):285-8.
20. Njelekela MA, Mpembeni R, Muhihi A, Mligiliche NL, Spiegelman D, Hertzmark E, et al. Gender-related differences in the prevalence of cardiovascular disease risk factors and their correlates in urban Tanzania. *BMC Cardiovasc Disord*. 2009 17;9:30.

21. Pedrinelli R, Ballo P, Fiorentini C, Denti S, Galderisi M, Ganau A, et al. Hypertension and acute myocardial infarction: an overview. *J Cardiovasc Med.* 2012;13(3):194-202.
22. McManus DD, Nguyen HL, Saczynski JS, Tisminetzky M, Bourell P, Goldberg RJ. Multiple cardiovascular comorbidities and acute myocardial infarction: temporal trends (1990-2007) and impact on death rates at 30 days and 1 year. *Clin Epidemiol.* 2012;4:115-23.
23. Norhammar A, Lindback J, Ryden L, Wallentin L, Stenstrand U. Improved but still high short- and long-term mortality rates after myocardial infarction in patients with diabetes mellitus: a time-trend report from the Swedish Register of Information and Knowledge about Swedish Heart Intensive Care Admission. *Heart.* 2007;93:1577-83.
24. Chilton R, Wyatt J, Nandish S, Oliveros R, Lujan M. Defining the potential of glucagon-like peptide-1-based therapies. *Am J Med.* 2011;124(1 Suppl):S35-53.
25. Plutzky J. Macrovascular effects and safety issues of therapies for type 2 diabetes. *Am J Cardiol.* 2011;108(3 Suppl):25B-32B.
26. Hansen MB, Jensen ML, Carstensen B. Causes of death among diabetic patients in Denmark. *Diabetologia.* 2012 Feb;55(2):294-302.
27. Canto JG, Kiefe CI, Rogers WJ, Peterson ED, Frederick PD, French WJ, et al. Number of coronary heart disease risk factors and mortality in patients with first myocardial infarction. *JAMA.* 2011; 306(19):2120-7.
28. Chacra AR, Alvarenga MA. Hiperglicemia e doença cardiovascular podem coexistir. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(3):427-8.
29. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(6865):813-20.
30. Hamed S, Brenner B, Roguin A. Nitric oxide: a key factor behind the dysfunctionality of endothelial progenitor cells in diabetes mellitus type-2. *Cardiovasc Res.* 2011;91(1):9-15.
31. Georgescu A. Vascular dysfunction in diabetes: The endothelial progenitor cells as new therapeutic strategy. *World J Diabetes.* 2011; 2(6):92-7.
32. Hernández C, Candell-Riera J, Ciudin A, Francisco G, Aguadé-Bruix S, Simó R. Prevalence and risk factors accounting for true silent myocardial ischemia: a pilot case-control study comparing type 2 diabetic with non-diabetic control subjects. *Cardiovasc Diabetol.* 2011;10(1):9.
33. Venskutonyte L, Malmberg K, Norhammar A, Wedel H, Rydén L. Effect of gender on prognosis in patients with myocardial infarction and type 2 diabetes. *J Intern Med.* 2010;268(1):75-82.
34. Wong CP, Loh SY, Loh KK, Ong PJ, Foo D, Ho HH. Acute myocardial infarction: Clinical features and outcomes in young adults in Singapore. *World J Cardiol.* 2012;4(6):206-10.
35. Hahn EJ, Rayens MK, Burkhart PV, Moser DK. Smoke-free laws, gender, and reduction in hospitalizations for acute myocardial infarction. *Public Health Rep.* 2011;126(6):826-33.
36. Rodu B, Peiper N, Cole P. Acute myocardial infarction mortality before and after state-wide smoking bans. *J Community Health.* 2012; 37(2):468-72.
37. Hbejan K. Smoking effect on ischemic heart disease in young patients. *Heart Views.* 2011;12(1):1-6.
38. Cakar MA, Gunduz H, Vatan MB, Kocayigit I, Akdemir R. The effect of admission creatinine levels on one-year mortality in acute myocardial infarction. *Scientific World Journal.* 2012;2012:186495.
39. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem.* 2011;57(6):e1-e47.
40. Uusitupa M, Tuomilehto J, Puska P. Are we really active in the prevention of obesity and type 2 diabetes at the community level? *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(5):380-9.

Correspondência

Mauren Isfer Anghehem

Faculdade de Farmácia

Universidade Federal do Paraná – UFPR

Curitiba-PR, Brasil

e-mail: mauren.isfer@pucpr.br

Estudo comparativo entre o teste rápido e o teste de ELISA na triagem sorológica da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana

A comparative study between the rapid test and the Elisa test in serological screening for human immunodeficiency virus

Daisy Maria Meireles Arruda¹

Tiê Bezerra Costa²

Paulo Germano de Carvalho¹

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho do teste rápido Hexagon da Human quando comparados com o teste de ELISA. Foram testadas 279 amostras, sendo que 277 apresentaram resultados concordantes e dois falso-negativos. A sensibilidade e especificidade obtidas foram 97% e 100% respectivamente, indicando que este kit pode ser usado no diagnóstico da infecção pelo HIV, obedecendo às recomendações da Secretaria de Vigilância em Saúde/MS. Este estudo contribui para demonstrar a importância do uso do teste rápido para HIV nos inquéritos epidemiológicos, nas maternidades, garantindo a segurança dos conceitos e, também, em possíveis acidentes profissionais com material biológico infectado pelo HIV.

Palavras-chave

HIV; teste rápido; ELISA

INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) doença caracterizada por imunossupressão profunda que leva a infecções oportunistas, neoplasias secundárias e manifestações neurológicas. A AIDS foi primeiramente descrita em 1981, sendo causada por um retrovírus da família *Retroviridae*, conhecido como vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2).⁽¹⁾ O HIV está presente no esperma, nas secreções vaginais, no leite materno e no sangue, portanto, todas as formas de contato com estas substâncias podem gerar um contágio. Entretanto, as principais formas de transmissão detectadas até hoje são: transfusão de sangue, relações sexuais sem preservativo, compartilhamento de seringas ou objetos cortantes que possuam resíduos de sangue. O vírus também pode ser transmitido de forma vertical, ou seja, da mãe para o filho durante a gestação ou amamentação.⁽²⁾

Dados da UNAIDS e WHO em 2007 mostraram que a proporção de pessoas vivendo com o HIV no mundo tem estabilizado e, também, observou-se que o número de novas infecções diminuiu, em parte, devido aos impactos dos

programas contra a AIDS. No entanto, estimaram que 33,2 milhões de pessoas viviam com HIV em 2007, outros 2,5 milhões de pessoas se infectaram e 2,1 milhões de pessoas morreram em consequência da AIDS.⁽³⁾

Diariamente mais pessoas infectadas com HIV estão, no mundo todo, desenvolvendo AIDS. Sabe-se que a cada dez pessoas infectadas com HIV, nove irão desenvolver AIDS dentro de 10 a 15 anos.⁽⁴⁾

Com os avanços tecnológicos e científicos surgiram ensaios sorológicos e tratamento com antirretrovirais que aumentam a expectativa de vida de pessoas infectadas com o HIV, mas o acesso a esses ensaios sorológicos e à medicação antirretroviral ainda não estão plenamente disponíveis em todos os países e para todas as pessoas infectadas.

Os testes sorológicos que detectam a presença de anticorpos contra o vírus HIV em indivíduos são fundamentais nos esforços para diminuir a transmissão do vírus, sendo ainda mais importante nos programas de prevenção à AIDS, da transmissão vertical (de mãe para filho) e na segurança do sangue e seus derivados durante as transfusões e nos transplantes de órgãos.

¹Professora(o) da Universidade de Fortaleza (Unifor) – Fortaleza-CE, Brasil.

²Aluno do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

Instituição: Universidade de Fortaleza (Unifor) – Fortaleza-CE, Brasil.

Artigo recebido em 13/06/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

As técnicas usualmente empregadas no diagnóstico da infecção pelo HIV baseiam-se primeiramente em testes de triagem que detectam anticorpos contra o vírus, ou seja, detectam a resposta do hospedeiro ao vírus, e não o vírus. Já os testes de detecção de antígenos (vírus ou suas partículas) são mais complexos, caros e restritos a ensaios clínicos e pesquisas.

Dentre os testes de detecção de anticorpos normalmente utilizados têm-se o *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Enzyme Linked fluorescent Assay* (ELFA), o *Western-blot* e testes rápidos.

O teste sorológico ELISA pesquisa anticorpos anti-HIV, utilizando antígenos adsorvidos em fase sólida.⁽⁵⁾ Possuem alta sensibilidade e especificidade, são capazes de detectar os vírus HIV1/HIV2 e variantes em intervalo pequeno entre a infecção e a produção de anticorpos (janela imunológica). Os testes ELISA são projetados para uma grande quantidade de amostras, fazendo deles uma excelente escolha para triagens em bancos de sangue.⁽⁶⁾

O método ELFA detecta simultaneamente anticorpo anti-HIV e antígeno p24 (HIV-DUO), favorecendo o diagnóstico precoce de infecção por HIV, antecipando-o em até sete dias, quando comparado a métodos que detectam apenas anti-HIV.⁽⁷⁾

O método de Western-Blot é amplamente utilizado como teste confirmatório dos resultados obtidos por ELISA, ELFA e outros testes imunoenzimáticos. O Western Blot utiliza antígenos do HIV, obtidos em cultura de linhagem celular, separados eletroforéticamente em bandas distintas, posteriormente transferidas para a membrana de nitrocelulose. Padrões de positividade podem ser definidos no teste confirmatório de Western-Blot, pela visualização de bandas correspondentes às três principais proteínas virais: a proteína do núcleo, p24 ou p31 e as duas proteínas do envoltório, gp41 ou gp120/gp160. Critérios alternativos para a positividade já foram propostos por diversos grupos de pesquisa.⁽⁸⁾ Outras bandas de antígenos do HIV são p17, p31, p51, p55, p66.⁽⁹⁾

Os avanços na tecnologia de diagnóstico tornaram possíveis testes para o HIV que podem ser utilizados em locais com recursos limitados. Tais testes, os mais recentes, são baseados no princípio de membranas imunocromatográficas. Os testes rápidos são apresentados em um kit que não necessita de outros reagentes ou equipamento para ser realizado. A interpretação do teste é geralmente direta, apresentando controle de qualidade interno que valida o teste. A habilidade de gerar um resultado preciso depende não apenas da qualidade intrínseca do teste, mas também de qualidades extrínsecas, como o manuseio correto do kit pelo profissional que realiza o teste e a qualidade da amostra que está sendo testada.^(10,11,12)

De acordo com a Portaria N° 34 da Secretaria de Vigilância em Saúde, regulamentaram-se os testes rápidos

na triagem do anti-HIV, podendo ser utilizados para diagnóstico da infecção pelo HIV como estratégia de ampliação do acesso ao diagnóstico rápido da infecção pelo HIV, em áreas de difícil acesso, onde a falta de infraestrutura não permitia a realização de testes imunoenzimáticos, como ELISA. Fica permitido seu uso em maternidades quando parturientes no final da gestação ou na hora do parto não tenham realizado o teste de HIV durante seu pré-natal. Regulamenta, ainda, que os testes devem ser realizados somente por profissionais capacitados da área de saúde e em pacientes com mais de 18 meses, tempo necessário para que os anticorpos maternos não estejam mais presentes e possam interferir no resultado. Todos os testes rápidos devem ser capazes de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2.⁽¹⁰⁾

Recentemente, a Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde, através da portaria N° 151/2009 determina o uso de somente um kit rápido por teste de HIV. Nos casos de resultado positivo em teste rápido para HIV, poderá ser realizado um novo teste rápido com um conjunto de detecção de fabricante diferente para confirmar o resultado. Caso os dois indiquem a presença do HIV, a pessoa será diagnosticada como soropositiva. A nova portaria também estabelece o fluxo para as ocasiões em que cada kit apresente um resultado diferente.⁽¹³⁾

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório Louis Pasteur de Patologia Clínica Ltda em 2008 e 2009 durante uma epidemia de dengue na cidade de Fortaleza. Trata-se de um estudo prospectivo do tipo ensaio clínico de abordagem quantitativa, onde 279 amostras foram submetidas a duas metodologias para detecção do antiHIV: ELISA e teste rápido. As amostras com resultados positivos por ELISA foram confirmadas por mais dois testes: Imunofluorescência Indireta (ELFA) e Western Blot.

A coleta das amostras foi realizada em tubos Sarstedt Monovette com gel separador por profissionais habilitados do laboratório e enviadas para o setor técnico para serem centrifugadas por dez minutos a 3.200 rpm.

As amostras negativas foram escolhidas aleatoriamente dentro da rotina do setor, enquanto que as amostras positivas necessárias para completar o número desejado de testes do estudo foram escolhidas na soroteca de HIV positivos do laboratório com até três meses de congelamento (-20°C).

O teste rápido foi realizado de acordo com as orientações do fabricante do kit Hexagon – Human Diagnostics. Para ser considerado válido, o ensaio deveria apresentar a marca do controle interno.

O resultado foi considerado negativo quando apenas a marca do controle interno (na parte superior da janela de

amostra do *Pack* apresentou cor vermelho-violeta, mostrando que o teste desenvolveu-se normalmente, enquanto que o positivo foi considerado quando uma ou duas linhas adicionais, além da marca do controle interno, apresentou-se vermelho-violeta. Quando a linha, logo abaixo da marca de controle interno apresentar vermelho-violeta, o resultado é positivo para HIV-2 e a outra marca mais abaixo será positivo para HIV-1. Nos casos em que a marca do controle interno não reagiu, o teste foi considerado inconclusivo.

O teste ELISA foi realizado em equipamento automatizado Modular E-170 – Roche de acordo com as recomendações do fabricante utilizando-se o kit HIV Comb Ag/Ac. O resultado foi dado em valor de UI/mL, onde valores abaixo de 0,9 UI/mL representavam resultados negativos, valores entre 0,9 e 1,0 UI/mL representavam resultados indeterminados (inconclusivos) e resultados com valores acima de 1,0 UI/mL foram considerados positivos.

Os testes com resultados positivos na metodologia ELISA – Roche e teste rápido foram confirmados em uma segunda metodologia, ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) no equipamento VIDAS 30 – BioMérieux, utilizando-se o kit VIDAS HIV Duo-Ultra. Nos casos em que a positividade foi confirmada por esta metodologia, a amostra do paciente foi enviada para um laboratório de apoio do LabPasteur para realização do teste confirmatório Western-Blot.

Os resultados dos testes foram transcritos para uma planilha Microsoft Excel 2003, na qual foi calculado o intervalo de confiança e o teste do qui-quadrado (χ^2), onde o valor observado do χ^2 deve ser menor que 3,84 para aceitar que os métodos comparados sejam semelhantes. O valor de 3,84 é o valor do χ^2 crítico para um $p \leq 0,05$ com 1 grau de liberdade.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Fortaleza.

RESULTADOS

Das 279 amostras analisadas, 127 eram do sexo masculino (45,7%) e 151 do sexo feminino (54,3%). As idades variaram entre 2 a 91 anos, sendo 23 a 33 anos a faixa etária predominante (47,8%).

Os testes de triagem ELISA e o teste rápido obtiveram concordância nos resultados em 97,8% (277/279) dos testes, enquanto que o teste rápido obteve uma sensibilidade relativa de 97% (69/71) com 0,71% dos resultados falso-negativos (2/279) e uma especificidade relativa de 100% (208/208).

Os dois resultados falso-negativos entre a metodologia de teste rápido e ELISA foram repetidos após três meses de coletados e foram confirmados como fracamente positivos pela metodologia ELFA e também por Western-Blot.

DISCUSSÃO

Os testes rápidos foram desenvolvidos em 1985 e foram ganhando credibilidade no início dos anos 90, devido à disponibilidade de serem utilizados em ações que necessitassem conduta médica imediata, como a profilaxia anteparto e em acidentes perfurocortantes de funcionários da área da saúde com material biológico contaminado.

Atualmente, com os avanços tecnológicos e científicos, vários estudos comparativos envolvendo testes rápidos para o diagnóstico do HIV foram realizados, apresentando sensibilidade variando de 97,74% a 100% e especificidade de 96,2% a 100%, quando comparados aos testes ELISA de terceira geração.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

O presente estudo testou 279 amostras para diagnóstico de HIV por ELISA e teste rápido, obtendo uma sensibilidade de 97% (65/67) e especificidade de 100% (212/212). Portanto, os dados para sensibilidade e especificidade foram consistentes com resultados de outros estudos.^(14,17-19)

Contudo, a especificidade encontrada de 100% foi superior à encontrada pelo fabricante do kit Hexagon em questão, de 99,5%.⁽¹¹⁾

Os dois resultados falso-negativos encontrados pelo teste rápido foram confirmados como fracamente positivos pela metodologia ELISA, ELFA e Western Blot após três meses de armazenamento (-20°C). Os falso-negativos encontrados neste estudo podem ter sido afetados pela perda da estabilidade da amostra devido ao tempo de armazenamento.

De acordo com os estudos realizados evidenciamos que testes rápidos possuem desempenho semelhante àquele dos testes ELISA. Entretanto, por serem de execução simples, em menos de 30 minutos e de fácil leitura, possibilita seu uso em situações ambulatoriais e de emergência, não exigindo profissionais com alta qualificação e laboratórios com infraestrutura sofisticada, como é o caso dos testes imunoenaios: ELISA, ELFA e Western Blot. Portanto, o uso de testes rápidos em relação ao custo/benefício pode acabar sendo mais vantajoso em determinadas situações.

Este estudo contribuiu para demonstrar a importância do uso do teste rápido para HIV nos inquéritos epidemiológicos, nas maternidades, garantindo a segurança dos conceptos e também em possíveis acidentes profissionais com material biológico infectado pelo HIV.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados, sensibilidade de 97% e especificidade de 100%, concluímos que o teste rápido Hexagon da Human pode ser realizado para diagnóstico da infecção pelo HIV, de acordo com as recomendações da Secretária de Vigilância em Saúde e da

Organização Mundial de Saúde. Mas ressaltamos ainda que, diante da especificidade de 100%, podemos dar um resultado falso-positivo. Portanto, reforçamos a necessidade destes pacientes positivos também serem submetidos a um teste confirmatório, como o Western-Blot. Esta prática proporcionaria um benefício adicional na obtenção de uma segunda coleta de sangue para sua realização e evitaria erros pré-analíticos relacionados a trocas de amostras.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório Louis Pasteur de Patologia Clínica Ltda, representado pelo Dr. Tadeu Sobreira, em permitir a realização deste estudo em sua sede.

Ao Núcleo de Atendimento Médico Integrado – Unifor por terem doado os kits de teste rápido para o presente estudo.

Abstract

This study aimed to evaluate the performance of the Rapid Test Hexagon Human compared with the ELISA test. 279 samples were tested, of which 277 had consistent results and two tests came out as false-negative. The sensitivity and specificity obtained were 97% and 100% respectively, indicating that this kit can be used in the diagnosis of HIV infection, in acord with the Secretaria de Vigilância em Saúde/MS. This study helps demonstrate the importance of the use of rapid test for HIV in epidemiological surveys, in maternity wards, ensuring the safety of newborns, and in possible accidents with professionals involving biological infected materials with HIV.

Keywords

HIV; rapid test; ELISA

REFERÊNCIAS

1. Montagnier L. Historical essay. A history of HIV discovery. *Science*. 2002;298(5599):1727-8.
2. Andrade Neto JL, Pintarelli VL, Felchner PC, de Moraes RL, Nishimoto FL. HIV prevalence among blood donors in a blood bank in Curitiba (Brazil). *Braz J Infect Dis*. 2002;6(1):15-21.
3. UNAIDS. La situación de la epidemia de SIDA. 2007. Disponível em http://data.unaids.org/pub/Report/2007/071120_epiupdate_es.pdf. Acesso em 10 de março de 2008.
4. Morgan D, Mahe C, Mayanja B, Okongo JM, Lubega R, Whitworth JA. HIV-1 infection in rural Africa: is there a difference in median time to AIDS and survival compared with that in industrialized countries?. *AIDS*. 2002;16(4):597-603.
5. COBAS - HIV Combi. Antígeno do HIV-1 e anticorpos totais anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Prospecto do kit para HIV Roche, 2007.
6. WHO. The importance of simple/rapid assays in HIV testing. *Wkly Epidemiol Rec*. 1998;73(42):321-6. [Article in English, French]. [No authors listed].
7. Biomérieux - Vidas® HIV Duo Ultra (HIV5). Informações técnicas do fabricante.
8. WHO - Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS): Proposed WHO criteria for interpreting results from Western Blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. *Wkly Epidemiol Rec*. 1990;65(37):281-3. Article in English, French]. [No authors listed]
9. Centers for Disease Control (CDC). Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *MMWR Suppl*. 1989;38(7):1-7.
10. Ministério da Saúde. Dispõe sobre a sub-rede de laboratórios do Programa Nacional de DST e AIDS. Portaria nº 34 de 28 de Janeiro de 2003. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 30 de janeiro de 2003.
11. Hexagon HIV. In Vitro diagnostica. Human, Informações técnicas do fabricante, 2007.
12. World Health Organization - WHO. Guidelines for assuring the accuracy and reliability of HIV rapid testing : applying a quality system approach. 2005.
13. Portaria N° 151 da Secretaria da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde de 14 de outubro de 2009. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 16 de outubro de 2009.
14. Ferreira Junior OC, Ferreira C, Riedel M, Widolin MR, Barbosa-Júnior A; HIV Rapid Test Study Group. Evaluation of rapid test for anti-HIV infection in Brazil. *AIDS*. 2005;19 Suppl 4:S70-5.
15. World Health Organization - WHO. HIV Simple/Rapid Assays: Operational Characteristics. Report 14, 2004.
16. World Health Organization - WHO. Operational characteristics of commercially available assays to determine antibodies to HIV-1 and/or HIV-2 in human sera. Report 11, 1999.
17. Carvalho RL, Krahe C, Farina G, Paula DO, Richetti N, Crossetti T. teste rápido para Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Parturientes. *RBGO*. 2004;26(4):325-8.
18. Duarte G, Gonçalves CV, Marcolin AC, Paschoini MC, Quintana SM, Mussi-Pinhata MM. teste rápido para Detecção da Infecção pelo HIV-1 em Gestantes. *RBGO*. 2001;23(02):107-11.
19. Machado AA, Martinez R, Haikal AA, Rodrigues Da Silva MCV. Advantages of the rapid HIV-1 test in occupational accidents with potentially contaminated material among health workers. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001;43(4):199-201.

Correspondência

Paulo Germano de Carvalho
Centro de Ciências da Saúde
Universidade de Fortaleza - Unifor
Av. Washington Soares, 1321
Fortaleza-CE, Brasil
Tel: 85-34773159

Avaliação do perfil imune dos acadêmicos do curso de biomedicina da Ulbra/Carazinho-RS frente à hepatite B através dos marcadores sorológicos anti-HBs e anti-HBc

Immune profile evaluation of biomedicine students at Ulbra/Carazinho-RS to hepatitis B by anti-HBs and anti-HBc serological markers

Rafael Miozzo¹

Alexandre Ehrhardt²

Resumo

A Infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) em profissionais e estudantes da área da saúde representa um alto risco. Os estudantes dessa área, durante a realização de atividades didáticas, passam a ter contato mais frequente com sangue e hemoderivados, aumentando o risco de infecção ao VHB, sendo a vacinação a melhor forma de prevenção contra essa doença infecciosa. O objetivo deste estudo foi determinar a imunogenicidade contra hepatite B em acadêmicos do curso de Biomedicina da Ulbra/Carazinho através de dosagens de anticorpos sanguíneos, relacionando a importância da imunoprofilaxia nesses futuros profissionais de saúde. Dos 89 acadêmicos pesquisados, 65 (73%) eram do sexo feminino e 24 (27%) do sexo masculino, com faixa etária entre 18 e 39 anos. A prática de relação sexual desprotegida teve maior prevalência entre os fatores de risco relacionados à hepatite B, com 86%. As dosagens de anticorpos contra superfície do vírus (anti-HBs) obtiveram positividade em 75 (84%) indivíduos. Foi observado que dez (11%) amostras se mostraram negativas, mesmo vacinadas, mostrando que a vacina não é 100% eficaz. Apesar disso, a presença isolada do marcador sorológico anti-HBs na maioria dos acadêmicos estudados, evidencia imunidade após vacinação.

Palavras-chave

Hepatite B; imunidade; vacinação

INTRODUÇÃO

Considerado por especialistas como o mais versátil vírus hepatotrópico, o vírus da hepatite B (VHB) é capaz de produzir desde um estado de portador assintomático da doença, passando por estágios da infecção aguda (mais comum) até a cronicidade da doença, com possibilidade de progressão à cirrose/carcinoma hepatocelular ou necrose maciça do fígado (hepatite fulminante).⁽¹⁾

O período de incubação do vírus pode variar de seis semanas a seis meses. A doença se manifesta por sintomas gerais de mal-estar, perda de apetite, fadiga intensa, vômitos, febre, dor na região do fígado (pois este já se apresenta aumentado), fezes esbranquiçadas e urina escura.⁽²⁾ Cinco dias após o aparecimento destes sintomas, inicia a fase icterícia, onde a pele e as conjuntivas se apresentam amareladas.⁽³⁾

A infecção pelo VHB pode ocorrer em qualquer pessoa. No entanto, alguns grupos de indivíduos são particularmente expostos a esse vírus, em função de determinadas circunstâncias, adoção de certas atitudes comportamentais ou da atividade profissional que exercem.⁽⁴⁾ Essa população, chamada grupo de risco, inclui: cônjuges de pessoas agudamente infectadas, indivíduos sexualmente promíscuos, profissionais de saúde, indivíduos que necessitam de transfusões repetidas, toxicômanos, filhos de mães portadoras do vírus.⁽⁵⁾

Um considerável número de enfermidades potencialmente transmissíveis por fluidos biológicos e materiais contaminados pode acometer os estudantes e profissionais de saúde, destacando-se a hepatite B.⁽⁶⁾

A hepatite B é uma importante doença ocupacional infecciosa entre estudantes e profissionais da área da saúde. Exposições percutâneas ou de membranas mucosas

¹Biomédico graduado pela Universidade Luterana do Brasil - ULBRA Campus Carazinho - Carazinho-RS, Brasil.

²Professor Orientador - Universidade Luterana do Brasil - ULBRA Campus Carazinho - Carazinho-RS, Brasil.

Instituição: Universidade Luterana do Brasil - ULBRA Campus Carazinho - Carazinho-RS, Brasil.

Recebido em 28/01/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

com sangue contaminado ou secreções corpóreas (como sêmen, secreção vaginal) representam a principal fonte de transmissão do vírus, já que quantidades diminutas destes fluídos biológicos são suficientes para transmitir a infecção.⁽⁷⁾ O VHB apresenta uma elevada resistência ambiental possuindo cinquenta a cem vezes mais infectividade que o vírus da imunodeficiência humana (HIV).⁽⁸⁾

Essa doença é um problema de saúde pública importante com morbidade e mortalidade significativas. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), 2 bilhões de pessoas estão infectadas pelo vírus e cerca de 350 milhões apresentam a forma crônica da doença. Aproximadamente 600 mil mortes são causadas por ano em consequência grave de infecção pelo VHB.⁽⁹⁾

No Brasil, a doença apresenta endemicidade variável, considerando que muitos indivíduos infectados são assintomáticos e que as infecções sintomáticas são insuficientemente notificadas. Estima-se que a frequência da hepatite B seja subestimada. O Ministério da Saúde divulga que, no Brasil, pelo menos 15% da população já estiveram em contato com o VHB e que 1% apresenta doença crônica relacionada a este vírus.⁽¹⁰⁾

A identificação desse tipo de hepatite viral se faz pela detecção, no sangue do paciente, do próprio vírus ou pela dosagem de anticorpos específicos. A detecção do vírus, indicativo de fase aguda ou crônica da doença, é indicada pela presença, no soro, do antígeno de superfície (HBsAg).⁽¹¹⁾ A resposta imune após contato com o VHB, em indivíduos imunocompetentes, cedo ou tarde leva à produção dos correspondentes anticorpos contra os principais antígenos virais que são: anticorpos contra o antígeno do Core (anti-HBc), e anticorpos contra o antígeno de Superfície (anti-HBs).⁽⁷⁾

Na maioria dos indivíduos, a hepatite pelo VHB é autolimitada e o paciente recupera-se espontaneamente. Aproximadamente 1% a 2% dos adolescentes e dos adultos normais apresentam replicação viral persistente. A frequência de infecção crônica pelo VHB é de 5% a 10% nos pacientes imunocompetentes e 80% entre os recém-nascidos, com a probabilidade de infecção crônica declinar gradativamente durante a primeira década de vida.⁽²⁾

Todos os antígenos e anticorpos podem ser identificados e utilizados no diagnóstico durante o curso da infecção pelo VHB. A identificação dos constituintes do VHB, nas diferentes fases evolutivas da infecção, pode ser realizada por testes sorológicos (pesquisa de antígenos e anticorpos) e moleculares (pesquisa qualitativa e quantitativa do DNA-VHB). Durante a infecção, os pacientes com hepatite B apresentam grandes quantidades do antígeno de superfície do VHB (HBsAg) no soro.⁽¹²⁾

Segundo dados da Vigilância em Saúde do Brasil a vacina contra hepatite B para grupos de risco no país foi implantada no Brasil em 1992. Em 1996, houve a indicação universal da vacina pela OMS. Ela é oferecida e recomen-

dada na rede pública para recém-nascidos e adolescentes até 19 anos, desde 1998. Também está indicada para grupos específicos, como profissionais de saúde, independentemente da faixa etária.⁽¹³⁾

Os esquemas mais frequentemente utilizados são de três doses nos momentos zero, um e seis meses após a primeira dose. Se a vacinação for interrompida, não é necessário recomeçar o esquema, apenas completá-lo.⁽¹⁴⁾

A eficácia da vacina é de aproximadamente 95%, porém alguns indivíduos vacinados não alcançam os títulos protetores de anticorpos.⁽⁷⁾ Para profissionais da saúde, o Ministério da Saúde recomenda que, trinta dias após a administração da última dose do esquema vacinal contra a hepatite B, sejam realizados exames sorológicos para controle dos títulos de anticorpos.⁽¹⁰⁾

A relevância da pesquisa em questão está focada na exposição dos acadêmicos aos fatores de risco durante as atividades didáticas associada ao dado anteriormente citado de que a eficácia da vacina não é de 100%.

MATERIAL E MÉTODOS

Por meio de uma pesquisa experimental, no período de setembro a novembro de 2009, foram avaliadas 89 amostras de soro obtidas por meio de punção venosa (5 mL) advindas de acadêmicos do curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil, campus Carazinho. Realizou-se também uma avaliação epidemiológica frente aos principais fatores de risco para contaminação pelo VHB.

Para se obterem informações sobre os dados pessoais e fatores de risco associados à infecção pelo VHB foram realizadas entrevistas utilizando-se um questionário especialmente elaborado para a pesquisa. O referido questionário foi aplicado aos acadêmicos de todos os semestres, contemplando ocorrência de acidente com material perfurocortante com exposição percutânea e/ou mucosa, história de transfusão sanguínea, uso de drogas injetáveis, presença de tatuagem, relações sexuais sem proteção, além da imunização contra hepatite B. A aplicação do questionário, bem como a coleta de sangue foram realizados com os indivíduos que voluntariamente se dispuseram a participar da pesquisa.

Todas as amostras foram testadas utilizando-se a técnica de Enzima Imunoensaio em Microplaca (ELISA), utilizando-se a lavadora para microplaca Anthos Fluido 2 e leitora de microplaca Anthos 2010, frente aos seguintes marcadores: anti-HBs marca Biokit®, anti-HBc marca Biokit®. Como medida de verificação das determinações sorológicas citadas foi realizada a dosagem do marcador sorológico HBsAg marca Radim®. O perfil imunológico dos acadêmicos foi determinado através da análise qualitativa (*cut-off*) para anti-HBc e HBsAg, e por determinação quantitativa (curva de calibração) para anti-HBs. As dosa-

gens foram avaliadas conforme valores de referência indicados nas respectivas bulas. As análises laboratoriais foram executadas no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da Ulbra – Universidade Luterana do Brasil, campus de Carazinho.

O estudo em questão teve como critérios de exclusão não estar matriculado no curso de Biomedicina da Ulbra/Carazinho, ser menor de idade e não aceitar participar voluntariamente da pesquisa. Após a explicação do trabalho, os estudantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido segundo a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Luterana do Brasil – Ulbra sob protocolo nº 2009 - 241H.

RESULTADOS

Entre os 89 acadêmicos pesquisados, 65 (73%) eram do sexo feminino e 24 (27%) do sexo masculino, com faixa etária entre 18 e 39 anos.

Avaliando-se o grupo de estudo em relação ao conhecimento acerca da Hepatite B, 86 (97%) afirmaram conhecer a doença e saber sobre os meios de contaminação. Ao se tratar dos fatores de risco, a maior prevalência verificada foi relação sexual sem preservativo, conforme Figura 1.

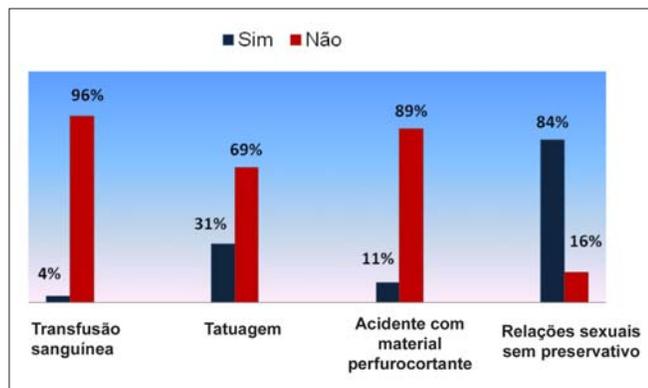


Figura 1. Gráfico de percentual de acadêmicos avaliados quanto aos fatores de risco relacionados a Hepatite B.

Com relação às dosagens laboratoriais, nenhum dos indivíduos avaliados, apresentou resultado positivo para o marcador sorológico HBsAg. Para o marcador sorológico anti-HBc, todas as amostras mostraram-se não reagentes.

As dosagens de anticorpos contra superfície do vírus (anti-HBs) obtiveram positividade em 75 (84%) amostras, com níveis de anticorpos superiores a 10 mUI/mL, conferindo imunidade contra o VHB, conforme valores de referência do reagente diagnóstico utilizado. Já 14 (16%) amostras não atingiram concentração de anticorpos necessária para proteção contra o VHB, conforme mostra a Figura 2.

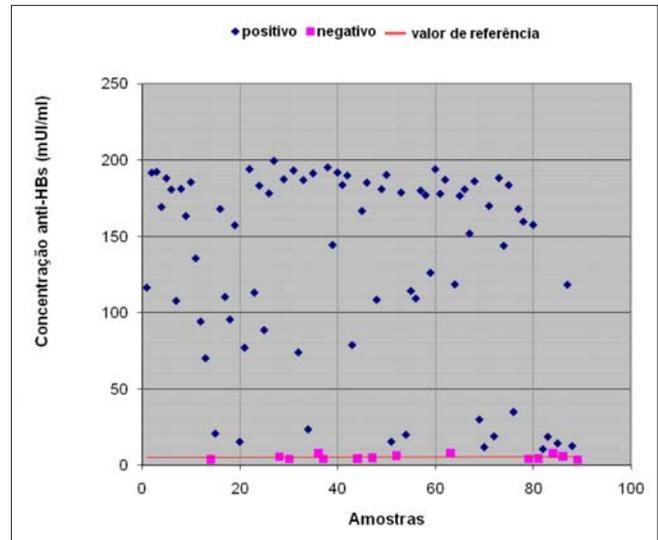


Figura 2. Gráfico de resultados para dosagem de anti-HBs.

Entre os 85 (96%) estudantes que iniciaram o esquema vacinal, dos 66 (77%) acadêmicos que administraram as três doses, 62 (94%) tiveram sorologia positiva.

Dos 11 (13%) acadêmicos que administraram duas doses, cinco (63%) tiveram sorologia positiva. Dos oito (10%) acadêmicos que administraram uma dose, cinco (63%) tiveram sorologia positiva.

A correlação do número de doses inoculadas da vacina contra hepatite B nos acadêmicos que mostraram sorologia negativa para o marcador sorológico anti-HBs (inferior a 10 mUI/mL) está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de estudantes com sorologia negativa para anti-HBs relacionado ao número de doses administradas

Número de Doses	Número de Acadêmicos	Sorologia Negativa
0	4 (4,5%)	4 (100%)
1	8 (8,9%)	3 (37,5%)
2	11 (12,3%)	3 (27,3%)
3	66 (74,3%)	4 (6,0%)
Total	89	14

DISCUSSÃO

Ao se compararem os resultados do percentual de indivíduos vacinados contra o VHB, que compreendeu 77%, frente a dados do Ministério da Saúde, pode-se afirmar que existe uma concordância em relação aos valores obtidos, pois dados do Ministério estimam que a cobertura acumulada da vacina seja cerca de 80% da população nessa faixa etária.⁽¹⁵⁾

Considerando os dados obtidos no presente estudo, a prevalência de hepatite B foi considerada baixa: dos 89

acadêmicos avaliados, nenhum deles afirmou ser portador de hepatite B, dado comprovado através da dosagem sorológica do HBsAg.

Esses dados estão em conformidade com o estudo realizado por Carneiro em 2009, na Universidade Federal da Bahia, no curso de Odontologia, no qual a prevalência presumível de hepatite B foi de 0,44% de resultados positivos nas amostras avaliadas.⁽¹⁶⁾

Com relação ao total de indivíduos incluídos no estudo, três (4%) realizaram transfusão de sangue ou hemoderivados. Segundo o Ministério da Saúde, a transmissão do VHB por essa via é rara em face da triagem sorológica obrigatória nos bancos de sangue.

Conforme a Sociedade Brasileira de Infectologia (2009), nos países mais desenvolvidos na Europa do Norte e Ocidental, a maior parte (80%-85%) das infecções agudas da hepatite B ocorre entre adultos jovens que se ocupam no uso de drogas injetáveis e atividade sexual desprotegida de alto risco.

Apesar de 84% dos indivíduos estudados afirmarem manter relações sexuais sem uso de preservativo, não foi evidenciada nessa pesquisa concordância com esses dados, pois nenhuma das amostras analisadas apresentou perfil sorológico que caracterizasse a infecção.

Pinheiro, em 2008, relata em sua pesquisa “Conhecimento e Medidas de Biossegurança e a Saúde do Trabalhador de Enfermagem”, que os riscos de transmissão do VHB nos profissionais da área de saúde é cerca de três a cinco vezes maior do que nos demais membros da população. Foi evidenciado neste estudo que nove (11%) acadêmicos já sofreram acidente com material perfurocortante durante as atividades didáticas do curso, onde o contato com sangue e hemoderivados é frequente, porém, não foi encontrado nenhum indicio de infectividade pelo vírus. Por isso, o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) bem como a vacinação são de suma importância para prevenção contra hepatite B.⁽¹⁷⁾

O marcador sorológico HBsAg apresentou-se negativo nas amostras, e o anti-HBc mostrou-se não reagente, indicando não infectividade pelo VHB nos acadêmicos, assim como a inexistência de um perfil sorológico indicando contato prévio com o vírus.

Pode-se observar neste estudo que, para o marcador sorológico que confere imunidade (Anti-HBs), a sorologia positiva obtida em 75 (84%) amostras está em concordância com o estudo realizado por Biffi, em 2002,⁽¹⁸⁾ no qual, em uma amostragem de 65 acadêmicos, obteve uma soroconversão para o mesmo marcador em 55 (85%) amostras.

Comparando-se a imunidade conferida aos acadêmicos pelo número de dosagens da vacina realizadas, os resultados também se equiparam a este estudo, no qual, dos 58 acadêmicos que administraram as três doses, 51

tiveram sorologia positiva; dos quatro acadêmicos que administraram duas doses, dois tiveram sorologia positiva; e, dos três acadêmicos que administraram uma dose, um teve sorologia positiva.

A eficácia da vacina para aqueles que completaram o sistema vacinal com as três doses foi de 94%, conferindo com o descrito pela Associação Médica Brasileira (2009), em que a eficiência da imunidade contra o vírus pode chegar a 95%.

CONCLUSÃO

A presença isolada do marcador sorológico anti-HBs na maioria dos acadêmicos estudados evidencia imunidade após vacinação contra o VHB. A cobertura vacinal dos indivíduos é satisfatória visto que grande parte atingiu concentrações aceitáveis de anticorpos protetores.

Para os indivíduos com esquema vacinal incompleto, recomenda-se completar as três doses preconizadas pelo Ministério da Saúde,⁽¹⁹⁾ tendo em vista que os sujeitos submetidos às três doses da vacina apresentaram um percentual de resultados positivos maior comparado aos que administraram apenas uma ou duas doses.

As políticas de prevenção de saúde através da investigação de anticorpos protetores contra hepatite B poderia ser implementada na instituição para aqueles que forem desenvolver atividades práticas com sangue e hemoderivados visto que a vacina não confere 100% de eficácia, necessitando dosagens sorológicas para confirmar soroconversão.

Deve-se ressaltar que a consolidação ou ampliação dos resultados poderia ser obtida com a realização da pesquisa com todos os acadêmicos do curso de Biomedicina da Ulbra/Carazinho.

Abstract

Infection by the hepatitis B virus (HBV) in occupational health care is of high risk. The students in this area – in the course of conducting the educational activities – are more frequently in contact with blood and blood derivatives, increasing the risk of HBV infection, being the vaccination the optimal way to prevent this infectious disease. This study aimed to determine the immunogenicity of hepatitis B in Biomedical Science undergraduate students at Ulbra/Carazinho by measuring blood antibodies, correlating the importance attached by the immunoprophylaxis in these future professionals of health. Out of 89 undergraduate students that were surveyed, 65 (73%) were female and 24 (27%) were male, aged between 18 and 39 years. The practice of unprotected sex had the higher prevalence of risk factors related to hepatitis B, with 86%. Serum antibodies against the virus surface (anti-HBs) had positive results in 75 (84%) of the samples. However it was observed that 11% of the samples were negative, even when vaccinated, showing that the vaccine is not 100% effective. Therefore, the presence of isolated serological marker anti-HBs in most of the undergraduate students showed immunity after vaccination.

Keywords

Hepatitis B; immunity; vaccination

REFERÊNCIAS

1. Castro LP, Coelho LGV. Gastroenterologia. Rio de Janeiro: MEDSI, 2004.
2. Herry JB e cols. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20ª. Ed. São Paulo: Manole, 2008.
3. Kasper DL, et al. Harrison: Medicina Interna. 16ª. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw - Hill interamericana do Brasil Ltda, 2006.
4. Roitt I, Brostoff J, Male D. Imunologia. 5ª ed. São Paulo: Manole Ltda., 1999.
5. Fernandes JV, Braz RFS, A Neto FV, Silva MA, Costa NF, Ferreira AM. Prevalência de marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em trabalhadores do serviço hospitalar. Rev. Saúde Pública [online]. 1999, vol.33, n.2, pp. 122-128. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101999000200003&lng=en
6. Silva PA, Fiaccadori FS, Borges AMT, Silva SA, Daher RR, Martins RMB, et al. Seroprevalence of hepatitis B virus infection and seroconversion to anti-HBsAg in laboratory staff in Goiânia, Goiás. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. [online]. 2005, vol.38, n.2, pp. 153-156. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822005000200005&lng=en
7. Gonçalves NSL, Cavalheiro NP. Marcadores Sorológicos da hepatite B e sua Interpretação. In: Souza, Anastácio Q. The Brazilian Journal of infectious Diseases, Primeiro Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B (e Delta)- 10 (Suplemento 1 - August), p. 19-22, 2006.
8. Garcia LP, Facchini LA. Vacinação contra a hepatite B entre trabalhadores da atenção básica à saúde. Cad. Saúde Pública [online]. 2008, vol.24, n.5, pp. 1130-1140. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2008000500020&lng=en.
9. Organização Mundial da Saúde (OMS). Hepatitis B. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/es/>. Acessado em: 13 nov. 2009.
10. Ministério da Saúde. Notícias do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/tags/tipo-da-noticia/noticias-do-dep-de-ist-aids-e-hepatites-virais> Acessado em 17 nov. 2009.
11. Tengan FM, Araújo ESA. Epidemiologia da Hepatite B e D e seu Impacto no Sistema de saúde. In: Souza, Anastácio Q. The Brazilian Journal of infectious Diseases, Primeiro Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia para o Diagnóstico e Manuseio da Hepatite B (e Delta)- 10 (Suplemento 1 - August), p.6-10, 2006.
12. Goldman L, Bennett C, et al. Cecil: Tratado de Medicina Interna. 21. ed. V. 1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
13. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). A história da Vacinação. Disponível em: http://189.28.128.179:8080/svs_informacao-especial-imunizacoes/linha-do-tempo. Acessado em: 21 nov. 2009.
14. Sociedade Brasileira de Pediatria. Projeto Diretrizes. Disponível em: http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=24&id_detalle=962&tipo=S. Acessado em 22 nov. 2009.
15. Ministério da Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6ª ed. rev. - Brasília, 2005.
16. Carneiro GGVS, Cangussu MCT. Prevalência presumível, cobertura vacinal, conhecimentos e atitudes relativos à hepatite B em graduandos de Odontologia da Universidade Federal da Bahia. Rev. Odontologia da UNESP. 2009; 38(1): 7-13.
17. Pinheiro J, Zeitoune RCG. Hepatite B: conhecimento e medidas de biossegurança e a saúde do trabalhador de enfermagem. Esc Anna Nery Rev Enferm 2008 jun;12(2):258-64.
18. Biffi JCG, Faria RA, Oliveira DA. Hepatite B: Uma realidade na odontologia. Disponível em: http://www.propp.ufu.br/revista_eletronica/edicao2005/vida2005/hepatite.PDF. Acessado em: 10 nov. 2009.
19. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Hepatites Virais. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/Gestor/visualizar_texto.cfm?idtxt=27150, Acessado em: 03 ago. 2009.

Correspondência

Alexandre Ehrhardt

Universidade Luterana do Brasil - Ulbra Campus

Carazinho Br 285, km 335

99500-000-Carazinho-RS, Brasil

e-mail: alexandre.ehrhardt@ulbra.br

Soroprevalência da hepatite A em universitários da região metropolitana de São Paulo

Hepatitis A seroprevalence in university students from the São Paulo metropolitan region

Yoshimi Imoto Yamamoto¹
Regina Ayr Florio da Cunha¹
Ana Paula Pimentel Costa¹

Resumo

A hepatite A é endêmica na América latina e a sua prevalência depende das condições socioeconômicas e sanitárias entre diferentes regiões. O vírus da hepatite A é transmitido por via fecal-oral, pelo contato com pessoas infectadas ou pela ingestão de alimentos e água contaminada. A transmissão é facilitada devido à alta estabilidade do vírus A no meio ambiente. O objetivo do presente trabalho foi estimar a prevalência de anticorpos específicos para hepatite A em um grupo de estudantes de uma universidade privada da cidade de São Paulo, SP, Brasil. Foram investigados 197 estudantes de faixa etária entre 17 e 25 anos, sendo representados por 76,6% de mulheres e 23,4% de homens. Amostras de sangue foram coletadas e anticorpos IgG anti HAV foram determinados utilizando-se o método de ELISA manual. A soroprevalência total foi de 19,8% (39/197) [CI 95%: 14 - 25,6%] sendo que a ocorrência de anticorpos foi semelhante em ambos os sexos. A prevalência no grupo de 17 a 22 anos foi de 17,8% (26/146) [CI 95%: 11,2 - 24,3%] e no de 23 a 25 anos foi de 25,5% (13/51) [CI 95%: 12,1 - 37,8%], não apresentando diferença significativa entre esses grupos. A prevalência observada neste trabalho é mais baixa do que os dados da literatura brasileira, presumivelmente devido ao nível socioeconômico e educacional mais elevado aliado às boas condições sanitárias nos locais de residência dos universitários. Ao mesmo tempo, a baixa soroprevalência reflete um baixo grau de proteção frente à exposição ao vírus da hepatite A nesta população.

Palavras-chave

Soroprevalência; hepatite A; anticorpos; estudantes

INTRODUÇÃO

Dentre as várias hepatites virais que acometem o ser humano, o vírus da hepatite A é o que apresenta maior prevalência, decorrente simplesmente de seu modo de transmissão. Esta doença é conhecida de longa data, sob forma epidêmica de icterícia contagiosa. O agente etiológico é o vírus pertencente ao gênero *Hepatovirus* da família *Picornaviridae* e mede em torno de 27 a 32 nm de diâmetro.⁽¹⁾ A principal via de contágio deste vírus é a fecal-oral, por contato inter-humano ou por meio de água e alimentos contaminados.⁽¹⁻³⁾ A disseminação está relacionada com as condições de saneamento básico e de higiene praticados pela população. A transmissão é facilitada pela grande estabilidade do vírus da hepatite A no meio ambiente e, também, pela grande quantidade de partículas virais presentes nas fezes dos infectados. Assim, esse vírus pode ser isolado da água de rios contaminados com esgoto, onde pode

permanecer por longos períodos, que variam entre 12 semanas e 10 meses.⁽⁴⁾ No Brasil, principalmente em cidades onde não há a mínima infraestrutura em termos de saneamento básico, como as cidades ribeirinhas do rio Amazonas, as taxas de isolamento chegam a 92% dentre as amostras coletadas.⁽⁵⁾

O vírus pode ainda ser encontrado em moluscos, cuja concentração é de até 15 vezes maior do que em água, explicando a transmissão, principalmente, através da ingestão de frutos do mar.^(1,4) Experimentalmente foi possível saber que o vírus resiste ao aquecimento a 60°C por dez a doze horas, ao congelamento a 20 graus negativos por anos, à acidez (pH 1,0) por quase duas horas à temperatura ambiente, o que faz o vírus ser altamente resistente no meio ambiente e persistir inclusive nos fômites por mais de sete dias.⁽⁶⁾

Após a ingestão, as partículas virais são transportadas pela corrente sanguínea até o fígado, órgão exclusivo de replicação do vírus da hepatite A. A viremia é observada

¹Docente do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Presbiteriana Mackenzie Brasil – São Paulo-SP, Brasil.

Instituição: Laboratório Escola de Análises Clínicas e Toxicológicas do Curso de Farmácia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Presbiteriana Mackenzie – São Paulo-SP, Brasil.

Suporte financeiro: Fundo Mackenzie de Pesquisa – São Paulo-SP, Brasil.

Recebido em 06/04/2011
Artigo aprovado em 15/02/2016

por cinco a dez dias e a eliminação nas fezes se dá por uma a duas semanas. O período de incubação é de cerca de quatro semanas, podendo variar de dez a cinquenta dias, com início abrupto de sintomas, quando não ocorre assintomaticamente como é comum em crianças. A taxa de mortalidade é de cerca de 0,1%, sendo menor nas crianças, e aumenta com a idade devido a uma maior exposição às fontes de contágio. A infecção não evolui para forma crônica ou latente de portador assintomático uma vez que a resposta imune celular é responsável pela resolução da infecção. Os anticorpos anti-HAV representam a base para o diagnóstico laboratorial da infecção.⁽³⁾

Do ponto de vista epidemiológico, a hepatite A tem ocorrência mundial, sendo que a prevalência varia conforme a região e as condições das redes de esgotos e de distribuição de água. Tem-se observado que a introdução de melhoramentos na infraestrutura de saneamento básico, tais como o fornecimento de água potável e melhorias no sistema de eliminação de dejetos, tem minimizado a infecção pelo HAV. A importância nos cuidados básicos do tratamento de água e esgotos fica clara quando se observa que, no continente africano, onde a precariedade é a tônica do cotidiano, o HAV infecta precocemente as crianças, atingindo valores superiores a 90% na primeira década de vida. Essas regiões são consideradas de alta endemicidade.

A América Latina, por sua vez, situa-se na área de transição de elevada endemicidade para intermediária. Já na maior parte da Europa Oriental e da Ásia, nos quais o saneamento e as condições socioeconômicas são melhores ou tiveram grandes avanços nos últimos anos, as populações apresentam prevalência de anticorpos superior a 50%, na segunda ou terceira décadas, e são consideradas área de endemicidade intermediária.⁽⁶⁾ Entretanto, podem ocorrer variações grandes conforme a região. Michos & cols.⁽⁷⁾ observaram que, em Roma, crianças de 5 a 15 anos apresentaram altas incidências (98,3%) de anti-HAV, enquanto que, em outras regiões da Itália, tais valores foram de 32,7%. Na América do Norte, na maior parte da Europa Ocidental, na Austrália e na Nova Zelândia são observadas baixas taxas de endemicidade.

Estudos de prevalência da hepatite A são importantes na política de adoção de medidas preventivas. Em estudo feito em quatro grandes centros do Brasil verificou-se que a região norte é a que apresenta maior prevalência de anticorpos anti-HAV (92%), seguida de região nordeste (Fortaleza com 76,5%), região sul (Porto Alegre) com 55,7% e igualmente a região sudeste (Rio de Janeiro) com 55,7%. Neste estudo, as pessoas de faixa etária entre 16 e 20 anos apresentaram 72,9% enquanto que as de faixa etária entre 21 e 30 anos, 85,9%.⁽⁸⁾ Em virtude da prevalência da hepatite A estar ligada diretamente às condições socioeconômicas e à infraestrutura sanitária em que as pessoas vivem, o Sistema Único de Saúde utiliza a prevalência da hepatite A como

indicador do nível de saneamento.⁽⁹⁾ Conforme dados mais recentes, porém ainda preliminares, de uma grande pesquisa nacional realizada pelo Ministério da Saúde, anticorpos contra hepatite A estão presentes em 32% a 38% da população abaixo de 10 anos de idade. A vigilância epidemiológica recebeu, no ano de 2008, mais de 10 mil notificações de casos de hepatite A. Estes casos concentraram-se na região nordeste, com 3.920 casos, explicados pela precariedade no saneamento básico. As regiões norte, sudeste, centro-oeste e sul notificaram respectivamente, 2.098, 1.831, 1.465 e 1.272 casos.⁽²⁾

Em virtude da grande variação da prevalência da hepatite A conforme regiões de diferentes condições de saneamento, de escolaridade, de fatores socioeconômicos e histórico de vacinação, buscou-se no presente trabalho avaliar a frequência de anticorpos contra a hepatite A numa população de universitários, na sua maioria composta por estudantes de nível socioeconômico elevado, residentes na grande São Paulo.

O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos contra o vírus da hepatite A (HAV) em universitários de faixa etária entre 17 e 25 anos de idade, alunos de uma instituição privada de ensino superior da grande São Paulo, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

Foi utilizada uma amostra não probabilística por conveniência composta por 197 estudantes, de ambos os sexos, com idade de 17 a 25 anos, que deram entrada no Laboratório Escola de Análises Clínicas e Toxicológicas do Curso de Farmácia da Universidade Presbiteriana Mackenzie do município de São Paulo, no período de fevereiro a novembro de 2009.

Aos estudantes foram dadas explicações sobre a pesquisa e solicitada a assinatura do Termo de Consentimento. O sangue foi coletado da veia do braço, após jejum de oito horas, utilizando-se o sistema de coleta a vácuo. As amostras de soro foram armazenadas a 20°C negativos até a sua análise.

A determinação de anticorpos anti-HAV foi realizada pelo método ELISA competitivo (marca DiaSorin, Itália), seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, numa placa sensibilizada com anticorpo monoclonal anti-HAV, foram adicionados 50 µL da solução-tampão em todos os poços, exceto no branco e, em seguida, 50 µL de calibradores de 20 mUI/mL, controle negativo, controle positivo (IgG anti-HAV humana) e amostras. Em cada cavidade, com exceção do branco, foi adicionada solução de neutralização [HAVAg recombinante, volume de 50 µL], seguida de incubação a 37°C por duas horas. A placa foi lavada por cinco

vezes na lavadora (Biotek Instruments, modelo ELX50). Em seguida, adicionaram-se 100 µL de conjugado enzimático (anti-HAV conjugado com peroxidase), diluído a 1/50, exceto no branco e incubou-se a placa novamente a 37°C por uma hora, com posterior lavagem. A reação de revelação ocorreu com a adição de 100 µL de solução de cromogênio (tetrametilbenzidina) e substrato (peróxido de hidrogênio) em todos os poços e, após trinta minutos, em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, foi acrescida de 100 µL de solução de ácido sulfúrico 0,4 N. As absorbâncias das amostras foram obtidas através do leitor de placas de ELISA (Biotek Instruments, modelo ELX800), utilizando-se o filtro de comprimento de onda (λ) de 450 nm e filtro de referência de 620 nm. Após a validação do teste segundo critérios fornecidos pelo fabricante, pelo fato de este teste ser competitivo, as amostras foram consideradas negativas quando os valores de absorbância foram superiores ao limiar de reatividade (*cut-off*) e consideradas positivas quando foram inferiores. O limiar de reatividade foi obtido pela média da absorbância do calibrador de 20 mUI/mL + /- 20%.

RESULTADOS

A prevalência de anticorpos anti-HAV na totalidade de 197 universitários foi de 19,8% (IC 95%: 14 - 25,6%), sendo 15,2% (7/46) (IC 95%: 3,7 - 26,7%) no grupo masculino e 21,2% (32/151) (IC 95%: 14,4 - 28,0%) no grupo feminino, não havendo portanto diferença significativa entre esses grupos (Figura 1).

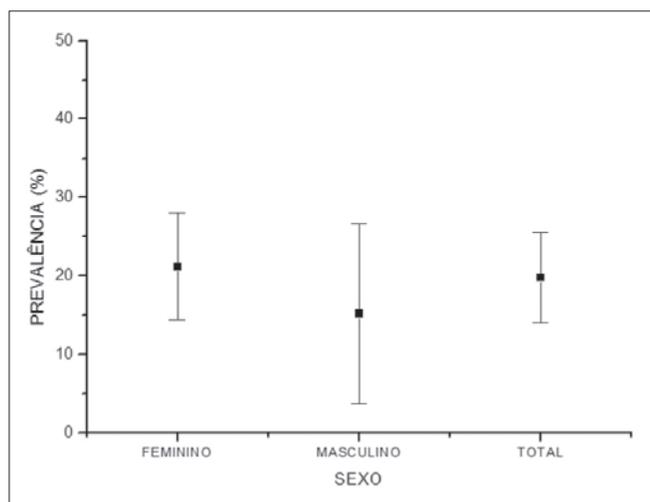


Figura 1. Prevalência (%) de anticorpos antivírus da Hepatite A em universitários conforme o sexo.

No grupo de faixa etária entre 17 a 22 anos, foi observada uma prevalência de 17,8% (26/146) (IC 95%: 11,2 - 24,3%) a qual não foi estatisticamente diferente da observada na faixa etária entre 23 e 25 anos, que foi de 25,0% (13/51) (IC 95%: 12,1 - 37,8%) (Figura 2).

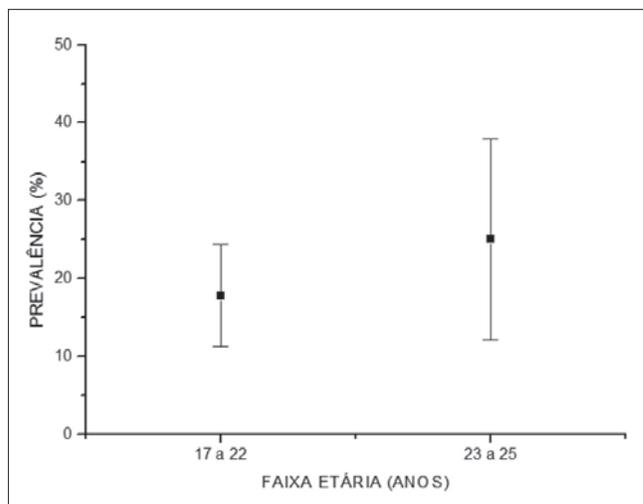


Figura 2. Prevalência (%) de anticorpos antivírus da Hepatite A em universitários segundo a faixa etária.

DISCUSSÃO

Foi encontrada a prevalência de 19,8% de anticorpos anti-HAV nos 197 universitários estudados (Intervalo de confiança de 95%: 14 - 25,6%). Não houve diferença entre o gênero e também não foi possível ver diferença estatisticamente significativa entre o grupo de 17 a 22 anos e o grupo de 23 a 25 anos.

Devido ao tipo de transmissão que a hepatite A apresenta é esperado que a prevalência desta infecção aumente com a idade. Markus⁽⁶⁾ avaliou a prevalência da hepatite A em 901 crianças e adolescentes da cidade de Curitiba, Paraná, mediante anticorpos anti-HAV, tendo obtido 3% na faixa etária de 1 a 4 anos, 21,1% na faixa de 5 a 9 anos e 29,9% na faixa de 10 a 14 anos. A ocorrência da hepatite A na população, no decorrer do tempo, foi bem demonstrada por Villar & cols,⁽⁹⁾ que analisaram anticorpos IgM anti-HAV, que são marcadores de infecção recente, numa população de mais de 1.700 pessoas, tendo observado positividade de aproximadamente 31% em média, nos anos de 1999 a 2001, no estado de Rio de Janeiro, observando inclusive maior incidência dessa infecção na primavera e verão.

A prevalência por nós verificada é menor até mesmo quando comparada às encontradas em faixas etárias mais jovens, como os valores citados por Medronho & cols,⁽¹⁰⁾ que observaram prevalência de 28,2% em crianças de 1 a 9 anos, na cidade de Duque de Caxias, no Rio de Janeiro, e também por Markus,⁽⁶⁾ citado acima.

Em pacientes de ambulatório de São Paulo, Dinelli & cols⁽¹¹⁾ encontraram 54% de soropositividade em adolescentes, sendo 64% no grupo de 15-19 anos e 46% no grupo mais jovem, de faixa etária entre 10 e 14 anos.

A literatura mostra que a prevalência pode variar dentro de um país, ou região, ou até dentro de um município

em função das análises feitas em agrupamentos conforme a escolaridade, nível socioeconômico e acessibilidade à vacina. Pinho & cols⁽¹²⁾ mostraram dois perfis diferentes na população de Campinas, na qual encontraram 85% de soropositividade em doadores de sangue com menor escolaridade e nível socioeconômico baixo, e 19,2% no grupo de maior escolaridade e nível socioeconômico médio/alto, representado por 101 universitários do curso de medicina. O grau de escolaridade é um dos fatores que influenciam na ocorrência da hepatite A, demonstrado também por Gaze & cols,⁽¹³⁾ que observaram uma prevalência maior em pacientes do SUS quando comparada com os demais pacientes, num estudo realizado em um laboratório clínico de Macaé, no qual encontraram prevalência média de 88,8%.

Em nosso trabalho, encontramos valores bastante inferiores aos observados na literatura, provavelmente porque os universitários pertenciam a uma camada socioeconômica mais privilegiada, vivendo em condições melhores de saneamento básico e por possuírem mais informações a respeito da doença e da sua prevenção pelo fato de serem alunos da área de saúde do ensino superior. Entretanto, quando comparados com a prevalência observada em grupos específicos de universitários, os nossos resultados são semelhantes aos obtidos por Pinho & cols,⁽¹²⁾ que verificaram 19,2% de positividade em universitários do curso de medicina da cidade Campinas.

Para a prevenção da hepatite A, os melhoramentos das condições sanitárias e o acesso à imunização são fundamentais. A vacina contra hepatite A foi introduzida na década de 90, sendo usada nas clínicas de imunização particulares. Na rede pública do Brasil, a vacina encontra-se disponível somente em Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais e é distribuída para grupos de pacientes específicos.⁽¹⁴⁾ A vacinação em massa tem sido tema de discussão devido ao seu alto custo.

No presente estudo, não foi possível saber se os resultados positivos de anticorpos seriam provenientes de infecções naturais do passado ou se estariam refletindo estado de imunidade decorrente da vacinação contra a hepatite A.

CONCLUSÃO

A reduzida soroprevalência de 19,8% na população de universitários aqui observada reflete um estado de baixa proteção dessas pessoas frente à hepatite A, ao contrário das populações cuja maioria já possui anticorpos contra esse vírus. Nesse sentido, seria recomendável realizar um trabalho de prevenção da hepatite A junto a esses estudantes, informando as possíveis vias de transmissão e incentivando a vacinação, pois esta é a maneira mais eficaz de se obter proteção.

Agradecimentos

Agradecemos ao Fundo Mackenzie de Pesquisa pelo apoio financeiro, ao Prof. Dr. Roberto Parise Filho pela colaboração na confecção das figuras e às farmacêuticas Ana Carolina Azzuz Chernishev e Cinthia Midori Azuma pelo auxílio na coleta de sangue.

Abstract

Hepatitis A is endemic in Latin America and its prevalence depends on socioeconomic and sanitary conditions between different regions. The hepatitis A virus occurs by fecal-oral transmission, either by direct contact with an infected person or by ingestion of contaminated food or water. The transmission is facilitated due to of high stability of virus A environment. The objective of present work was estimate the prevalence of specific antibodies to hepatitis A virus in a population of students of a private university located in São Paulo city, São Paulo state, Brazil. One hundred and ninety seven students aged between 17 to 25 years, comprising 76.6% female and 23.4% male, were investigated. Blood samples were collected and the IgG to HAV were measured by manual ELISA method. The overall seroprevalence was 19,8% (39/197) [CI 95%: 14 - 25.6%] and the occurrence of antibodies was similar between female and male students. The prevalence in the age among 17 to 22 years was 17.8% (26/146) [CI 95%: 11.2 - 24.3%] and in the age among 23 to 25 years was 25.5% (13/51) [CI 95%: 12.1 - 37.8%], showing similar distribution in these age ranges. The prevalence seen in this work is lower than the data of brazilian literature, presumably because of the higher socioeconomic and educational level beside good sanitary conditions of the localities where the students live. The low seroprevalence means at the same time low degree of protection against Hepatitis A virus in this population.

Keywords

Prevalence; hepatitis A; antibodies; students

REFERÊNCIAS

- Pereira FEL, Gonçalves CS. Hepatite A. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2003;36(3):387-400. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000300012&lng=en.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hepatites virais: o Brasil está atento. 2ª. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- Mils J. Infecções Virais. In Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden J.B. Imunologia Médica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Coogan, 2004. p 537-54.
- Ferreira CT, Da Silveira TR. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. Rev. Bras. Epidemiol. 2004;7(4):473-87.
- de Paula VS, Arruda ME, Vitral CL, Gaspar AMC. Seroprevalence of viral hepatitis in riverine communities from the Western Region of the Brazilian Amazon Basin. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96(8): 1123-8.
- Markus JR. Estudo da soroprevalência da Hepatite A em crianças e adolescentes da Curitiba, Paraná. Curitiba, 2008. 84p. [Dissertação de mestrado - Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná].
- Michos A, Terzidis A, Kalampoki V, Pantelakis K, Spanons T, Petridou ET. Seroprevalence and risk factors for hepatitis A, B, and C among Roma and non-Roma children in a deprived area of Athens, Greece. J Med Virol. 2008;80(5):791-7.
- Clemens SA, da Fonseca JC, Azevedo T, Cavalcanti A, Silveira R, Castilho M, et al. Hepatitis A and hepatitis B seroprevalence in 4 centers in Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2000;33(1):1-10. [Article in Portuguese]

9. Villar LM, De Paula VS, Gaspar AM. Seasonal variation of hepatitis A virus infection in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2002;44(5):289-92.
10. Medronho RA, Valencia LIO, Fortes BPMD, Braga RCC, Ribeiro SV. Análise espacial da soroprevalência de uma região carente de Duque de Caxias, RJ, Brasil. *Rev. bras. epidemiol.* [Internet]. 2003 Dec;6(4):328-334. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2003000400007&lng=en
11. Dinelli MIS, Fisberg M, Moraes-Pinto MI. Anti-hepatitis A virus frequency in adolescents at an outpatient clinic in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2006;48(1):43-4.
12. Pinho JR, Sumita LM, Moreira RC, de Souza VA, Saraceni CP, Oba IT, et al. Duality of patterns in hepatitis A epidemiology: a study involving two socioeconomically distinct populations in Campinas, São Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998; 40(2):105-6.
13. Gaze R, Carvalho DM, Werneck GL. Soroprevalência das infecções pelos vírus das hepatites A e B em Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública* [Internet]. 2002;18(5):1251-1259. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2002000500017&lng=en.
14. Ferreira CT, da Silveira TR. Viral hepatitis prevention by immunization. *J Pediatr (Rio J)*. 2006 Jul;82(3 Suppl):S55-66. Erratum in *J Pediatr (Rio J)*. 2007 Jan-Feb;83(1):following 97. Abstract

Correspondência

Yoshimi Imoto Yamamoto

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Universidade Presbiteriana Mackenzie

Rua da Consolação 896

01302-907 – São Paulo-SP, Brasil

e-mail: yoshimi.yamamoto@mackenzie.br

Frequência de testes rápidos positivos para HIV em um hospital público de Alagoas

HIV positive rapid test frequency in a public hospital in Alagoas

Cícero Robeval Sena Costa¹

Elesandro Silva Maia¹

Erika Elita Araujo Lessa²

Mônica Meira Leite Rodrigues³

Resumo

AIDS é uma síndrome infectocontagiosa, crônica e progressiva, ainda sem tratamento curativo, causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Está distribuída em todas as regiões do mundo, o que a caracteriza como uma pandemia. Foi realizado um estudo transversal determinando a frequência de testes rápidos positivos para HIV em um hospital público de Alagoas, no período de janeiro 2009 a junho 2010. No período pesquisado foram realizados 1.492 exames de testes rápidos, e destes apenas 3,15% apresentaram sorologia positiva. Verificou-se que, entre os resultados reagentes, 61,75% foram do sexo masculino e 38,30% do sexo feminino, sendo a faixa etária entre 30 a 39 anos a de maior prevalência com 38,3% de soropositividade em ambos os sexos. Identificou-se que 0,40% das amostras positivas foram em gestantes, 0,06% em paciente fonte de acidente de trabalho e 0,26% em pacientes com tuberculose. Por serem testes altamente específicos e sensíveis, de fácil execução e interpretação, permitem uma ação imediata dos profissionais de saúde nos indivíduos com sorologia positiva, e ainda serem um objeto de estudo que permitirá a elaboração de melhorias nos programas de prevenção e controle das DST/AIDS dos órgãos competentes.

Palavras-chave

HIV; testes rápidos; Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

INTRODUÇÃO

Um dos mais sérios problemas de saúde pública nos últimos 25 anos tem sido a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), uma doença infectocontagiosa, crônica e progressiva, ainda sem tratamento curativo, causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Está distribuída em todas as regiões do mundo, o que a caracteriza como uma pandemia.^(1,2)

Apesar dos inúmeros esforços de governos mundiais na luta contra a AIDS, a epidemia continua crescendo em vários países. Desde o primeiro caso identificado, em 1981, até o início da década de 90, o número de indivíduos infectados correspondia a cerca de 8 a 9 milhões.⁽³⁾ Atualmente há no mundo aproximadamente 33 milhões de indivíduos infectados pelo HIV. Do total de casos, em 2008 foram 2,7 milhões de pessoas, onde 430 mil são crianças menores de 15 anos. A região com maior prevalência mundial é a África subsahariana com 67% de todos os casos e responsável pela ocorrência de 72% dos óbitos em 2008.⁽⁴⁾ Conforme

estudo no continente africano, a incidência de HIV em mulheres grávidas é cerca de quatro vezes maior do que em mulheres na população geral.⁽⁵⁾

Entre 1980 e junho de 2010 foram notificados no Brasil 592.914 casos de AIDS e, destes, 58% se concentram na região sudeste, 19,5% na região sul, 12,5% no nordeste, 5,7% no centro-oeste e 4,2% na região norte. Embora a região sudeste seja a que apresente as maiores taxas de incidência, é a região sul que demonstra aumento dos índices de HIV a partir de 2007. Dos casos notificados, 65,1% foram do sexo masculino e 34,9% do sexo feminino, com concentração mais elevada na faixa etária entre 30 a 49 anos em ambos os sexos. Observa-se expressivo aumento da incidência na faixa etária acima de 50 anos e redução naquelas abaixo de 13 anos.⁽⁶⁾

A AIDS é a manifestação clínica da infecção pelo HIV, que apresenta tropismo pelos linfócitos T-CD4,⁽¹⁾ responsáveis pela organização da resposta imune. À medida que aumenta a imunossupressão, os indivíduos infectados pelo HIV têm um risco extremamente elevado de desenvolver

¹Graduando em Farmácia pelo Centro Universitário Cesmac – Maceió-AL, Brasil.

²Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário Cesmac – Maceió-AL, Brasil.

³Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP – São Paulo-SP, Brasil.

Instituição: Centro Universitário Cesmac – Maceió-AL, Brasil.

Recebido em 28/11/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

coinfeção com tuberculose (TB). Em 2008, foram estimados 9,4 milhões de novos casos de TB em âmbito mundial, dos quais 1,4 milhão (15%) eram HIV positivo. Estima-se que 1,8 milhão de pessoas morreram de tuberculose no mundo, dos quais cerca de 0,5 milhões foram pacientes com coinfeção de TB/HIV.⁽⁷⁾

Segundo o Ministério da Saúde (2007),⁽⁸⁾ a transmissão vertical do HIV acontece pela passagem do vírus da mãe para o bebê durante a gestação, parto ou amamentação. Com uma prevalência de 0,41% de infecção pelo HIV em gestantes, estima-se que 12.456 recém-nascidos sejam expostos ao HIV anualmente.

De acordo com a Coordenação Nacional de DST/AIDS, a cobertura de testagem para infecção pelo HIV durante o pré-natal está abaixo de 40%. Considera-se esta baixa adesão devido a vários fatores como: qualidade no pré-natal nas populações mais desfavorecidas socioeconomicamente, cobertura insuficiente de testes no pré-natal e a dificuldade da rede hospitalar em prover diagnóstico laboratorial de anti-HIV.⁽⁹⁾

Desse modo, a única oportunidade de acesso ao teste para pesquisa do HIV é no período do parto e puerpério. A terapia antirretroviral (ARV) executada durante o trabalho de parto e após o nascimento reduz cerca de 50% a probabilidade de transmissão vertical.⁽¹⁰⁾ É importante ressaltar que a prevenção desta infecção no recém-nascido é mais eficaz quando as drogas antirretrovirais são realizadas durante a gestação,^(10,11) pois reduz 70% o risco de exposição ao HIV. Vale informar a importância do diagnóstico precoce do teste anti-HIV no pré-natal para reduzir os índices de transmissão de HIV em crianças.⁽¹⁰⁾

No Brasil, o Ministério da Saúde estima a taxa de soroc conversão para HIV entre 0,1% a 0,4% nas exposições ocupacionais por acidente percutâneo.⁽¹²⁾ Segundo Lee,⁽¹³⁾ a utilização do teste rápido anti-HIV em exposições com material biológico permite o início imediato da profilaxia antirretroviral pós-exposição, reduzindo o risco de contaminação desta doença.

Em 1987, os testes rápidos para a detecção de anticorpos anti-HIV (TR) já estavam à disposição no mercado. No início, os desempenhos destes testes não eram satisfatórios quando comparados aos de ELISA. Entretanto, nos últimos anos, os mesmos foram aprimorados e novos ensaios foram desenvolvidos, baseados em novas tecnologias. Esses ensaios são simples porque não requerem equipamentos ou grande habilidade técnica por parte do seu operador, podem ser executados em um ou poucos passos, e, sobretudo, podem ser concluídos em menos de vinte minutos.⁽¹⁴⁾

De acordo com a portaria 151 do Ministério da Saúde (2009), os testes rápidos para HIV poderão ser realizados nas seguintes situações especiais: rede de serviços de saúde sem infraestrutura laboratorial ou localizada em regiões de difícil acesso, Centro de Testagem e Aconse-

lhamento - CTA, segmentos populacionais flutuantes, segmentos populacionais mais vulneráveis, parceiros de pessoas vivendo com HIV/AIDS, acidentes biológicos ocupacionais (paciente fonte), gestantes que não tenham sido testadas durante o pré-natal ou cuja idade gestacional não assegure o recebimento do resultado do teste antes do parto, parturientes e puérperas que não tenham sido testadas no pré-natal ou quando não é conhecido o resultado do teste no momento do parto, abortamento espontâneo e outras situações especiais definidas pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.⁽¹⁵⁾

Estes testes são feitos exclusivamente com kits validados pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.⁽¹⁵⁾ São ensaios imunocromatográficos utilizados para a detecção qualitativa de anticorpos HIV-1 e HIV-2 em sangue total, soro ou plasma humano, que apresentam alta sensibilidade e especificidade, sendo credenciados como recurso extremamente importante.⁽¹⁶⁾

Desta forma, esta pesquisa teve como fundamento determinar a frequência de testes rápidos positivos para HIV em um hospital público do estado de Alagoas, por meio de levantamento de dados pesquisados nos livros de registros laboratoriais.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi do tipo transversal, realizado no Hospital Universitário Professor Alberto Antunes, na cidade de Maceió, sendo os dados coletados no Laboratório de Análises Clínicas nos livros de registros no período de janeiro 2009 a junho 2010, constituindo a amostra da pesquisa. Foram excluídos os resultados dos exames de pacientes que foram testados por outras metodologias. Os kits utilizados no serviço foram: teste rápido HIV - I e II Bio-Manguinhos e rapid Check -NDI ((Núcleo de Doenças Infecciosas). Os dados coletados foram lançados em planilha Microsoft Office Excel 2007, a partir dos quais foi feita uma estatística descritiva, representados na forma de gráficos.

A pesquisa foi submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS/Cesmac), sendo aprovada em parecer nº 1129/2010 e realizada em conformidade com exigências da Resolução CNS 196/96.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período pesquisado foram realizados 1.492 exames de testes rápidos para HIV, sendo 384 (25,74%) em homens, 30 (2,01%) em crianças e 1.078 (72,25%) em mulheres. Destas, 675 (45,24%) eram gestantes.

Das sorologias realizadas 47 (3,15%) foram positivas. Destas, 29 (61,70%) eram do sexo masculino e 18 (38,30%) do sexo feminino, o que está de acordo com o estudo de Oliveira et al.,⁽¹⁷⁾ no qual, no Distrito Federal, dos 218 pacientes positivos, a maior parte dos indivíduos reagentes foi do sexo masculino, 136 (62,39%), e 82 (37,61%) do sexo feminino.

Com relação à faixa etária, os pacientes reagentes nos testes rápidos para HIV encontravam-se agrupados no intervalo entre 19 a maiores de 50 anos. Com maior prevalência na faixa etária de 30 a 39 anos, onde 11 (23,40%) eram homens e sete (14,90%), mulheres. De acordo com Brito et al.,⁽¹⁸⁾ no Brasil, desde o início da epidemia, o grupo etário mais atingido, em ambos os sexos, tem sido o de 20 a 39 anos que, sistematicamente, representa mais de 60% dos casos de AIDS, perfazendo cerca de 70% do total de casos notificados. No estudo de Oliveira et al.⁽¹⁷⁾ verificou-se que a faixa com maior prevalência foi de 20 a 34 anos com 64% dos casos positivos.

Em 80% das faixas etárias, a predominância de testes reagentes ocorreu no sexo masculino. O Ministério da Saúde, através do boletim epidemiológico Aids DST,⁽⁶⁾ nos anos 2007 a 2010, no Brasil, notificaram-se 11.162 (60%) casos de AIDS em homens com idade superior a 50 anos, contra 7.462 (40%) em mulheres da mesma faixa etária.

Segundo Sousa,⁽¹⁹⁾ no Brasil, atualmente, têm-se percebido mudanças no curso da AIDS, e uma delas é o aumento do número de casos entre idosos. De 1980 a junho 2006 foram notificados 9.918 casos. Isto pode se dever à entrada dos medicamentos para disfunção erétil no país. Porém, não é possível dizer que tenha uma relação direta com esta variável. Esta população na adolescência ou na fase adulta conviveu muito pouco com métodos preventivos e hoje não é vista como potencial infectada por HIV/AIDS e outras DST.

Dentre as gestantes, seis (0,40%) apresentaram resultado positivo. Lemos et al.,⁽¹⁶⁾ em estudo no estado de Sergipe, encontraram uma prevalência de 0,42%, que é semelhante à nacional e também corrobora com a encontrada neste estudo.

Connor et al., apud Carvalho,⁽²⁰⁾ ressaltam a importância da realização do teste rápido para HIV nas gestantes. O início da terapia ARV o mais precocemente possível diminui as chances de contaminação do conceito.

De acordo com dados do Boletim epidemiológico (2010), ocorreu redução de casos de AIDS em crianças menores de 5 anos. Foram registrados 954 casos em 1999, e 468 em 2009. Comparando-se os anos de 1999 e 2009, a redução chegou a 44,4%. O resultado confirma a eficácia das medidas preventivas estabelecidas pelo Ministério da Saúde para redução da transmissão vertical do HIV.⁽⁶⁾

Foram levantados 64 (4,30%) resultados de exames realizados devido a acidente com material perfurocortante,

sendo 36 (2,41%) de profissionais da área de saúde e 28 (1,90%) de pacientes fonte.

Foi encontrado um (0,06%) resultado positivo de um paciente fonte de acidente de trabalho com perfurocortante. Segundo Canini et al.,⁽²¹⁾ os acidentes ocupacionais com materiais perfurocortantes representam 31,40% de todos os acidentes ocupacionais notificados ao SESMT, no ano de 1998. E a maioria ocorreu entre trabalhadores de enfermagem.

Barbosa et al.⁽²²⁾ descreveram que, entre os profissionais de enfermagem, a categoria de auxiliar é a que mais sofre acidentes de trabalho, destacando-se os ocorridos com materiais perfurocortantes. Ainda ressaltam que a maioria dos profissionais de enfermagem desconhece a necessidade de notificação do acidente de trabalho.

Os acidentes ocupacionais com material biológico sofrido pelo profissional de saúde muitas vezes são subnotificados e, com isso, a falta de dados epidemiológicos no Brasil impede o conhecimento da real situação deste problema, dificultando a implementação e avaliação de medidas preventivas.⁽²³⁾

De acordo com a portaria 151 do Serviço de Vigilância Sanitária e Ministério da Saúde (SVS/MS), de 14 de outubro de 2009,⁽¹⁵⁾ os testes rápidos de diagnósticos para HIV em casos de acidentes com material perfurocortante devem ser realizados apenas para os pacientes fontes. No entanto, verificou-se que, neste estudo, o maior número de testes realizados foi para os profissionais de saúde vítimas dos acidentes de trabalho.

Dentre os resultados pesquisados, 48 (3,22%) tiveram tuberculose (TB) como indicação clínica. Destes, quatro (0,26%) foram positivos. Segundo Jamal e Moherdaull,⁽²⁴⁾ a tuberculose é a doença oportunista mais frequente no paciente infectado pelo HIV. No Brasil, nos anos de 2000 e 2001, apresentavam uma frequência de 8,1% e 7,8% respectivamente. Com esta alta frequência de coinfeção TB-HIV, é um desafio terapêutico o tratamento destes pacientes, pois, atualmente, há poucas opções terapêuticas em antirretrovirais para uso concomitante com o principal medicamento utilizado para o tratamento da tuberculose.

A tuberculose é uma doença tratável, mas continua sendo a principal causa de morte entre os indivíduos com HIV. Foi observado que o maior índice desta epidemia encontra-se na África, onde a maior parte dos óbitos de HIV ocorre dentro de dois meses com diagnóstico de tuberculose.⁽²⁵⁾

Segundo Rodrigues et al.,⁽²⁶⁾ a possibilidade de um indivíduo imunocompetente infectado pela TB desenvolver a doença é cerca de 10% ao longo da vida; já num indivíduo infectado pelo HIV sem intervenção terapêutica, essa probabilidade é cerca de 10% ao ano. Em seu estudo no Rio Grande do Sul, a taxa de coinfeção (HIV e tuberculose) foi de 29,2% em 1.537 pacientes diagnosticados para tuberculose.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos, o estudo possibilitou uma visão sobre a frequência de positividade em HIV em gênero e faixa etária que se encontram em acordo com os estudos anteriormente realizados. Os resultados dos testes para HIV em gestantes foram semelhantes ao da literatura e, no caso dos acidentes ocupacionais, justifica-se a realização do teste rápido apenas em pacientes fonte, no entanto, em nossa pesquisa foi verificado maior índice em profissionais da saúde, o que não garante a real situação sorológica pós-exposição do vírus HIV. A transmissão vertical será reduzida quando for priorizado o diagnóstico precoce e o tratamento imediato com antirretrovirais.

Os testes rápidos de diagnósticos para HIV, por serem rápidos e de fácil execução e interpretação, permitem uma ação imediata por parte dos profissionais de saúde nos indivíduos com sorologias positivas, sendo importantes para a elaboração de melhorias para os programas de prevenção e controle das DST/AIDS dos órgãos competentes. Devido à sua alta sensibilidade e especificidade, os mesmos deveriam ser utilizados na rotina, para maior agilidade no diagnóstico, visto que, na atualidade, sua utilização é restrita conforme portaria 151/2009 SVS/MS.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos os colaboradores do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização da pesquisa.

Abstract

AIDS is a chronic and gradual infectious contagious syndrome, caused by the human immunodeficiency virus (HIV), currently without cure. It is spread all over the world, thus being considered a pandemic disease. In this paper we present the findings of a transversal study conducted in a public hospital in Alagoas, which determined the frequency of positive results on rapid tests for HIV, from January 2009 to June 2010. 1492 examinations were conducted during the observation period, and only 3.15% of the results indicated HIV infection. It was also noted that 61.75% of the patients were male and 38.3% female. Patients aged from 30 to 39 years old, were found to represent 38.3% of all infected results, for both sexes. Positive HIV infection was detected on pregnant women (0.4%), patients with tuberculosis (0.26%) and 0.06% of the infected contracted the disease accidentally on work environment. As the rapid test is considered highly specific and sensitive, easy to handle and interpret, it allows a quick response action from the healthy care professionals on helping the HIV infected patients. Besides, it is considered a study object that will allow researches to improve the existent AIDS/STD prevention and control programs.

Keywords

HIV; rapid tests; Acquired Immunodeficiency Syndrome

REFERÊNCIAS

1. Souza TRC, Shimma E, Nogueira-Martins MCF. Os lutos da AIDS: da desorganização à reconstrução de uma nova vida. *J Bras Aids*. 2006;7(2):63-74.
2. UNAIDS. Report on the global AIDS epidemic: Executive summary. Disponível em: <http://data.unaids.org/pub/GlobalReport/2006/2006_gr_executivesummary_en.pdf> Acesso em: 15 maio 2011.
3. UNAIDS. Paediatric HIV infection and AIDS: UNAIDS point of view. Disponível em: <http://data.unaids.org/publications/IRC-pub02/jc750-paediatric-pov_en.pdf> Acesso em 01 maio 2011.
4. UNAIDS. A ONU e a resposta à aids no Brasil. Disponível em: <<http://unaids.org.br/biblioteca/folder/finalpdf>> Acesso em 11 maio 2011.
5. Moodley D, Esterhuizen TM, Pather T, Chetty V, Ngaleka L. High HIV incidence during pregnancy: compelling reason for repeat HIV testing. *AIDS*. 2009 Jun 19;23(10):1255-9.
6. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controle de DST/AIDS. Boletim Epidemiológico AIDS e DST, Versão Preliminar, n. 02. Brasília, 2010. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/publicacao/boletim-epidemiologico-2010>>. Acesso em: 01 jul. 2011.
7. Patel AK, Thakrar SJ, Ghanchi FD. Clinical and laboratory profile of patients with TB/HIV coinfection: A case series of 50 patients. *Lung India*. 2011;28(2):93-6.
8. Ministério da Saúde. Plano Operacional: Redução da transmissão vertical do HIV e da sífilis. Brasília, 2007. 24p.
9. Morimura MCR, Mendes MDC, Souza AI, Alencar LCA. Frequência de testagem rápida para o HIV durante a admissão para o parto em puérperas no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2006;6 (Supl 1): 569-76.
10. Barroso LMM, Galvão MTG. Avaliação de atendimento prestado por profissionais de saúde a puérperas com HIV/AIDS. *Texto Contexto Enf*. 2007;16(3):463-9.
11. Havens PL, Chakraborty R, Cooper E, Emmanuel PJ, Hoyt LG, Martinez J, et al; American Academy of Pediatrics Committee on Pediatric AIDS. HIV testing and prophylaxis to prevent mother-to-child transmission in the United States. *Pediatrics*. 2008;122(5):1127-34.
12. Ministério da Saúde. Doenças relacionadas ao trabalho: Manual de procedimento para os serviços de saúde. Brasília, 2001. 290p.
13. Lee BE, Plitt S, Fenton J, Preiksaitis JK, Sing AE. Rapid HIV tests in acute care settings in an area of low HIV prevalence in Canada. *J Virol Methods*. 2011;172(1-2):66-71.
14. Ministério da Saúde. Teste Rápido - porque não?: Estudos que contribuíram para a política de ampliação da testagem para o HIV no Brasil. Brasília, 2007. Disponível em: <<http://www.pgpe.ufrgs.br/ats/extensao/custo%20efetividade%20rapido%20brasil.pdf>> Acesso em 22 maio 2011.
15. Brasil, Ministério da Saúde. Portaria nº 151, de 14 de outubro de 2009. Diário Oficial da União, Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.pncq.org.br/pdfs/portaria151-2009.pdf>>. Acesso em 10 maio 2011.
16. Lemos LMD, Gurgel RQ, Fabbro AL. Prevalência da infecção por HIV em parturientes de maternidades vinculadas ao SUS. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. [Internet]. 2005;27(1): 32-36. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032005000100007&lng=en.
17. Oliveira OMV, Medeiros RS, Nascimento MAB, Boni MS. Perfil nutricional e fatores de risco para obesidade central de pessoas que vivem com HIV/AIDS. *Com. Ciências Saúde*. 2008; 19(4):305-14. Disponível em: http://www.escs.edu.br/pesquisa/Vol19_4art08.pdf
18. Brito MB, Castilho EA, Szwarcwald CL. Aids e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. [Internet]. 2001;34(2):207-217. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822001000200010&lng=en.
19. Sousa JL. Sexualidade na terceira na terceira idade: Uma discussão da aids, envelhecimento e medicamentos para disfunção erétil. *J Bras Doenças Sex Transm*. 2008;20(1):59-64.

20. Carvalho RL, Krahe C, Farina G, Paula DO, Richetti N, Crossetti T. Teste rápido para diagnóstico da Infecção pelo HIV em parturientes. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2004;26(4):325-8.
21. Canini SRMS, Gir E, Hayashida M, Machado AA. Acidentes perfurocortantes entre trabalhadores de enfermagem de um hospital Universitário do interior paulista. Rev. Latino-Am. Enfermagem [Internet]. 2002;10(2):172-178. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692002000200008&lng=en.
22. Barbosa MA, Figueiredo VL, Paes MSL. Acidentes de trabalho envolvendo profissionais de enfermagem no ambiente hospitalar: um levantamento em banco de dados. Rev Enferm Integrada Ipatinga: Unileste-MG. 2009;2(1):176-86. Disponível em: <https://www.unileste.edu.br/enfermagemintegrada/volume2.php>
23. Loureiro LA, Gomes AC, Malaguti SE, Canine SRMS, Machado AA, Gir E. Adesão de profissionais de enfermagem ao seguimento clínico após exposição ocupacional com material biológico. Rev. Eletr. Enf. [Internet]. 2009;11(2):303-8. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br/revista/v11/n2/v11n2a10.htm>. Acesso em 24 ago. 2011.
24. Jamal LF, Moherdai F. Tuberculosis and HIV infection in Brazil: magnitude of the problem and strategies for control. Rev Saude Publica. 2007;41 Suppl 1:104-10. [Article in Portuguese]
25. Pevzner ES, Vandebriel G, Lowrance DW, Gasana M, Finlay A. Evaluation of the rapid Scale-up of collaborative TB/HIV activities in TB facilities in Rwanda, 2005-2009. BMC Public Health. 2011;11:550.
26. Rodrigues JLC, Fiegenbaum M, Martins AF. Prevalência de coinfeção tuberculose/HIV em pacientes do centro de saúde modelo de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Scientia medica (Porto Alegre. 2010; 20(3):212-7. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/scientiamedica/ojs/index.php/scientiamedica>.

Correspondência

Mônica Meira Leite Rodrigues
 Universidade Federal de Alagoas - UFAL
 Maceió- AL, Brasil
 e-mail: monica.m.rodrigues@uol.com.br

Prevalência de anticorpos anti-Hantavírus na população do município de Palmas-PR

Prevalence of anti-Hantavirus antibodies in the population of Palmas city-PR

Rajan T. de Araujo¹

Suzana Cartensen^{2,3}

Sônia M. Rabon^{2,3}

Claudia N.D. dos Santos³

Jardel C. Bordignon¹

Resumo

A síndrome cardiopulmonar por hantavírus (SCPH) é uma doença que vem preocupando setores de saúde pelo mundo desde seu primeiro caso, notificado em 1993, devido à sua alta taxa de letalidade. A hantavirose possui duas apresentações clínicas: a febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR), ocorrendo na Eurásia, e a SCPH nas Américas, cujos sintomas iniciais podem ser confundidos aos de um estado gripal. A transmissão de ambas ocorre principalmente pela inalação de partículas virais presentes em dejetos contaminados de roedores. O objetivo deste trabalho é determinar a prevalência de anticorpos anti-hantavírus em indivíduos sem história prévia de sintomas clássicos de SCPH e, desta forma, mapear as potenciais áreas de risco de contato com o hantavírus. Estes dados poderão ser utilizados para ações de vigilância e prevenção pela Secretaria Municipal de Saúde, e se justificam pelo fato de a economia do município estar baseada principalmente em atividades de campo e, sendo assim, um número elevado de pessoas está sujeito ao contato com roedores. Os dados foram determinados pela dosagem de anticorpos IgG anti-hantavírus no soro de 137 voluntários, apresentando uma positividade de 1,46% para o município.

Palavras-chave

Hantavírus; *Bunyavirus*; síndrome cardiopulmonar respiratória

INTRODUÇÃO

A hantavirose é uma infecção viral aguda de distribuição mundial causada por vírus da família *Bunyaviridae* e gênero *Bunyavirus*.⁽¹⁾ Essa doença possui distribuição mundial e representa um problema crescente de saúde pública devido principalmente à destruição de *habitats* naturais de roedores silvestres, que são o principal reservatório dos hantavírus.⁽²⁾ Dados epidemiológicos mostram que essa doença vem emergindo, e que a cada ano são notificados mais casos no Brasil. Segundo dados do Ministério da Saúde do ano de 2007, entre 1º de janeiro e 30 de julho foram notificados, no Brasil, 55 casos confirmados de hantavirose, com índice de letalidade de 38,2%, demonstrando que a hantavirose possui alta taxa de letalidade. No gráfico a seguir é possível observar o número de casos de hantavirose por estado do Brasil no primeiro semestre de 2007.⁽³⁾

As infecções por hantavirus apresentam sintomas diferentes dependendo da área no mundo. No Ocidente, abrangendo o continente americano, a forma da doença se dá por síndrome cardiopulmonar respiratória (SCPH), a qual

foi detectada pela primeira vez nas Américas, incluindo o Brasil, no ano de 1993. No Oriente, abrangendo Europa e Ásia, a doença apresenta-se na forma de febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR), com taxa de mortalidade na ordem de 1%-10%. As duas formas clínicas apresentam um estado inicial semelhante, comparadas a um estado gripal, havendo sintomas como febre, dores no corpo, dor de cabeça, vômito e diarreia.⁽⁴⁾

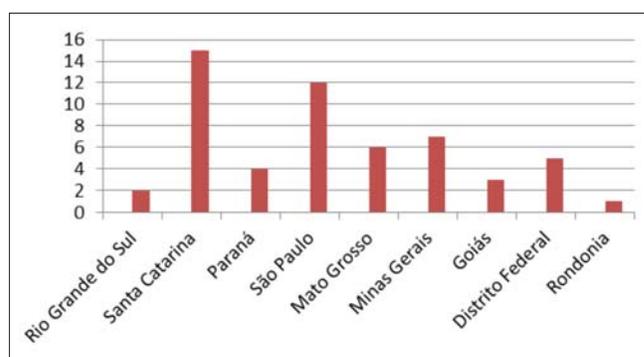


Gráfico 1. Casos de hantavirose no Brasil. 1º semestre de 2007. Fonte: Ministério da Saúde, 2007.

¹Instituto Federal do Paraná Campus Palmas – Palmas-PR, Brasil.

²Laboratório de Virologia, Hospital das Clínicas HC/UFPR – Curitiba-PR, Brasil.

³Laboratório de Virologia Molecular, Instituto Carlos Chagas ICC/Fiocruz – Curitiba-PR, Brasil.

Instituição: Instituto Federal do Paraná Campus Palmas – Palmas-PR, Brasil.

Recebido em 07/12/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

Os hantavírus são envelopados e apresentam estrutura icosaédrica, material genético de RNA fita negativa e trisegmentado. Os três segmentos correspondentes ao material genético são denominados: pequeno, médio e grande, sendo que o primeiro codifica a proteína do nucleocapsídeo, o médio codifica uma poliproteína que, quando clivada, gera as duas glicoproteínas do envelope (G1 e G2) e, finalmente, o segmento maior que codifica a proteína L, que revela funções de transcriptase/replicase viral.⁽⁵⁾

Na natureza, os hantavírus são transmitidos entre os roedores através de ferimentos causados por comportamento agressivo entre esses animais.⁽⁶⁾ A hantavirose causa infecção persistente e sem a presença de sintomas em roedores, a qual é transmitida para seres humanos pela inalação de partículas provenientes de urina, fezes, saliva ou pelo contato direto de pele lesada com algum fluido contaminado pelo vírus, arranhões e mordidas dos roedores.⁽⁷⁾ Transmissão de hantavirose entre humanos também já foi descrita.⁽⁸⁾

As infecções por hantavírus são mais frequentes em áreas rurais, pois é uma infecção relacionada principalmente a atividades ocupacionais (agricultura) e, mais recentemente, a atividades de lazer, como ecoturismo. Entretanto, não apenas as pessoas que vivem e trabalham nesses locais são afetadas pela doença, pois alguns profissionais de determinadas áreas são expostos a locais onde existem roedores e assim acabam adquirindo a doença. Alguns exemplos são agrônomos, fazendeiros, profissionais da área de saúde, entre outros.⁽⁹⁾ Outro fator relacionado ao aumento do número de casos de hantavirose é o climático, pois, ao longo do ano e de acordo com a disponibilidade de alimento, a densidade populacional de roedores reservatórios aumenta de forma significativa.⁽⁷⁾

O primeiro caso de SCPH foi notificado em 1993 nos Estados Unidos durante o surto de uma doença cardiopulmonar respiratória, causada pelo hantavírus, que apresentou quatro estágios: quadro febril, insuficiência cardiopulmonar, alterações na diurese e convalescença.⁽¹⁰⁾ No Brasil, desde a primeira notificação da doença, também em 1993, foram notificados mais de 1.100 casos de síndrome cardiopulmonar, com uma taxa de mortalidade de aproximadamente 40%. O hantavírus Araucária foi descrito no estado do Paraná, mas ainda existem muitas lacunas com relação aos diferentes genótipos de hantavírus que circulam no Brasil e às espécies de roedores envolvidas na transmissão.⁽¹¹⁾ A doença cursa com o pico de viremia ocorrendo antes do início dos sintomas, seguido pelo aparecimento de anticorpos da classe IgM e, pouco tempo depois, anticorpos da classe IgG. A piora do quadro clínico pode ocorrer em questão de poucas horas quando o paciente apresenta edema pulmonar e hipóxia, sendo necessário o emprego de respiração mecânica.⁽⁵⁾

O diagnóstico laboratorial basicamente é feito pela pesquisa de anticorpos IgG e IgM no soro do paciente, pelo método de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Os anticorpos da classe IgG permanecem por toda a vida do indivíduo, podendo ser usados para a pesquisa de exposição prévia ao vírus.

As alterações laboratoriais da SCPH apresentam-se como trombocitopenia em mais de 80% dos casos, aumento da concentração de células vermelhas no sangue (hematócrito maior que 49%), leucócitos com desvio à esquerda e presença de linfócitos atípicos.⁽⁹⁾

Não há vacinas ou tratamentos antivirais específicos, apenas tratamento de suporte de acordo com os sintomas apresentados pelo paciente. No caso da FHRS, o tratamento baseia-se em reposição de fluidos e manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico devido à fase de poliúria da doença, e o acompanhamento renal, que, em casos graves, deve ser tratado com sessões de hemodiálise. Na SCPH, o tratamento concentra-se em manter os sinais vitais adequados, dando ênfase no processo respiratório do paciente.⁽¹²⁾

A prevenção da doença é baseada em um processo educativo da população e melhoramento das condições sanitárias, para que não haja contato da população com fluidos biológicos contaminados pelos roedores.⁽¹²⁾

O presente trabalho teve por objetivo enriquecer dados sobre a doença no município de Palmas pela determinação da prevalência de anticorpos IgG anti-hantavírus na população. Este município, situado na região sudoeste do Paraná, teve alta incidência da doença no início da década passada. Outro objetivo foi o de pesquisar a possível relação entre a positividade e o local em que os pesquisados residiam e trabalhavam, uma vez que o município de Palmas tem sua economia baseada na exploração da madeira, agropecuária e atividades de campo, o que representa uma população com alto risco ocupacional.

MATERIAL E MÉTODOS

Como o Paraná é um dos estados da federação com um dos maiores índices de casos de SCPH, o estudo foi realizado buscando trazer mais dados sobre a realidade epidemiológica do município, analisando-se o meio de convívio do investigado. As atividades desenvolvidas por estas pessoas, local de residência e exposição a roedores foram analisadas. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Oswaldo Cruz sob o número 242/04.

Foram analisadas amostras de voluntários maiores de 18 anos, residentes no município de Palmas-PR, tanto na área urbana quanto na área rural, que colaboraram com uma alíquota de sangue coletada em dois eventos de extensão da universidade, totalizando um número de 137 amostras.

A coleta das amostras foi realizada no segundo semestre de 2008. Após a coleta das amostras, os voluntários foram submetidos a um questionário que abordou o tempo em que residiam em Palmas, se trabalhavam na zona rural ou a visitavam com frequência, e se comumente encontravam roedores ou seus dejetos.

A pesquisa de anticorpos IgG anti-hantavírus foi realizada em amostras de soro coletadas com seringa e agulha da marca Becton Dickinson®, e tubos SSTII com gel separador também da marca Becton Dickinson®. Após incubação em banho-maria a 37° C por trinta minutos para formação do coágulo, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3.400 rpm. As amostras de soro obtidas foram congeladas e enviadas ao Instituto Carlos Chagas/Fiocruz PR em caixa de isopor com gelo seco, para evitar o descongelamento.

A pesquisa dos anticorpos IgG anti-hantavírus foi realizada com o kit IgG Hantec, teste do tipo ELISA de captura, produzido pelo Instituto Carlos Chagas/Fiocruz PR, utilizando a nucleoproteína recombinante do hantavírus.⁽¹³⁾

RESULTADOS

Desde o relato dos primeiros casos de SCPH no Brasil, em 1993, mais de 1.100 foram notificados no país, com uma taxa de letalidade de aproximadamente 40%. No município de Palmas-PR, foram coletadas e pesquisadas 137 amostras de soro. Destas, duas foram reagentes para anticorpos IgG anti-hantavírus, resultando em positividade de 1,46%.

DISCUSSÃO

Os primeiros casos de SCPH na América do Sul ocorreram no estado de São Paulo, em 1993, e foram fatais. Três pessoas de uma área rural de Juiquitiba-SP apresentaram uma doença aguda caracterizada por febre, dores de cabeça, prostração, náuseas e vômitos. Dois deles morreram de insuficiência respiratória aguda. Testes sorológicos confirmaram infecção por hantavírus indicado em todos os três casos. Entre setembro de 1998 e janeiro de 2004, 334 casos sorologicamente comprovados de SCPH foram detectados no Brasil. Um terço destes casos ocorreu no estado do Paraná e estava relacionado com atividades rurais.⁽¹⁴⁾

Com o objetivo de analisar áreas de risco de contato com hantavírus no município de Palmas-PR, foi realizada uma enquete com indivíduos saudáveis sem histórico clínico de SCPH para se determinar a soroprevalência de anticorpos anti-hantavírus nesta população.

Alguns estudos soropidemiológicos já foram realizados no Brasil para pesquisar a prevalência de anticorpos IgG anti-hantavírus. Em áreas em que houve casos de SCPH

foram encontradas altas prevalências destes anticorpos, como 8,4% em General Carneiro-PR,⁽¹³⁾ 13,3% em Anajituba-MA⁽¹⁵⁾ e 14,3% em Jardinópolis-SP.⁽¹⁶⁾

O resultado desta pesquisa, com positividade de 1,46%, está abaixo dos encontrados nos estudos citados acima. Apesar disso, representa um número significativo de pessoas que possivelmente entraram em contato com o vírus. Em uma população estimada em aproximadamente 47.000 habitantes, este percentual representa quase 686 pessoas. Um fator que pode ter influenciado o resultado é que a maioria dos voluntários relatou que residia em zona urbana, deste modo trata-se de uma população de baixo risco.

Um ponto importante a ser comentado é que, apesar da letalidade em torno de 40%, existem casos assintomáticos e subclínicos da hantavirose, uma vez que o número de óbitos devidos à doença é muito pequeno quando comparado ao número estimado de pessoas que entraram em contato com o vírus.

CONCLUSÃO

Os resultados advindos desta pesquisa fornecem dados importantes acerca da prevalência de anticorpos IgG anti-hantavírus no município de Palmas-PR. O percentual (1,46%) é relativamente baixo se comparado a estudos realizados em outras localidades, mas está longe de poder ser considerado desprezível. Os dados mostram que muitos indivíduos foram expostos ao vírus e não manifestaram a doença, ou então a manifestaram de forma subclínica. Devido ao fato de haver somente duas amostras positivas das 137 testadas, não foi possível comparar a positividade com o meio de convívio do voluntário à pesquisa, pois esse valor encontrado não seria real, sendo necessário um número maior de amostras reagentes para essa avaliação. A análise das informações obtidas é fundamental para que se possa conhecer cada vez mais esta patologia que há menos de vinte anos começou a ser detectada no Brasil.

Abstract

Hantavirus infection (hantavirus) is an illness that is worrying health agencies around the world since it first notification in 1993, due to high mortality rate. This disease can develop in two different ways, known as hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) occurring in the Americas and hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Eurasia, and both have starting symptoms similar to influenza. The transmission in both cases occurs through inhalation of contaminated rodent droppings. The objective of this research is to determine the prevalence of anti-hantavirus IgG antibodies, and justifies itself because the city's economy is based on field activities and, thus, lots of people are used to contact rodents. Anti-hantavirus IgG antibodies were searched in 137 volunteers, and a 1,46% positivity was found.

Keywords

Hantavirus; Bunyavirus; cardiopulmonary respiratory syndrome

REFERÊNCIAS

1. Butler JC, Peters CJ. Hantaviruses and hantavirus pulmonary syndrome. *Clin Infect Dis*. 1994;19(3):387-94; quiz 395.
2. Macneil A, Nichol ST, Spiropoulou CF. Hantavirus Pulmonary Syndrome. *Virus Res*. 2011;162(1-2):138-47.
3. Situação Epidemiológica da Hantavirose em 2007 Informe Técnico Nº. 01 Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_hantavirose_2007.pdf> Acesso em: 09/11/2011
4. Moreno MS, Castelão RC, Braga RT, Lobo SM. Hantavirus pulmonary syndrome with multiple organ dysfunctions: case report. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2007;19(4):494-8. [Article in Portuguese]
5. Schmaljohn CS, et al. Bunyaviridae: The viruses and Their Replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Fields Virology*. 4th. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
6. Limongi JE, Costa FC, Paula MBC, Pinto RMC, Oliveira MLA. Síndrome cardiopulmonar por hantavírus no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, 1998-2005: aspectos clínico-epidemiológicos de 23 casos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2007;40(3):295-299. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822007000300009&lng=en.
7. Donalizio MR, Vasconcelos CH, Pereira LE, Ávila AMH, Katz G. Aspectos climáticos em áreas de transmissão de hantavirose no Estado de São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2008; 24(5):1141-1150. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2008000500021&lng=en
8. Martinez VP, Bellomo C, San Juan J, Pinna D, Forlenza R, Elder M, et al. Person-to-person transmission of Andes virus. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(12):1848-53.
9. Ferreira MS. Hantaviruses. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(1):81-96. [Article in Portuguese]
10. Steier KJ, Clay R. Hantavirus pulmonary syndrome (HPS): report of first case in Louisiana. *J Am Osteopath Assoc*. 1993;93(12):1286-9.
11. Raboni SM, Probst CM, Bordignon J, Zeferino A, dos Santos CN. Hantaviruses in Central South America: phylogenetic analysis of the S segment from HPS cases in Paraná, Brazil. *J Med Virol*. 2005;76(4):553-62.
12. Campos GM, Borges AA, Badra SJ, Figueiredo GG, Souza RL, Moreli ML, et al. Pulmonary and cardiovascular syndrome due to hantavirus: clinical aspects of an emerging disease in southeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(3):282-9. [Article in Portuguese]
13. Raboni SM, Levis S, Rosa ES, Bisordi I, Delfraro A, Lemos E, et al. Hantavirus infection in Brazil: development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;58(1):89-97.
14. Raboni SM, Rubio G, DE Borba L, Zeferino A, Skraba I, Goldenberg S, et al. Clinical survey of hantavirus in southern Brazil and the development of specific molecular diagnosis tools. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(6):800-4.
15. Mendes WS, da Silva AA, Aragão LF, Aragão NJ, Raposo Mde L, Elkhoury MR, et al. Hantavirus infection in Anajatuba, Maranhão, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(8):1496-8.
16. Figueiredo LT, Moreli ML, Campos GM, Sousa RL. Hantaviruses in São Paulo state, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2003 Jul;9(7):891-2.

Correspondência

Jardel C. Bordignon

Rua Vicente Machado, 1303, ap 25

85.555-000. Palmas-PR, Brasil

Telefone/Fax: (46) 3262-1406

e-mail: jardel@labaldes.com.br

Prevalência da hepatite B nos doadores de sangue em Santa Maria-RS em um período de 20 anos

Hepatitis B seroprevalence in blood donors in Santa Maria-RS in a period of 20 years

Bruna de Medeiros Cabral¹

Hellen Lopes de Paula¹

Margareth Linde Athayde¹

Michel Mansur Machado²

Resumo

A transfusão sanguínea é um processo que, mesmo realizado dentro das normas técnicas preconizadas, envolve risco sanitário com a ocorrência potencial de incidentes transfusionais. As infecções causadas pelo vírus da hepatite B (HBV) constituem grave problema de saúde pública mundial e, diante disso, é de extrema importância o seu controle epidemiológico. Foram analisadas as sorologias realizadas em 130.824 doadores de sangue do Hospital Universitário/Hemocentro Regional de Santa Maria entre os anos de 1989 e 2008. Foi verificado, através de um levantamento de dados, o índice de positividade dos marcadores sorológicos para hepatite B durante esse período, bem como a variação dos mesmos entre os anos e sua proximidade com o valor nacional e regional. A partir dos resultados obtidos, foi verificado que ocorre o predomínio do sexo masculino entre as sorologias positivas durante o período avaliado. Também mostra que o índice de positividade para os marcadores da hepatite B é muito pequeno, demonstrando que a região é uma área de baixa endemicidade para o HBV.

Palavras-chave

Hepatite B; doadores de sangue; hemoterapia; sorologia

INTRODUÇÃO

A história da hemoterapia praticada no Brasil é caracterizada por fatos que a situam em duas eras, uma pré-pró-sangue e outra pós-pró-sangue, isto é, antes e depois de 1980.⁽¹⁾ O primeiro período ficou marcado pela elaboração do Decreto nº 54.494, de 16 de outubro de 1964, que criou um grupo de trabalho para estudar e propor a legislação disciplinadora da hemoterapia no Brasil e instituir, ainda, a Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH), que, a partir dessa data, ficou sediada no Ministério da Saúde.⁽¹⁾ No ano seguinte, em 28 de junho de 1965, foi promulgada a Lei n.º 4.701, que dispunha sobre o exercício da atividade hemoterápica no Brasil e dava as bases da Política Nacional do Sangue (organização da distribuição de sangue, de seus componentes e derivados, doação voluntária, medidas de proteção ao doador e ao receptor, sistematização da atividade industrial de hemoderivados, incentivo à pesquisa científica e à formação e ao aperfeiçoamento de recursos humanos). A CNH foi definida como um órgão permanente do Ministério da Saúde, incumbido de fazer cumprir os postulados da Política Nacional de Sangue. A CNH fez o pri-

meiro trabalho normativo existente no País, emitindo regularmente portarias e instruindo decretos que versaram desde o registro dos serviços executores da atividade hemoterápica até a exportação de plasma humano.⁽¹⁾ Em 1976, o Ministério da Saúde passou a ter uma nova organização com a extinção das comissões nacionais, que foram substituídas por câmaras técnicas do Conselho Nacional de Saúde. Através da Portaria nº 534, de 27 de novembro de 1978, a CNH passou a constituir uma dessas câmaras (Câmara Técnica de Hemoterapia – CTH, com funções normativas e consultivas).⁽¹⁾ Por volta de 1985/1987, a questão do sangue e dos hemoderivados no Brasil era crítica. O tema passou a adquirir notoriedade em decorrência do aparecimento da AIDS (até 1987, a categoria de exposição por transfusão sanguínea foi responsável por 8,8% dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde). Diante desse quadro e da relevância desses serviços, o Ministério da Saúde estabeleceu medidas rigorosas no sentido de oferecer maior segurança aos doadores e receptores de sangue e hemoderivados.⁽¹⁾

A transfusão sanguínea é um processo que, mesmo realizado dentro das normas técnicas preconizadas, envolve risco sanitário com a ocorrência potencial de incidentes

¹Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Camobi – Santa Maria-RS, Brasil.

²Fundação Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana – Uruguaiana-RS, Brasil.

Trabalho realizado na Agência Transfusional do Hospital Universitário de Santa Maria-RS, Brasil.

Recebido em 25/03/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

transfusionais, que podem ser classificados em imediatos ou tardios.⁽¹⁾ Dentre os incidentes transfusionais tardios destacam-se aqueles relacionados às doenças infecciosas e parasitárias. Para prevenir o aparecimento e/ou recorrência desses incidentes, torna-se fundamental o monitoramento e a vigilância de todo o processo, da captação do doador à transfusão.⁽¹⁾ Hoje, no Brasil, os serviços de hemoterapia são regidos pelas normas técnicas contidas na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 153, de 4 de junho de 2004, seguindo-se os princípios da moderna hemoterapia.

O objetivo deste trabalho foi verificar, através de um levantamento de dados, a prevalência de hepatite B nos doadores do Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) e do Hemocentro Regional de Santa Maria (HEMORGS) durante um período de vinte anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica para coletar dados sobre informações da doença em questão e, em seguida, realizou-se a pesquisa de campo. As amostras de sangue coletadas dos doadores de sangue do Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário de Santa Maria e do Hemocentro Regional de Santa Maria foram submetidas à análise sorológica conforme a legislação em vigor, sendo testadas em equipamento automatizado para as seguintes doenças: sífilis; doença de Chagas; pesquisa de HIV; pesquisa de HTLV; hepatite B e hepatite C. Foram verificados os resultados das sorologias para hepatite B realizadas nos períodos de janeiro de 1989 a dezembro de 2008. Os resultados foram classificados e apresentados na forma de gráficos para melhor compreensão. O projeto foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria e aprovado sob o nº 23081.005770/2009-38.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 130.824 pessoas que compareceram ao Banco de Sangue do HUSM e ao HEMORGS e doaram sangue no período de janeiro de 1989 a dezembro de 2008, 26.605 (20,3%) eram do sexo feminino e 104.219 (79,7%) do sexo masculino. Quando comparado o total de doadores por gênero entre os anos (Figura 1), observa-se a mesma relação anterior, ou seja, o sexo masculino foi o mais prevalente em todos os anos, como, por exemplo, nos anos de 1995 e 2007 encontramos, respectivamente, 85% e 73% de doadores homens. O significativo predomínio de doadores do sexo masculino é consistente com o descrito em outros estudos, com valores iguais a 69,1% no Banco de Sangue de Caxias do Sul/RS,⁽²⁾ 74,7% em Pelotas/RS⁽³⁾ e 72,9% no estado do Acre.⁽⁴⁾

A grande quantidade de doadores do sexo masculino ocorre provavelmente por serem os indivíduos inicialmente solicitados a doar sangue para a reposição do estoque transfundido e devido ao fato da região de Santa Maria ser sede de diversos regimentos militares, os quais costumam ser doadores regulares. As causas da menor prevalência feminina também podem estar associadas à ocorrência de anemia, gestação, menstruação, medo de agulhas, entre outros.⁽²⁾

Do total de doadores analisados, 1.961 (1,5%) apresentaram algum marcador sorológico de HBV positivo ou indeterminado, sendo 467 mulheres (23,8%) e 1.494 homens (76,2%). Quanto à distribuição de sorologias positivas por gênero a cada ano (Figura 2), observaram-se resultados semelhantes, pois o percentual de doadores do sexo masculino manteve-se acima de 70% em todos os anos do estudo. Os achados nesse estudo foram semelhantes aos encontrados em Erechim/RS, onde 68,5% dos doadores eram homens.⁽⁵⁾

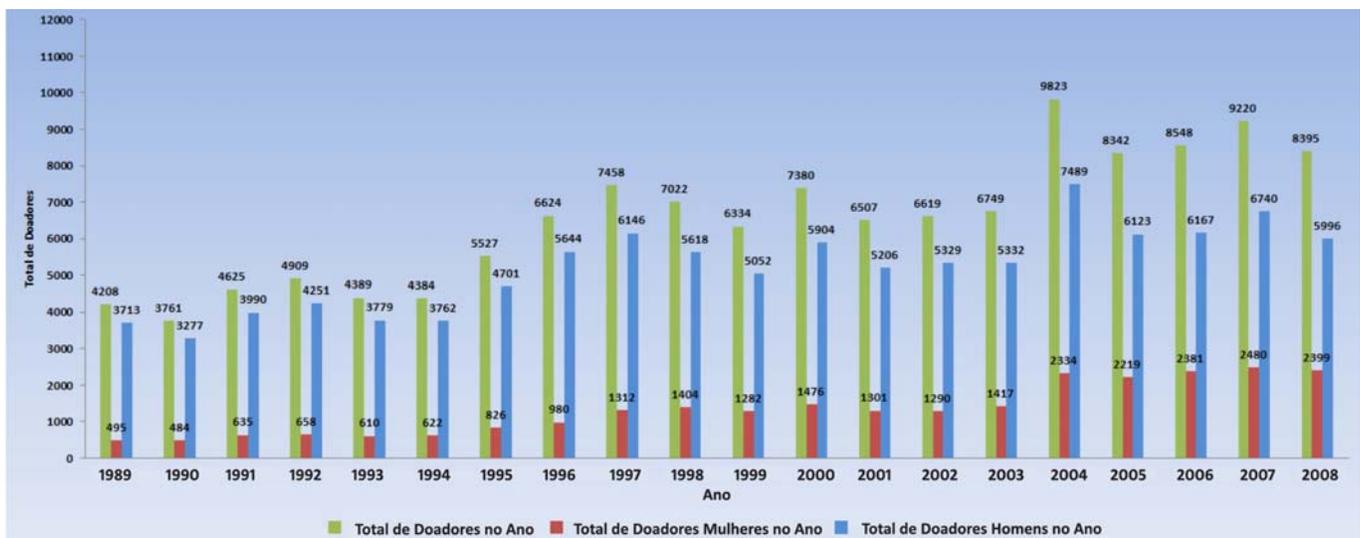


Figura 1. Total de doadores no ano por gênero.

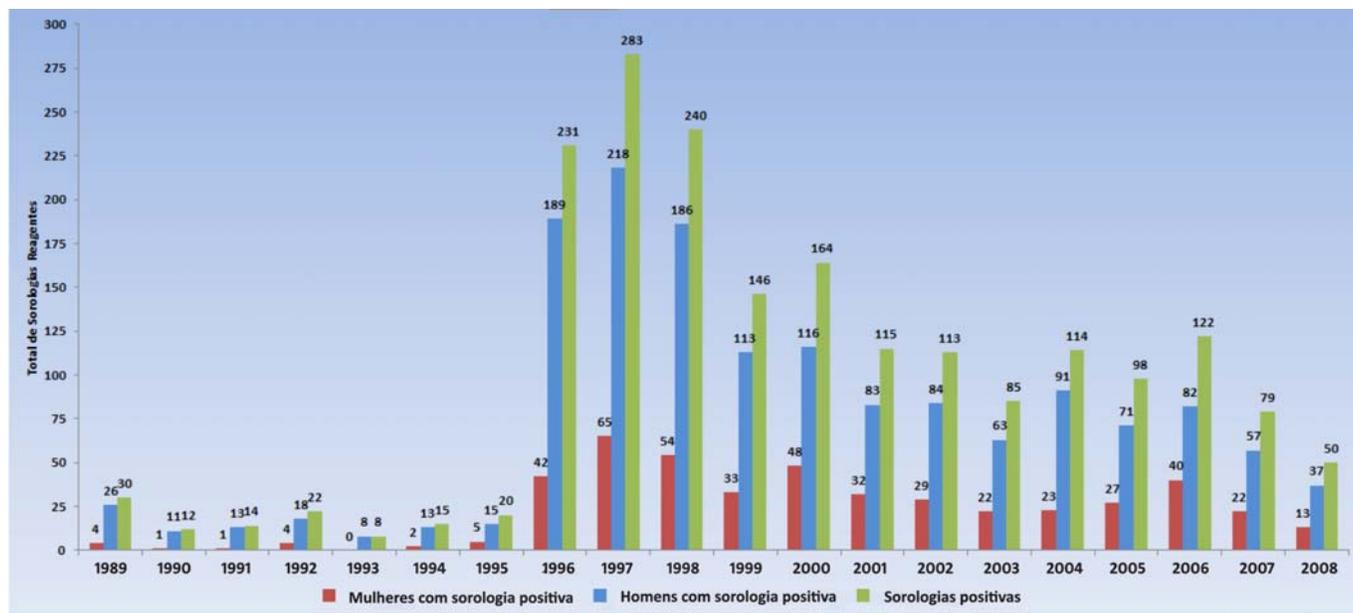


Figura 2.- Total de sorologias positivas por ano.

Embora ocorra predominância do sexo masculino, a literatura tem apontado que esta diferença parece não estar relacionada a maior susceptibilidade desse sexo para a aquisição da infecção, mas sim a aspectos comportamentais adotados por esses indivíduos, tais como uso de drogas, promiscuidade e a não utilização de preservativo.

Além disso, estes resultados podem ter sofrido viés de seleção, uma vez que o número de doações realizadas por pessoas do sexo masculino foi superior às do feminino.⁽⁶⁾

A prevalência geral de amostras reagentes para hepatite B, encontrada na população doadora foi de 1,5%. Essa prevalência manteve-se abaixo de 1% entre 1989 e 1995,

ficando em torno de 4% a partir de 1996 e voltando a valores inferiores a 1% no ano de 2007 (Figura 3). Ressalta-se que o estudo realizado não incluiu os resultados referentes a transaminase pirúvica (TGP/ALT), marcador inespecífico que era utilizado para descarte de hepatite B no período anterior a RDC Nº 153, de 2004.

A pesquisa do anti-HBc foi incorporada na seleção de doadores de sangue em todo o Brasil, com o objetivo de aumentar a segurança do receptor em relação a uma possível não detecção de baixa antigenemia do HBV no sangue do doador, sendo essa a provável razão do considerável aumento de sorologias positivas a partir de 1996.⁽⁷⁾

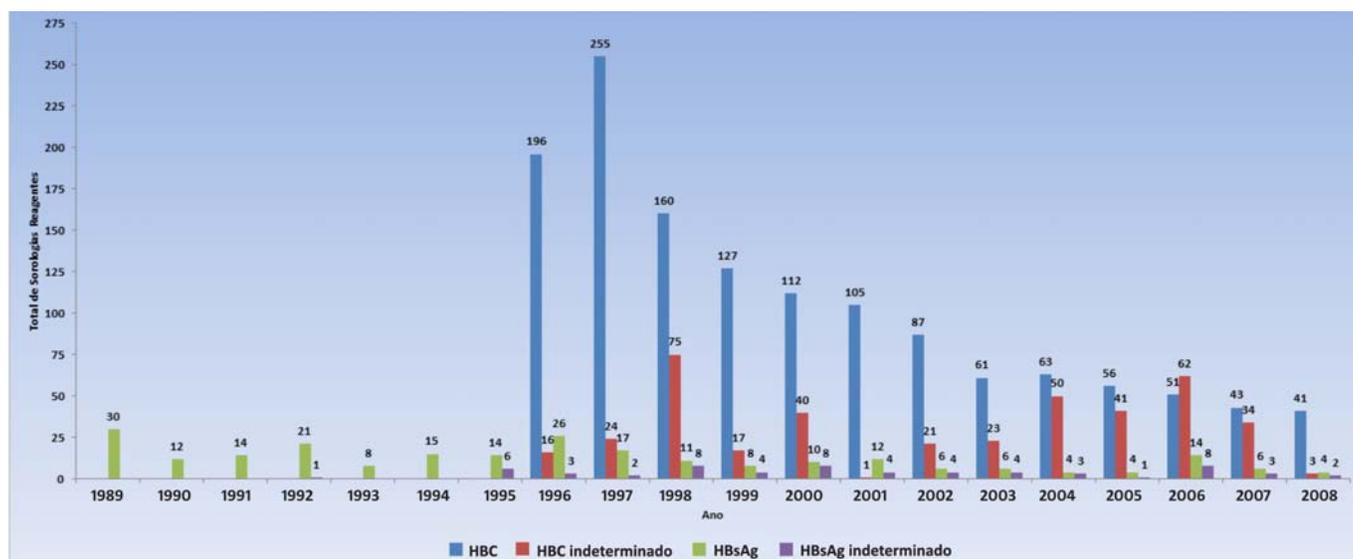


Figura 3. Total de sorologias reagentes no ano.

Em geral, os serviços de triagem de bancos de sangue procuram detectar todas as pessoas infectadas e abolir os exames falso-negativos, no entanto, esta técnica aumenta o número de exames falso-positivos (pessoas não infectadas que apresentam resultado positivo). Pela necessidade de segurança absoluta do sangue que será transfundido, fez-se necessário o aprimoramento dos testes e, conseqüentemente, houve um declínio nos índices de positividade para hepatite B em 2007 e 2008.⁽⁷⁾

Quando se analisou a prevalência de positividade por marcador no período, encontraram-se, para o marcador anti-HBc total, 1.357 exames positivos e 407 indeterminados, ressaltando que este marcador passou a ser pesquisado somente a partir de 1996.

Já para o marcador HBsAg, encontraram-se 242 exames positivos e 61 indeterminados. Ao mesmo tempo, observou-se que, dos 303 doadores positivos ou inconclusivos para o HBsAg, 106 apresentaram positividade concomitante para o anti-HBc total, sendo prováveis portadores crônicos da doença.

A prevalência para o marcador HBsAg isolado manteve-se abaixo de 1% em todos os anos do estudo, correspondente ao índice médio de prevalência deste marcador entre os doadores de sangue que é de 0,6%.⁽⁸⁾ Estudos re-

alizados em outras regiões do País comprovam esses índices, como o total de 0,72% em Pelotas-RS,⁽⁹⁾ 0,18% em Caxias do Sul-RS,⁽²⁾ 0,6% em Ribeirão Preto-SP⁽¹⁰⁾ e 0,65% no Maranhão.⁽¹¹⁾

Já para o marcador anti-HBc total, os valores mantiveram-se em torno de 3% nos primeiros anos de sua inclusão nos testes sorológicos, no entanto, já se apresentam abaixo de 1% nos dois últimos anos da pesquisa, sendo esses valores inferiores aos encontrados em outras regiões do País, como 5,6% em Erechim-RS,⁽⁵⁾ 6,14% no Maranhão⁽¹¹⁾ e 8,7% em Ribeirão Preto-SP.⁽¹⁰⁾

Os resultados encontrados condizem com a literatura, que aponta o Brasil como um país de endemicidade intermediária para hepatite B,⁽¹²⁾ e a região sul do País como uma área de baixa endemicidade.⁽¹³⁾

Durante o estudo, foi avaliado também o total de sorologias reagentes por grupo sanguíneo a cada ano (Figura 4). O grupo sanguíneo mais prevalente é o grupo "O" positivo, com 882 bolsas descartadas, seguido dos grupos "A" positivo e "O" negativo, com 598 e 172 bolsas descartadas, respectivamente. A maior incidência de sorologia positiva nos grupos "A" e "O" positivo deve-se, provavelmente, ao fato desses grupos serem os mais prevalentes entre a população em geral.

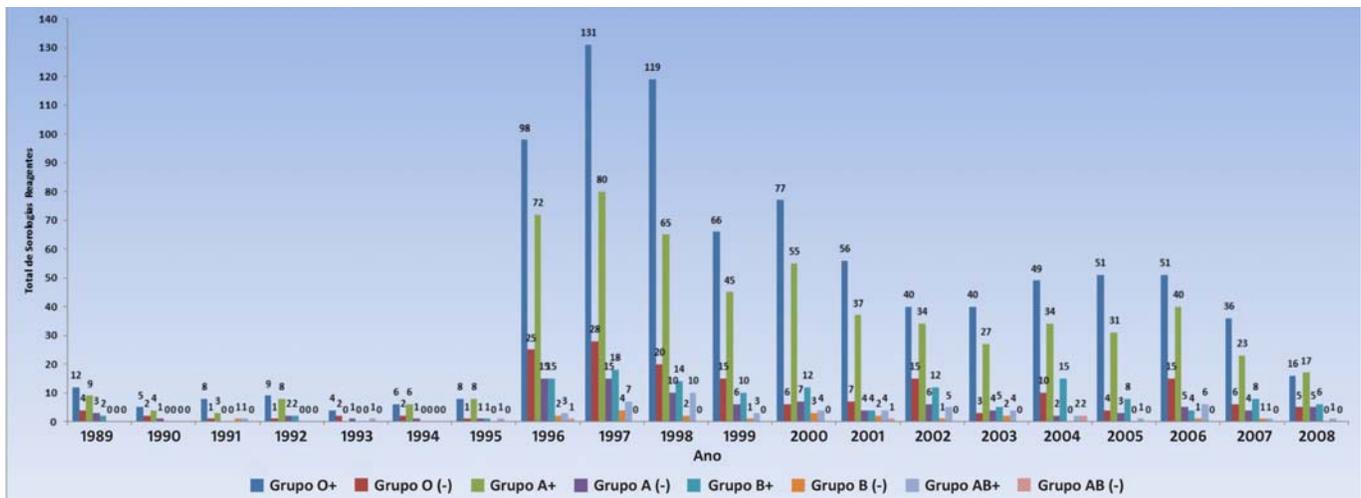


Figura 4. Total de sorologias reagentes no ano por grupo sanguíneo.

CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados apresentados neste trabalho, podemos observar que o sexo masculino foi o mais prevalente quando comparado o total de doadores por gênero entre os anos. Observa-se também que a maior positividade de marcadores para hepatite B ocorre também em homens durante todo o período avaliado.

Em síntese, o presente estudo apresentou índice de positividade abaixo de 1% nos primeiros anos e, em segui-

da, esse valor sofreu uma elevação em virtude da inclusão de novos marcadores na triagem sorológica, com a finalidade de excluir os resultados falso-negativos, evitando assim a contaminação de pacientes transfundidos. Já nos últimos anos do estudo, o índice de positividade voltou a apresentar valores inferiores a 1% em função do aprimoramento dos métodos sorológicos aplicados, visando diminuir os resultados falso-positivos.

Além disso, verifica-se que a prevalência de marcadores sorológicos para Hepatite B, nos doadores do HUSM

e do HEMORGS, encontrada nesse estudo é semelhante aos valores descritos na literatura para o Brasil e também em outras cidades do Rio Grande do Sul. Conforme a Organização Mundial de Saúde, os resultados obtidos permitem classificar esta região do País como sendo de baixa endemicidade.

Agradecimentos

Ao Hospital Universitário de Santa Maria, à Agência Transfusional do HUSM e ao Hemocentro, bem como a seus colaboradores, pela oportunidade de colocar em prática o conhecimento adquirido ao longo de minha formação acadêmica.

Abstract

Blood transfusion is a process that, even if done within the standards recommended techniques, involves health risk with the potential occurrence of transfusion incidents. Infections caused by hepatitis B virus (HBV) are major public health problem worldwide and, before that, it is extremely important to their epidemiological control. Serological tests were analyzed in 130,824 blood donors at the University Hospital / Regional Blood Center in Santa Maria between the years 1989 and 2008. It was found by a survey data, the rate of positive serological markers for hepatitis B during this period as well as the variation between the same year and its proximity to the national and regional values. From the results, it was found that there is a predominance of males among the positive tests during the study period. It also shows that the positivity rate for hepatitis B markers is very small showing that the region is an area of low endemicity for HBV.

Keywords

Hepatitis B; blood donors; hematology; serology

REFERÊNCIAS

1. Cairutas, C. M. Componentes e derivados do sangue para uso terapêutico. Editora Universitária UFPE, 2001.
2. Rodriguez DM, Lara GM, Lazzarotto AR, Michelim L, Fracasso J, Lovatel R, Moschen. Prevalência de marcadores sorológicos no banco de sangue de Caxias do Sul, RS. Rev. panam. infectol. 2008;10(3):32-5.
3. Zago A, da Silveira MF, Dumith SC. Blood donation prevalence and associated factors in Pelotas, Southern Brazil. Rev Saude Publica. 2010;44(1):112-20. [Article in English, Portuguese]
4. Silva Rdo S, Ribeiro SA, Silveira RP, Freitas Mdos S. Evaluation of the sorologic pre-selection for the hepatitis B virus marker (total anti-HBc) in candidates to blood donation in the State of Acre, 2002. Rev Soc Bras Med Trop. 2006 Mar-Apr;39(2):179-82. [Article in Portuguese]
5. Sbeghen MD, Paraboni MLR. Prevalência da reatividade ao anti-HBc total em candidatos à doação de sangue, submetidos à pré-triagem sorológica pelo vírus da hepatite B no município de Erechim/RS. Revista Perspectiva, Erechim, v. 34, n. 125, p. 165-172, 2010.
6. Pellegrini A, Barbanera EE, Gonçalves FB. Incidência da infecção e de fatores de risco para os vírus das hepatites B e C em diferentes populações e a associação com diagnóstico sorológico, bioquímico e molecular. Rev Panam Infectol. 2007;9(3):32-8.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. AIDS/Hepatites Virais. Brasília, DF, vol. 1, 5ª Ed, 2002, 842p.
8. Rosini N, Mousse D, Spada C, Treitinger A. Seroprevalence of HBsAg, anti-HBc and anti-HCv in southern Brazil 1999-2001. Braz J Infect Dis. 2003 Aug;7(4):262-7.
9. Oliveira GC, Schwonke C, Fernandes CPH. Soroprevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Pelotas, RS, Brasil, ano de 2007. In: XVII Congresso de Iniciação Científica da UFPEL, Pelotas, Anais, 2008.
10. Valente VB, Covas DT, Passos ADC. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2005;38(6):488-492. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822005000600008&lng=en.
11. Viana GMC. et al. Marcadores sorológicos de hepatites B e C em doadores de sangue no Estado do Maranhão, Brasil. Rev. panam. infectol. 2009;11(1): 20-24.
12. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. J Viral Hepat. 2004;11(2):97-107.
13. Chávez JH, Campana SG, Haas P. An overview of hepatitis B in Brazil and in the state of Santa Catarina. Rev Panam Salud Publica. 2003 Aug;14(2):91-6. [Article in Portuguese]

Correspondência

Michel Mansur Machado

Fundação Universidade Federal do Pampa
Campus Uruguaiana, Sala 405.
97500-591 – Uruguaiana-RS, Brasil
e-mail: michelmachado@globo.com

Avaliação da frequência de soroconversão contra o vírus da hepatite B (HBV) nos profissionais vacinados e não vacinados lotados no Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, Joinville, SC

Frequency evaluation of seroconversion against hepatitis B virus (HBV) in health care workers vaccinated and non-vaccinated from Hans Dieter Schmidt Hospital, Joinville, SC

Simone Moreira¹

Pauline M. Borges¹

Maristela Adamovski²

Resumo

A hepatite B é considerada uma das mais prevalentes infecções ocupacionais contraídas no ambiente hospitalar.⁽¹⁾ Os profissionais de saúde, por estarem mais expostos a certas doenças transmissíveis, devem estar adequadamente imunizados, visto que a vacinação é a ferramenta mais eficaz para a prevenção de certas doenças infecciosas de possível transmissão em seus ambientes de trabalho.⁽²⁾ No período de junho 2003 a maio de 2004, foram obtidas 392 amostras de sangue dos profissionais da área da saúde, de determinados setores, do Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, para verificação da porcentagem de soroconversão contra o vírus da hepatite B (VHB) nos profissionais vacinados, bem como para análise dos títulos de anticorpos circulantes contra o VHB nos indivíduos não vacinados. As porcentagens de soroconversão comparativamente às doses da vacina (uma, duas e três doses) apresentaram um índice crescente, isto é 57,5% para uma dose, 71,2 % para duas doses e 84,5% para três doses. Observa-se, então, que 15,5% dos profissionais que receberam o esquema completo de vacinação não soroconverteram. Além disso, das 72 pessoas que não eram vacinadas ou que não sabiam, 33 (45,8%) apresentaram títulos protetores de anti-HBs. Outros marcadores sorológicos analisados foram o anti-HBc e o HBsAg. Do total de amostras, 25 (6,37%) apresentaram-se positivas para o anti-HBc e somente duas amostras apresentaram positividade para o HBsAg. Portanto, pode-se concluir que: a) mesmo administrando-se as três doses da vacina, o indivíduo pode não apresentar títulos de anticorpos protetores; b) aqueles indivíduos que nunca tomaram a vacina podem apresentar anticorpos contra o vírus da hepatite B devido à exposição a esse patógeno.

Palavras-chave

Hepatite B; vacinação; soroconversão

INTRODUÇÃO

As hepatites virais constituem importante problema de saúde pública no mundo e no Brasil. O Ministério da Saúde estima que, pelo menos, 15% da população brasileira já esteve em contato com o vírus da hepatite B.⁽³⁾

A infecção pelo VHB pode ocorrer em qualquer pessoa. Porém alguns grupos de indivíduos são mais expostos a esse vírus, devido a determinadas circunstâncias, atitudes comportamentais ou atividade profissional que exercem.⁽¹⁾

A hepatite B é considerada uma das mais prevalentes infecções ocupacionais contraídas no ambiente hospitalar. O inter-relacionamento de profissionais de saúde e pacien-

tes, e a manipulação de sangue e outros fluidos corporais contaminados com o vírus representam fatores de risco de contágio.⁽¹⁾

Os profissionais de saúde, por estarem mais expostos a certas doenças transmissíveis, devem estar adequadamente imunizados, além de, obviamente, utilizarem corretamente as técnicas de proteção individual para minimizar o risco de aquisição de certas doenças infecciosas.

A vacina contra a hepatite B é segura e eficaz, apresentando uma proteção superior a 95%. Deve ser feita em três doses, da seguinte maneira: as duas primeiras doses devem ser administradas com um mês de intervalo e a terceira, após seis meses da aplicação da primeira.⁽⁴⁾

¹Acadêmica do Curso de Farmácia Bioquímica da Universidade da Região de Joinville – Univille – Joinville-SC, Brasil.

²Professora Titular das disciplinas de Imunologia Básica e Diagnóstico Laboratorial em Imunologia do Curso de Farmácia da Universidade da Região de Joinville – Univille – Joinville-SC, Brasil.

Instituição: Departamento de Farmácia /Universidade da Região de Joinville – Univille – Joinville-SC, Brasil.

Recebido em 29/04/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

Um a dois meses após o término do esquema vacinal, o teste sorológico anti-HBs deveria ser realizado para confirmação ou não da presença de anticorpos protetores (títulos acima de 10 mUI/mL). Na maioria dos casos, a imunidade é prolongada, não sendo recomendado doses de reforço após o esquema vacinal completo.⁽⁵⁾

Assim, o objetivo deste trabalho, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville - Univille, é verificar a porcentagem de soroconversão contra o vírus da hepatite B nos profissionais (especialmente médicos, enfermeiros e auxiliares) vacinados, lotados no Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, bem como a frequência de positividade para anticorpos contra o HBV nos indivíduos não vacinados.

MATERIAL E METODOS

Foram obtidas 392 amostras de sangue dos profissionais da área da saúde a partir da assinatura de um consentimento livre e esclarecido e permissão da direção do Hospital Hans Dieter Schmidt em Joinville/SC. Os participantes eram de ambos os sexos, idade de 20 a 60 anos e pertenciam aos seguintes setores: Administrativo, Internação, Ambulatório, Pronto Socorro Infantil (PSI), Pronto Socorro Adulto (PSA), Centro Cirúrgico, Unidade de Terapia Intensiva (UTI), Laboratório Escola de Análises Clínicas da UNIVILLE, Laboratório KG, Agência Transfusional, Endoscopia, Manutenção, Protocolo, Nutrição e Dietética, Zeladoria, Lavanderia, Psiquiatria, Setor A, B, C e E, Cardiologia, Centro de Controle de Infecção Hospitalar Infectologia, Farmácia, Pediatria, Radiologia .

Num segundo momento, foram realizados testes sorológicos (pesquisa dos marcadores anti-HBs, HBsAg e anti-HBc), processados nos equipamentos Immulite e IMX Abbott (Abbott Diagnostics Division USA), no Laboratório Escola de Análises Clínicas da Univille, localizado no Hospital Hans Dieter Schmidt.

Foi realizada uma análise descritiva dos dados obtidos a partir dos ensaios laboratoriais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os profissionais foram agrupados de acordo com as doses recebidas da vacina: profissionais que nunca foram vacinados ou que não sabiam se estavam vacinados, aqueles que receberam uma dose, duas doses e três doses.

Assim, 18,36% (72 pessoas) não estavam vacinados ou não sabem (NV/NS); 10,2% (40 pessoas) receberam uma dose da vacina; 20,4% (80 pessoas) receberam duas doses e 51,0% (200 pessoas) tiveram o esquema completo de vacinação (três doses).

A avaliação da proteção conferida pela vacina foi definida pelos CDC (*Centers of Disease Control*) através dos

títulos de anti-HBs maiores ou iguais a 10 mUI/mL. Segundo esses centros, níveis de anticorpos inferiores a esta concentração possivelmente não conferem proteção contra a hepatite B.⁽⁶⁾

Conforme Martins e Barreto,⁽⁷⁾ a soroconversão é maior com a aplicação do esquema completo da vacinação, conferindo imunidade em cerca de 90%-95% dos casos. Entretanto, não se descarta a possibilidade de indivíduos adquirirem imunidade com uma ou duas doses, e o que irá diferenciar será a concentração de anticorpos anti-HBs circulantes que o indivíduo poderá apresentar.

Partindo dessas informações, realizou-se uma análise crítica, baseada nos resultados obtidos de soroconversão contra o vírus da hepatite B nos profissionais vacinados e também no perfil sorológico dos indivíduos não vacinados.

Tabela 1 - Relação do número de pessoas que adquiriram imunidade conforme as doses de vacinas recebidas

Doses Vacina	Soroconversão N(%)	Não Soroconversão N(%)	Total N
NV/NS*	33(45,8)	39(54,1)	72
1 Dose	23(57,5)	17(42,5)	40
2 Doses	57(71,25)	23(28,75)	80
3 Doses	169(84,5)	31(15,5)	200

* Não vacinados/Não sabem se foram vacinados

Das 72 pessoas que não eram vacinadas ou que não sabiam, 33 (45,8%) apresentaram títulos protetores de anti-HBs. Isso indica que, ou essas pessoas foram vacinadas e não obtiveram orientação sobre o tipo de vacina que estavam recebendo, ou há provável possibilidade de terem sido contaminadas com o HBV.

Como já citado anteriormente, a hepatite B é considerada uma das mais prevalentes infecções ocupacionais contraídas no ambiente hospitalar. Desta forma, é importante que os profissionais da área da saúde estejam conscientizados da necessidade de utilizar permanentemente equipamentos de proteção, bem como de fazerem a prevenção da hepatite B, através do esquema completo de vacinação.⁽⁸⁾

Segundo Côrtes,⁽²⁾ a vacinação adequada visa assegurar e manter imunidade, diminuindo o risco dos profissionais de saúde adquirir ou transmitir doenças imunopreveníveis e deve ser, portanto, parte essencial de programas de prevenção e controle de infecção. Martins e Barreto⁽⁷⁾ citam que, para assegurar essa imunidade, é indispensável que sejam aplicadas as três doses da vacina contra a hepatite B, então preconizadas. Níveis de anticorpos protetores são adquiridos conforme o número de doses administradas.

No presente trabalho, quando se verifica a porcentagem de soroconversão comparativamente às doses da va-

cina, percebe-se um aumento expressivo: das quarenta pessoas que receberam uma dose, 23 soroconverteram (57,5%); de oitenta que receberam duas doses, 57 indivíduos (71,25%) soroconverteram e das duzentas pessoas que receberam três doses, 169 (84,5%) soroconverteram.

Esses dados são confirmados pelo trabalho divulgado por Ferraz et al,⁽⁹⁾ no qual, admitindo-se o nível de 10 mUI/mL como limite mínimo para proteção contra o vírus, observaram que, após a primeira dose, 43,0% apresentaram soroconversão; após a segunda dose, 80,2% soroconverteram e, após a terceira dose, 94,2% apresentavam níveis protetores de anticorpos.

Considerando a pesquisa objeto deste trabalho, dos 320 indivíduos que receberam, pelo menos, uma dose da vacina, 71 não apresentaram títulos de anti-HBs. Desses, 31 haviam recebido as três doses da vacina. Isso indica que 15,5% dos profissionais que receberam o esquema completo de vacinação não soroconverteram.

A porcentagem de indivíduos que não soroconvertem mesmo após o esquema completo de vacinação é discutida e apresentada em números por Heather et al.⁽¹⁰⁾ Esses autores dizem que, mesmo após três doses de vacina, até 15% dos vacinados não respondem adequadamente e concordam, ainda, com os autores anteriores, que, em alguns casos, isso pode ser determinado geneticamente.

Segundo Sousa Júnior et al,⁽¹¹⁾ muitos esforços têm sido feitos para elucidar esse fenômeno de imunodeficiência aos estímulos vacinais, com particular ênfase aos estudos com os genes da região do complexo principal de histocompatibilidade, os quais iniciam e controlam a resposta imune efetiva aos antígenos proteicos. Os estudos têm demonstrado uma frequência elevada dos alelos DRB1*03 e DRB1*07 entre as pessoas que não respondem à vacina VHB. Porém, mesmo que o complexo principal de histocompatibilidade represente a região genômica mais frequentemente associada com a ausência de resposta humoral à vacina do VHB, o mecanismo exato dessa associação é desconhecido.

De acordo com Hess et al. (1992), Berner (1993), Poland (1994), Poland (1998), Roels et al. (1997), Averhoff e colaboradores (1998) apud Salgado,⁽⁶⁾ o tabagismo, a idade, o sexo, a raça, a obesidade, o alcoolismo e as doenças crônicas também interferem na soroconversão. No presente trabalho, também foram analisados os títulos de anti-HBs em voluntários fumantes e verificou-se que, dos duzentos pacientes que receberam as três doses da vacina, trinta eram fumantes e, destes, dez (33,3%) não apresentavam títulos que indicassem a soroconversão. Já nos pacientes que receberam três doses e não eram tabagistas (170 indivíduos), 21 não soroconverteram, apresentando índice de 12,35%. Ressaltamos que as análises sorológicas foram realizadas em períodos superiores a três meses do processo de imunização.

Os títulos de anti-HBs e, portanto, a duração da imunidade varia extremamente, sugerindo uma influência do vacinado. Um baixo padrão nutricional e a diminuição da imunocompetência são fatores relevantes que podem afetar negativamente a resposta de vacinados contra a hepatite B.

Além disso, é necessário que as vacinas sejam mantidas sob refrigeração até o momento da aplicação para que não ocorra perda de sua eficácia. A quantidade de vacina a ser aplicada e o local onde a mesma for administrada também interferem na resposta imunológica do indivíduo à imunização.

Com relação à dosagem, há uma dependência individual, considerando-se a idade, as condições de saúde, a imunodeficiência e a procedência.⁽¹²⁾

Para esses autores, a via de administração considerada ideal é no músculo deltoide em adultos e crianças maiores, ou no músculo do quadríceps da coxa em crianças menores. Isso é comprovado por Ferraz et al,⁽⁹⁾ quando dizem que porcentagens de soroconversão inferiores têm sido relatadas quando a vacina é administrada na região glútea. Essa resposta diminuída é atribuída, nesses casos, à presença de tecido adiposo nessa região, o que dificultaria a absorção do antígeno vacinal.

O subtipo viral é um componente altamente importante no desenvolvimento de uma resposta imunológica adequada. Uma heterogeneidade sorológica do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) está bem estabelecida. São conhecidos nove diferentes subtipos de HBsAg: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw, adr_q- e adr_q+. Uma importante informação é a distribuição geográfica desses subtipos. Por exemplo, o subtipo adw4 é encontrado quase exclusivamente no Novo Mundo, particularmente, na América do Sul. Os subtipos adw2 e adw4 são predominantes no Brasil. Considerando-se que as vacinas recombinantes hoje comercializadas contêm o HBsAg dos subtipos ayw ou adr, há possibilidade de uma não soroconversão em indivíduos imunizados com essas vacinas, por exemplo, no Brasil. Dessa forma, a variabilidade do HBsAg pode ter implicações no estabelecimento de um programa de imunização, sendo necessária a verificação posterior das concentrações de anti-HBs circulantes através de testes de diagnóstico da hepatite B.⁽¹²⁾

Por outro lado, os adjuvantes também podem ser responsáveis pela diversidade de respostas à imunização. Segundo Granovski e Ioshimoto,⁽¹²⁾ para potencializar a resposta imunológica, a vacina contra a hepatite B precisa ser formulada com adjuvantes, dos quais o mais comumente utilizado com o HBsAg é o hidróxido de alumínio e, com menor frequência, o fosfato de alumínio.

De acordo com os mesmos autores, os adjuvantes apresentam diferenças na indução de proteção. A Smith Kline Beecham, fabricante da vacina Engerix B, por exem-

plo, utiliza comercialmente o lipídeo A monofosforil (MPL) como adjuvante, que induz proteção em três meses com apenas duas doses, enquanto que com a Engerix/ hidróxido de alumínio a mesma proteção só é obtida com três doses da vacina e após sete meses. Recentemente, foi publicado um adjuvante (o MF59, uma emulsão contendo um lipídeo biometabolizável e surfactantes) que soroconverte em 100% após duas aplicações combinadas com o HBsAg, gerando títulos de anticorpos 100 vezes maiores do que os obtidos com o adjuvante hidróxido de alumínio.

Com isso, percebe-se a importância de se saber a procedência da vacina administrada nos programas de imunização, visto que o subtipo viral interfere no desenvolvimento de uma resposta imune eficiente e os adjuvantes podem ou não contribuir na produção de níveis protetores de anti-HBs após o esquema completo de vacinação.

Além do marcador sorológico anti-HBs, discutido até aqui, também foi avaliada a presença de outros marcadores nos profissionais participantes, como o anticorpo contra o antígeno core do vírus da hepatite B (anti-HBc) e o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg). Este último marcador somente foi pesquisado naqueles profissionais que apresentaram positividade para o anti-HBc.

Assim, das 392 amostras analisadas, 25 (6,37%) apresentaram-se positivas para anti-HBc. Dessas 25, seis apresentaram negatividade para anti-HBs e HBsAg, tendo o anti-HBc como único marcador sorológico presente.

De acordo com o Ministério da Saúde,⁽³⁾ perfis sorológicos atípicos podem ser encontrados no curso da infecção pelo VHB. Como exemplo de atipia sorológica, podem-se citar pacientes positivos para anti-HBc, negativos para HBsAg e não reagentes para anti-HBs nas seguintes circunstâncias: no período de janela imunológica, quando o anti-HBe/anti-HBs ainda não apareceu; em reações falso positivas; como anticorpos passivos; em amostras com baixos títulos de HBsAg ou com HBsAg + anti-HBs imunocomplexados; nas superinfecções com outros vírus da hepatite; nas hepatites fulminantes e em indivíduos imunocompetentes com título baixo de anti-HBs.

Outra análise pertinente diz respeito à positividade de anti-HBc no grupo dos não vacinados ou que não sabem. Das 72 pessoas pertencentes a esse grupo, nove apresentaram-se positivas para o anticorpo contra o antígeno core do vírus da hepatite B (anti-HBc). Segundo Souto e colaboradores,⁽¹³⁾ esse anticorpo está presente no soro, tanto de pacientes infectados recentemente quanto de portadores crônicos e de indivíduos que já eliminaram o VHB. Esse fato sugere a possibilidade de infecção dos profissionais da saúde em seu ambiente de trabalho e salienta a importância da vacinação desses trabalhadores contra o vírus da hepatite B, bem como a utilização de equipamentos de proteção.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização desta pesquisa fez-se importante para a verificação da porcentagem de soroconversão contra o vírus da hepatite B nos profissionais vacinados, lotados no Hospital Regional Hans Dieter Schmidt, bem como a análise dos títulos de anticorpos circulantes contra o VHB nos indivíduos não vacinados.

Como se esperava, as porcentagens de soroconversão comparativamente às doses da vacina apresentaram índice crescente: uma dose, 57,5%; duas doses, 71,25% e três doses, 84,5%. Um significativo percentual de pessoas (15,5%) não desenvolve imunidade mesmo após a administração de três doses.

Quanto aos fatores que influenciam o desenvolvimento de uma resposta imunológica adequada à vacinação, estes podem estar relacionados com o próprio indivíduo a ser vacinado (hábito de fumar, idade, sexo, entre outros) ou com a vacinação em si (procedência, modo de aplicação, local e dosagem).

Cabe, pois, aos responsáveis pelos programas de vacinação conscientizarem-se de que suas ações são de extrema importância para que as vacinas desenvolvam respostas satisfatórias. A procedência, o lote e a validade da vacina, bem como o modo de aplicação, o local e a dosagem vão depender desses responsáveis e seus efeitos irão refletir no desenvolvimento da imunidade protetora no indivíduo. É relevante destacar, então, a importância de uma padronização e um controle institucional das campanhas de vacinação, a fim de que haja menos interferência na resposta imunológica à vacina.

Com o presente estudo sugere-se um relativo risco de os profissionais de saúde adquirir infecção em seu ambiente de trabalho. Classifica-se a hepatite B como uma doença de alta transmissibilidade, principalmente para aqueles indivíduos que são mais expostos ao vírus em função de determinadas circunstâncias, atitudes comportamentais e atividade profissional que exercem.

Assim sendo, faz-se necessária a realização de campanhas de esclarecimento dirigidas aos profissionais da área da saúde com o objetivo de conscientizá-los da importância da utilização permanente de equipamentos de proteção, bem como de fazerem a prevenção da hepatite B através de vacinação. Além disso, destaca-se a necessidade de realização dos testes sorológicos após a vacinação, para se avaliar a soroconversão e, assim, verificar a necessidade de se administrarem doses de reforço.

Abstract

Hepatitis B is considered one of the most prevalent occupational infections contracted in the hospital environment.⁽¹⁾ As health workers are more exposed to certain transmittable diseases they must be properly immunized, and vaccination is acknowledged as the most effective tool in preventing the transmission of certain infectious diseases in their

work environments.⁽²⁾ In 2003 and 2004, 392 blood samples were taken from health workers, in determined sectors, at the Hans Dieter Schmidt Regional Hospital, in order to verify the percentage of seroconversion against the hepatitis B virus in vaccinated health workers, as well as for the analysis of circulating antibody levels against the VHB in unvaccinated individuals. The seroconversion percentages compared to the vaccine doses (1, 2 and 3 doses) present a growing index, i.e., 57,5% for 1 dose, 71,2% for 2 doses and 84.5% for 3 doses. It was observed that 15,5% of the health workers who received the complete vaccination scheme did not seroconvert. In addition to this, of the 72 people who were not vaccinated or who did not know, 33 (45,8%) presented anti-HBs protector levels. Other serological markers analyzed were the anti-HBc and the HBsAg. Of the total number of samples, 25 (6,37%) showed positive for the anti-HBc and only two (2) samples showed positive for the HBsAg. Therefore, it can be concluded that: a) even receiving the three vaccine doses, the individual need not present antibody protector levels; b) those individuals who have never taken the vaccine could present anti-bodies against the hepatitis B virus due to exposure to this pathogen.

Keywords

Hepatitis B; vaccination; seroconversion

13. Souto FJD, Ozaki KS, Pereira ES, Sousa KM, Silveira WN, Pacheco MS. Efeito da vacina contra hepatite B em indivíduos com anticorpos contra o antígeno central da hepatite B (anti-HBc) como único marcador. *Gastroenterol Endosc Digest* 2001;20: 43-7.

Correspondência

Maristela Adamovski

Universidade da Região de Joinville – Univille
Campus Universitário – Cxa postal 246
89201-972 – Joinville-SC, Brasil
Fone: (47) 3461-9091 ou (47) 9109-5058
e-mail: maris_imuno@yahoo.com.br

REFERÊNCIAS

1. Fernandes JV, Braz RFS, Neto FVA, Silva MA, Costa NF, Ferreira AM. Prevalência de marcadores sorológicos do vírus da hepatite B em trabalhadores do serviço hospitalar. *Rev. Saúde Pública*. 1999; 33(2):122-128. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101999000200003&lng=en.
2. Côrtes, Guilherme. Imunizações e profissionais de saúde, 2000. Disponível em: <<http://www.riscobiológico.org/imuniza/imuniza.htm>>. Acesso em 09 julho 2004.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Programa Nacional de Hepatites Virais. Hepatites virais: o Brasil está atento. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 24 p.
4. Fleury Centro de Medicina Diagnóstica. Vacinação: hepatite B. São Paulo, s. d. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/site/calandra.nsf/0/>>. Acesso em: 8 julho 2004.
5. Côrtes G. Hepatite B: aspectos gerais, 2000. Disponível em: <<https://www.riscobiológico.org/patogenos/hepatb.htm>>. Acesso em 09 julho 2004.
6. Salgado MF. (2001) Vacinação contra hepatite B em trabalhadores da saúde. Dissertação (Mestrado) - Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, 121 pp.
7. Martins AMEBL, Barreto SM. (2003). Vacinação contra a hepatite B entre cirurgiões dentistas. *Rev. Saúde Pública* [Internet]. 2003; 37(3):333-338. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102003000300011&lng=en.
8. Lopes CLR, Martins RMB, Teles SA, Almeida e Silva S, Maggi PS, Yoshida CFT. Perfil soroepidemiológico da infecção pelo vírus da hepatite B em profissionais das unidades de hemodiálise de Goiânia-Goiás, Brasil Central. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2001; 34(6):543-548. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822001000600008&lng=en.
9. Ferraz MLG, Silva AEB, Kemp VL, et al. Avaliação da resposta imunológica à vacina contra a hepatite B em profissionais da área de saúde. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 1992;32(1): 5-8.
10. Davis HL. DNA vaccines for prophylactic or therapeutic immunization against hepatitis B virus. *Mt Sinai J Med*. 1999 Mar; 66(2):84-90.
11. Sousa Júnior JX, Monte Neto JT, Castro JAF, Andrade HM, Monte SJH. Associação dos antígenos leucocitários humanos com a ausência de resposta humoral à vacina da hepatite B em pacientes renais crônicos e hemodialisados. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* . 2004;37:15-17.
12. Granovski N, Ioshimoto LM. (1999). Hepatite B: Situação atual e perspectiva o controle da hepatite B no Brasil. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento* 2(7):26-29. 2003

Prevalência da sífilis em pacientes atendidas em um hospital público de Porto Alegre

Syphilis prevalence in patients attended in a public hospital in Porto Alegre

Jordana Dutra de Mendonça¹

Letícia Filippon²

Paulo Jaconi Saraiva¹

Alexandre Meneghelo Fuentesfria¹

Resumo

A sífilis é uma importante DST e configura-se como problema de saúde pública no Brasil. Devido às implicações para o sistema público de saúde e ao controle pré-natal da sífilis congênita, torna-se importante o levantamento sobre a prevalência da sífilis na sociedade. Esse trabalho teve como objetivo analisar os resultados dos testes VDRL realizados em pacientes atendidas no Hospital Fêmima de Porto Alegre, a maior maternidade do Rio Grande do Sul, e as confirmações dos testes reagentes por MHA-TP. De um total de 9.308 exames, 3,5% foram reagentes. Destes testes reagentes, 298 (87,5%) foram mulheres, a maioria com idade entre 20 e 40 anos, enquanto que 43 (12,6%) foram homens, com idade inferior a 1 ano, sendo esse fato facilmente explicado devido à população estudada. Apenas 37,50% dos testes VDRL reagentes foram confirmados por MHA-TP, indicando o uso do VDRL como uma ferramenta de triagem no diagnóstico e também como acompanhamento terapêutico, podendo este último ser observado em metade dos casos não confirmados. Esses dados alertam que, apesar de existirem prevenção, diagnóstico e tratamento eficazes para essa doença, a sífilis ainda permanece presente na sociedade.

Palavras-chave

Sífilis; VDRL; MHA-TP

INTRODUÇÃO

A sífilis é uma doença infecciosa, sistêmica, causada pelo *Treponema pallidum*, uma espiroqueta de transmissão essencialmente sexual ou materno-fetal, podendo produzir a forma adquirida ou congênita da doença, respectivamente.⁽¹⁾

Embora conhecida pela humanidade há muitos anos, a sífilis ainda é um problema de saúde pública, sendo estimados 12 milhões de novos casos no mundo todos os anos, apesar das medidas de prevenção eficazes, como preservativos, e opções de tratamento eficazes e relativamente baratas.⁽²⁾ No Brasil, a situação não é diferente, sendo que, em 2003, o Ministério da Saúde apontou cerca de 940 mil casos de sífilis no país, sendo 12 mil casos do tipo congênito (1,6 por mil nascidos vivos).^(3,4)

O diagnóstico da sífilis baseia-se na avaliação clínica, identificação do agente etiológico (pesquisa direta no exsudato seroso das lesões) e nos testes sorológicos, sendo esse último mais utilizado, pois o paciente, em geral, procura o serviço já fora da fase inicial da doença.⁽⁵⁾ Os testes sorológicos são divididos em métodos não treponêmicos,

como o *venereal diseases research laboratory* (VDRL), mais usado, e o *rapid plasma reagin*, para triagem, rastreamento e seguimento terapêutico; e treponêmicos, como FTA-ABS, micro-hemaglutinação passiva para *T. pallidum* (MHA-TP), EIA/ELISA e PCR, testes estes de maior especificidade, solicitados para confirmação da infecção e não para o acompanhamento, pois não negativam mesmo após a cura total da infecção.⁽⁶⁾ Atualmente, a OMS estimula a pesquisa e preconiza o uso de testes rápidos de triagem, já disponíveis no mercado para diagnóstico da infecção por *T. pallidum*, assim como já existe para o diagnóstico sorológico do HIV, porém ainda distante de serem utilizados em larga escala nos serviços de assistência primária de saúde.⁽⁷⁾

O teste do VDRL é o método de triagem mais empregado na maioria dos laboratórios de unidades de atenção primária de saúde.⁽⁸⁾ Isso pode ser relacionado à sua alta sensibilidade (70% na sífilis primária, 99%-100% na secundária e 70%-80% na terciária), à alta especificidade na sífilis congênita (até 98%), à facilidade de execução, ao baixo custo e à sua indicação por vários organismos mundiais de saúde como excelente exame de triagem.⁽²⁾

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre-RS, Brasil.

²Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Fêmima, Grupo Hospitalar Conceição – Porto Alegre-RS, Brasil.

Instituição: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre-RS, Brasil.

Recebido em 20/09/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

Tendo em vista a prevalência de casos de sífilis entre a população brasileira, sua implicação para os serviços de saúde e a notificação compulsória da infecção congênita, esse trabalho tem como objetivo analisar os resultados dos testes VDRL e das confirmações dos testes reagentes por MHA-TP realizados na população atendida no Hospital Fêmea (HF), um hospital público de Porto Alegre voltado para a saúde da mulher e responsável pela maior maternidade do estado do Rio Grande do Sul, com uma média de 410 partos e mais de 2 mil atendimentos por mês.⁽⁹⁾ É justamente pelos pacientes atendidos no hospital em estudo que se torna tão importante o levantamento e monitoramento da prevalência da sífilis nessa população.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um estudo transversal descritivo no universo dos testes de VDRL (Wiener Lab) realizados no Laboratório de Análises Clínicas do HF, utilizando-se amostras puras e diluídas 1/8, e de exames confirmatórios por MHA-TP (Human do Brasil) feitos no setor de Imunologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), no período de abril de 2009 a março de 2010.

Para inclusão das amostras nesse estudo, as pacientes deviam estar cadastradas no sistema de gerenciamento de dados do Grupo Hospitalar Conceição (GHC), tanto para pacientes ambulatoriais como para pacientes internadas no HF, no período referido. No total, 9.308 exames VDRL foram avaliados.

As variáveis estudadas contemplam sexo e idade das pacientes, relacionando com a prevalência em porcentagem da sífilis na população estudada. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HNSC/GHC (Processo 10/007) e, por se tratar de uma pesquisa em banco de dados, foi dispensado de se utilizar o TCLE.

RESULTADOS

Foram avaliados 9.308 exames VDRL no período de abril de 2009 a março de 2010, sendo um maior número de pacientes do sexo feminino (96%) com faixa etária predominante entre 10 e 40 anos. Pacientes do sexo masculino corresponderam a 4% dos testes realizados, com predominância na faixa etária inferior a 1 ano.

Do total de exames, 8.967 (96,5%) foram não reagentes e 341 (3,5%) foram reagentes. Com relação aos reagentes, 298 (87,4%) foram do sexo feminino e 43 (12,6%) do sexo masculino, como pode ser verificado na Tabela 1.

Entre os testes reagentes do sexo masculino, houve uma predominância de pacientes com idade inferior a 1 ano (88%), o que compreende os recém-nascidos atendidos na

maternidade. Entre os testes reagentes do sexo feminino, a faixa de 20 a 40 anos foi a mais presente (66,5%), correspondente à idade reprodutiva da mulher, como mostra a Tabela 2.

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes de acordo com o resultado do VDRL e sexo

Teste	Masculino		Feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
VDRL reagente	43	0,50	298	3,00	341	3,50
VDRL não reagente	320	3,50	8.647	93,00	8.967	96,50
Total	363	4,00	8.945	96,00	9.308	100,00

Tabela 2 - Distribuição da idade dos pacientes com resultados de VDRL reagentes

Idade	Masculino		Feminino	
	n	%	n	%
<1	38	88,00	35	12,00
1-10	0	0,00	1	0,50
10-20	0	0,00	29	10,00
20-30	0	0,00	100	33,00
30-40	0	0,00	101	33,50
>40	5	12,00	32	11,00
Total	43	100,00	298	100,00

Por ser um teste de triagem, os resultados reagentes de VDRL devem ser confirmados por método treponêmico. Nesse estudo, os testes foram confirmados por MHA-TP no Setor de Imunologia do HNSC. Dos 400 VDRL reagentes iniciais, 59 (14,75%) foram não reagentes, sendo classificados como falsos positivos e computados no estudo como não reagentes. Três testes (0,75%) foram não reagentes na triagem e reagentes no confirmatório, sendo computados no final como reagentes (falsos negativos). No restante, 149 testes (37,50%) foram confirmados por MHA-TP, e para 189 exames (47,60%) não foram realizadas provas confirmatórias. Quanto aos exames que não foram confirmados, 102 (25,50%) podem estar relacionados ao acompanhamento terapêutico. Esses dados estão reunidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Comportamento dos resultados dos testes VDRL reagentes versus resultados da MHA-TP

Teste	n	%
VDRL reagente MHA-TP reagente	149	37,25
VDRL reagente MHA-TP não reagente	59	14,75
VDRL reagente MHA-TP não realizada	189	47,25
acompanhamento	102	25,50
não realizada	87	21,75
VDRL não reagente MHA-TP reagente	3	0,75
Total	400	100,00

DISCUSSÃO

A sífilis é uma importante DST que ainda está bastante presente em nosso meio apesar de serem conhecidas medidas de prevenção, diagnóstico e tratamento.⁽²⁾ Dessa forma, torna-se importante a realização de levantamentos da prevalência da sífilis para que sejam melhor distribuídas as políticas públicas de saúde e campanhas melhor aplicadas.

Dos 9.308 exames realizados nesse estudo, houve uma predominância de pacientes do sexo feminino, o que pode ser facilmente compreendido pelo público alvo atendido no Hospital Fêmina, um hospital especializado e dedicado à saúde da mulher e a maior maternidade do estado do Rio Grande do Sul.⁽⁹⁾ Esse fato também explica a maior ocorrência de exames em pacientes do sexo feminino de 10 a 40 anos e em pacientes do sexo masculino com idade inferior a 1 ano: gestantes e recém-nascidos, respectivamente. A maior frequência de mulheres também foi observada em estudo realizado no Ceará, onde o fato foi atribuído à aplicação do VDRL na rotina pré-natal⁽⁵⁾ e, também, ser histórico o maior comparecimento de mulheres às unidades de saúde pela demanda de atendimento ginecológico.⁽¹⁰⁾

Quanto à reatividade dos exames, 3,5% dos testes foram reagentes, indicando uma taxa de prevalência da sífilis semelhante ao índice de 5% publicado para a população em geral,⁽⁶⁾ próximo aos 3,3% para pacientes atendidos em um laboratório privado em São Paulo⁽¹¹⁾ e também similar a 2,6% para mulheres atendidas em Alagoas.⁽¹²⁾ Analisando-se o número total de exames, podemos afirmar uma maior prevalência em mulheres, com idades entre 20 e 40 anos, o que está em consonância com os dados da literatura de uma maior ocorrência de infecção em mulheres na idade reprodutiva.⁽¹³⁾ No sexo masculino, observou-se uma maior reatividade em pacientes menores de 1 ano. Ambos os achados podem ser facilmente compreendidos pela amostra analisada ser proveniente da maior maternidade do estado, onde o teste de VDRL deve ser realizado durante o pré-natal, e a identificação da sífilis congênita ser desencadeada em todos os casos de crianças nascidas de mãe com sífilis (evidência clínica e/ou laboratorial), diagnosticados durante a gestação, parto ou puerpério.⁽¹⁴⁾ A ocorrência de cinco testes reagentes em pacientes do sexo masculino com idade acima de 40 anos pode ser compreendida pelo fato do HF ter uma Unidade de Reprodução Humana,⁽¹⁵⁾ sendo esses testes provenientes desse serviço, e o VDRL ser um teste de triagem realizado obrigatoriamente antes do procedimento de inseminação artificial.

Uma das principais aplicabilidades do VDRL, além da triagem no diagnóstico, é o acompanhamento terapêutico e prognóstico da doença. Dessa forma, nem todos os exames positivos de VDRL devem ser enviados à confirmação

por testes treponêmicos, pois estes, devido à sua alta sensibilidade, não negativam devido aos anticorpos de memória.⁽⁶⁾ Assim, pode-se compreender o alto índice de testes VDRL reagentes não confirmados. Dos 189 testes não confirmados, 54% podem ser relacionados com um acompanhamento terapêutico dos pacientes pela existência de um histórico de testes VDRL anteriormente realizados no prontuário do paciente, enquanto que o restante sem confirmação pode ser justificado pela falta de dados no banco de dados consultado (causados por consultas de pacientes não residentes em Porto Alegre ou que podem ter procurado outro serviço de saúde) ou devido à falta de acesso aos serviços de saúde, dificuldades no retorno para recebimento dos resultados e/ou coleta para confirmação, ou mesmo pelo não retorno voluntário do paciente para tomar conhecimento do seu *status* sorológico, como já descrito.⁽¹⁶⁾

No presente estudo, observaram-se 14,75% de falsos positivos, um percentual bem próximo aos 15,9% de falsos positivos encontrados em um estudo semelhante realizado em gestantes no HNSC.⁽¹⁷⁾ Resultados falsamente positivos podem ser observados em indivíduos com quadros patológicos diversos como hepatite, gripe, brucelose, lepra, malária, asma, tuberculose, câncer, diabetes e doenças autoimunes. Por isso, além de aliar os dados laboratoriais ao quadro clínico do paciente, é imprescindível que se faça paralelamente a semiquantificação de um teste reagente. Da mesma forma, resultados falsamente negativos também podem ocorrer, principalmente quando se apresenta o fenômeno de prozona, o que ocorre em cerca de 1% a 2% dos casos. Para se evitar a ocorrência desse efeito, procede-se a testagem com soro puro paralelamente com o soro previamente diluído 1/8.^(8,14)

A OMS estimula a pesquisa e preconiza o uso de testes rápidos que liberem o resultado em menos de 15 minutos, sejam de fácil execução pelos profissionais da saúde, apresentem boa especificidade e sensibilidade, não necessitem recursos laboratoriais tradicionais e sejam estáveis à temperatura ambiente, além do baixo custo.⁽¹⁸⁾ O VDRL, apesar de barato, necessita processamento em laboratório, o que demanda tempo até o resultado. Dessa forma, já existem testes rápidos treponêmicos de triagem disponíveis no mercado,⁽⁷⁾ tal qual já utilizado no diagnóstico sorológico do HIV. Estudos têm demonstrado uma sensibilidade de 84% a 98% e especificidade de 94% a 98% para esses testes. Entre suas vantagens destaca-se a realização do exame no local da consulta em sangue total, a partir de coleta em polpa digital, não dependendo de estrutura laboratorial. Sua maior limitação está no fato de ser um exame qualitativo, não sendo capaz de distinguir infecção tratada no passado ou aguda.⁽¹⁸⁾ Dessa forma, o VDRL ainda tem a sua importância e aplicabilidade como ferramenta de triagem no diagnóstico até completa a implementação

e a disseminação dos testes rápidos para sífilis, além do uso como método de acompanhamento terapêutico da sífilis (prévia ou atual).

CONCLUSÃO

A prevalência de testes reagentes nesse estudo revela a permanência da infecção pela sífilis na sociedade. É importante conhecer o perfil sorológico da população para que políticas públicas de saúde sejam mais específicas e direcionadas, principalmente tratando-se de uma doença de antigo conhecimento e com diagnóstico e tratamento eficazes.

Esse estudo em específico torna-se relevante justamente pela população atendida nesse hospital, sendo fundamental o levantamento e monitoramento da prevalência da sífilis em mulheres em idade reprodutiva, em virtude das implicações em casos de gestantes diagnosticadas com sífilis que, se tratadas, podem evitar a transmissão vertical, diminuir os índices de sífilis congênita e, principalmente, evitar as consequências para o recém-nascido.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à equipe do Laboratório de Análises Clínicas do HF pela ajuda na realização desse trabalho.

Abstract

Syphilis is an important STD and configures as a public health problem in Brazil. Due to the implications for public health system and to prenatal control of congenital syphilis, it is important to survey the prevalence of syphilis in society. This study aimed to analyze the results of VDRL tests performed in patients treated in Hospital Femina, Porto Alegre, the largest maternity hospital of Rio Grande do Sul, and the confirmations of testing reagents by MHA-TP. Of a total of 9308 surveys, 3.5% were positive. From these tests reagents, 298 (87.5%) were women, mostly with age between 20 and 40 years, while 43 (12.6%) were men with age less than 1 year, and this fact can be easily explained because of the target population. Only 37,50% of reactive VDRL tests were confirmed by MHA-TP, showing the use of the VDRL as a screening tool for diagnosis as well as monitoring therapeutic efficacy, which can be observed in the half of unconfirmed cases. These data warn that, while there are prevention, diagnosis and effective treatment for this disease, syphilis remains present in society.

Keywords

Syphilis; VDRL; MHA-TP

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Manual DST. Disponível em http://www.aids.gov.br/assistencia/mandst99/man_sifilis.htm, acessado em 19/04/2010, 1999.
2. Organização Mundial de Saúde (OMS). Eliminação mundial da sífilis congênita: fundamento lógico e estratégia para ação. Geneva: OMS; 2008.
3. Centers for Disease Control (CDC). Syphilis. Disponível em <https://www.cdc.gov/std/syphilis/default.htm>, acessado em 20/04/2010, 2010.
4. Oliveira C. Por incrível que pareça a sífilis congênita ainda assusta. Disponível em http://www.eca.usp.br/nucleos/njr/voxscentiae/cida_oliveira_38.html, 2010, acessado em 20/04/2010, 2010.
5. Santana LR, Parahyba MJPC, Alencar MJ, Marques DA. Teste de VDRL para o diagnóstico da sífilis. Avaliação dos resultados em uma unidade de atenção primária de saúde. Rev. Bras. Anál. Clín., 38 (2): 71-73, 2006.
6. Lima BGC. Mortalidade de sífilis nas regiões brasileiras, 1980-1995. J. Bras. Patol. Med. Lab., 38(4): 267-271, 2002.
7. Organização Mundial da Saúde (OMS). The use of Rapid Syphilis Tests. Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases (TDR). 2006.
8. Wiener Lab. VDRL test - Suspensão antigênica estabilizada para realizar a prova VDRL modificada (URS) de detecção de sífilis. Rosário: Argentina, 2002.
9. GHC. Central de Notícias - Maternidade do Fêmnia será reaberta. Disponível em <http://www.ghc.com.br/default.asp?idMenu=4&idRegistro=4359>, acessado em 20/04/2010, 2010.
10. Tayara A, Matida LH. Relatório dos casos notificados de doenças sexualmente transmissíveis no período de 1987 a junho de 1995, DST. J Bras. Doenças Sex Transm. 1997; 9(1):30-6.
11. Vaz AJ, Fukuya MF, Tundisi RN, Ferreira AP, Carvalho OC, Rodrigues PS, Diament D, Silveira SA. Resultados de testes imunológicos da sífilis (VDRL e FTA-abs) obtidos em laboratório privado (São Paulo, SP, 1996). News Lab, 24: 124-128, 1997.
12. de Lima Soares V, de Mesquita AM, Cavalcante FG, Silva ZP, Hora V, Diedrich T, et al. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil: prevalence, morbidity and risk factors. Trop Med Int Health. 2003 Jul;8(7):595-603.
13. Rouquayrol MZ, Pinheiro AC, Façanha MC, Guerreiro MFF, Lima JMC, Cavalcante MS. Epidemiologia das doenças infecciosas em Fortaleza. Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, p. 1-176, 1996.
14. Ministério da Saúde. Diretrizes para o Controle da Sífilis Congênita. Manual de Bolso, 2006. Disponível em; http://bvmsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_sifilis_bolso.pdf.
15. GHC. Unidades, Hospital Fêmnia. Disponível em www.ghc.com.br/default.asp?idMenu=unidades_hfe, acessado em 04/11/2015, 2015.
16. Germano FS, Silva TMG, Mendoza-Sassi R, Martínéz AMB. Alta prevalência de usuários que não retornam ao Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) para o conhecimento do seu status sorológico - Rio Grande, RS, Brasil. Ciênc. saúde coletiva [Internet]. 2008;13(3):1033-1040. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000300026&lng=en.
17. Boletim HNSC. Vigilância Epidemiológica em Sífilis Congênita. Núcleo Hospitalar de Epidemiologia HNSC, ano II(3), 2009.
18. Peeling RW, Ye H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. Bull World Health Organ. 2004 Jun;82(6):439-4.

Correspondência

Jordana Dutra de Mendonça
 Faculdade de Farmácia/UFRGS
 Avenida Ipiranga 2752 Sala 304C – Santa Cecília
 90610-000 – Porto Alegre-RS Brasil
 e-mail: jordana_dm@yahoo.com.br
 Tel: 55 51 3308-5257/30123926

Análise dos exames de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos para antígenos celulares

Analysis of indirect immunofluorescence antibody tests against cellular antigens

Magali Terra Ribeiro¹

Tiago Bittencourt de Oliveira²

Resumo

O objetivo deste estudo foi analisar o perfil dos testes de anticorpos antinucleares. Para isso foi realizado um estudo transversal retrospectivo de análise dos exames de FAN (fator antinuclear), através da técnica de imunofluorescência indireta, em dois laboratórios de pequeno porte, nos anos de 2008 e 2009. Foram analisados 116 registros dos laudos de IFI-HEp-2, dos quais 76,72% eram de pacientes do sexo feminino, sendo a idade média de 42,5 anos. A pesquisa de autoanticorpo por IFI (imunofluorescência indireta) apresentou não reagente em 88,79% e reagente em 11,21% dos pacientes. O padrão de IFI de maior frequência foi o nuclear pontilhado fino – 45,17%. Já a proteína C reativa (PCR) foi descrita em 39 dos 116 exames, sendo que os títulos variaram de não reagente a 96, apresentando não reagente 24/39 (61,64%), 5/39 (12,82%) apresentando títulos de 24. Por fim, o fator reumatoide foi descrito em 70/116 exames, onde os títulos também estiveram presentes na faixa de não reagente a 96, apresentando não reagente 65/70 (92,86%), 3/70 (4,28%) apresentando títulos de 48. Os dados encontrados demonstraram o perfil dos pacientes que realizaram o IFI-Hep2, sendo a maioria mulheres jovens com baixa taxa de soropositividade para autoanticorpo.

Palavras-chave

Doença autoimune; fator antinuclear; imunofluorescência indireta; IFI-Hep2

INTRODUÇÃO

A autoimunidade é decorrente de uma complexa interação entre fatores ambientais, como pela exposição solar, e fatores intrínsecos ao organismo, tais como predisposição genética, alterações hormonais e mesmo uma redução no controle imunorregulatório. Existem mais de quarenta doenças autoimunes identificadas com número considerável de pacientes acometidos.^(1,2)

Os exames laboratoriais estão em constante evolução, mudando assim parâmetros importantes para a interpretação clínica, acrescentando novos valores preditivos positivo e negativo, sensibilidade e especificidade. Essa realidade pode ser ilustrada em procedimentos laboratoriais, como na pesquisa de anticorpos antinúcleo (ANA), pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Esta técnica utiliza as células HEp-2 (células de carcinoma de laringe humana) como substrato para reação, o teste também é conhecido como fator antinúcleo (FAN), hoje denominado "Pesquisa de Anticorpos contra Antígenos Celulares" (PAAC). Esse teste tem sido excelente exame de rastreamento de auto-

anticorpos em soro de pacientes com suspeita de doença autoimune, e, ao longo das últimas décadas, foi tecnicamente modificado de forma a conferir sensibilidade progressivamente maior. Entretanto, a pesquisa de anticorpos contra antígenos celulares passou consequentemente a apresentar menor especificidade.^(3,4)

O método padrão para triagem de anticorpo contra antígenos celulares baseia-se na técnica IFI interligando-se como substrato em lâminas contendo células HEp2 (células de carcinoma de laringe humana). Resultados positivos podem ocorrer na artrite reumatoide, esclerodermia, síndrome de Sjögren, hepatite autoimune, infecções crônicas na presença de anticorpos heterófilos durante uso de vários medicamentos, tais como hidralazina, carbamazepina, hidantoína, isoniazida, metildopa, ácido acetilsalicílico.⁽⁵⁾

O número de autoanticorpos para o diagnóstico de doenças sistêmicas ou órgão-específicas tem aumentado gradativamente desde que a técnica de imunofluorescência foi utilizada na sua triagem. Atualmente, há uma variedade de padrões que pode ser resultado da ligação de vários autoanticorpos distintos, um número restrito deles, ou até

¹Graduanda do Curso de Farmácia Generalista, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus Santo Ângelo-RS, Brasil.

²Professor Mestre das disciplinas de Imunologia Clínica e básica, do Curso de Farmácia, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus Santo Ângelo -RS, Brasil.

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

Recebido em 05/01/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

mesmo um único autoanticorpo. Os padrões têm grande importância visto que direcionam o raciocínio clínico e propiciam a investigação laboratorial adicional. De forma geral, baseando-se no resultado da triagem de autoanticorpos pela técnica do FAN, pode-se ter a noção de qual deve ser o próximo passo na investigação.⁽⁶⁾

O reconhecimento de que uma fração representativa da população possui o teste de FAN-HEp-2 reagente acarreta a necessidade de se buscarem características que auxiliem na distinção dos testes positivos em pacientes com doença autoimune daqueles observados em indivíduos não autoimunes. Entre essas características encontram-se o título da reação e o padrão de fluorescência observado. Em particular, deve-se ter em mente que o padrão de fluorescência é decorrente do reconhecimento de diferentes estruturas celulares pelos anticorpos e, portanto, o padrão de fluorescência fornece uma indicação preliminar dos possíveis antígenos que estão sendo reconhecidos.⁽⁷⁾

Além do exame clínico apurado e o resultado positivo de FAN-HEp-2, é de suma importância verificar possíveis alterações no hemograma, exame qualitativo de urina, proteína C reativa e velocidade de hemossedimentação (VHS).⁽⁴⁾

A proteína C reativa é indicativa da presença de processo inflamatório agudo ou crônico. A determinação laboratorial da PCR como marcador inflamatório é indicado em várias situações clínicas, tais como: monitorização da resposta terapêutica à antibioticoterapia em infecções bacterianas, atividade de doença no lúpus eritematoso sistêmico e doenças autoimunes.⁽⁸⁾

O fator reumatoide (FR) é a anormalidade imunológica mais marcante da artrite reumatoide, além de ser um anticorpo encontrado em 90% dos pacientes com esta patologia. Nesses casos, pode ajudar o diagnóstico se o fator reumatoide estiver positivo e elevado. O FR pode estar presente também em outras doenças, nem sempre indicando a doença reumática, como é o caso das doenças inflamatórias e autoimunes, infecções crônicas e malignidades.⁽⁸⁾ O presente estudo teve como objetivo analisar o perfil dos testes de anticorpos antinucleares de pacientes que realizaram o exame em dois laboratórios privados do município de Santo Ângelo-RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, da análise de alguns exames de pacientes que realizaram o FAN por meio da técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Os laudos estudados correspondem ao período de janeiro de 2008 a dezembro de 2009, sendo provenientes de dois laboratórios diferentes, na cidade de Santo Ângelo, situada no noroeste do estado do Rio Grande do Sul, ocupando uma área de 681 Km², com uma população estimada de 75.445 habitantes (IBGE, 2010).

As variáveis analisadas foram: idade dos pacientes, gênero, fator antinuclear, exames de rotina como proteína C reativa e fator reumatoide (FR). Os dados foram expressos por análise descritiva dos dados e em porcentagem. No teste do fator antinuclear o título de triagem foi de 40.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da URI (Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões), Campus de Santo Ângelo, sob protocolo n° 134-4/PPH/09.

RESULTADOS

Foram estudados os 116 registros dos laudos de exames de FAN pelo método de imunofluorescência indireta em dois laboratórios de análises clínicas do município de Santo Ângelo-RS.

Foi verificado que 89/116 (76,72%) pertenciam ao gênero feminino e 27/116 (23,28%) ao gênero masculino. A idade média dos pacientes foi de 42,5 anos (Tabela 1).

A faixa etária mais prevalente foi a de 40 a 49 anos com 27/116 (23,3%), seguida de 50 a 59 anos com 24/116 (20,7%), 30 a 39 anos com 18/116 (15,5%), conforme a Figura 1.

Tabela 1 - Distribuição de idade e gênero dos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios no município de Santo Ângelo/RS.

Variáveis	Pacientes que realizaram exames de FAN
Idade média (mín-máx)	42,5 (2-88)
Gênero	
Masculino n (%)	27 (23,28%)
Feminino n (%)	89 (76,72%)
Total n (%)	116 (100%)

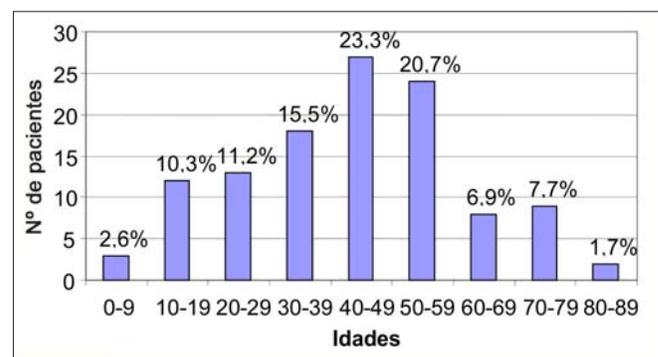


Figura 1. Distribuição por faixa etária dos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios no município de Santo Ângelo/RS.

Na análise dos padrões de imunofluorescência indireta, foi observado que 103/116 (88,79%) dos pacientes demonstraram resultado não reagente e 13/116 (11,21%) resultado reagente (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição do fator antinuclear dos pacientes que realizam exames através da técnica de imunofluorescência indireta em laboratórios no município de Santo Ângelo-RS

Resultado laboratorial	n(%)
Reagente	13 (11,21%)
Não reagente	103 (88,79%)
Total	116 (100%)

Os padrões do tipo nuclear foram os mais presentes 9/13 (69,23%), sendo que a mais evidente foi o nuclear pontilhado fino 6/13 (46,17%). Tabela 3

Em 13/116 exames foram indicados títulos da IFI na faixa de 40 a 1280, em que títulos de 40 eram ausentes, 4/13 (30,77%) títulos de 80, 3/13 (23,08%) títulos de 160, 1/13 (7,69%) títulos de 320, 2/13 (5,38%) títulos de 640 e, por fim, 3/13 (23,08%) apresentando títulos de 1280 (Tabela 4).

A proteína C reativa nos pacientes que realizam exames de FAN, por IFI, foi descrita em 39/116 exames, os títulos variaram de não reagente a 96, apresentando não reagente 24/39 (61,64%), 3/39 (7,69%) títulos de 6, 3/39 (7,69%) títulos de 12, 5/39 (12,82%) títulos de 24, 2/39 (5,13%) títulos de 48 e, por fim, 2/39 (5,13%) títulos de 96 (Tabela 5).

Tabela 3 - Padrões de imunofluorescência indireta nos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios no município de Santo Ângelo-RS

Padrões de imunofluorescência	n (%)
Nuclear homogêneo	1 (7,69%)
Nuclear pontilhado	1 (7,69%)
Nuclear pontilhado fino	6 (46,17%)
Nuclear pontilhado com pontos isolados	1 (7,69%)
Nucleolar homogêneo	1 (7,69%)
Aparelho mitótico	1 (7,69%)
Citoplasmático pontilhado reticulado	1 (7,69%)
Misto nuclear pontilhado fino denso e pontos isolados	1 (7,69%)
Total	13 (100%)

Tabela 4 - Percentual de títulos da imunofluorescência indireta nos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios no município de Santo Ângelo-RS

Títulos	n (%)
40	0 (0%)
80	4 (30,77%)
160	3 (23,08%)
320	1 (7,69%)
640	2 (15,38%)
1280	3 (23,08%)
Total	13 (100%)

Tabela 5 - Percentual de proteína-C-reativa nos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios no município de Santo Ângelo-RS

Resultado	n (%)
Não reagente	24 (61,54%)
6	3 (7,69%)
12	3 (7,69%)
24	5 (12,82%)
48	2 (5,13%)
96	2 (5,13%)
Total	39 (100%)

O fator reumatoide dos pacientes que também foram submetidos aos exames de FAN por IFI foi descrito em 70/116 exames, onde os títulos estiveram presentes na faixa de não reagente a 96, 65/70 (92,86%) não reagente, 1/70 (1,43%) títulos de 24, 3/70 (4,28%) apresentando títulos de 48, 1/70 (1,43%) apresentando títulos de 96 (Tabela 6)

Tabela 6 - Percentual de fator reumatóide nos pacientes que realizaram exames de FAN (fator antinuclear) através da técnica de imunofluorescência indireta, em laboratórios diferentes no município de Santo Ângelo-RS

Resultado	n (%)
Não reagente	65 (92,86%)
24	1 (1,43%)
48	3 (4,28%)
96	1 (1,43%)
Total	70 (100%)

DISCUSSÃO

Dos 116 registros dos laudos de exames de FAN empregando-se IFI, a grande maioria foi composta de mulheres (76,72%), sendo uma proporção de 3,3:1. Em estudo realizado por Prado et al.,⁽⁹⁾ que analisaram o FAN de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, encontraram-se 94% de mulheres. Em diversos estudos foram relatados predominância do gênero feminino com grande diferença e variação, desde 4:1 até 32:1 em relação ao sexo masculino.⁽¹⁰⁾ Já nos estudos de Bezerra et al. e Dutra e Oliveira,^(11,12) foi encontrada uma proporção entre o sexo feminino e masculino de 16:1 e 20:1, respectivamente. Logo, sugere-se que as doenças autoimunes acometem principalmente as mulheres.⁽⁸⁾

A média da faixa etária dos exames analisados nos laboratórios foi de 42,5 anos de idade, tendo variado de 2 a 88 anos, o que está de acordo com análise realizada por Prado et al.,⁽⁹⁾ que obtiveram uma média de 43 anos. Já para Lima et al.,⁽¹³⁾ a média da faixa etária ficou abaixo de 35 anos, com também para Dutra e Oliveira, cuja média de idade foi de 35,4 anos, tendo uma variação de 16 a 60 anos.⁽¹²⁾

Quanto à distribuição do fator antinuclear, 103 (88,79%) dos pacientes apresentaram resultado não reagente, concordando com o estudo realizado por Gómez et al.,⁽¹⁴⁾ no qual, dos 160 pacientes estudados, 141 (88,1%) eram não reagentes. Prado et al., em pacientes lúpicos obtiveram 98% reagentes dos 56 pacientes.⁽⁹⁾ Callado et al. analisaram respectivamente os resultados de pesquisa de anticorpo antinuclear (ANA) dos pacientes ambulatoriais e internados no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006, em que foram realizadas 6.753 determinações, onde 5.700 (84,4%) foram negativas e 1.053 (15,6%) foram positivas.⁽¹⁵⁾

No entanto, a presença de autoanticorpos só tem significado clínico quando estão associados a outras manifestações da doença; logo, o mesmo teste de FAN, sendo positivo, não necessariamente indica um estado patológico ou autoimunidade.^(4,16) Os resultados positivos do FAN devem ser acompanhados pela descrição do padrão de fluorescência encontrado. O FAN-HEp2 apresenta grande sensibilidade e baixa especificidade, por essa razão uma reação positiva deve ser valorizada com cautela, fazendo-se indispensável observar os demais critérios diagnósticos. No caso do LES, uma pesquisa negativa pode excluir a hipótese diagnóstica.⁽⁵⁾

Neste estudo, o padrão nuclear pontilhado fino esteve presente em 46,17% dentre os padrões de imunofluorescência. Laurino et al. demonstraram em seu trabalho que o padrão mais frequente também foi o nuclear pontilhado fino, presente em 52,3%.⁽²⁾ O tipo de padrão sugere qual o autoanticorpo que está presente e este autoanticorpo tem associação bastante específica com determinadas doenças autoimunes,⁽⁴⁾ por exemplo, o padrão nuclear pontilhado fino sugere uma predisposição a síndrome de Sjögren primária (SS), LES, lúpus neonatal e lúpus cutâneo subagudo. Prado et al. relataram como padrões mais frequentes e homogêneos 48% e o pontilhado fino com 43%, porém trabalharam apenas com paciente lúpicos.⁽⁹⁾ Dutra e Oliveira, que também consideraram apenas pacientes com LES, encontraram o padrão nuclear homogêneo (41%) e pontilhado (50%) dentre os padrões de imunofluorescência.⁽¹²⁾ Callado et al. estudaram 260 resultados dos quais o nuclear homogêneo (24,7%), 401 nuclear pontilhado fino (38,1%), 66 nuclear pontilhado fino denso (6,3%), 23 centrométrico (2,2%) e 3 pontos isolados (0,2%).⁽¹⁵⁾ Queiroz et al. demonstraram em seu trabalho que estes são os principais padrões no diagnóstico do LES, e que o tipo de padrão sugere o acometimento de determinados órgãos, por exemplo, o padrão nuclear homogêneo sugere uma predisposição a nefrite lúpica.⁽¹⁷⁾ Em estudo realizado por Lora et al.⁽¹⁶⁾ também foi observado que um paciente apresentou resultado não reagente, ou seja, FAN negativo e classificado como LES positivo de acordo com os achados clínicos, sendo que tal situação é possível apesar de a sensibilidade do FAN para LES ser de 95%-100%.

No presente estudo, encontrou-se padrão do tipo nuclear correspondendo a 69,23% dos resultados positivos. Nos achados de Callado et al., 89,9% foram a ocorrência de padrões nucleares dos resultados positivos e 10,1% o restante subdividido em nucleolares, citoplasmáticos, reatividades em aparelho mitótico e padrão misto.⁽¹⁵⁾ Dellavance e Andrade, em um laboratório clínico na cidade de São Paulo, das 30.728 amostras encaminhadas para triagem de autoanticorpos em ANA-HEp-2, 13.641 (44%) apresentavam reatividade nuclear. Entre esses 44%, os padrões mais prevalentes foram o pontilhado fino e pontilhado fino denso. Os títulos observados foram predominantemente baixos para o padrão nuclear pontilhado fino, contrariamente ao padrão nuclear pontilhado fino denso, que apresentou maior frequência em títulos mais altos e também representou cerca de 1/3 das amostras com positividade nuclear.⁽⁷⁾

Um segundo ponto a ser considerado é o título do FAN-HEp-2, muito embora seu valor seja relativo.⁽⁴⁾ Em geral, os pacientes autoimunes tendem a apresentar títulos moderados (1/160 e 1/320) e elevados (> 1/640), enquanto que os indivíduos saudáveis com FAN-HEp-2 positivo tendem a apresentar baixos títulos (1/80 e 1/40). Entretanto, é importante ressaltar que exceções de ambos os lados não são infrequentes.^(4,18) Os títulos dos autoanticorpos observados estavam compreendidos entre 1/80 e 1280, com uma incidência maior nas diluições 1/80 (30,77%), 1/160 (23,08%), e 1/1280 (23,08%), não apresentando títulos em 1/40. Os títulos mais elevados encontrados por Laurino et al.⁽²⁾ foram 80 (27,8%) e 160 (29,4%). Em Dutra e Oliveira, os títulos dos autoanticorpos observados estavam compreendidos entre 160 e 5120, com uma incidência maior nas diluições 320 (33,3%) e 5120 (26,7%), não apresentando títulos em 40 e 80.⁽¹²⁾ Callado et al. obtiveram 234 (22,22%) com título 1/80, 205 (19,47%) com título 1/160, 237 (22,51%) com título de 1/320, 177 (16,81%) com título 1/640 e 145 (13,77%) com > 1/1280.⁽¹⁵⁾ Segundo Gordon,⁽¹⁹⁾ títulos altos são mais preditivos para doenças, que, na prática clínica, são significativos títulos superiores a 1/160. Reações falsas positivas podem ocorrer em pequeno percentual de população aparentemente sadia, essa frequência é maior entre as mulheres e aumenta com a idade. Não existe relação entre o título do FAN e a atividade da doença.⁽⁵⁾

A proteína-C-reativa e o fator reumatoide auxiliam nos diagnósticos de doenças autoimunes.⁽⁴⁾

CONCLUSÃO

A maioria dos pacientes que realizaram o teste IFI-Hep2 era do sexo feminino, com idade média de 42,5 anos, 88,79% dos exames de IFI-Hep2 foram não reagentes, os padrões mais encontrados foram os nucleares com 66,23%, e os títulos de 1/80 e 1/160 foram mais prevalentes.

Agradecimentos

Ao Luiz Felipe de Carli e à Rosa Terra, farmacêuticos responsáveis respectivamente pelos laboratórios de análises clínicas Lab Diagnósticos e Biomédico Terra, agradeco pela colaboração, entendimento, anuência e apoio destinado ao desenvolvimento deste trabalho.

Abstract

The aim of this study was to analyze the testing of autoantibodies against cellular antigens (ANA-HEp-2). For this we performed a retrospective cross-sectional study, analysis of the tests of ANA (antinuclear factor) by indirect immunofluorescence, in two small labs in the years 2008 and 2009. We analyzed records of 116 reports of IFI-HEp-2, of which 76.72% were female with mean age of 42.5 years. The survey of autoantibody by IFA (indirect immunofluorescence) had reagent in 88.79% and nonreactive reagent 11.21% of patients. The pattern of IFI was the most frequently speckled nuclear 45.17%. Already the C-reactive protein was described in 39/116 examinations, and the titers ranged from nonreactive to 96, with nonreactive 24/39 (61.64%), 5/39 (12.82%) showing evidence 24. Lastly, the rheumatoid factor test was described in 70/116, where the titles were also not present in the range of the reagent 96, with nonreactive 65/70 (92.86%), 3/70 (4.28%) presenting evidence of 48. The data showed the profile of patients who underwent the IFI-HEp-2 in that most are young women with low serum autoantibody positivity.

Keywords

Autoimmune disease; antinuclear factor; indirect immunofluorescence; IFI-HEp2

REFERÊNCIAS

- Bueno V, Pacheco-Silva A. Oral tolerance: a new perspective in the treatment of autoimmune diseases. *Rev Ass Med Brasil* 1999; 45(1): 79-85. [Article in Portuguese]
- Laurino CCFC, Lora PS, Brenol JCT, Grutcki DM, Xavier, RM. Experiência da adoção do I e II Consensos Brasileiros de Fator Antinuclear por Imunofluorescência Indireta em Células HEp-2 em um hospital universitário. *Rev Bras Reumatol.* 2009;49(2):110-20.
- Dellavance A, Andrade LEC. Como Interpretar e Valorizar Adequadamente o Teste de Anticorpos Antinúcleo. *J Bras Patol Med Lab.* 2007;43(3):157-68.
- Francescantonio PLC, Andrade LEC, Cruvinel WM, Araújo FI, Dellavance A, Gabriel Júnior A, et al. III Consenso Brasileiro para Pesquisa de Auto-Anticorpo em Células HEp-2: perspectiva histórica, controle de qualidade e associações clínicas. *J Bras Patol Med Lab.* [Internet]. 2009;45(3):185-199. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442009000300003&lng=en.
- Volpini C. Lúpus Eritematoso Sistêmico. *Cadernos de informação científica.* Editora Med Press Ltda. Ano 3, n° 4, 2008. Disponível em: http://www.quaglia.com.br/v10/pdfs/book_lupus4.pdf, acessado dia 30 de maio 2010.
- Dellavance A, Gabriel Júnior A; Cintra AFU; Ximenes AC; Nuccitelli B; Taliberti BH, et al. Definições para a padronização da pesquisa de auto-anticorpos contra constituintes do núcleo (FAN HEp-2), nucléolo, citoplasma e aparelho mitótico e suas associações clínicas. *Rev. Bras. Reumatol.* [Internet]. 2003;43(3):129-140. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042003000300002&lng=en.
- Dellavance A, Andrade LEC. Das células LE às células HEp-2: perspectiva histórica e avaliação crítica do teste de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos antinúcleo. *Revista Brasileira de Medicina.* Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revista.asp?fase=r003&id_materia=3500 acessado dia 1 de junho de 2010.
- Ferreira W, Ávila SLM. *Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes.* 2.ed. p.414-30, Rio de Janeiro: Guanabara, 2001.
- Prado DA, Rost EC, Keiserman WM, Staub LH. Perfil clínico laboratorial de pacientes do Ambulatório de Lupus Eritematoso Sistêmico do Hospital São Lucas da PUCRS. *Scientia Medica, Porto Alegre,* v. 17, n.3, p. 168-170, 2007.
- Rocha MCBT, Teixeira SS, Bueno C, Vendramini MBG, Martinelli RP, Santiago MB. Perfil demográfico, clínico e laboratorial de 100 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico no estado da Bahia. *Revista Brasileira de Reumatologia,* v.40, n.5, p. 221-230, 2000.
- Bezerra ELM, Pereira MJ, Barbosa OFC, Santos SQ, Castro MA, Trindade MC, Sato EI. Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES): Perfil clínico-laboratorial dos pacientes do hospital universitário Onofre Lopes (UFRN-Natal/Brasil) e índice de dano nos pacientes com diagnóstico recente. *Rev. Bras. Reumatol.* [Internet]. 2005;45(6):339-342. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042005000600002&lng=en.
- Dutra MR, Oliveira BT. Lúpus eritematoso sistêmico (LES): perfil clínico-laboratorial dos pacientes atendidos em um serviço privado de reumatologia na cidade de Santo Ângelo-RS. *Revista Brasileira de Análise Clínica,* Rio de Janeiro, v.41, n.1, p.77-80, 2009. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/08/RBAC_Vol41_n4-Completa.pdf
- Lima I, Néri F, Santiago MB. Dosagem sérica de adenosina desaminase em lúpus eritematoso sistêmico: Ausência de associação com atividade de doença. *Rev. Bras. Reumatol.* [Internet]. 2005; 45(5):273-279. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042005000500002&lng=en.
- Gomez CA, Jimenez RL, Aparicio G, Rey RJ, Ruano T, Rodriguez F. Anticuerpos Antinucleares: ¿Específicos de Conectivopatías?. *Revista del laboratorio clínico,* v.2, n. 2, 2009.
- Callado MRM, Vieira ARMR, Callado CM, et al. Prevalência dos anticorpos antinucleares (ANA) no hospital geral de Fortaleza no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006. *Jornal da LIRNNE,* v. 03, p. 118-122, 2007.
- Lora PS, Laurino CCFC, Freitas AE, Breno JCT, Montecielo O, Xavier RM. Padrões de Imunofluorescência do Fator Antinuclear (FAN) em Células HEp-2 de Soros Reagentes para Anti-SSA/RO. *Rev. Bras. Reumatol.* 2007;47(1):4-9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042007000100003&lng=en
- Queiroz ACM, Freire AL, Chaves RV, Atanasio DM, Medeiros SDV, Fonseca AS, et al. Importância da detecção de anticorpos antinucleares pela técnica de imunofluorescência indireta HEp-2 em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Revista Brasileira de Análises Clínicas,* v. 35, n 4, p. 187-189, 2003.
- Dellavance A, Leser PG, Andrade LEC. Análise crítica do teste de anticorpos anti-núcleo (FAN) na prática clínica. *Rev. Bras. Reumatol.* 2007;47(4):265-275. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042007000400005&lng=en.
- Gordon NG. *Doenças Metabólicas.* In: Goldmann L, Bennet JC. *Cecil Tratado de Medicina Interna.* 21ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2001.

Correspondência

Tiago Bittencourt de Oliveira

Rua Sepé Tiaraju - n° 189,
98801-500, Santo Ângelo-RS, Brasil
e-mail: tiagofarm@gmail.com

Métodos de diagnóstico molecular e controle terapêutico da hepatite C

Methods of molecular diagnosis and monitoring therapy of the hepatitis C

Mariana Rigotto Cordeiro¹

Rosario Dominguez Crespo Hirata²

Resumo

O vírus RNA da hepatite C (HCV-RNA) pode ser detectado por métodos moleculares que são usados também para a genotipagem e quantificação da carga viral. Foram avaliados os parâmetros analíticos, carga viral e a resposta virológica sustentada (RVS) de métodos moleculares para detecção do HCV-RNA. A precisão e especificidade analíticas foram similares entre os métodos de PCR de ponto final (PCR-PF), PCR em tempo real (PCR-TR) e DNA ramificado (bDNA) ($p > 0,05$). Por outro lado, o PCR em tempo real apresentou maior sensibilidade e maior faixa de linearidade quando comparado com PCR de ponto final e bDNA ($p < 0,05$). Os coeficientes de correlação da carga viral de HCV não diferiram, sugerindo uma boa correlação entre esses métodos. Variações na carga viral entre os genótipos de HCV foram similares para a PCR de ponto final ($p = 0,790$) mas não diferiram para a PCR em tempo real, que mostrou a menor variação para o genótipo tipo 2 ($p < 0,05$). A RVS para os genótipos 2 e 3 (>80%) e 1 e 4 (>40%) foi similar entre os dois métodos de PCR. Concluindo, a PCR em tempo real parece ser o método mais adequado para a detecção e quantificação do HCV-RNA em amostras clínicas.

Palavras-chave

Hepatite C; HCV-RNA; PCR; bDNA; carga viral; método molecular

INTRODUÇÃO

A identificação do RNA vírus da hepatite C (HCV-RNA) por teste molecular, em 1989, constituiu um marco na história da virologia.⁽¹⁾ Desde então, vários métodos moleculares foram desenvolvidos e aperfeiçoados com a finalidade de garantir melhor desempenho na detecção, quantificação e genotipagem do HCV-RNA.

Os imunoenaios detectam anticorpos específicos contra o HCV e são os testes mais amplamente utilizados no diagnóstico laboratorial da hepatite C. Esses ensaios detectam aproximadamente 95% dos casos de hepatite C crônica e 50%-70% das infecções agudas.⁽²⁾ Segundo a recomendação do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), EUA, os indivíduos com imunoenensaio anti-HCV positivo devem realizar um teste molecular confirmatório para detecção de HCV-RNA, como a reação da polimerase em cadeia (PCR). O teste confirmatório é necessário para excluir os casos falso-positivos, porém ainda é pouco praticado em países subdesenvolvidos.⁽³⁾

Os testes diagnósticos para detecção do vírus HCV são indicados para todos os grupos de risco, por exemplo,

indivíduos que utilizam drogas injetáveis, pacientes que tenham recebido transfusões antes dos anos 90 ou doentes renais crônicos que fazem seções de hemodiálise.⁽⁴⁾

A principal diferença entre os imunoenaios e os testes moleculares é a janela imunológica; enquanto que a detecção de anti-HCV ocorre entre quatro e dez semanas após a infecção, o HCV-RNA pode ser detectado em uma a três semanas. Assim, pessoas em estágio inicial da infecção ou que não desenvolvem resposta imune ao HCV podem ser negativas aos imunoenaios de anti-HCV.⁽³⁾

Os principais métodos moleculares atualmente utilizados permitem tanto a detecção (qualitativo) quanto a quantificação (quantitativo) do HCV-RNA. Os métodos de amplificação do ácido nucleico utilizam a DNA polimerase termoestável, como a PCR de ponto final e a PCR em tempo real (PCR-TR); a amplificação baseada na sequência de ácido nucleico, como a *Nucleic Acid Specific-Based Amplification* (NASBA); e amplificação mediada por transcrição, como a *Transcription Mediated Amplification* (TMA).

O HCV-RNA também pode ser detectado e quantificado por método de amplificação do sinal de hibridização

¹Farmacêutica-Bioquímica, graduada pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo-SP, Brasil.

²Professora. Titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo-SP, Brasil.

Instituição: Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo-SP, Brasil.

Recebido em 01/08/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

como o DNA ramificado (*branched DNA* ou bDNA). Para a genotipagem do HCV-RNA tem sido aplicada a tecnologia de sequenciamento de DNA.⁽⁵⁻⁹⁾ Um breve resumo dos métodos e testes comerciais disponíveis para a detecção e

quantificação de HCV-RNA é apresentado na Tabela 1. Esses métodos são parcialmente ou totalmente automatizados, inclusive a etapa de extração de RNA a partir das amostras biológicas.

Tabela 1 - Princípios de métodos moleculares e testes comerciais disponíveis para detecção e genotipagem do HCV

Método	Princípio	Sistema	Testes
PCR-PF	Amplificação do RNA-HCV por reação em cadeia pela polimerase, com posterior detecção do sinal	Manual	Amplicor HCV v2.0 (Roche)
		Semiautomatizado	Cobas Amplicor HCV Monitor v2.0 (Roche)
		Semiautomatizado	LCx HCV RNA (Abbott)
		Semiautomatizado	Versant Genotype LIPA v2.0 (Siemens)
PCR-TR	Amplificação do RNA-HCV por reação em cadeia pela polimerase, com detecção do sinal simultânea	Semiautomatizado	Cobas TaqMan HCV HPS v2.0 (Roche)
		Automatização total	Cobas Ampliprep/ Cobas TaqMan (Roche)
		Semiautomatizado	HCV Real Time (Abbott)
		Semiautomatizado	LightCycler (Roche)
		Semiautomatizado	Versant kPCR Molecular (Siemens)
bDNA	Detecção do RNA-HCV por hibridização com múltiplas sondas, incluindo a DNA ramificado (bDNA) que amplifica o sinal	Semiautomatizado	Versant HCV RNA v3.0 (Siemens)
NASBA ou TMA	Amplificação do RNA-HCV por transcrição <i>in vitro</i> com detecção do sinal simultânea	Semiautomatizado	NucliSens (Biomérieux)
		Semiautomatizado	Versant HCV RNA TMA (Siemens)
Genotipagem	Análise da sequência genômica viral completa ou parcial (regiões específicas) para identificação dos genótipos e subtipos do vírus	Semiautomatizado	Versant HCV Genotyping LIPA v2.0 (Siemens)
		Semiautomatizado	Linear Array HCV (Roche)
		Semiautomatizado	Real Time HCV Genotyping (Abbott)

Nota: Tabela adaptada dos artigos Majid et al., 2002; Strader et al., 2004. PCR; www.medical.siemens.com; www.roche.com; www.abott.com. PCR: reação da polimerase em cadeia; PF: Ponto final; TR: Tempo Real; bDNA: DNA ramificado; NASBA: amplificação baseada na sequência de ácido nucleico; TMA: amplificação mediada por transcrição.

Alta sensibilidade e especificidade geralmente são requeridas em testes qualitativos para a detecção do HCV-RNA, enquanto que alta precisão e exatidão são necessárias nos testes quantitativo de determinação da carga viral.⁽¹⁰⁾ A genotipagem do HCV é útil para prever o esquema terapêutico e a duração do tratamento.⁽¹¹⁾ A maioria dos testes quantitativos comercializados atualmente utiliza a unidade internacional (UI) para medida da carga viral, padrão de unidade estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para melhor comparação dos resultados. A OMS desenvolve painéis com amostras coletadas em diversas regiões do mundo.⁽²⁾

O diagnóstico da hepatite C por métodos moleculares visa: (1) Detectar o vírus ainda na fase aguda da doença, quando geralmente os infectados são assintomáticos; (2) Quantificar a carga viral ao início do tratamento para prever a resposta terapêutica; (3) Monitorar o tratamento pela quantificação da carga viral, para identificar a necessidade de descontinuar o tratamento; (4) Determinar a resposta virológica ao final do tratamento e durante o acompanhamento posterior da resposta; (5) Determinar a resposta virológica com uso de novos antivirais e (6) Tentar estabelecer um único método diagnóstico para avaliação da hepatite C, independente do genótipo da doença, e que seja igualmente eficaz para todos os genótipos.⁽⁶⁾

Foi feito um levantamento de artigos publicados sobre métodos moleculares para detecção do HCV-RNA com a finalidade de conhecer e fazer uma análise crítica do de-

sempenho analítico para detecção, quantificação da carga viral e resposta virológica sustentada.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de dados

Foi realizado um levantamento de artigos publicados sobre diagnóstico laboratorial e monitoramento terapêutico da hepatite C, no período de 1999 a 2009 utilizando as bases de dados PubMed, *Web of Science* e MEDLINE. Também foram consultados sites de informações científicas sobre o tema (WHO, CDC, *ClinicalTrials*, entre outros). Para essa finalidade, foram utilizadas algumas das palavras-chave: "molecular"; "diagnosis/diagnóstico"; "comparative"; "hepatitis C/hepatite C" ou "HCV"; "therapy/tratamento"; "peginterferon" ou "pegylated interferon", "PCR", "NASBA", "bDNA" e "TMA".

Foram incluídos textos completos na versão original (em inglês ou português) com informações sobre métodos moleculares empregados no diagnóstico laboratorial, evolução clínica e tratamento farmacológico; métodos de genotipagem do HCV-RNA; e dados analíticos, como especificidade, limite de detecção, faixa de linearidade, precisão, exatidão, correlação, quantificação entre genótipos e RVS.

Análise comparativa

Para a análise comparativa, foram agrupados os parâmetros analíticos descritos nos artigos com as mesmas

unidades (ex. UI/mL, para o limite de detecção, ou % para a precisão). Foram registrados os valores mínimo e máximo de cada método, verificando-se assim as faixas de valores encontrados. Nas análises comparativas verificou-se: (1) desempenho analítico dos métodos moleculares de detecção da hepatite C; (2) genótipos do HCV e carga viral; e (3) esquemas terapêuticos monitorados por métodos moleculares, comparando-se eficiência do tratamento aplicado e taxa de RVS.

Análise estatística

As variáveis selecionadas foram comparadas utilizando-se o programa Sigma Stat, versão 2.03 e considerando-se o nível de significância $p < 0,05$. Os dados das variáveis categóricas foram comparadas por teste qui-quadrado. As variáveis quantitativas foram apresentadas como medianas e valores mínimos e máximos. As variáveis quantitativas com distribuição normal foram comparadas por teste t ou análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey. Para as variáveis sem distribuição normal foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn.

RESULTADOS

Levantamento de dados

No período de 1999 a 2009 foram encontrados 58 artigos sobre métodos moleculares de detecção de HCV-RNA. Desses artigos, 23 relataram as informações analíticas, genótipo ou RVS do método PCR de ponto final (PCR-PF) utilizando-se os kits Cobas Amplicor HCV Monitor 2.0 (Roche Diagnostics, Pleasanton, USA) e Ngi SuperQuant (National Genetics Institute, Los Angeles, USA). Foram encontrados 18 artigos sobre PCR-TR que relataram os principais kits usados – Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan 48 (Roche) e Real Time HCV (Abbott Molecular Inc., Abbott Park, IL). Quatro artigos descreveram o teste NASBA com referência ao kit BK-HCV (NucliSens, BioMérieux, Boxtel, Holanda) e dez artigos relataram o bDNA kit Versant quantitative v3.0 (Bayer Diagnostics/Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, USA). Alguns artigos citaram mais do que um método de detecção de HCV-RNA.

Observou-se que a publicação de artigos sobre PCR-PF foi maior (56,2%) no período de 2003 a 2006, e sobre PCR-TR foi maior de 2007 a 2009 (72,2%, $p = 0,003$). Desde as publicações iniciais do método PCR-PF para detecção do HCV-RNA, o foco dos estudos mudou. Entre 1999 e 2006, foram publicados artigos sobre as características analíticas do método e, mais recentemente, é citado em artigos como método de comparação. O método de bDNA foi alvo de 36% das publicações no período de 1999 a 2002. Foram encontrados apenas quatro trabalhos sobre NASBA e nenhum sobre o desempenho analítico do TMA,

razão pela qual estes métodos foram excluídos das análises estatísticas.

Desempenho de métodos moleculares

A sensibilidade analítica ou limite de detecção é um parâmetro de desempenho que avalia a partir de qual concentração um analito pode ser detectado.⁽¹²⁾ Para verificar o limite de detecção, alguns laboratórios utilizaram o padrão OMS, que é um painel de amostras desenvolvido e validado pela OMS e que permite a comparação do limite entre diferentes métodos e laboratórios,⁽¹³⁾ enquanto que outros validaram os métodos com suas próprias amostras de sangue. Nos artigos, foram considerados apenas valores de limite de detecção (UI/mL) com intervalo de confiança superior a 95%, ou seja, detecção de 95% de resultados positivos ou negativos, dependendo do teste e usando ou não estimativas estatísticas.⁽¹⁴⁾

Nos artigos estudados, o limite de detecção (LD) obtido utilizando como amostra o painel da OMS foi menor para o PCR-TR, que detecta HCV-RNA a partir de 7 UI/mL, que do bDNA (596 UI/mL) e do PCR-PF (45 UI/mL) (dados não mostrados). Segundo dados dos fabricantes, o LD do bDNA é de 615 UI/mL (Bayer/ Siemens, www.medical.siemens.com), enquanto que a PCR-PF tem LD de 600 UI/mL e a PCR-TR (Cobas TaqMan, Roche e Abbott Real Time HCV) tem LD de 8-15 UI/mL. O menor LD encontrado para o teste de NASBA foi de 150 UI/mL (dados não apresentados). Ao se analisarem os valores de medianas de LD entre os três métodos, observou-se que o valor do PCR-TR (11 UI/mL) é menor que o do PCR-PF (460 UI/mL, $p < 0,05$), mas similar ao do bDNA (152 UI/mL, $p > 0,05$) (Tabela 2). O menor valor de mediana de LD para a PCR-TR demonstra a sua alta sensibilidade (habilidade em detectar carga viral muito baixa), que é um quesito ideal e desejável para o monitoramento terapêutico da hepatite C.⁽¹⁵⁾

A faixa de linearidade corresponde ao intervalo de concentrações para a qual o método é aplicável sem modificações e deve ser ampla o suficiente para incluir 95% a 99% das amostras analisadas sem diluição prévia.⁽¹²⁾ Pelos artigos analisados, os métodos moleculares têm faixa de carga viral comum de 10^1 UI/mL a 10^6 UI/mL (dados não apresentados). O bDNA apresentou a menor faixa de linearidade (10 a 8×10^6 UI/mL) e o PCR-TR a maior (2 a 4×10^8 UI/mL). Os artigos que citaram NASBA não apresentaram resultados de testes de linearidade, apenas indicaram valores informados pelo fabricante.

Os valores de faixa de linearidade descritos nas publicações são superiores aos indicados pelos fabricantes (PCR-PF: 600 a 5×10^5 UI/mL para o teste Cobas Amplicor/Roche; PCR-TR: 12 a 1×10^8 UI/mL para o teste HCV Real Time/Abbott; e bDNA: 615 a 8×10^6 UI/mL para o teste bDNA Versant v3.0/Siemens).^(8,16) Entretanto, em alguns artigos há relato de que não foram estudados valores de linearidade

Tabela 2 - Comparação dos parâmetros analíticos dos métodos moleculares para detecção de HCV-RNA

Parâmetros Analíticos		PCR-PF (n=5)	PCR-TR (n=10)	bDNA (n=6)	P
Limite de Detecção (UI/mL)		460 (208 - 575) ^a	11 (10 - 17) ^b	152 (150 - 153) ^{a,b}	<0,05 *
Linearidade (UI/mL)	Lmín	50 (30 - 496)	16 (12 - 32)	568 (265 - 615)	0,076 ***
	Lmáx	6,1x10 ⁶ (1,4x10 ⁶ -1,0x10 ⁷) ^a	1,4x10 ⁷ (1,2x10 ⁷ - 6,9x10 ⁷) ^b	7,8x10 ⁶ (5,4x10 ⁶ - 8,1x10 ⁶) ^a	<0,05 *
Precisão (%)	CV Intra	3,4 + 4,3	1,9 + 1,4	4,1 + 3,3	0,228 **
	CV Inter	2,2 + 1,2	2,8 + 3,6	6,7 + 6,3	0,340 **
Especificidade (%)		100 (96 - 100)	100 (99 - 100)	97 (95 - 98)	0,120 ***

Nota: n: número de artigos; CV: coeficiente de variação; Lmín: valor de linearidade mínima; Lmáx: valor de linearidade máxima. Dados apresentados como mediana e intervalo; somente para o CV são apresentados valores de média + desvio padrão. Os dados foram comparados pelo método de ANOVA mais comparação múltipla por Dunn (*); ANOVA (**) e Kruskal-Wallis (ANOVA on ranks)(***). Letras subscritas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa (p<0,05). n: número de artigos; PCR: reação da polimerase em cadeia; PF: Ponto final; TR: Tempo Real; bDNA: DNA ramificado.

máxima (Lmáx) superiores aos determinados pelos fabricantes.⁽⁹⁾

Os valores de mediana para o valor de linearidade mínima (Lmín) e valor de linearidade máxima (Lmáx) dos métodos estudados são apresentados na Tabela 2. A mediana do Lmín do PCR-TR foi menor (16 UI/mL) que a do PCR-PF (50 UI/mL) e a do bDNA (568 UI/mL), porém sem diferença estatística significativa (p=0,076). O valor de mediana do Lmáx do PCR-TR (1,4 x10⁷ UI/mL) foi significativamente maior que os dos demais métodos (p<0,05) (Tabela 2). Por outro lado, o valor de mediana de Lmáx do PCR-PF (6,1 x10⁶ UI/mL) foi similar ao do bDNA (7,8 x10⁶ UI/mL, p>0,05).

A precisão indica a capacidade do método analítico reproduzir o valor de replicatas de uma amostra no mesmo ensaio (intraensaio) ou em ensaios diferentes (interensaio). É estimada pelo coeficiente de variação (CV) das replicatas e indica os erros aleatórios do método.⁽¹²⁾ Ao se avaliarem os dados individuais (não mostrados), verificamos que o bDNA apresentou menores valores de CV intraensaio (0,6%-9,0%) que o PCR-PF (1,1%-9,8%) e o PCR-TR (0,2%-46,1%). Por outro lado, os menores valores de CV interensaio foram encontrados para o PCR-PF (1,1%-3,4%) em comparação com o bDNA (2,3%-11,2%) e o PCR-TR (0,1%-32,9%). Cabe ressaltar que os altos valores de CV intra e interensaio da PCR-TR foram citados apenas em um artigo,⁽¹⁷⁾ que atribuiu esta variabilidade a diferenças de manipulação entre operadores durante o processo de preparo das amostras. Os dados desse trabalho foram excluídos da análise comparativa dos valores médios de CV intra e interensaio apresentados na Tabela 2 e que se apresentaram similares entre os três métodos (CV intra: p>0,228; CV inter: p=0,340). Dos trabalhos analisados, cinco apresentaram resultados de CV superiores a 5% (para PCR-PF, dos cinco artigos analisados, um apresentou CV intra e

interensaio maior que 5%; para PCR-TR, de dez artigos analisados, um apresentou CVs maiores que 5% e para bDNA, dois artigos de seis analisados apresentaram CVs maiores que 5%).

A especificidade representa a capacidade do método analítico em determinar exclusivamente o analito, sem reagir com outras substâncias (por exemplo, proteínas com estrutura semelhante ao HCV).⁽¹²⁾ A especificidade analítica variou de 87% a 100% (PCR-PF: 94%-100%; PCR-TR: 87%-100%; bDNA: 89%-99%). Essas diferenças podem ser atribuídas à carga viral das amostras usadas, pois nem todos os autores testaram amostras nas mesmas condições ou com a mesma concentração de carga viral. Os valores de mediana obtidos para a especificidade foram excelentes, sendo 100% para as duas modalidades de PCR (PCR-PF e PCR-TR) e 97% para o bDNA (Tabela 2). Não houve diferença significativa de valores medianos de especificidade entre os três métodos (p=0,120), indicando que têm especificidade similar.

A exatidão é o grau de concordância entre o valor mensurado de um analito e o valor verdadeiro ou esperado.⁽¹²⁾ O grau de inexatidão avalia o erro sistemático do método, que pode ser medido por teste de recuperação, erro da média, ou comparação com um valor de material de referência. Os artigos consultados fornecem valores brutos de diferenças (desvios) de carga viral entre o método em teste e o de referência, geralmente um padrão comercial.

O coeficiente de correlação é o grau de associação entre duas variáveis contínuas, é designado por r, e, no caso do estudo, útil para medir a relação de resultados de carga viral entre dois métodos moleculares.⁽¹⁸⁾ Os valores de coeficiente de correlação de Pearson (r) descritos nos artigos foram analisados. Observou-se que a variabilidade de coeficientes de correlação é menor entre os méto-

dos PCR-PF e bDNA ($r = 0,85$ a $0,97$) (dados individuais não mostrados), mais utilizados no início da década e que têm características de sensibilidade e especificidade similares, enquanto que a maior variabilidade de r foi encontrada entre os métodos bDNA e PCR-TR ($r = 0,21$ a $0,99$), provavelmente devido a maior sensibilidade e faixa de linearidade do PCR-TR e também ao menor número de estudos realizados com o método de bDNA nos últimos cinco anos. O coeficiente de correlação de PCR-TR foi estudado para verificar a relação entre diferentes kits (HCV Real Time Abbott e CAP/CTM Roche), ou processos de extração de RNA (manual e automatizada) das amostras biológicas.^(9,14) O valor de correlação encontrado na comparação dos kits da Abbott e Roche para detecção do genótipo 1 foi baixo ($r = 0,36$).⁽⁹⁾ Os autores atribuíram esse valor a diferenças de padrões e calibradores utilizados.

Na Tabela 3 são apresentados os valores de medianas de coeficientes de correlação e intervalos (25% a 75%) entre os métodos moleculares. As medianas de r foram superiores a $0,918$ (PCR-PF vs bDNA) e foram similares entre todos os métodos comparados ($p=0,725$), mesmo para diferentes fornecedores de kits para PCR-TR, indicando excelente correlação entre os mesmos.

Tabela 3 - Comparação de coeficientes de correlação entre os métodos moleculares para detecção de HCV-RNA

Métodos	Mediana (25-75%)	n*
PCR-PF x PCR-TR	0,940 (0,832-0,977)	11
PCR-PF x bDNA	0,918 (0,870-0,960)	5
bDNA x PCR-TR	0,924 (0,709-0,990)	7
PCR-TR x PCR-TR	0,985 (0,835-0,992)	5

$p=0,725$

Nota: n: número de artigos. Valores comparados por teste Kruskal-Wallis.

*Alguns artigos citam mais do que um coeficiente de correlação

Quantificação da carga viral

Os artigos que abordaram mais aspectos de tratamento da hepatite C citam valores de carga viral obtida para cada genótipo e para cada método. Nesses artigos são fornecidos valores de diferença de carga viral, que foi o dado utilizado neste trabalho para comparar os métodos. Como a maior parte dos artigos descreveu os métodos PCR-PF e PCR-TR, optou-se por fazer a análise dos dados com base nas diferenças encontradas entre estes métodos e o bDNA. O método NASBA foi excluído destas análises porque dentre os artigos que citavam este método não havia informações sobre diferença de carga viral. Os valores de carga viral encontrados entre PCR-TR e PCR-PF ou bDNA diferiram em aproximadamente $1,00$ UI/mL e as menores diferenças individuais foram encontradas entre PCR-PF e PCR-TR (dados não mostrados).

Na Tabela 4 são mostradas as diferenças de carga viral máximas e mínimas encontradas entre o método de PCR-TR e os demais (PCR-TR, PCR-PF e bDNA) por tes-

tes/fabricantes distintos, para diferentes genótipos de HCV. Observa-se que as faixas de diferenças da PCR-TR para os três métodos comparados são menores do que as observadas para o PCR-PF em comparação a outros métodos moleculares (variando de $0,10$ UI/mL a $0,50$ UI/mL; dados não apresentados). Para as comparações entre testes de PCR-TR, o teste ou fabricante mais citados foram High Pure System/Cobas TaqMan v2.0 (Roche), Cobas Ampliprep/Cobas TaqMan (Roche) e HCV Real Time (Abbott). Na Tabela 4 observa-se que, mesmo na comparação entre PCR-TR e PCR-TR de diferentes fabricantes, há diferença de concentração obtida para os genótipos (ex. genótipo 1: de $-0,72$ a $0,15$).

Tabela 4 - Diferenças de carga viral entre PCR em tempo real e outros métodos moleculares para genótipos de HCV

Genótipo	PCR-TR (n=6)		PCR-PF (n=3)		bDNA (n=4)	
	Diferenças		Diferenças		Diferenças	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
1a/b	-0,72	0,15	-0,16	0,13	-0,49	0,82
2b	-0,18	0,01	0,04	0,21	-0,22	0,77
3a	-1,04	0,98	-0,23	1,04	-0,54	0,96
4	-1,51	1,27	0,07	1,51	-0,26	-0,19
5	-1,00	0,02	0,03	1,00		-0,03*
6	-0,14	0,01		0,14*		ND

Nota: n: número de artigos; ND = não detectado; PCR: reação da polimerase em cadeia; TR: Tempo Real; PF: Ponto final; bDNA: DNA ramificado.

* apenas um artigo dentre os analisados forneceu o valor de diferença de carga viral

Ao se analisarem os dados de diferenças de carga viral entre os métodos moleculares foi encontrado número limitado de informações para os genótipos 5 e 6, razão pela qual estes parâmetros não foram incluídos na análise estatística. Na Tabela 5 são apresentados os dados de medianas das diferenças de carga viral e intervalo (25%-75%) entre a PCR-TR e a PCR-PF e a PCR-TR de outros fornecedores/kits. Quando foram comparados os métodos, as medianas de diferenças de carga viral foram similares entre a PCR-TR e a PCR-PF ou outros kits/fornecedores de PCR-TR para os genótipos HCV 1, 3 e 4 (Tabela 5). Para o genótipo 2, observou-se menor diferença de carga viral entre os métodos de PCR-TR ($0,03$) que com o PCR-PF ($0,32$, $p<0,05$). Esse resultado indica que há menor variabilidade de carga viral entre os métodos PCR-TR, sobretudo para o genótipo 2. Ao se analisarem os genótipos HCV, as medianas de diferenças de carga viral entre PCR-TR e PCR-PF foram similares entre os portadores de genótipos 1 a 4 ($p=0,790$) (Tabela 5). Por outro lado, a mediana de diferença carga viral foi significativamente menor para o genótipo 2 quando foram comparados métodos de PCR-TR entre diferentes kits/fornecedores ($p<0,05$), não diferindo para os demais genótipos.

Tabela 5 - Diferenças de carga viral (mediana) entre PCR e outros métodos moleculares para os genótipos de HCV

	PCR-PF	PCR-TR	Comparação entre métodos*
Genótipo 1	0,30 (0,15-0,97)	0,13 (0,12-0,16) ^a	<i>P</i> =0,138
Genótipo 2	0,32 (0,16-1,68)	0,03 (0,03-0,14) ^b	<i>P</i> <0,050
Genótipo 3	0,92 (0,22-1,72)	0,22 (0,19-0,79) ^a	<i>P</i> =0,134
Genótipo 4	0,57 (0,29-2,59)	0,38 (0,16-1,08) ^a	<i>P</i> =0,278
Comparação entre genótipos	<i>P</i> =0,790 **	<i>P</i> <0,05 ***	

NOTA: letras subscritas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$); *métodos comparados pelo teste t; **genótipos da PCR-PF comparados pelo teste Kruskal-Wallis (ANOVA on ranks) sem teste de comparação múltipla porque não houve diferença estatística; ***genótipos da PCR-TR comparados pelo teste Kruskal-Wallis mais comparação múltipla por teste de Tukey.

Resposta virológica sustentada

O Consenso da Sociedade Brasileira de Infectologia padronizou o esquema terapêutico com interferon alfa-2a peguilado (IFN-PEG) na dose de 270 µg/semana para pacientes com peso superior a 85 kg e alta carga viral (>850.000 UI/mL) ou 1,5 µg/kg/semana e ribavirina administrada na dose máxima (15 mg/kg/dia ou 1 g para pacientes com peso <75 kg). Nos artigos, foram encontradas informações sobre o tratamento da hepatite C com IFN-

PEG em combinação com a ribavirina. Desses trabalhos, 11 quantificaram a carga viral por PCR-PF e quatro por PCR-TR (Tabela 6).

Segundo dados da literatura, espera-se que o tratamento com IFN alfa-2a ou IFN-PEG combinado com ribavirina resulte em RSV de 80% para os genótipos HCV 2 e 3, 40%-50% para o genótipo 1 e 40% para os genótipos 4, 5 ou 6, com as maiores taxas de RVS alcançadas para o esquema IFN-PEG e ribavirina, enquanto que a

Tabela 6 - Resposta virológica sustentada em portadores de genótipos do HCV detectados por PCR

Método	Tratamento	Genótipo	RVS (%)	Referência		
PCR-TR	IFN-PEG + RBV	1	52,0	Fung et al., 2008 ⁽⁵⁾		
		1	12,5*	Matsuura et al., 2009 ⁽³⁰⁾		
		1	66,7**	Matsuura et al., 2009 ⁽³⁰⁾		
		2	96,0	Weiland et al., 2008 ⁽³¹⁾		
		2	56,0 - 82,0***	Lagging et al., 2008 ⁽³²⁾		
		3	58,0 - 78,0***	Lagging et al., 2008 ⁽³²⁾		
		3	95,0	Weiland et al., 2008 ⁽³¹⁾		
		6	86,0	Fung et al., 2008 ⁽⁵⁾		
		PCR-PF	IFN-PEG + RBV	1 e 3	57,0	Broers et al., 2005 ⁽³³⁾
				1 a 4	67,6 - 91,2***	Kamal et al., 2006 ⁽³⁴⁾
1b	39,0			Arase et al., 2008 ⁽³⁵⁾		
1b	60,7			Ferraro et al., 2008 ⁽³⁶⁾		
1 a 3	53,0 - 59,0***			Kim et al., 2005 ⁽³⁷⁾		
1	13,0 - 40,0***			Zeuzem et al., 2004 ⁽³⁸⁾		
1	32,3 - 61,5***			Akuta et al., 2009 ⁽³⁹⁾		
1	63,8			Kamal et al., 2006 ⁽³⁴⁾		
1	56,0			Kwon et al., 2009 ⁽⁴⁰⁾		
1	14,0			Chung et al., 2004 ⁽⁴¹⁾		
1 a 3	94,0			Santantonio et al., 2005 ⁽⁴²⁾		
2 e 3	72,0 - 78,0***			Zeuzem et al., 2004 ⁽³⁸⁾		
2 e 3	100			Kamal et al., 2006 ⁽³⁴⁾		
2 e 3	81,0			Kwon et al., 2009 ⁽⁴⁰⁾		
2 e 3	73,0	Chung et al., 2004 ⁽⁴¹⁾				
4	13,0 - 56,0***	Zeuzem et al., 2004 ⁽³⁸⁾				
4	92,0	Kamal et al., 2006 ⁽³⁴⁾				
4	67,9	Derbala et al., 2008 ⁽⁴³⁾				

Nota: PCR: reação da polimerase em cadeia; PF: Ponto final; TR: Tempo Real; IFN: interferon alfa-2a; PEG: peguilado, RBV: ribavirina. *HCV Real Time, Abbott. **CAP/CTM, Roche. ***dados apresentados como faixa de valores obtidos para o(s) genótipo(s) analisados, não há distinção por tipo de genótipo

monoterapia com IFN alfa-2a ou IFN-PEG, os valores de RVS são de 30%-40% para os genótipos 2 e 3, 5%-30% para o genótipo 1 e 60% para os genótipos 4, 5 ou 6, sendo que, neste último, a monoterapia com IFN alfa-2a não é eficaz.^(19,20)

De acordo com Sabato e colaboradores,⁽¹⁵⁾ o valor esperado de RVS para cada genótipo do HCV é de 40% para os genótipos 1 e 4 e de 80% para os genótipos 2 e 3. Ao se analisarem os dados de RVS com base nesse critério, verificamos que, para os genótipos 1 e 4, foi atingida a RVS esperada em 67% (12/18) dos estudos (Tabela 7), enquanto que, para os genótipos 2 e 3, 50% (6/12) dos estudos tiveram RSV atingida. Esses resultados foram independentes do método de PCR utilizado para quantificação da carga viral utilizada na estimativa da RSV (teste Exato de Fischer, $p=1,000$).

Tabela 7 - Valores de resposta viral sustentada de acordo com os genótipos de HCV

Método	RVS genótipos 1 e 4*		RVS genótipos 2 e 3*	
	<40% (n=6)	>40% (n=12)	<80% (n=6)	>80% (n=6)
PCR-TR	5 %	11 %	17 %	17 %
PCR-PF	28 %	56 %	33 %	33 %
Total	33 %	67 %	50 %	50 %

Nota: n: número de artigos. PCR: reação da polimerase em cadeia; PF: Ponto final; TR: Tempo Real; RVS: resposta virológica sustentada. Análise estatística: Teste Exato de Fischer ($P = 1,000$). (*) Sabato et al., 2007.

DISCUSSÃO

A detecção e quantificação do RNA do HCV é o parâmetro chave para o monitoramento da hepatite C aguda e crônica. Diferentes métodos têm sido desenvolvidos para se fazer esta mensuração, e devem possuir alta sensibilidade, especificidade e amplo range de detecção.^(7,15) A alta sensibilidade é um quesito relevante para detectar baixos números de cópias de HCV-RNA no monitoramento da terapia antiviral, contribuindo na predição da resposta virológica sustentada ou falha do tratamento.⁽¹⁵⁾ Nestes quesitos, a PCR-TR tem sido a tecnologia mais indicada e de escolha por apresentar o menor limite de detecção e a maior faixa de linearidade para quantificação de carga viral.⁽⁷⁾ Apesar do bom desempenho analítico da PCR-TR, neste método apenas o teste CAP/CTM, da Roche, foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA, EUA), para detecção e quantificação do HCV-RNA.⁽²¹⁾

As tecnologias mais recentes, como PCR-TR, são confiáveis por apresentarem sensibilidade e especificidade clínica acima de 95%, permitindo a detecção do vírus mesmo quando a viremia é flutuante, o que no passado era classificado como relapsos, pois o vírus não era detectado.⁽⁴⁾ Segundo o *National Institutes of Health* dos EUA⁽²²⁾ e o FDA dos EUA, a sensibilidade analítica dos testes deve ser de

50 UI/mL e 50 a 100 UI/mL, respectivamente, para detecção de mais de 95% dos casos.⁽¹³⁾ Ainda segundo Sabato e colaboradores,⁽¹⁵⁾ um método com sensibilidade adequada deve detectar números de cópias inferiores a 50 UI/mL, como foi o do PCR-TR (CAP/CTM, Roche) encontrado neste estudo (11,2 UI/mL).

O método de PCR-PF mais utilizado, de acordo com as citações dos artigos estudados, é o Cobas Amplicor HCV Monitor v2.0 (Roche). Porém, como citado anteriormente, seu limite de detecção estipulado pelo fabricante (600 UI/mL) e observado neste trabalho (média 460 UI/mL) está inadequada para o monitoramento terapêutico por estar acima do valor ideal de 50 UI/mL-100 UI/mL. Por outro lado, embora o LD do bDNA tenha sido similar ao da PCR-TR, a mediana de LD encontrada neste estudo (151,5 UI/mL) está muito acima do limite de detecção "ideal". O valor de LD do bDNA estipulado pelo fabricante (615 UI/mL) (Versant HCV RNA, versão 3.0) também está inadequado para o monitoramento terapêutico. Alguns autores relataram que não realizaram os testes de limite de detecção para o bDNA, devido ao alto valor já esperado.^(9,23)

O limite de detecção é um quesito mais importante em testes qualitativos (sensibilidade para a detecção do vírus), enquanto que a faixa de linearidade é mais importante para os testes quantitativos (por exemplo, monitoramento da carga viral). Majid e Gretch⁽²⁴⁾ citaram que os métodos bDNA (Siemens), PCR-PF (Roche) e PCR-TR (Roche) são mais usados em testes quantitativos. Embora o método NASBA não tenha sido incluído na análise estatística devido ao baixo número de trabalhos encontrados, no período estudado, a sensibilidade analítica relatada (150 UI/mL-153 UI/mL) parece boa comparada aos resultados encontrados para o método bDNA (596 UI/mL-1000 UI/mL), embora não tenha sido possível comparar esses dados por testes estatísticos.

A ampla faixa de linearidade para a PCR-TR (16 a 1×10^7 UI/mL) é também um parâmetro desejável na detecção e quantificação do HCV-RNA⁽²⁵⁾ por permitir a detecção de baixos valores de carga viral ao final do tratamento ou na doença aguda, e por não requerer diluição de amostras e reanálises para altas cargas virais devido ao maior limite máximo de quantificação em comparação com os outros métodos moleculares.⁽¹⁵⁾

A PCR-PF e o bDNA apresentaram faixa de linearidade similar e limite máximo menor que a da PCR-TR, na ordem de dez vezes. Vale lembrar que todos os testes comercializados são calibrados frente ao padrão OMS, e que há gerações diferentes desses padrões, o que pode interferir nos resultados dependendo de quando foram padronizados para a comercialização.⁽⁹⁾ As primeiras versões dos testes comerciais, como o bDNA (Siemens) e PCR-PF (Roche) apresentavam unidades de carga viral diferentes que não permitiam a comparabilidade dos resultados. A com-

paração somente foi possível após a introdução da padronização de unidades pela OMS em UI/mL.⁽²⁶⁾

Em relação ao valor máximo de linearidade, outra desvantagem da PCR-PF é que amostras com valores superiores a 8×10^6 UI/mL (informação fabricante) e 6×10^6 UI/mL (valor encontrado neste estudo) precisam ser diluídas e reanalisadas.⁽¹⁵⁾ Esses procedimentos podem ser evitados pelo uso do PCR-TR, que tem limite máximo de linearidade até $6,9 \times 10^7$ UI/mL, como observado neste estudo. Assim, a PCR-TR combina tanto alta especificidade analítica quanto ampla faixa de detecção.

O coeficiente de variação não diferiu entre os métodos estudados, o que indica que apresentam boa reprodutibilidade. Porém, cinco trabalhos analisados neste estudo relataram CV superiores a 5% para PCR-PF,⁽²⁷⁾ PCR-TR^(15,17) e bDNA.^(4,28) Segundo a Resolução nº 899 da Anvisa,⁽²⁹⁾ o valor máximo de CV aceitável deve ser definido de acordo com o método empregado, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5%.

Os valores de CV maiores observados em alguns artigos podem ser devido à influência de vários fatores, como: número de repetições, genótipo do HCV, tipo de equipamento, tipo de amostra (soro ou plasma), entre outros^(17,28) e por isso foram excluídos da análise estatística.

Algumas desvantagens observadas na primeira geração de testes PCR como extração manual de amostras e consequente contaminação (abertura manual dos frascos), subestimação de certos genótipos, falta de padronização em UI/mL e outras foram resolvidas na segunda geração dos testes.⁽⁶⁾

A mediana da especificidade de todos os métodos foi alta (97% a 100%) e similar entre os métodos. Foi sugerido que a especificidade não atinge 100% nos testes moleculares para o HCV-RNA devido a baixos valores de carga viral (abaixo do LD preconizado) que podem não ser detectados por PCR-PF ou bDNA, mas são positivos por PCR-TR, que tem menor LD.⁽⁶⁾ Beld e colaboradores⁽²⁸⁾ também citaram que amostras com baixa carga viral podem interferir na análise da especificidade quando estão abaixo do LD preconizado.

A especificidade pode ainda variar entre genótipos, sendo maior para o genótipo 4 em relação aos demais genótipos.⁽⁹⁾ Por outro lado, foi relatado que para testes de PCR-TR de diferentes fabricantes (Abbott, Roche) e que utilizam volumes diferentes de amostra podem apresentar a mesma especificidade.⁽¹⁵⁾

O parâmetro exatidão não foi avaliado neste estudo porque, nos artigos avaliados, os autores descreveram dados de diferença de carga viral absoluta entre métodos utilizando amostras ou painéis comerciais, não sendo utilizado um valor de referência ou "valor esperado". Alguns autores encontraram diferenças significativas de carga viral

entre alguns métodos. Sarrazini e colaboradores⁽⁷⁾ demonstraram que a mensuração pelo CAP/CTM, Roche (PCR-TR) é $0,4 \log_{10}$ UI/mL abaixo do painel comercial AcroMetrix®. Para Vermeheren e colaboradores,⁽⁹⁾ amostras de HCV-RNA de todos os genótipos apresentaram diferenças mínimas ($0,3 \log_{10}$ UI/mL) por PCR-TR e bDNA, sem diferença significativa. Pittaluga e cols⁽²⁵⁾ analisaram amostras de pacientes em terapia antiviral e verificaram resultados similares entre PCR-RT e bDNA para amostras com carga viral média (4 a $6 \log_{10}$ UI/mL), enquanto que, para valores de carga viral inferiores ou superiores, a PCR-TR apresentou melhores resultados (em relação ao valor esperado).

Pela análise dos dados de coeficiente de correlação da carga viral, verificou-se alta correlação entre os métodos moleculares, com exceção do estudo de Vermeheren e cols,⁽⁹⁾ que citaram valor de r de $0,2$ entre bDNA e PCR-TR, e o autor comenta que pode estar associado a uma superestimação de valores do teste CAP/CTM (PCR-TR) e ao baixo número de amostras.

As diferenças de carga viral entre a PCR-PF e PCR-TR não são influenciadas pelo genótipo do HCV, provavelmente pela menor faixa de linearidade que a PCR-PF pode apresentar, já que o CV observado nos estudos é similar entre os dois métodos. Como esperado, as diferenças de carga viral entre diferentes kits/fabricantes de PCR-TR foram similares para os genótipos 1, 3 e 4 e significativamente menores para o genótipo 2. Esses resultados são sugestivos que a comparabilidade de resultados de carga viral é maior para o genótipo 2, enquanto que para os demais genótipos não há diferenças significativas de carga viral entre os dois métodos de PCR.

Alguns autores citam que os métodos PCR subestimam os valores de carga viral para os genótipos 2, 3 e 4, fornecendo valores não confiáveis, e sugerem que mais estudos utilizando amostras com estes genótipos sejam realizados.^(9,15,17,25) Atualmente, os testes comerciais de PCR-TR (HPS/CTM, Roche) já possuem uma versão 2, apropriada para mensuração dos genótipos 2 e 3, somando-se ao 1 e 6 da primeira versão.⁽¹⁷⁾

Neste estudo não se observaram diferenças de dados sobre RVS para os diferentes genótipos entre os dois métodos de PCR analisados (PCR-PF e PCR-TR). Esses resultados são sugestivos de que não há influência na RVS observada mensurada por PCR-PF ou PCR-TR, o que é desejável considerando a importância desses métodos no monitoramento terapêutico e possivelmente na predição da resposta farmacológica.

Dentre os trabalhos analisados neste estudo, nenhum comparou o desempenho analítico dos testes moleculares para mensurar a RVS. Portanto, mais estudos são necessários para se avaliar esta variável importante no monitoramento da terapia farmacológica da hepatite C.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste estudo, conclui-se que a PCR-TR é um método sensível e preciso e apresenta a maior faixa de quantificação para o HCV-RNA, em pacientes infectados com genótipos de 1 a 6 do vírus. Portanto, este método parece ser o mais indicado para a detecção e quantificação do HCV-RNA e para o monitoramento da carga viral durante a farmacoterapia. Neste estudo, pela primeira vez foi avaliada a influência do tipo de teste molecular, considerando suas características analíticas e a resposta virológica sustentada, entretanto, mais estudos são necessários para avaliar a relevância destes achados

Abstract

Hepatitis C virus RNA (HCV-RNA) is detected by molecular methods that are also useful for genotyping and viral load measurements. We have evaluated the analytical parameters, and viral load and sustained viral response (SVR) data of HCV-RNA molecular methods. Analytical precision and specificity were similar among the end-point PCR, real-time PCR and branched DNA (bDNA) ($p > 0.05$). On the other hand, real-time PCR showed higher sensibility and linear range compared with end-point PCR and bDNA ($p < 0.05$). The correlation coefficients of the HCV viral load did not differ, suggesting a good correlation among these methods. Variations in viral load among HCV genotypes were similar for end-point PCR ($p = 0.790$) but different for real-time PCR that showed the lowest variation value for genotype 2 ($p < 0.05$). SVR for genotypes 2 and 3 (>80%) and 1 and 4 (>40%) was similar between the two PCR methods. In conclusion, real-time PCR seems to be more suitable for detection and quantification of HCV-RNA in clinical samples.

Keywords

Hepatitis C; HCV-RNA; PCR; bDNA; viral load; genotype, molecular method

REFERÊNCIAS

- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton, M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. 1989;244:359-362.
- WHO, World Health Organization. Disponível: www.who.int. Acesso em 03 de Jul, 2009.
- CDC Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em www.cdc.gov. Acesso em 04 de Jul. 2009.
- Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. Acute hepatitis C. Lancet. 2008 Jul 26;372(9635):321-32.
- Fung J, Lai CL, Hung I, Young J, Cheng C, Wong D, et al. Chronic hepatitis C virus genotype 6 infection: Response to pegylated interferon and ribavirin. J Infect Dis. 2008 Sep 15;198(6):808-12.
- Sarrazin C, Dragan A, Gärtner BC, Forman MS, Traver S, Zeuzem S, et al. Evaluation of an automated, highly sensitive, real-time PCR-based assay (Cobas AmpliPrep/ Cobas TaqMan) for quantification of HCV RNA. J Clin Virol. 2008 Oct;43(2):162-8.
- Sarrazin C, Gärtner BC, Sizmman D, Babel R, Mihm U, Hofmann WP, et al. Comparison of conventional PCR with real-time PCR and branched DNA-based assays for hepatitis C virus RNA quantification and clinical significance for genotypes 1 to 5. J Clin Microbiol. 2006 Mar;44(3):729-37.
- Schutten M. Comparison of the Abbott Realtime HIV-1 and HCV viral load assays with commercial competitor assays. Expert Rev Mol Diagn. 2008 Jul;8(4):369-77.
- Vermeiren J, Kau A, Gärtner BC, Göbel R, Zeuzem S, Sarrazin C. Differences between two real-time PCR-based hepatitis C virus (HCV) assays (RealTime HCV and Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan) and one signal amplification assay (Versant HCV RNA 3.0) for RNA detection and quantification. J Clin Microbiol. 2008 Dec;46(12):3880-91.
- Panel Assessoria e Controle de Qualidade. Disponível em <http://www.panel.com.br/home.htm>. Acesso em 18 de Fev, 2009.
- Webster DP, Klenerman P, Collier J, Jeffery KJ. Development of novel treatments for hepatitis C. Lancet Infect Dis. 2009 Feb;9(2):108-17.
- Westgard QC. Disponível em www.westgard.com. Acesso em 04 de Ago, 2009.
- Guichón A, Chiparelli H, Martínez A, Rodríguez C, Trento A, Russi JC, et al. Evaluation of a new NASBA assay for the qualitative detection of hepatitis C virus based on the NucliSens Basic Kit reagents. J Clin Virol. 2004 Feb;29(2):84-91.
- Forman MS, Valsamakis A. Performance characteristics of a quantitative hepatitis C virus RNA assay using COBAS AmpliPrep total nucleic acid isolation and COBAS taqman hepatitis C virus analyte-specific reagent. J Mol Diagn. 2008 Mar;10(2):147-53.
- Sábato MF, Shiffman ML, Langley MR, Wilkinson DS, Ferreira-Gonzalez A. Comparison of performance characteristics of three Real-Time Reverse Transcription-PCR test systems for detection and quantification of hepatitis C virus. J Clin Microbiol. 2007 Aug;45(8):2529-36.
- Domíati-Saad R, Scheuermann RH. Nucleic acid testing for viral burden and viral genotyping. Clin Chim Acta. 2006 Jan;363(1-2):197-205.
- Colucci G, Ferguson J, Harkleroad C, Lee S, Romo D, Soviero S, et al. Improved COBAS TaqMan hepatitis C virus test (Version 2.0) for use with the High Pure system: enhanced genotype inclusivity and performance characteristics in a multisite study. J Clin Microbiol. 2007 Nov;45(11):3595-600.
- Motta VT, Correa JA, Motta LR. A Gestão da Qualidade no Laboratório Clínico. 2a ed. Porto Alegre, Editora Médica Missau, 2001, 244p.
- Angerami RN, Gonçalves Júnior FL. Therapeutic approach to acute hepatitis C. Braz J Infect Dis. 2007 Dec;11(6):535-9.
- Wong T, Lee SS. Hepatitis C: a review for primary care physicians. CMAJ. 2006 Feb 28;174(5):649-59. Erratum in CMAJ. 2006 May 9;174(10):1450.
- Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Castéra L, Pawlotsky JM. The Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan real-time polymerase chain reaction assay fails to detect hepatitis C virus RNA in highly viremic genotype 4 clinical samples. Hepatology. 2009 Apr;49(4):1397-8.
- NIH Consensus Development Conference Statement, 2002. Management of Hepatitis C: 2002. Disponível em http://consensus.nih.gov/cons/116/116cdc_intro.htm. Acesso em 11 de Mai, 2009.
- Caliendo AM, Valsamakis A, Zhou Y, Yen-Lieberman B, Andersen J, Young S, et al. Multilaboratory comparison of hepatitis C virus viral load assays. J Clin Microbiol. 2006 May;44(5):1726-32.
- Majid AM, Gretch DR. Current and future hepatitis C virus diagnostic testing: problems and advancements. Microbes Infect. 2002 Oct;4(12):1227-36.
- Pittaluga, F.; Allice, T.; Abate, M.L.; Ciancio, A.; Cerutti, F.; Varetto, S.; Colucci, G.; Smedile, A.; Ghisetti, V. Clinical evaluation of the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan for HCV RNA quantitation in comparison with the branched-DNA assay. J Med Virol. 2008 Feb;80(2):254-60.
- Leckie G, Schneider G, Abravaya K, Hoenle R, Johanson J, Lampinen J, et al. Performance attributes of the LCx® HCV RNA quantitative assay. J Virol Methods. 2004 Feb;115(2):207-15.
- Lunel F, Cresta P, Vitour D, Payan C, Dumont B, Frangeul L, et al. Comparative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and monitor assays. Hepatology. 1999 Feb;29(2):528-35.

28. Beld M, Sentjens R, Rebers S, Weegink C, Weel J, Sol C, et al. Performance of the New Bayer VERSANT HCV RNA 3.0 assay for quantitation of hepatitis C virus RNA in plasma and serum: conversion to international units and comparison with the Roche COBAS AmpliCor HCV Monitor, Version 2.0, assay. *J Clin Microbiol*. 2002 Mar;40(3):788-93.
29. Anvisa, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução RE n. 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word>. Acesso em 02 de Ago. 2009.
30. Matsuura K, Tanaka Y, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, Kurbanov F, et al. Abbott RealTime hepatitis C virus (HCV) and Roche Cobas AmpliPrep/ Cobas TaqMan HCV assays for prediction of sustained virological response to pegylated interferon and ribavirin in chronic hepatitis C patients. *J Clin Microbiol*. 2009 Feb;47(2):385-9.
31. Weiland O, Hollander A, Mattsson L, Glaumann H, Lindahl K, Schvarcz R, et al. Lower-than-standard dose peg-IFN alfa-2a for chronic hepatitis C caused by genotype 2 and 3 is sufficient when given in combination with weight-based ribavirin. *J Viral Hepat*. 2008 Sep;15(9):641-5.
32. Lagging M, Langeland N, Pedersen C, Färkkilä M, Buhl MR, Mørch K, et al; NORDynamiC Study Group. Randomized Comparison of 12 or 24 weeks of peginterferon alpha-2a and ribavirin in Chronic Hepatitis C Virus Genotype 2/3 Infection. *Hepatology*. 2008 Jun;47(6):1837-45.
33. Broers B, Helbling B, François A, Schmid P, Chuard C, Hadengue A, et al; Swiss Association for the Study of the Liver (SASL 18). Barriers to interferon-a therapy are higher in intravenous drug users than in other patients with acute hepatitis C. *J Hepatol*. 2005 Mar;42(3):323-8.
34. Kamal SM, Moustafa KN, Chen J, Fehr J, Abdel Moneim A, Khalifa KE, et al. Duration of peginterferon therapy in acute hepatitis C: a randomized trial. *Hepatology*. 2006 May;43(5):923-31.
35. Arase Y, Suzuki F, Sezaki H, Kawamura Y, Suzuki Y, Kobayashi M, et al. Efficacy in patients with dose reduction in combination therapy of peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Intervirology*. 2008;51(1):1-6.
36. Ferraro D, Giglio M, Bonura C, Di Marco V, Mondelli MU, Craxi A, et al. Assessment of hepatitis C virus-RNA clearance under combination therapy for hepatitis C virus genotype 1: performance of the transcription-mediated amplification assay. *J Viral Hepat*. 2008 Jan;15(1):66-70.
37. Kim TH, Kim KA, Lim YS, Gwak GY, Yoon JH, Kang GH, et al. Prediction of treatment outcome in chronic hepatitis C patients based on early viral dynamics during high-dose induction interferon and ribavirin therapy. *Intervirology*. 2005;48(4):230-8.
38. Zeuzem S, Diago M, Gane E, Reddy KR, Pockros P, Prati D, et al.; Pegasys Study NR16071 Investigator Group. Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology*. 2004 Dec;127(6):1724-32.
39. Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, et al. A matched case-controlled study of 48 and 72 weeks of peginterferon plus ribavirin combination therapy in patients infected with HCV genotype 1b in Japan: amino acid substitutions in HCV core region as predictor of sustained virological response. *J Med Virol*. 2009 Mar;81(3):452-8.
40. Kwon JH, Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Byun KS, Paik SW, et al. Assessment of the efficacy of reducing peginterferon alfa-2a and ribavirin dose on virologic response in Koreans with chronic hepatitis C. *Korean J Intern Med*. 2009 Sep;24(3):203-11.
41. Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, et al; AIDS Clinical Trials Group A5071 Study Team. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med*. 2004 Jul 29;351(5):451-9.
42. Santantonio T, Fasano M, Sinisi E, Guastadisegni A, Casalino C, Mazzola M, et al. Efficacy of a 24-week course of PEG-interferon a-2b monotherapy in patients with acute hepatitis C after failure of spontaneous clearance. *J Hepatol*. 2005 Mar;42(3):329-33.
43. Derbala MF, El Dweik NZ, Al Kaabi SR, Al-Marri AD, Pasic F, Bener AB, et al. Viral kinetic of HCV genotype-4 during pegylated interferon alpha 2a: ribavirin therapy. *J Viral Hepat*. 2008 Aug;15(8):591-9.

Correspondência

Rosario Dominguez Crespo Hirata

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 B.17

05508-900, Sao Paulo - SP, Brasil

Tel.: (011) 3091-3660

Fax: (011) 3813-2197

e-mail: rosariohirata@usp.br

Avaliação da peroxidação lipídica e das enzimas marcadoras de danos hepáticos em camundongos submetidos ao estresse alcoólico

Evaluation of lipid peroxidation and enzymatic markers of liver in mice subjected to alcoholic stress

Neuza Félix Gomes-Rochette¹

Camila Freitas Bezerra¹

Andresiane Sousa da Silva¹

Caroline Nunes de Almada¹

Ana Cláudia Marinho da Silva²

Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro³

Erika Freitas Mota⁴

Dirce Fernandes de Melo¹

Resumo

O consumo excessivo de etanol é uma das principais causas de doenças hepáticas em todo o mundo e tornou-se um problema social. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar o perfil cinético da peroxidação lipídica e das enzimas marcadoras de danos hepáticos em camundongos submetidos a estresse alcoólico. Foram utilizados cinquenta camundongos Swiss machos, correspondendo a cinco grupos (n=10/grupo), pesando entre 27-30 g. Para avaliar as alterações hepáticas foram realizadas as dosagens da atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e o conteúdo de malondialdeído (MDA) em fígados de camundongos. A cinética da peroxidação lipídica mostrou um aumento significativo dos valores de MDA nos animais submetidos ao estresse alcoólico, já na primeira hora, atingindo um pico máximo na terceira hora (p<0,05). O perfil cinético das enzimas ALT, AST e LDH revelou que as atividades mais elevadas foram alcançadas seis horas após ingestão da dose aguda de etanol. O aumento da peroxidação lipídica, após administração aguda do etanol, caracterizou o início do dano hepatocelular, seguido do aumento dos marcadores de hepatotoxicidade no soro. Esses dados fornecem uma base científica para os estudos de doenças induzidas ou agravadas pelo álcool, pois contribuem na análise correta dos resultados de exames

Palavras-chave

Etanol; hepatotoxicidade; peroxidação lipídica; aminotransferases

INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (EROs) e os antioxidantes, com predomínio das EROs⁽¹⁾ e tem sido sugerido como causa do envelhecimento e de várias doenças humanas.^(2,3) As EROs são produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos e também por fontes exógenas.⁽⁴⁾

O metabolismo do etanol é responsável pela produção elevada de EROS com um conseqüente aumento do estresse oxidativo, sendo responsável pela peroxidação lipídica e injúrias no fígado.⁽⁵⁻⁷⁾ Estudos mostraram que doses agudas de etanol foram capazes de elevar os níveis de MDA no plasma, fígado e cérebro de ratos e de camundon-

gos.⁽⁸⁻¹⁰⁾ O fígado é particularmente susceptível aos danos provocados pelo etanol, pois é o principal local de metabolização desta substância no organismo.⁽⁸⁾ O etanol, por ser uma molécula pequena e solúvel nos meios aquoso e lipídico, pode atingir todos os tecidos do organismo e induzir peroxidação lipídica devido a maior produção de espécies reativas de oxigênio e/ou diminuição dos níveis dos antioxidantes endógenos.^(11,12)

As doenças hepáticas são consideradas um dos maiores problemas de saúde, pois alteram o metabolismo do organismo, uma vez que o fígado apresenta diversas funções, dentre essas a detoxicação e deposição de substâncias endógenas e exógenas.⁽¹³⁾ As enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e lactato desidrogenase (LDH) apresentam aumento de suas ativi-

¹Universidade Federal do Ceará, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Campus do Pici – Fortaleza-CE, Brasil.

²Faculdade Católica do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil.

³Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Campus do Itaperi – Fortaleza-CE, Brasil.

⁴Universidade Federal do Ceará, Departamento de Biologia, Campus do Pici – Fortaleza-CE, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil.

Recebido em 08/07/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

dades no soro em situações de toxicidade e lesões no fígado, sendo consideradas como biomarcadores de hepatotoxicidade,⁽⁵⁾ bem como a peroxidação lipídica.⁽¹⁴⁾

Diante da importância do estresse oxidativo na indução e/ou agravamento de várias doenças crônicas, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o perfil cinético das enzimas ALT, AST e LDH e da peroxidação lipídica em camundongos submetidos a estresse alcoólico.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e dietas

Foram utilizados cinquenta camundongos Swiss machos, com nove semanas, pesando entre 27g-30 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Ceará (CEPA-UFC), ofício número 45/08. Os animais foram mantidos sob regime alimentar conveniente e água *ad libitum* e divididos em cinco grupos (n=10/grupo):

- *Controle*: animais que receberam, por via intragástrica (i.g.), água (100 µL) e, após uma hora, o sangue e o fígado foram coletados para análises posteriores.

- *Etanol 1 h*: Animais que receberam, por via i.g., dose aguda de etanol (5 g/Kg de peso) e, após uma hora, o sangue e o fígado foram coletados para análises posteriores.

- *Etanol 3 h*: Animais que receberam, por via i.g., dose aguda de etanol (5 g/Kg de peso) e, após três horas, o sangue e o fígado foram coletados para análises posteriores.

- *Etanol 6 h*: Animais que receberam, por via i.g., dose aguda de etanol (5 g/Kg de peso) e, após seis horas, o sangue e o fígado foram coletados para análises posteriores.

- *Etanol 9 h*: Animais que receberam, por via i.g., dose aguda de etanol (5 g/Kg de peso) e após nove horas, o sangue e o fígado foram coletados para análises posteriores.

Antes de cada experimento os animais foram mantidos em jejum por dezoito horas recebendo água à vontade.

Marcadores enzimáticos séricos de hepatotoxicidade

Foram medidas as atividades das enzimas AST, ALT e LDH. As amostras de sangue foram coletadas por punção no plexo retro-orbital dos camundongos com pipetas Pasteur antes de se iniciarem os tratamentos, uma, três, seis e nove horas após dose aguda de etanol. Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 5.000 g, por dez minutos, para obtenção do soro.

As atividades séricas das referidas enzimas foram determinadas pelo método cinético enzimático, em equipamento de automação (BT 3000 Plus), utilizando-se kits comerciais (Wiener Lab®, Rosário, Argentina). Os resultados foram expressos em unidades internacionais (U/L).

Peroxidação lipídica

Após as coletas das amostras de sangue, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e os fígados foram removidos para posterior análise da peroxidação lipídica, determinada segundo o método descrito por Ohkawa et al.⁽¹⁵⁾ Esse método avalia o estresse oxidativo pela medida do malondialdeído (MDA), que é o último produto da quebra dos lipídios causada pelo estresse oxidativo.

A peroxidação lipídica foi avaliada espectrofotometricamente (532 nm) através da produção de MDA. A concentração de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos foi expressa em nmol de MDA por g de fígado.

Análise estatística

Os resultados das dosagens séricas das enzimas ALT, AST e LDH e de MDA nos hepatócitos foram expressos como média e erro padrão e analisados por ANOVA seguido do teste Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Os resultados da cinética de peroxidação lipídica dos hepatócitos de camundongos machos, analisados em diferentes tempos, estão representados na Figura 1. Observou-se que o etanol induziu aumento na peroxidação lipídica variável em função do tempo. Houve um aumento significativo dos valores de MDA quando comparados com os animais que não receberam etanol, já na primeira hora, atingindo um pico máximo na terceira hora ($p < 0,05$), em de torno de 166%. Observou-se diminuição desses valores a partir de seis horas.

A dose aguda de etanol elevou a atividade da ALT, AST e LDH de maneira tempo-dependente como mostrado nas

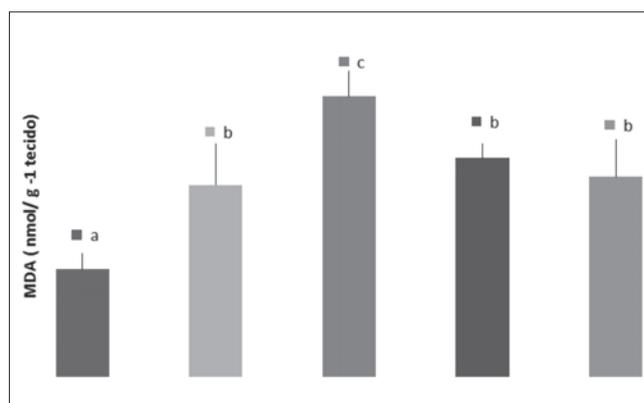


Figura 1. Cinética da lipoperoxidação em hepatócitos de camundongos tratados ou não com dose aguda de etanol (5g/Kg). A formação de malondialdeído (MDA) foi determinada em homogenatos de fígados no grupo controle (sem ingestão de etanol) e uma, três, seis e nove horas após ingestão aguda de etanol. Letras diferentes diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). Os dados são expressos como média \pm EP (erro padrão da média).

Figuras 2, 3 e 4. Para a atividade de ALT, os resultados mostraram que somente seis horas após a administração do etanol houve alteração na atividade sérica da enzima, quando comparado com o grupo que não recebeu etanol, com aumento de 98,3% ($p < 0,05$) (Figura 2). Como pode ser observado na Figura 3, um perfil semelhante foi encontrado para AST. Somente após seis horas da administração do etanol, evidenciou-se aumento significativo na atividade da AST dos animais tratados com dose aguda de etanol, com elevação de 58,5% ($p < 0,05$). O aumento da atividade da LDH foi verificado na terceira hora, entretanto, a elevação máxima, em torno de 179,6%, ocorreu seis horas após a ingestão da dose aguda de etanol ($p < 0,05$). O perfil cinético dessas enzimas revelou que os valores mais elevados das atividades enzimáticas foram alcançados após seis horas da ingestão do álcool.

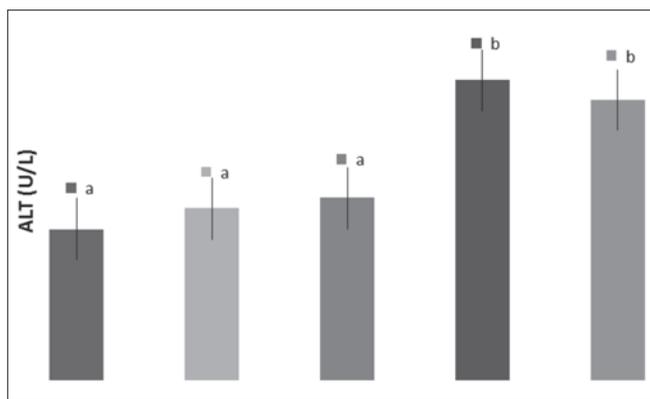


Figura 2: Cinética da atividade da ALT em soro de camundongos tratados ou não com dose aguda de etanol (5g/Kg). Níveis séricos da enzima alanina aminotransferase (ALT) no grupo controle e uma, três, seis e nove horas após ingestão aguda de etanol. Letras diferentes diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). Os dados são expressos como média \pm EP.

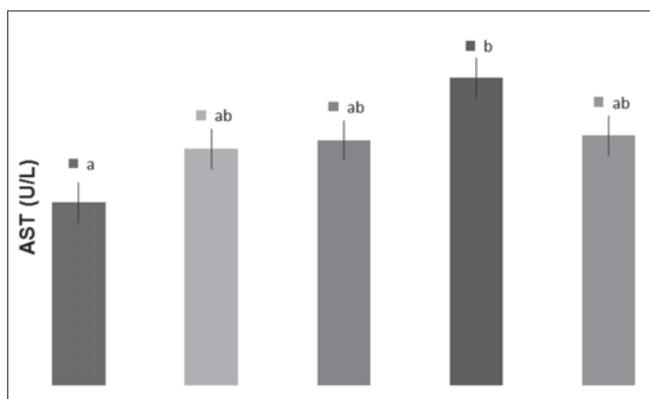


Figura 3: Cinética da atividade da AST em soro de camundongos tratados ou não com dose aguda de etanol (5g/Kg). Níveis séricos da enzima aspartato aminotransferase (AST) no grupo controle e uma, três, seis e nove horas após ingestão aguda de etanol. Letras diferentes diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). Os dados são expressos como média \pm EP.

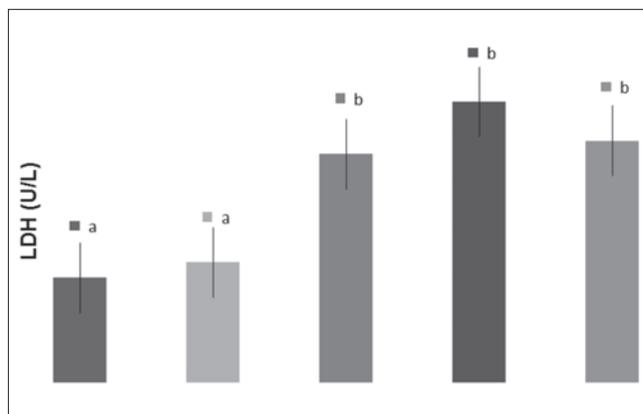


Figura 4: Cinética da atividade da LDH em soro de camundongos tratados ou não com dose aguda de etanol (5g/Kg). Níveis séricos da enzima lactato desidrogenase (LDH) no grupo controle e uma, três, seis e nove horas após ingestão aguda de etanol. Letras diferentes diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). Os dados são expressos como média \pm EP.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Embora a patogênese causada pela ingestão excessiva de etanol não seja totalmente conhecida, muitos dos efeitos tóxicos no fígado têm sido atribuídos ao estresse oxidativo.⁽¹⁶⁾ Lesões causadas por radicais livres têm sido associadas com a patogênese e a progressão das doenças hepáticas causadas pela ingestão do álcool.⁽¹⁰⁾

Neste experimento, a cinética de peroxidação lipídica revelou as maiores quantidades de MDA nas primeiras horas após ingestão do etanol. A produção de MDA é um dos produtos da peroxidação lipídica e tem sido considerada como marcador de estresse oxidativo.⁽¹⁴⁾ Em relação às atividades das enzimas séricas ALT, AST e LDH, nossos resultados demonstraram que camundongos submetidos a estresse alcoólico agudo apresentaram um perfil cinético semelhante para esses biomarcadores com as maiores atividades registradas após seis horas de ingestão do etanol. Nossos dados corroboram com outros autores que mostraram que a ingestão aguda de etanol causa alterações nas atividades das enzimas LDH, AST e ALT^(10,17,18) e reforçam que a peroxidação lipídica é um dos mecanismos de dano tecidual provocado pelo álcool. Nossos resultados mostraram um perfil cinético das enzimas LDH, AST e ALT em camundongos diferente do relatado por Branco et al.,⁽¹⁹⁾ que revelam valores superiores aos encontrados em nosso trabalho. Por outro lado, nossos resultados concordam com os apresentados por Pereira et al.⁽¹⁶⁾ para a atividade da AST. Ademais, as atividades das enzimas AST e ALT encontram-se dentro do intervalo de referência citado na literatura.⁽²⁰⁾

Convém salientar que, embora cada espécie animal possua seus próprios mecanismos de controle no tocante aos parâmetros fisiológicos, é necessário que as condi-

ções ambientais bem como as características vigentes daquele grupo de animais, objeto de estudo, sejam consideradas, uma vez que variações podem acontecer decorrentes desses fatores.⁽²¹⁾ A divergência nos valores das atividades enzimáticas deve retratar as peculiaridades dos grupos de animais em resposta às condições a que foram submetidos. Daí a importância fundamental do estabelecimento do grupo controle para avaliação de parâmetros fisiológicos que não dependem apenas do patrimônio genético dos animais, mas também das condições ambientais que induzem alterações desses parâmetros devido à autorregulação da engrenagem metabólica.

Portanto, nas nossas condições, o tempo ideal para análise das enzimas marcadoras de danos hepáticos é de seis horas após a ingestão do álcool e, para a lipoperoxidação, após uma hora. O aumento da peroxidação lipídica, após administração aguda do etanol, caracteriza o início do dano hepatocelular, seguido do aumento dos marcadores de hepatotoxicidade no soro. Sugere-se que esses dados sejam utilizados como parâmetros para os estudos de doenças induzidas ou agravadas pelo álcool, pois contribuem na análise correta dos resultados de exames.

Agradecimentos

Ao CNPq, Capes e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) pelo financiamento deste projeto.

Considerações Éticas

O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animal (CEPA) da UFC (ofício no 45/08) e os animais foram manipulados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro e Experimentação Animal (COBEA).

Abstract

Alcohol abuse is one of the main causes of liver disease worldwide and has become a social problem. The aim of this study was to characterize the kinetic profile of lipid peroxidation and enzymatic markers of liver damage in mice subjected to alcoholic stress. Male Swiss mice (n=10 mice/group), weighing 27-30 g, were used. The parameters of the serum activity of enzymes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and malondialdehyde (MDA) content in liver of mice were determined to address the alterations of liver damage. The kinetics of lipid peroxidation showed a significant increase in MDA values in animals subjected to alcoholic stress, within the first hour, reaching a peak in the third hour (p < 0.05). The kinetic profile of the enzymes ALT, AST and LDH showed that higher activities were reached six hours after ingestion of the acute dose of ethanol. Increased lipid peroxidation after acute administration of ethanol, characterized the beginning of hepatocellular injury, followed by the increase in serum markers of hepatotoxicity. These data provides a scientific basis for studies of diseases induced or aggravated by alcohol, which contribute to the correct analysis of test results.

Keywords

Ethanol; hepatotoxicity; lipid peroxidation; aminotransferases

REFERÊNCIAS

1. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova*. 2007;30:1323-38.
2. Dlasková A, Hlavatá L, Jezek P. Oxidative stress caused by blocking of mitochondrial complex I H⁺ pumping as a link in aging/disease vicious cycle. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40(9):1792-805.
3. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
4. Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010;59(4):459-69.
5. Yurt B, Celik I. Hepatoprotective effect and antioxidant role of sun, sulphited-dried apricot (*Prunus armeniaca* L.) and its kernel against ethanol-induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol*. 2011 Feb;49(2):508-13.
6. Wu D, Zhai Q, Shi X. Alcohol-induced oxidative stress and cell responses. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006 Oct;21 Suppl 3:S26-9.
7. Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Proc Nutr Soc*. 2006 Aug;65(3):278-90.
8. Balkan J, Dogru-Abbasoglu S, Cevikbas U, Aykaç-Toker G, Uysal M. Methionine supplementation did not augment oxidative stress, atherosclerotic changes and hepatotoxicity induced by high cholesterol diet in C57BL/6J mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2004 Aug; 50(4):258-64.
9. Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, et al. Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006 Jan;71(1):82-91.
10. Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüsslen AK, Liu L. Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2010 Mar;24(2):516-22.
11. Jordão AA Jr, Chiarello PG, Arantes MR, Meirelles MS, Vannucchi H. Effect of an acute dose of ethanol on lipid peroxidation on rats: action of vitamin E. *Food Chem Toxicol*. 2004 Mar;42(3):459-64.
12. Lieber CS. Alcoholic liver injury: pathogenesis and therapy in 2001. *Pathol Biol (Paris)*. 2001 Nov;49(9):738-52.
13. Sehrawat A, Khan TH, Prasad L, Sultana S. Butea monosperma and chemomodulation: protective role against thioacetamide-mediated hepatic alterations in Wistar rats. *Phytomedicine*. 2006 Feb;13(3):157-63.
14. Yener Z, Celik I, Ilhan F, Bal R. Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food Chem Toxicol*. 2009 Feb;47(2): 418-24.
15. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979 Jun;95(2):351-8.
16. Pereira BS, Nunes-Pinheiro DCS, Vasconcelos AKP, Pinheiro ADN, Rodrigues PA. Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia* Rev. bras. plantas med. [Internet]. 2010 Sep;12(3):311-316. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000300008&lng=en.
17. Choi JS, Yoon TJ, Kang KR, Lee KH, Kim WH, Suh YH, et al. Glycoprotein isolated from *Acanthopanax senticosus* protects against hepatotoxicity induced by acute and chronic alcohol treatment. *Biol Pharm Bull*. 2006 Feb;29(2):306-14. Erratum in *Biol Pharm Bull*. 2006 Jun;29(6):1304. Lee, Kyeong Ho [corrected to Lee, Keyong Ho].
18. Wang AL, Wang JP, Wang H, Chen YH, Zhao L, Wang LS, et al. A dual effect of N-acetylcysteine on acute ethanol-induced liver damage in mice. *Hepatol Res*. 2006 Mar;34(3):199-206.

19. Branco ACSC, Diniz MFFM, Almeida RN, Santos HB, Oliveira KM, Ramalho JA, Dantas JG. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de Ratos Wistar e Camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. Rev. Bras. Cienc. Saúde. 2011;15(2):209-14.
20. CCAC - Canadian Council on Animal Care, Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa, 1993, vol. I, 261 p.
21. Nunes DCS, Favali CBF, Souza-Filho AA, Silva ACM, Filgueiras TM, Lima MGS. Evaluation of cellular profile and main constituents the rat and mouse blood from the animal house of the Federal University of Ceará, Brazil. Rev. Med. UFC. 1994;34(1-2):21-29,

Correspondência

Dirce Fernandes de Melo

*Universidade Federal do Ceará, Departamento de Biologia
Av. Mister Hull 2297, Bloco 906, Campus do Pici
60440-554 – Fortaleza-CE, Brasil*

Avaliação do padrão histopatológico de teratomas diagnosticados em hospital público de Maceió no período de 2000 a 2007

Evaluation of teratoma histopathological standard diagnosed in Maceió public hospital in the period 2000 to 2007

João Paulo dos Santos¹

Elytânia Maria Neves da Costa²

Stephane do Nascimento Silva²

Jacinto Costa Silva Neto³

Romualdo Arthur Alencar Caldas⁴

Luiz Arthur Calheiros Leite⁵

Resumo

Os teratomas são neoplasias de células pluripotentes com características embrionárias observadas pela presença de tecidos oriundos das três camadas germinativas e por suas classificações em cístico maduro, imaturo e de componentes malignos. O objetivo do estudo foi avaliar o padrão histopatológico dos teratomas diagnosticados no Hospital Universitário da Universidade Federal de Alagoas no período de 2000 a 2007. Tratou-se de uma análise de 25 prontuários de pacientes com laudos histopatológicos de teratomas císticos benignos variando em suas localizações. Constatou-se uma frequência superior a 90% de tecidos maduros, ressaltando que os mesmos são formados por tecidos diferentes.

Palavras-chave

Teratoma; tumor; padrão; histológico

INTRODUÇÃO

Os teratomas são neoplasias originadas de células pluripotentes com características embrionárias que afetam, na maioria dos casos, indivíduos na idade adulta. A malignidade dos teratomas é baixa em criança menor que 4 meses de vida, porém, o risco de malignidade aumenta até dez vezes em crianças maiores que 5 anos.⁽¹⁾

Histopatologicamente, essas neoplasias são assinaladas pela presença de tecidos oriundos das três camadas germinativas. As três camadas germinativas, também chamadas embrionárias, podem conter vários tipos de tecidos, os quais são tecidos epiteliais, musculares, cartilagens e até dentes. São denominados de teratomas benignos quando apresenta um crescimento lento e assintomático por um longo período e com mínimo de sintomas, por isso geralmente passam despercebidos pelos pacientes e pelos próprios médicos.⁽²⁾

De acordo com a literatura, os teratomas são classificados em teratoma cístico maduro, teratoma imaturo e

teratoma com componentes malignos. Os teratomas cístico maduro são os tipos mais comuns de tumores de células germinativas, delimitados por uma parede fibrosa que adere às estruturas ao redor e pode tornar-se calcificada.⁽³⁾

Os teratomas ovarianos são os mais frequentes e geralmente estão compostos de tecidos maduros e derivados dos folhetos embrionários. A transformação maligna é infrequente. Porém, apesar de sua natureza benigna, complicações importantes foram relatadas em associação com estas lesões incluindo: torções, perfurações, peritonites, ruptura cística e invasão dos seus componentes para a bexiga, reto ou vagina. Ainda foi possível encontrar associação de teratomas com casos de anemia hemolítica.^(4,5)

O mais importante, entretanto, está na possibilidade de transformação maligna que ocorre em alguns casos. A maioria dos trabalhos relata uma taxa de transformação maligna de 1%-2%, mas alguns podem chegar até 4%, e ocorrem com maior frequência em mulheres menopausadas.⁽⁶⁾

A coexistência de dois tumores adjacentes, distintos histologicamente, em um mesmo órgão é denominada, por

¹Especializando em Hemoterapia e Imuno-hematologia, Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Federal de São Paulo, Unifesp - EPM - São Paulo-SP, Brasil.

²Biomédica. Graduada pelo Centro de Estudos Superiores de Maceió (Cesmac) - Maceió-AL, Brasil.

³Doutor em Ciências: Patologia, Departamento de Histologia e Embriologia, Disciplina de Citopatologia da Universidade Federal de Pernambuco - Recife-PE, Brasil

⁴Patologista do Hospital Universitário Federal de Alagoas - UFAL. Patologista do serviço de Óbito da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (Uncisal) - Maceió-AL, Brasil.

⁵Mestre em Ciências: Hematologia, Universidade Federal de São Paulo, Unifesp - EPM, Professor da Disciplina de Hematologia e coordenador da pós-graduação lato sensu em Hematologia, Cesmac - Maceió-AL, Brasil.

Instituição: Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - FCBS - Centro de Estudos Superiores de Maceió (Cesmac) - Maceió-AL, Brasil.

Recebido em 07/07/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

alguns autores, como tumores de colisão, onde ocorrem raros relatos da coexistência de tumores mucinosos com o teratoma maduro de ovário. A neoplasia maligna que mais se associa ao teratoma maduro é o carcinoma epidermoide, que representa cerca de 80% dos casos. No entanto, podem ocorrer adenocarcinoma, sarcoma, carcinoma indiferenciado, entre outros.⁽³⁾

Sabe-se que pacientes com teratoma benigno apresentam, em seu diagnóstico, marcadores tumorais negativos, porém, o tratamento se dá primeiramente por cirurgia e, em alguns casos, pela quimioterapia, sendo que a ressecção completa desses tumores apresenta um bom prognóstico.⁽⁷⁾

Portanto, diante do exposto, é importante conhecer o padrão histológico dos teratomas para com isso contribuir com possíveis campanhas de rastreamento precoce, critérios de classificação e conduta terapêutica.

O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão epidemiológico dos teratomas diagnosticados no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) em um período de sete anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS) em 08 de Outubro de 2008, protocolo nº 464/2008, estando ciente da Resolução 196/96 do CNS, visto que a pesquisa envolveu seres humanos, tratando-se de um estudo observacional transversal longitudinal.

Foram analisados 25 prontuários de pacientes com laudos histopatológicos de teratomas no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) no período de 2000 a 2007.

Os pacientes com laudos histopatológicos de teratoma tiveram suas fichas separadas para avaliação e coleta de dados referentes ao tamanho, localização, características celulares e presença de malignidade e/ou potencial de transformação maligna destas lesões.

Foram coletados dos prontuários os dados abaixo citados: idade, sexo, anatômico patológico. Exame macroscópico: local do tumor, dimensão; Exame microscópico: tecidos; conclusão.

Os dados obtidos foram analisados e sistematizados em figuras e tabelas, utilizando-se dos programas: Microsoft Office Excel 2003 Microsoft Office Word 2003.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período avaliado foram encontrados 25 casos com laudos histopatológicos de teratoma, sendo todos (100%) do sexo feminino; destes, 84% (n=21) apresentavam idade entre 18 e 72 anos, 12% (n=03) eram recém-

nascidas com tempos de vida em: dois dias (n=1), sete dias (n=1) e um mês (n=1) e 4% (n=1) criança com dez meses de idade.

Os casos diagnosticados se concentraram entre 2001 e 2007, não sendo encontrado nenhum caso no ano anterior. Estes dados diferem do que foi relatado por Jatene et al.⁽⁶⁾ que, em seu estudo, demonstraram que a incidência de teratomas é incerta e que não existe preponderância de sexo e idade. Santos et al.⁽⁹⁾ dizem que a frequência de teratomas ocorre normalmente em jovens e adultos de 15 a 35 anos, confirmando os resultados encontrados em nosso estudo.

Quanto à localização do tumor, foram encontrados casos de teratoma apenas nos ovários (84% / n=21) e no cóccix (16% / n=4). Dos diagnósticos presentes nos laudos, 25 eram de teratoma cístico benigno ou maduro sendo quatro desses encontrados na região sacrococcígea.

Justificando o que foi relatado por Falavigna et al.,⁽²⁾ que, em seu estudo, demonstraram que, apesar dos teratomas apresentarem implantação gonadal ou extragonadal, a região sacrococcígea é a localização extragonadal mais comum, sendo encontrados 39% a 60%, podendo a lesão ser do tipo sólida, multicística ou formada por grande cisto único. Chaves et al.⁽¹⁰⁾ citaram que as gônadas são a localização mais frequente no período pós-puberal, e, dentre os teratomas congênitos, o sacrococcígea é o mais frequente. Com relação ao tipo do tumor encontrado, Couto et al.⁽⁷⁾ relataram, em seu estudo, que os teratomas císticos maduros são o tipo mais comum de tumores de células germinativas, comprovando os achados encontrados na pesquisa.

Em relação ao revestimento do tumor, visto na microscopia, observou-se uma frequência de 48% revestidos por epitélio pavimentoso estratificado colunar, 16% revestidos por epitélio estratificado queratinizado, 8% revestidos por tecidos maduros de todos os folhetos, 4% epitélio cilíndrico ciliado com padrão respiratório, 4% de células escamosas em monocamadas, 4% de células aplanadas em monocamadas, 4% revestidos por parede fibrosa, 4% revestidos por mais de uma camada de células cúbicas, 4% em monocamadas de células epiteliais achatadas e 4% de glândulas sebáceas, folículos pilosos e tecido adiposo bem organizado. Pelo que foi citado por Patrocínio et al.,⁽¹¹⁾ os teratomas podem conter uma ampla variedade de tecidos celulares representando as três camadas germinativas, justificando a grande variedade celular encontrada na pesquisa.

Tecidos como tireoideano, adiposo, material necrótico, corpos albicans, corpos lúteos, micropapilas, células ganglionares, glândulas de padrão tubário, ossificação, vasos congestos e vasculares, material eosinofílico e histiócitos também foram encontrados, confirmando Falavigna et al.⁽²⁾ e Ulbright,⁽¹²⁾ que, em seus estudos, relatam que teratoma maduro ou benigno é formado por tecidos

dos bem diferenciados e que os tumores gonodais das células germinativas são interessantes devido às diversidades biológicas exibidas. Mateo et al.⁽¹³⁾ relataram que teratomas têm componentes sólido e cístico e são relativamente avasculares, porém podem causar alguma confusão no diagnóstico de cisto simples, contrariando a presença de vasos congestionados e vasculares encontrados na pesquisa.

CONCLUSÃO

O estudo observou uma prevalência superior a 80% de casos de teratomas diagnosticados em mulheres na idade adulta, todos localizados no ovário e, pela pequena quantidade de amostra, 12% em recém-nascidos de localização sacrococcígea. A presença de tecidos maduros como tecido epitelial estratificado pavimentoso e tecido conjuntivo adiposo foi descrita na maioria dos laudos histopatológicos de teratoma cístico maduro, de modo que este se torna o padrão histopatológico mais frequente encontrado em nossa pesquisa, evidenciando assim que todos os casos representam teratomas benignos. Porém, aconselham-se mais estudos com casuísticas maiores e prospectivos para se avaliar melhor o padrão epidemiológico dessa patologia.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, que é nossa fonte de inspiração e amor eterno, à professora Claudia Cazal, pelo incentivo e por compartilhar seus conhecimentos, aos funcionários do Hospital Universitário pela simpatia e generosidade.

Abstract

Teratomas are neoplasms of pluripotent cells with embryonic characteristics. Observed by the presence of tissues from the three germ layers, and their rankings in mature cystic, immature and malignant components. The aim of this study was to evaluate the histopathological pattern of teratomas diagnosed in the University Hospital of Federal University of Alagoas in the period 2000 to 2007. It was an analysis of 25 charts of patients with histopathological findings of benign cystic teratomas vary in their locations. There was a higher frequency than 90% of mature tissues, emphasizing that they are formed by different tissues.

Keywords

Teratoma; tumor; histological; standard

REFERÊNCIAS

1. Ablin AR, Krailo MD, Ramsay NK, Malogolowkin MH, Isaacs H, Raney RB, et al. Results of treatment of malignant germ cell tumors in 93 children: a report from the Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 1991 Oct;9(10):1782-92.
2. Falavigna A, Gandara C, Ferraz FA, Saciloto B. Sacrococcigeal teratoma: report of three cases. *Arq Neuropsiquiatr*. 2004 Jun;62(2A):334-8. [Article in Portuguese].
3. Tiezzi DG, Guimarães EG, Oguido N, Nail GA. Cistoadenocarcinoma mucinoso de baixo potencial de malignidade em coexistência com teratoma cístico maduro do ovário: relato de caso. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. [Internet]. 2003 Sep; 25(8): 605-608. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032003000800010&lng=en
4. Katsube Y, Berg JW, Silverberg SG. Epidemiologic pathology of ovarian tumors: a histopathologic review of primary ovarian neoplasms diagnosed in the Denver Standard Metropolitan Statistical Area, 1 July-31 December 1969 and 1 July-31 December 1979. *Int J Gynecol Pathol*. 1982;1(1):3-16.
5. McHugh JB, Fullen DR. Atypical compound nevus arising in mature cystic ovarian teratoma. *Med Sci Monit*. 2006 Apr;12(4):CS34-7.
6. Comerci JT Jr, Licciardi F, Bergh PA, Gregori C, Breen JL. Mature cystic teratoma: a clinicopathologic evaluation of 517 cases and review of the literature. *Obstet Gynecol*. 1994 Jul;84(1):22-8.
7. Couto WJ, Gross JL, Deheinzelin D, Younes RN. Primary mediastinal germ cell tumors. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2006 May-Jun;52(3):182-6. [Article in Portuguese].
8. Jatene MB, Abuchaim D, Martins L, Barbero-Marcial M. Intrapericardic surgical treatment of teratoma in an infant. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2008 Jan-Mar;23(1):123-5. [Article in Portuguese].
9. Santos PC, Maia CP, Pereira JCP, Oliveira TCA. Teratoma gigante de mediastino: achado cirúrgico pós-trauma torácico. *Braz J Cardiovasc Surg* 2007; 22(2): 252-4.
10. Chaves YS, Sousa JS, Feldner Junior PC, Cruz RS, Marair GFS, Manuel JBC, et al. Teratoma congênito de orofaringe: relato de caso. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005; 27(2):86-91.
11. Patrocínio LG, Patrocínio TG, Coelho SR, Patrocínio JA. Benign nasopharyngeal teratoma in an adult patient. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008 May-Jun;74(3):477.
12. Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol*. 2005 Feb;18 Suppl 2:S61-79.
13. Mallén Mateo E, Sancho Serrano C, Gil Sanz MJ, Borque Fernando A, Yagüe Romeo D, Rioja Sanz LA. Renal teratoma, case report and review of the literature. *Actas Urol Esp*. 2005 May;29(5):516-8. [Article in Spanish].

Correspondência

João Paulo dos Santos
Rua Jornal de Alagoas, 41, Farol
57051-420 – Maceió-AL, Brasil
e-mail: joaobiome@hotmail.com.
Tel. (82) 3326-8618 / (11) 6148-5399

Picroindigo-carmim: coloração múltipla alternativa

Picroindigocarmine: alternative multiple staining

Gabriela dos Santos Sant'Anna¹

Elenir de Fátima Wiilland²

Resumo

A nova coloração à base de picroindigo-carmim é uma combinação múltipla dos corantes hematoxilina de Harris, fucsina ácida e picroindigo-carmim desenvolvida para aplicação histológica. A nova técnica foi testada em diferentes tecidos, sendo fígado, rim, estômago, pâncreas, língua, pulmão, mão e palato provenientes de ratos; gengiva e pele digital obtidas de necropsia humana e amostras de planárias. Na análise dos tecidos oriundos de ratos e biópsia humana, os núcleos apresentaram-se escuros, variando do azul ao preto, citoplasma e queratina rosa amarelado, colágeno, e tecido conjuntivo verde, hemácias variando do vermelho ao alaranjado. Nas estruturas teciduais do rim observou-se uma melhor diferenciação dos túbulos contorcidos proximais com evidênciação das mitocôndrias no citoplasma basal quando comparados aos túbulos contorcidos distais; para as lâminas de fígado houve uma melhor visualização do glicogênio nos hepatócitos quando comparadas ao método *Periodic acid-Schiff technique of McManus* (1948).⁽¹⁾ Para as planárias, o tecido de preenchimento apresentou uma coloração verde clara, com secreções basófilas em amarelo ouro, secreções rabdogênicas, acidofílicas e fibras musculares em vermelho, membrana basal em verde escuro, gânglio cerebroide e cordão nervoso em amarelo claro, a taça pigmentar em marrom e núcleos vinho escuro.

Palavras-chave

Corante; histologia; tecidos; picroindigo-carmim

INTRODUÇÃO

A histologia é a ciência que estuda a estrutura e a atividade funcional dos tecidos dos organismos vivos. As técnicas histológicas são responsáveis pela confecção de lâminas permanentes que, com o auxílio do microscópio óptico, permitem um estudo detalhado dos tecidos. Várias etapas devem ser seguidas, sendo a coloração uma das partes fundamentais para a identificação das estruturas celulares.⁽²⁾

As técnicas de coloração são utilizadas há mais de um século na biologia celular e histopatologia, permitindo uma melhor resolução e um maior contraste entre as estruturas teciduais.⁽³⁾

Para permitir uma melhor diferenciação das estruturas celulares e teciduais, a grande maioria dos corantes comporta-se como ácidos ou bases, formando ligações salinas com radicais ionizáveis presentes nos tecidos, sendo os componentes teciduais que se coram com corantes básicos conhecidos como estruturas basofílicas ou cianofílicas, e os que se ligam a corantes ácidos conhecidos como estruturas acidofílicas ou eosinofílicas.⁽⁴⁾

O indigo carmim é um corante originário de plantas do gênero *Indigofera*. Esse corante é utilizado há mais de 4 mil anos, sendo considerado um dos corantes mais antigos. Atualmente é empregado na sua forma sintética por ser mais econômico,⁽⁵⁾ sendo utilizado como corante alimentício,^(6,7) nas indústrias têxteis,⁽⁸⁾ como corante de contraste em exames clínicos,^(9,10) e em estudos histológicos em combinação com outros corantes, proporcionando um método alternativo de coloração de tecidos biológicos.^(11,12)

Assim, o objetivo desse estudo foi desenvolver uma nova associação de corantes que permite diferenciar as estruturas teciduais e celulares de diferentes órgãos e tecidos, oferecendo uma nova técnica para investigação histopatológica.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras histológicas de fígado, rins, estômago, pâncreas, palato, língua, pulmão e membro superior foram obtidas de peças de necropsia de ratos (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério da Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS. As amostras de gengiva e pele di-

¹Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Porto Alegre-RS, Brasil

²Departamento de Biologia, Laboratório de Histologia Animal, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) – Canoas-RS, Brasil

Instituição: Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) – Canoas-RS, Brasil

Recebido em 21/06/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

gital foram obtidas de peças anatômicas humanas oriundas do Laboratório de Anatomia.

As planárias utilizadas neste estudo pertencem à espécie *Girardia schubarti*, *Girardia tigrina* e *Girardia anderlandi* cultivadas no Laboratório de Histologia Animal da Universidade Luterana do Brasil, Canoas, Rio Grande do Sul.

Preparo dos corantes

A hematoxilina de Harris (Pró-Cito®) utilizada foi em solução líquida disponibilizada no mercado.

O corante fucsina ácida (Vetec®) foi adquirido em forma de pó. Para o seu preparo foi pesado 1 g e dissolvido em 100 mL de água destilada.

A amostra para o corante índigo carmim (*Acid Blue*, *Food Blue*) foi constituída na forma de pó (Merck®). Foi pesado 1 g e dissolvido em 100 mL de água destilada. Para a solução foram utilizados 1,5 volumes de solução de índigo carmim 1% para um volume de solução de ácido pícrico saturado (2 g em 100 mL).

Preparo histológico

As amostras de fígado, rins, estômago, pâncreas, palato, língua, pulmão, membro superior, gengiva e pele digital foram fixadas em formol 10%, permanecendo por um período de até 48 horas, sendo posteriormente lavadas em água corrente e colocadas em álcool 70%. A desidratação foi realizada em série alcoólica ascendente do álcool 70% ao álcool 100%. A diafanização foi feita em xilol por duas horas, seguidas de banhos em parafina e a inclusão dos tecidos. Após o embocamento realizaram-se cortes seriados com espessura de 7µm em equipamento específico (microtomo), distendidas em banho-maria e colocadas sobre lâminas albuminizadas, que conferiram uma melhor aderência ao tecido na lâmina.

Para as planárias utilizou-se o mesmo protocolo com algumas modificações de tempo e foram fixadas em Susa de Heidenhain (solução fixadora indicada para esse tipo de animal, pois causa pouco encolhimento e menor endurecimento, facilitando o corte). A diafanização foi realizada em álcool 100% e mistura de álcool 100% com parafina, seguida de banhos de parafina pura, inclusão dos animais, realização dos cortes com espessura de 7µm, distendidas em banho-maria e colocadas sobre lâminas albuminizadas.

Para a coloração dos cortes foi realizado:

- 1) Desparafinação dos tecidos e hidratação até a água destilada;
- 2) Coloração com hematoxilina de Harris por três minutos;
- 3) Coloração com fucsina ácida 1,0% por um minuto;

- 4) Lavagem em água corrente por quatro minutos;
- 5) Coloração com índigo carmim por 50-60 minutos;
- 6) Desidratação com álcool 100% (três vezes);
- 7) Diafanização com xilol (duas vezes);
- 8) Montagem em bálsamo do Canadá.

Foi confeccionado um total de duzentas lâminas, sendo vinte lâminas para cada tecido. A visualização da coloração das lâminas histológicas foi feita com o auxílio de microscópio Leica CME e registrado com câmera digital Sony DSCW 1.

RESULTADOS

A coloração múltipla é muito utilizada em histologia para investigar diferentes componentes celulares, pois facilita a diferenciação das estruturas celulares e dos componentes da matriz extracelular.⁽¹²⁾ O índigo foi descoberto em 1878 e foi muito utilizado em técnicas de coloração para identificar atividades enzimáticas.⁽³⁾

As análises histológicas dos componentes do tecido animal (*Rattus norvegicus*) apresentaram núcleos escuros variando de azul escuro ao preto, citoplasma e queratina rosa amarelado, colágeno e tecido conjuntivo verde, hemácias variando do vermelho ao alaranjado (Figura 1 a, b). Para as lâminas de estômago, a secreção mucosa produzida pelas glândulas gástricas apresentou-se avermelhada (Figura 1c).

As lâminas histológicas de rins apresentaram uma melhor diferenciação dos túbulos contorcidos proximais com evidenciação das mitocôndrias (TCPs) quando comparados aos túbulos contorcidos distais (TCDs), além de uma melhor visualização das bordas estriadas (Figura 2).

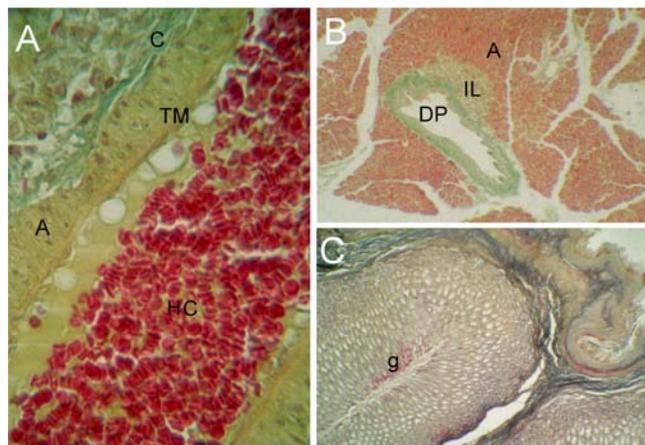


Figura 1. A. Seção longitudinal da artéria pulmonar (ratos) mostrando hemáceas (HC) em vermelho, túnica média (TM) em amarelo, adventícia (A) e colágeno (C) em verde; B. Seção transversal do pâncreas (ratos) mostrando ácinos serosos em vermelho (a), Ilhotas de Langerhans (IL) em amarelo e ducto pancreático (DP); C. Seção longitudinal do estômago (ratos) mostrando glândulas gástricas com secreções (g) em vermelho. A 400X.

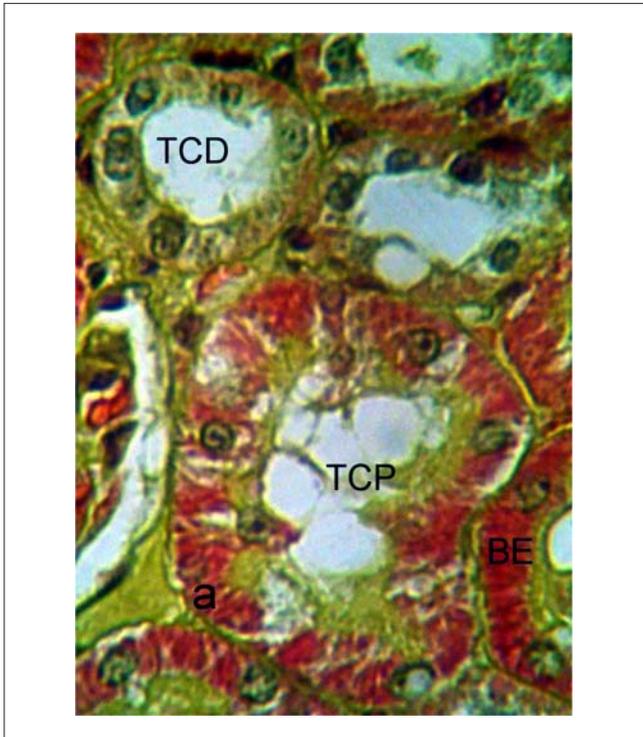


Figura 2. Secção transversal de rim com os túbulos contorcidos proximais (TCD) e túbulos contorcidos distais (TCP), visualizando citoplasma acidifílico (a) e borda estriada (BE). A 400X

Nas diversas estruturas observadas, destacaram-se o folículo piloso com queratina em rosa amarelado em lâminas de membro superior de ratos (Figura 3a), glândulas sebáceas em tons avermelhados e fascículos musculares em verde em lâminas de palato (Figura 3b), tríade portal com seu tecido conjuntivo em verde e hepatócitos amarelados (Figura 3c), músculo esquelético em vermelho, osso em marrom claro e medula óssea em marrom escuro (Figura 3d), hepatócitos com evidência de glicogênio em tons avermelhados (Figura 3e).

Em lâminas de língua proveniente de ratos observaram-se as papilas filiformes e fungiformes, lâmina própria e camada muscular (Figura 4).

Nas lâminas de tecido humano, a coloração dos núcleos e citoplasma foram as mesmas encontradas nas lâminas teciduais de ratos. Nas lâminas de língua foram observados epitélio em verde amarelado e queratina em rosa amarelado (Figura 5a). Para as lâminas de polpa digital foi observado um contraste entre a derme e a epiderme (Figura 5b).

Para as planárias, o tecido de preenchimento apresentou uma coloração verde clara com secreções basófilas em amarelo ouro, secreções rhabdogênicas, acidofílicas e fibras musculares em vermelho, a membrana basal corou-se verde água. O gânglio cerebroide e o cordão nervoso apresentaram uma coloração amarelo claro, a taça pigmentar corou-se de marrom, os núcleos das células apresentaram uma coloração vinho escuro (Figura 6a,b,c,d,e).

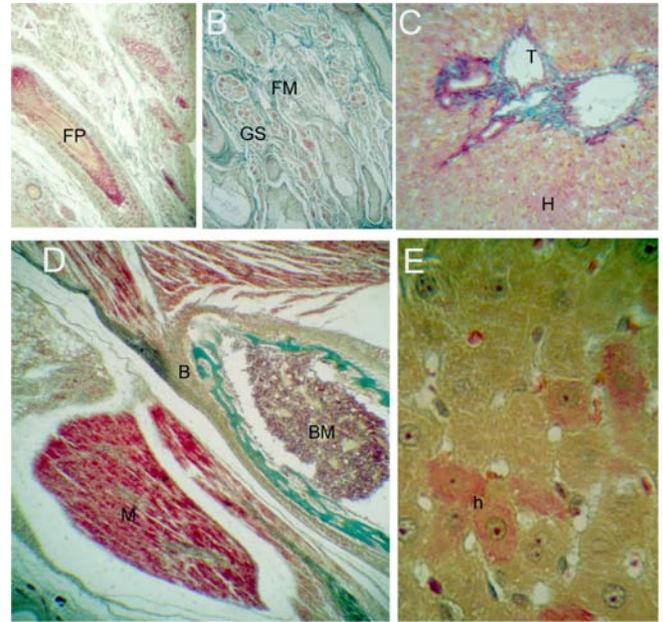


Figura 3. A. Secção longitudinal do membro superior de rato evidenciando folículo piloso (FP) com queratina em rosa amarelado. B. Secção longitudinal de glândulas sebáceas (GS) e fascículos musculares (FM) oriundos do palato de ratos; C. Secção transversal do fígado de ratos demonstrando a tríade portal (T) e hepatócitos (H); D. Secção longitudinal da articulação mostrando músculo esquelético (M), osso (B) e medula óssea (BM); E. Secção transversal do fígado evidenciando glicogênio (h) no citoplasma dos hepatócitos. A 400X.

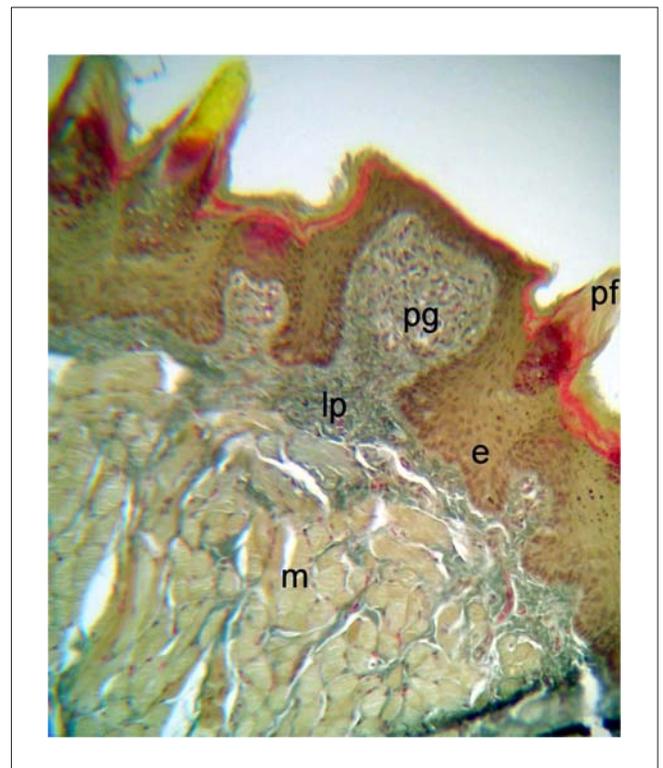


Figura 4. Língua de rato com epitélio (e), papilas filiformes (pf) e fungiformes (pg), lâmina própria (lp) e músculo (m). A 400X.

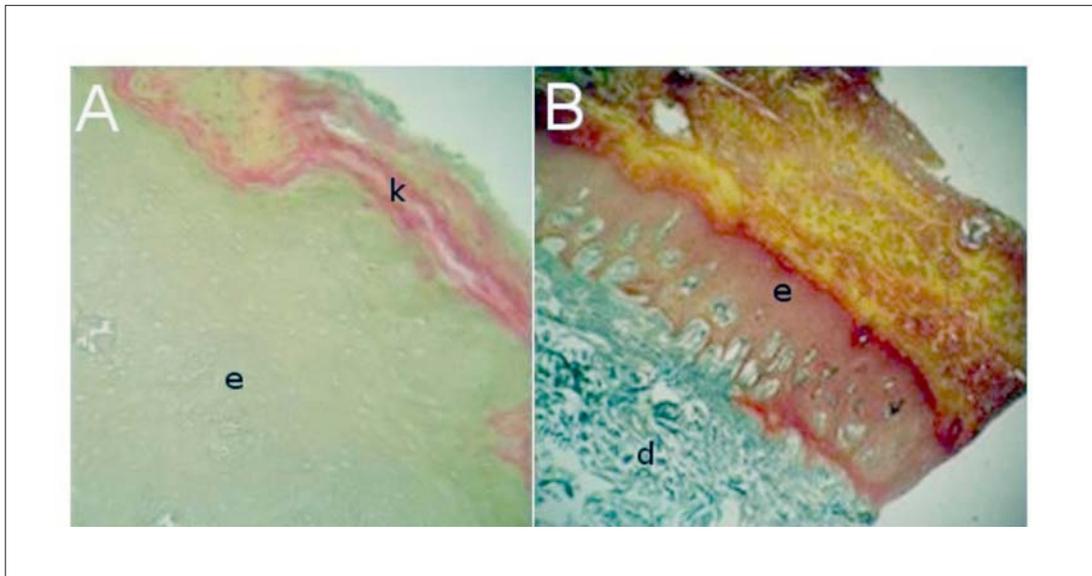


Figura 5 A. Seção de lingual humana com epitélio (e) em amarelo esverdeado e queratina (k) em rosa amarelado; B. Seção de pele digital humana demonstrando epiderme (e) e derme (d). A 400X.

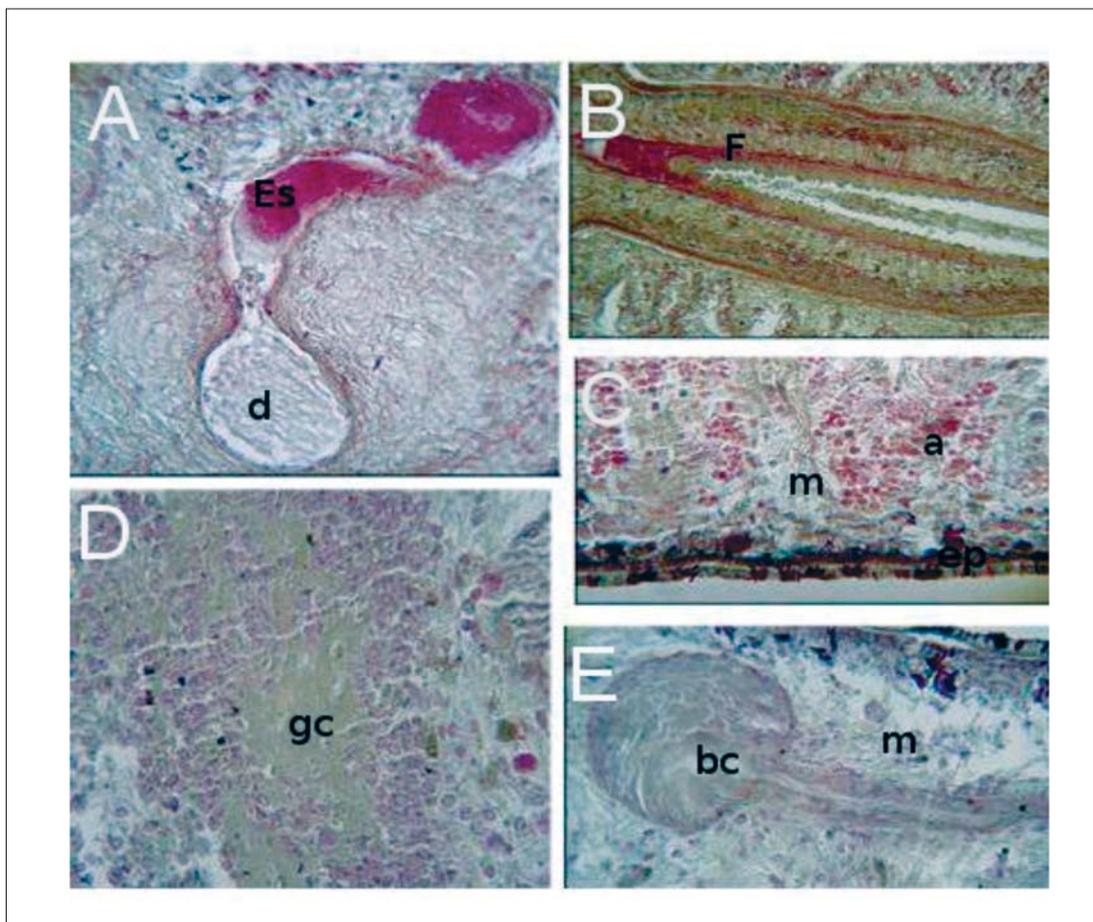


Figura 6. Seção das estruturas teciduais de planárias. Em A. ducto ejacatório (d) contendo espermatozoides (Es) B. Faringe (F) em secção longitudinal. C. Epitélio com secreções rabdogênicas (ep) e tecido de preenchimento (m) com secreções acidofílicas (a); D. Gânglio cerebroide (gc); E. Bursa copulatória (bc) e tecido de preenchimento (m). A 400 X.

DISCUSSÃO

A associação do picroindigo-carmim com a hematoxilina e fucsina ácida representa uma nova técnica de coloração histológica com resultados igualmente satisfatórios aos das técnicas convencionais como as de Masson-Goldner e Van Gieson, já que novas associações têm sido descritas como uma forma alternativa de coloração histológica, como é o caso da utilização do corante urucum (*Bixa orellana*) associado à hematoxilina, que apresentou ótimos resultados para fibras musculares estriadas, diferenciação dos ácinos serosos e mucosos e uma melhor evidência dos núcleos dos fibroblastos de amostras obtidas de camundongos (*Mus musculus*).⁽¹³⁾

Steven, Paulsen & Tillmann desenvolveram uma nova técnica de coloração para diferentes tecidos humanos utilizando orceína, ácido pícrico e índigo carmim e observaram uma melhor distinção nos componentes celulares do tecido conjuntivo e um maior contraste dos condrócitos na matriz cartilaginosa.⁽¹²⁾

Demirta et al.⁽¹⁴⁾ utilizaram o método alternativo de orceína – picroindigo-carmim para estudar a microanatomia fetal, por apresentar uma melhor distinção entre os tecidos, assim como o picroindigo-carmim, que apresenta um maior contraste entre as diferentes estruturas teciduais permitindo uma melhor visualização de estruturas complexas.

Abstract

A new color combination of hematoxylin of Harris, fuchsin and picroindigocarmine was developed for histological applications. The new technique was tested on different rat tissues: liver, kidney, stomach, pancreas, tongue, lung, palate and hand; human: gum and digital skin and samples of planarians. In the sections of all tissues from rats and human biopsy, the nuclear structures stained dark brown to dark blue, cytoplasm and keratin stained yellow pink; while collagen and connective tissue presented a green coloration and the color of erythrocytes varied from red to orange. In the kidney structural tissue a better differentiation of the proximal convoluted tubule was observed with disclosure of the mitochondria in the basal cytoplasm when compared to the distal convoluted tubule; for the liver glass slides there was a better visualization of the glycogen in the hepatocytes when compared to Periodic acid-Schiff technique of McManus (1948).⁽¹⁾ In the planarians, the mesenchyme presented a weak green coloration, with basophilic secretions in gold yellow, rhabdogenic secretions, acidophilic and muscular fibers in red, basal membrane in dark green, ganglion cells and longitudinal nerve cords in weak yellow, the pigment cup in brown and the nuclei in dark wine.

Keywords

Stain; histology; tissue; picroindigocarmine

4. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia Básica. Ed. Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro, 11a ed.2008. 488 p.
5. Araújo MEM. Corantes naturais para têxteis - da antiguidade aos tempos modernos. Conservar Patrimônio, Lisboa, v. 3-4, p. 39-51, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.14568/cp3-4_4>.
6. Kapor MA; Yamanaka H, Carneiro PA, Zanoni, MVB. Eletroanálise de corantes alimentícios: determinação de Índigo Carmim e Tartrazina. Eclét. Quím. [online]. 2001, vol.26, pp.53-68. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702001000100004>.
7. Simão AM. Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico. 2a. ed, Ed. Nobel, São Paulo, 1989, 274 p.
8. Sá IM, de Senna-Valle L, Almeida GS de. A tradição do uso de plantas tintoriais da comunidade rural de Santo Antônio do Rio Grande. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 276-278, jul. 2007.
9. Ratilal PO, Pires EC, Deus JR, Novais LA. Cromoendoscopia: porquê colorir? J. Port Gastroenterol 2002; 9:340-346.
10. Togashi K, Konishi F. Magnification Chromo-colonoscopy. ANZ J Surg. 2006 Dec;76(12):1101-5.
11. Arend A, Kolts I. Carmine-picroindigocarmine: an alternative multiple staining method. Ann Anat. 2002 Mar;184(2):149-52.
12. Steven P, Paulsen F, Tillmann B. Orcein-picroindigocarmine--a new multiple stain. Arch Histol Cytol. 2000 Oct;63(4):397-400.
13. Rohde DC, Silveira SO, Vargas VRA. The use of stain urucum (*Bixa orellana* L.) in the techniques histological staining. RBAC, vol. 38(2): 119-121, 2006.
14. Demirtas K, Gülekon N, Peker T, Omeroglu S, Anil A, Turgut H. Examining the microanatomy of various fetal body parts using the orcein-picroindigocarmine staining method. Biotech Histochem. 2007 Dec;82(6):319-23.

Correspondência

Gabriela dos Santos Sant'Anna
Rua Farroupilha 8001
92420-280 – Canoas, RS, Brasil
e-mail: gsantanna@pop.com.br

REFERÊNCIAS

1. McManus JFA. PAS Method for glycogen. StainTech. 1948;23,99.
2. Eliséiev VG, Yu I, Yúrina NA. Histología. Traducción del ruso por Isabel V. Danílova. Editorial Mir, 1985, 583 p.
3. Coleman R. The long-term contribution of dyes and stains to histology and histopathology. Acta Histochem. 2006;108(2):81-3.

Perfil de pacientes com diagnóstico de lesões intraepiteliais cervicais atendidas no serviço de saúde pública do município de Panambi-RS

Patient profile with intraepithelial cervical lesion diagnosis attended in the public service of the Panambi City-RS

Lenara Wastowski Friedrich¹

Ana Rúbia Costa Beber¹

Vera Regina Andrade Vargas²

Resumo

O câncer do colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comum entre as mulheres no mundo. A principal estratégia utilizada para o diagnóstico precoce do câncer de colo de útero (prevenção secundária), no mundo todo e no Brasil, é a realização do exame citológico de Papanicolaou. O objetivo deste estudo foi analisar o perfil das pacientes que apresentaram resultado positivo para lesões pré-cancerosas ao exame citopatológico, atendidas no Posto Central do Serviço de Saúde Pública do Município de Panambi-RS. Foi realizado um estudo observacional e retrospectivo de laudos dos exames de Papanicolaou entre os meses de janeiro de 1998 a dezembro de 2007. Observou-se que 2,0% (192/9.589) das mulheres apresentaram células epiteliais atípicas e, destas, 39 (20,3%) possuíam dados completos com idade média de 34,7 anos. O início da atividade sexual ocorreu para a maioria com 17 anos ou mais, 50% das mulheres tinham um a três filhos. Ainda, a maioria relatou vida sexual ativa e 51,4% faziam uso de anticoncepcional oral, 42,9% apresentaram flora de lactobacilos e 53,8% células escamosas atípicas de significado indeterminado. Conhecer o perfil epidemiológico-populacional é fundamental para avaliar as reais morbidades prevalentes e promover medidas eficazes de prevenção e diagnóstico.

Palavras-chave

Citopatologia; fatores de risco; câncer do colo uterino

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é o segundo tipo mais comum entre as mulheres no mundo, com uma estimativa de 500 mil novos casos e 230 mil óbitos por ano. Sua incidência é maior em países menos desenvolvidos comparados com os mais desenvolvidos.⁽¹⁾ Segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (Inca) para 2010, no Brasil, o número de novos casos de câncer de colo do útero será de 18.430, com um risco estimado de 18 casos a cada 100 mil mulheres. A incidência desse câncer evidencia-se na faixa etária de 20 a 29 anos e o risco aumenta até atingir um pico na faixa etária de 45 a 49 anos. Com exceção do câncer de pele, é o câncer que apresenta maior potencial de prevenção e cura quando diagnosticado precocemente.⁽²⁾

A principal estratégia utilizada para o diagnóstico precoce do câncer de colo de útero (prevenção secundária), no mundo todo e no Brasil, é a realização do exame citológico de Papanicolaou. O exame citopatológico ou teste de Papanicolaou é fator de prevenção para o câncer cervical em mulheres pertencentes a qualquer grupo de idade ou grupo de risco porque permite diagnosticar precocemente as lesões pré-invasivas.⁽³⁾ Esse exame pode ser realizado nos postos ou unidades de saúde pública ou em consultórios privados que tenham profissionais da saúde capacitados para realizá-los. A importância da realização do rastreamento populacional pelo exame Papanicolaou é salientada quando se verifica uma redução de cerca de 80% da mortalidade por este câncer em países desenvolvidos, onde programas de rastreamento são bem organizados. Para

¹Biomédica, com especialização em Ciências Farmacêuticas: Diagnóstico Laboratorial, Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) – Santo Ângelo-RS, Brasil.

²Coordenadora e docente do curso de Especialização em Ciências Farmacêuticas: Diagnóstico Laboratorial, Pós-Graduada em Citologia Clínica, Mestre em Gerontologia Biomédica; Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) – Santo Ângelo-RS, Brasil.

Instituição: Universidade Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) – Erechim-RS, Brasil.

Artigo recebido em 26/04/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

tanto é necessário garantir a organização, integralidade e a qualidade do programa de rastreamento, bem como o seguimento das pacientes.⁽¹⁾

Uma das maiores descobertas em relação a cânceres humanos tem sido o reconhecimento de que eles podem ser causados por vírus e o câncer cervical tem a infecção mucoso-trópica por alguns tipos de Papilomavírus Humano (HPV) como principal fator de risco, sendo uma condição necessária, porém não suficiente, para o seu desenvolvimento. Em 99,7% dos casos de câncer do colo do útero foi encontrado um dos 15 tipos oncogênicos do HPV. Destes, os tipos mais comuns são os HPV16 e o HPV18. Entretanto, o fato de que apenas uma fração das pacientes infectadas por este vírus progride para o câncer indica que o HPV isolado não é suficiente e traz a questão para a existência de cofatores.⁽⁴⁾

Diversos estudos demonstram que outros fatores que contribuem para a etiologia deste tumor são: iniciação sexual precoce, multiplicidade de parceiros sexuais, promiscuidade do parceiro sexual, além do uso de contraceptivos orais, tabagismo, baixa ingestão de vitaminas entre outros.^(1,5) A grande importância de fatores como promiscuidade sexual, grande número de filhos, início precoce da atividade sexual e infecções ginecológicas repetidas foi o que levou à descoberta do HPV como agente causal das alterações que levam ao carcinoma do colo do útero.⁽⁶⁾

O objetivo desse estudo foi analisar o perfil das pacientes que apresentaram resultado positivo para lesões pré-cancerosas ao exame citopatológico atendidas no Posto Central do Serviço de Saúde Pública do município de Panambi-RS, localizado no interior do estado do Rio Grande do Sul e conta com um programa de prevenção de câncer de colo uterino baseado na orientação, diagnóstico e acompanhamento de casos positivos para malignidade ou lesão intraepitelial cervical. Esse município possui nove postos de saúde, três unidades básicas de saúde e um centro de especialidade, dentre os quais o posto de saúde central, onde anteriormente estavam concentrados todos os serviços de saúde do município. Considerando a população municipal, estimada para 2009, em torno de 38.794 habitantes,⁽⁷⁾ foi observada a importância e necessidade do desenvolvimento de uma análise dos dados obtidos nos exames preventivos para câncer de colo uterino.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional e retrospectivo. A amostra foi constituída pelos laudos dos exames de Papanicolaou no Posto Central do Serviço de Saúde Pública do município de Panambi-RS durante o período de janeiro de 1998 a dezembro de 2007. Foram incluídos todos os exames citopatológicos que apresentaram diag-

nóstico citopatológico positivo para lesões intraepiteliais cervicais e câncer, sem restrição de idade ou raça. Foram excluídos os laudos dos exames que apresentaram resultado citopatológico negativo para lesões intraepiteliais cervicais e malignidade, e aqueles que apresentaram amostra insatisfatória ou não apresentaram os dados completos das mulheres. Os exames citopatológicos foram encaminhados e analisados por especialistas em Citologia Clínica em um laboratório de citologia para onde os exames são encaminhados pela Secretaria Municipal de Saúde. Os dados foram coletados das fichas de registro do Serviço de Saúde Pública, Posto Central no município de Panambi-RS.

As variáveis analisadas foram a idade, os dados clínicos das pacientes relatados no momento da coleta do material citopatológico e os resultados dos exames citopatológicos. Foi realizada uma análise descritiva e os dados apresentados em forma de tabelas e figuras. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Santo Ângelo, protocolo nº 058-4/TCH/09.

RESULTADOS

Perfil das mulheres

De um total de 9.589 mulheres que realizaram exames citopatológicos no período de uma década (1998-2007), no município de Panambi, foi observado que 98% (9.397/9.589) das mulheres apresentaram resultados citológicos negativos para malignidade ou lesão intraepitelial cervical e 2,0% (192/9.589) das mulheres apresentaram células epiteliais atípicas. Entre as mulheres que apresentaram células epiteliais atípicas (n=192), 153 (79,7%) foram excluídas por não apresentarem dados ou apresentarem dados incompletos, restando 39 (20,3%) mulheres na amostra. A idade média das mulheres que permaneceram na amostra foi de 34,7 anos, variando de 16 a 71 anos, sendo que 51,2% (20/38) das mulheres tinham idade de 29 anos ou menos (Tabela 1).

O início da atividade sexual ocorreu para 48,6% das mulheres com idade de 14 a 16 anos, e para a maioria (51,4%; 18/34) foi com idade de 17 anos ou mais, variando de 14 a 38 anos. Com relação ao número de filhos, 50% (18/36) tinham de um a três filhos e 38,9% (14/36) não tinham filhos até o momento do exame citopatológico (Tabela 1).

Dentre essas mulheres, 35,7% (10/28) estavam realizando o exame citopatológico pela primeira vez e o mesmo percentual havia realizado o último exame de Papanicolaou há um ano, sendo que 7,1% (2/28) não realizavam o exame há cinco anos ou mais (Tabela 1).

A maioria das pacientes (87,5%; 28/32) relatou vida sexual ativa. Com relação à contracepção, 51,4% (18/35) faziam uso de anticoncepcional oral seguido por 28,6% (10/35) das pacientes que declararam não utilizar nenhum método contraceptivo e 14,3% (5/35) delas faziam uso do preservativo (condom). Ainda foi possível constatar que 50% (15/30) das mulheres apresentaram queixas de corrimento e corrimento e dor dentre os sinais clínicos relatados no momento da anamnese, enquanto 40% (12/30) não apresentaram queixa (Tabela 1).

Tabela 1 - Perfil das mulheres que apresentaram células epiteliais atípicas

Perfil	n	%
Faixa Etária		
≤ 19	7	17,9
20-29	13	33,3
30-39	5	12,8
40-49	6	15,4
50-59	6	15,4
≥ 60	2	5,1
Total	39	100,0
Paridade		
Nenhum	14	38,9
1 a 3	18	50,0
Mais de 4	4	11,1
Total	36	100,0
Início da atividade sexual		
14 a 16	17	48,6
17 a 19	12	34,3
≥ 20	6	17,1
Total	35	100,0
Vida sexual ativa		
Sim	28	87,5
Não	4	12,5
Total	32	100,0
Exames citopatológicos anteriores		
Primeiro exame	10	35,7
1 ano	10	35,7
2 a 3	6	21,4
≥ 5	2	7,1
Total	28	100,0
Anticoncepção		
ACO	18	51,4
Condom	5	14,3
DIU	1	2,9
Tabelinha	1	2,9
Nenhum	10	28,6
Total	35	100,0
Queixas ginecológicas		
Corrimento	9	30,0
Corrimento e dor	6	20,0
Dor	2	6,7
Outros	1	3,3
Nenhum	12	40,0
Total	30	100,0

Resultados citopatológicos

Na análise microbiológica, foram identificadas as floras em 35 das citologias. Foi observado que 42,9% (15/35) das mulheres apresentaram flora de lactobacilos. Em 31,4% (11/35) dos casos foi encontrado *Gardnerella vaginalis* e em 14,3% (5/35) flora de cocos e bacilos. Foi observado um caso (2,9%; 1/35) com *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis* (Figura 1).

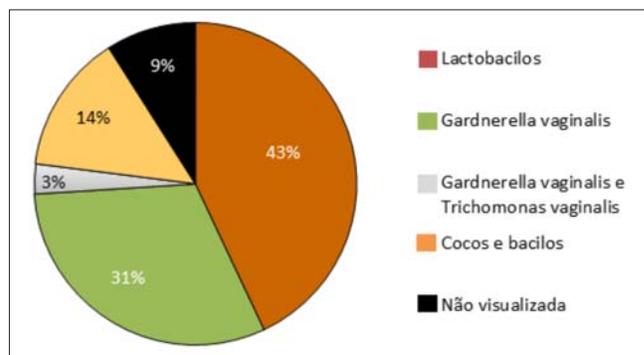


Figura 1. Distribuição da flora vaginal encontrada nas pacientes.

Na análise citopatológica das mulheres que apresentaram células epiteliais atípicas (n=39), foi observado que 53,8% (21/39) apresentaram células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US); 38,5% (15/39) apresentaram lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), 5,1% (2/39) apresentaram lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) e 2,6% (1/39) apresentaram carcinoma de células escamosas (CCE). Não foi diagnosticado nenhum adenocarcinoma (Figura 2).

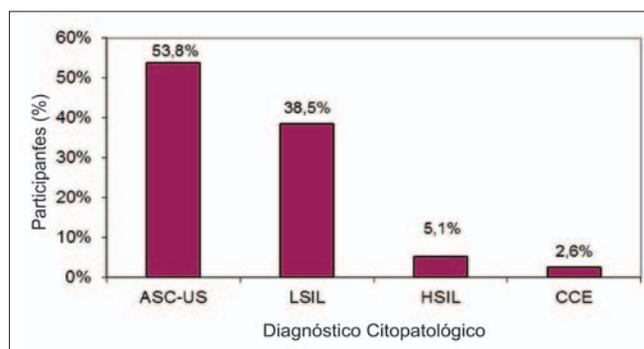


Figura 2. Distribuição dos diagnósticos com células epiteliais atípicas.

Com relação à ocorrência de resultados alterados de acordo com a faixa etária, observou-se que entre as mulheres com idade menor ou igual a 29 anos há maior frequência de casos de LSIL (25,7%; 10/39). Foi observado que a lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) ocorreu nas faixas etárias de ≤ 19 e ≥ 60 anos de idade. O carcinoma de células escamosas (CCE) ocorreu em uma das mulheres que estavam na faixa etária de 50-59 anos (Figura 3).

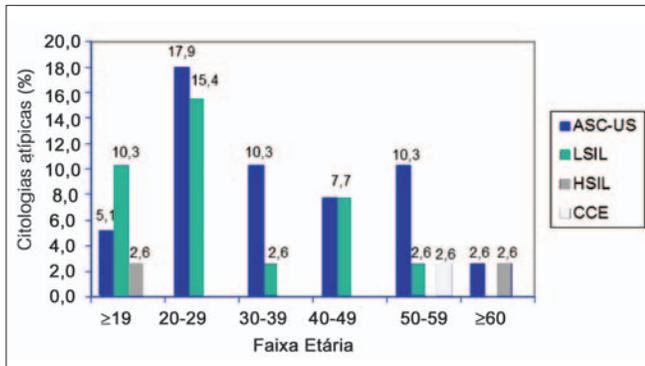


Figura 3. Distribuição dos diagnósticos com células epiteliais atípicas por faixa etária.

DISCUSSÃO

Perfil das mulheres

Dos 9.589 exames citopatológicos realizados no período de uma década (1998-2007), 2,0% (192/9.589) eram de mulheres que apresentaram células epiteliais atípicas. Esse dado está em conformidade com o já relatado em estudos semelhantes. Mezzomo et al.⁽⁸⁾ obtiveram uma incidência de 2,3% de casos positivos para malignidade ou lesão intraepitelial em estudo desenvolvido com base no Programa Nacional de Controle do Câncer de Colo Uterino (PNCCCU) do município de Soledade-RS, para o período de janeiro de 2001 a dezembro de 2005. Buffon et al.⁽⁹⁾ também citam ocorrência semelhante de 2,79% (309/11077) de exames citológicos alterados em seu estudo.

A idade média das mulheres que permaneceram na amostra do presente estudo foi de 34,7 anos, variando de 16 a 71 anos, sendo que 51,2% (20/38) dessas mulheres tinham idade de 29 anos ou menos. Esse dado é compatível com os dados indicados pelo Inca⁽²⁾ para a incidência de câncer do colo do útero, que se torna bastante evidente em mulheres entre 20 e 29 anos.

A precocidade no início da atividade sexual surge como fator de destaque em diversos estudos que abordam este tema. O início da atividade sexual ocorreu para 48,6% das mulheres do presente estudo com idade de 14 a 16 anos e para a maioria (51,4%; 18/34) foi com idade de 17 anos ou mais. A maioria dessas pacientes (87,5%; 28/32) relatou ter vida sexual ativa. Dados semelhantes são vistos em outros estudos: para Anschau et al.⁽⁴⁾ a média de idade da primeira relação sexual foi de 17 anos; Murta et al.⁽¹⁰⁾ ao analisarem as pacientes agrupadas de acordo com a data do diagnóstico, com câncer de colo uterino em sua maioria (59,2, 54,5 e 55,5%, respectivamente), verificaram que tiveram o início da atividade sexual antes dos 18 anos de idade; Pias et al.⁽¹¹⁾ que traçaram o perfil das mulheres que realizaram exame de Papanicolaou na Liga Feminina de

Combate ao Câncer do município de Santo Ângelo-RS, verificaram que, com relação à ocorrência da primeira relação sexual, 15,71% delas foram aos 16 anos e 18,57% tinham 17 anos. No mesmo estudo, os autores relataram uma variação entre 12 e 31 anos, próximo ao visto em nosso estudo, cuja faixa etária variou entre 14 e 38 anos de idade.

A multiparidade é também aventada como fator de risco. Murta et al.⁽¹⁰⁾ demonstraram em seu estudo que a maioria das mulheres apresentavam mais que quatro gestações ou partos, entretanto, observaram que estes números estão decaindo. Pias et al.⁽¹¹⁾ relataram ainda que grande parte das mulheres atendidas (41,42%) possuía de dois a quatro filhos, semelhante ao observado no presente trabalho, onde 50% (18/36) tinham de um a três filhos, enquanto que 38,9% (14/36) das mulheres analisadas declararam não haver tido filhos até o momento do exame citopatológico.

A diminuição da incidência de câncer do colo uterino é proporcional à prevenção por meio do exame de Papanicolaou desde que existam programas efetivos e organizados. Para Lima et al.⁽⁶⁾ a variável que apresentou maior destaque em seu estudo de caso (casos novos de carcinoma do colo uterino) e controle (mulheres não portadoras de câncer do colo uterino) foi a realização do exame preventivo; somente 30% das mulheres do grupo caso referiram tê-lo realizado, mas não tinham o resultado e não lembravam quando haviam feito. Neste trabalho percebeu-se que os dados são mais tênues quanto a esta variável, embora não deixem de ser significativos, considerando especialmente o número de casos que puderam ser diagnosticados no momento do primeiro exame, sendo que, dentre as pacientes, 35,7% (10/28) estavam realizando o exame citopatológico pela primeira vez, e o mesmo percentual havia realizado o último exame de Papanicolaou há um ano, enquanto que 7,1% (2/28) delas não realizavam o exame há cinco anos ou mais.

Com relação à contracepção, 51,4% (18/35) faziam uso de anticoncepcional oral, seguido por 28,6% (10/35) das pacientes que declararam não utilizar nenhum método contraceptivo e 14,3% (5/35) delas faziam uso do preservativo (condom). Na análise de Pias et al.⁽¹¹⁾ estes dados não se repetem na mesma frequência, visto que grande parte das mulheres (48,57%, 34/70) não fazia nenhum tipo de contracepção. Da mesma forma, na análise de Lima et al.⁽⁶⁾ foi baixo o uso de métodos anticoncepcionais tanto nos casos (30%) como nos controles (47,5%) e, quando utilizado, o foi por curto período de tempo.

Ainda foi possível constatar que 50% (15/30) das mulheres apresentaram queixas de corrimento e dor dentre os sinais clínicos relatados no momento da anamnese, enquanto que 40% (12/30) não apresentam queixa. Conforme informações do Inca,⁽¹⁾ no estágio de evolução da doença, é comum o aparecimento de sintomas como sangramento vaginal, corrimento e dor, daí a importância

de se verificarem tais condições como complemento importante para o correto diagnóstico.

Resultados citopatológicos

Na análise microbiológica foram identificadas as floras em 35 das citologias. Foi observado que grande parte dos exames (42,9%; 15/35) apresentou flora de lactobacilos. Em 31,4% (11/35) dos casos foi encontrado *Gardnerella vaginalis* e, em 15,7% (25/159), flora coccoide. Foi observado um caso (2,9%; 1/35) que apresentou *Trichomonas vaginalis* e *Gardnerella vaginalis*. No estudo de Pias et al.,⁽¹¹⁾ que analisou o perfil de todas as mulheres que realizaram exame Papanicolaou, podemos observar uma ordem de ocorrência semelhante, sendo que, em torno de 54,90% das pacientes apresentaram flora normal de *Lactobacillus* spp., seguido de 21,57% com diagnóstico da presença de *Gardnerella vaginalis*, 5,88% com cocobacilos, 3,92% dos casos com relato de *Candida* spp. e os demais 13,73% não apresentavam flora microbiológica visível. Irion e Buffon⁽¹²⁾ encontraram lactobacilos em 49,36% dos casos, seguido de flora mista (19,43%) e *Gardnerella vaginalis* em 16,37% deles. Verificamos, portanto, concordância com a literatura para a predominância de flora normal de lactobacilos e, dentre as floras inflamatórias, uma incidência elevada, quanto à microbiologia, de *Gardnerella vaginalis*, agente infeccioso responsável por causar vaginose bacteriana; já a ocorrência de *Trichomonas vaginalis* aparece de maneira bastante variável nas análises, não permitindo conclusões significativas, e um dos motivos que se supõe para tal variabilidade é que este protozoário é de difícil identificação, pois aparece em grumos mal definidos ao fundo do esfregaço.^(13,14)

No presente estudo, 53,8% (21/39) das mulheres apresentaram células escamosas atípicas de significado indeterminado; 38,5% (15/39) apresentaram lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau, 5,1% (2/39) apresentaram lesões intraepiteliais escamosas de alto grau e 2,6% (1/39) apresentaram carcinoma de células escamosas. Entre as 354 alterações citológicas vistas por Rama et al.,⁽¹⁵⁾ em seu estudo com mulheres que se submeteram a rastreamento para o câncer cervical, da mesma forma que o ocorrido em nosso estudo, vemos que as mais frequentes foram células escamosas atípicas de significado indeterminado (210), seguidas de lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (79), lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (41) e três carcinomas. Estes dados mudam um pouco quando observamos o estudo de Buffon et al.,⁽⁹⁾ no qual a maior frequência de exames citológicos alterados não é a mesma, encontraram-se 115 (1,04%) casos de células escamosas atípicas de significado indeterminado, 160 (1,44%) com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau, 32 (0,29%) como lesão

intraepitelial escamosa de alto grau e dois casos (0,02%) como carcinoma de células escamosas.

Além disso, Buffon et al.⁽⁹⁾ encontraram um maior índice de ASC-US na faixa etária de 25 e 34 anos, LSIL/HPV entre 15 e 24 anos e HSIL na faixa etária entre 35 e 44 anos. Partindo da análise com estes resultados temos acentuada a gravidade de alguns dos casos avaliados, em especial do caso de HSIL encontrado em nosso estudo, haja vista a precocidade da ocorrência (≤ 19 anos) de tal diagnóstico, enquanto que o outro caso de HSIL corresponde à faixa etária ≥ 60 anos. Além disso, de acordo com a faixa etária, foi observado que, entre as mulheres com idade menor ou igual a 29 anos, há maior frequência de casos de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (25,7%; 10/39), estando de acordo com os dados vistos pela pesquisa à qual se compara anteriormente e também com os dados de Irion e Buffon,⁽¹²⁾ que encontraram maior índice de ASC-US e LSIL/HPV na faixa etária entre 21 e 30 anos.

Sabe-se que o carcinoma de células escamosas (CCE) pode surgir em qualquer idade, partindo da segunda década de vida até a senilidade. Em nosso estudo, ocorreu em uma das mulheres que estavam na faixa etária de 50-59, não muito distante da idade das pacientes identificadas com CCE na pesquisa de Buffon et al.,⁽⁹⁾ onde, dos dois casos encontrados, um esteve entre 35 e 44 anos e o outro acima de 65 anos de idade. Esses dados demonstram a necessidade de se dar atenção para medidas preventivas e orientar quanto à realização do exame citopatológico, considerando a importância do diagnóstico destas lesões precocemente na população avaliada em nosso estudo, haja vista a incidência destas lesões em uma faixa etária cada vez mais jovem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A precocidade no início da atividade sexual e a multiparidade são fatores de risco que ganham maior destaque dentre as características observadas na população estudada. O número de casos que puderam ser diagnosticados no momento do primeiro exame reafirma a premissa da realização correta e regular dos exames citopatológicos para a prevenção do surgimento de casos de maior gravidade, além de demonstrar a necessidade de se disponibilizar mais orientação à população referida.

Educar para a saúde por meio de campanhas de esclarecimento e adesão aos programas de acompanhamento e prevenção associadas à eficácia de métodos diagnósticos são as chaves para o sucesso de novas estratégias para combater o câncer cervical.

Além disso, observou-se que boa parte das pacientes apresentou queixas de corrimento e dor, fator conseqüente à presença das lesões no epitélio e que

acabam por trazer mais desconforto e, portanto, redução do bem-estar e qualidade de vida das pacientes.

As anormalidades encontradas no presente estudo representam alterações epiteliais com comportamento biológico bastante distinto, o que acorda com dados encontrados na literatura, sendo mais frequente a ocorrência de casos de células escamosas atípicas de significado indeterminado. Isto evidencia, de modo geral, uma tendência a menor gravidade das lesões encontradas, fato que se relaciona com a implementação de um maior número de programas de exames de Papanicolaou realizados no município. No entanto, a incidência destas lesões em uma faixa etária cada vez mais jovem aponta para a necessidade de conscientização reforçada de métodos preventivos e da importância da realização do exame citopatológico também para este público.

Conhecer qual o perfil epidemiológico da clientela é fundamental para o conhecimento real, e não apenas estimado, das morbidades prevalentes na população. Medidas eficazes para o rastreamento e o diagnóstico precoce do câncer consistem em disponibilizar informação para estimular maior consciência do problema entre médicos, outros profissionais de saúde e o público em geral.

Abstract

Cancer of the cervix is the second most common cancer among women in the world. The main strategy used for the early diagnosis of cancer of the cervix (secondary prevention), the world and in Brazil, is the realization of Pap smears. The objective of this study was to analyze the profile of patients who tested positive for precancerous lesions in Pap smear, seen at the Central Station of the Public Health Service in the city of Panambi, RS. We conducted a retrospective observational study of reports of Pap smears between the months of January 1998 to December 2007. It was observed that 2.0% (192/9589) of women had atypical epithelial cells and of these, 39 (20.3%) had complete data with a mean age of 34.7 years. The onset of sexual activity occurred for most of 17 years or more, 50% of women had 1 to 3 children. 87.5% reported active sexual life and 51.4% were using oral contraceptives. 42.9% had flora of lactobacilli and 53.8% atypical squamous cells of undetermined significance. Meet the epidemiological population-is crucial to assess the real prevalent morbidities and promote effective measures for prevention and diagnosis.

Keywords

Cytopathology; risk factors; cancer of the cervix

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Câncer do colo do útero: Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil para 2008. Rio de Janeiro: INCA, 2007.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2009.
3. Rivoire WA, Capp E, Corleta HE, Silva ISB. Base biomoleculares da oncogênese cervical. Rev. Bras. Cancerologia. 2001; 47:179-184.
4. Anschau F, Schmitt VM, Gonçalves MAG, Garicochea B. Associação entre o polimorfismo no códon 72 da p53 e as lesões pré-malignas e malignas cervicais. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2005 Oct; 27(10).
5. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol; 2002; 55(4): 244-65.
6. Lima CA, Palmeira JAV, Cipolotti R. Fatores associados ao câncer do colo uterino em Propriá, Sergipe, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2006; 22(10): 2151-56.
7. IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. IBGE-Cidades@ - Informações sobre os municípios brasileiros, 2010.
8. Mezzomo LC, Siqueira LO, Mascarenhas M. Avaliação do Programa de Controle do Câncer de Colo Uterino em um Município do Interior do Rio Grande do Sul. Laes&Haes. 2009;31(181):136-56.
9. Buffon A, Civa M, Matos VF. Avaliação de lesões intra-epiteliais escamosas e microbiologia em exames citológicos realizados em um laboratório de Porto Alegre, RS. Rev. Bras. Anal. Clín. 2006;38(2):83-5.
10. Murta EFC, Franca HG, Carneiro MC, Caetano MSSG, Adad SJ, Souza MAH. Câncer do Colo Uterino: Correlação com o Início da atividade Sexual e Paridade. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 1999;21(9): 555-9.
11. Pias AA, Vargas FA, Vargas VR. A. Perfil das mulheres que realizam exame de Papanicolaou na Liga Feminina de Combate ao Câncer do município de Santo Ângelo, RS. NewsLab. 2006;76:108-16.
12. Irion CI, Buffon A. Avaliação da adequabilidade das amostras de exames citopatológicos realizados em um laboratório de Porto Alegre-RS no ano de 2005. Rev. Bras. Anal. Clín. 2009;41(3):217-20.
13. Gompel C, Koss LG. Citologia Ginecológica e suas bases anatomoclinicas. São Paulo: Manole. 1997
14. Mckee GT. Citopatologia. São Paulo: Editora Artes Médicas, 2001.
15. Rama C, Roteli-Martins C, Derchain S, Longatto-Filho A, Gontijo R, Sarian L et al. Rastreamento anterior para câncer de colo uterino em mulheres com alterações citológicas ou histológicas. Rev. Saúde Pública. 2008;42(3):411-9.

Correspondência

Vera Regina Andrade Vargas
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI)
Erechim-RS, Brasil
e-mail: vvargas@urisan.tche.br

Prevalência de câncer do colo uterino na fronteira Brasil-Argentina

Prevalence of cervical cancer in Brazil-Argentina border

Luciane N. Cali²

Patrícia M. Oliveira¹

Ritiéle P. Coelho¹

Cleci M. Moreira¹

Alexandre M. Fuentesfria²

Resumo

Tendo em vista a importância de se identificarem alterações citológicas e as lesões precursoras do câncer cervical, este trabalho teve como objetivos determinar estas alterações, a faixa etária das mulheres mais atingidas, bem como identificar o número total de mulheres que realizaram o rastreamento em Uruguaiana, cidade de fronteira entre Brasil e Argentina. Para tanto, foi realizado um estudo observacional, transversal e retrospectivo, que abrangeu as mulheres que realizaram o exame preventivo pela Secretaria Municipal de Saúde, no período de 2004 a 2008. Dos 27.343 exames realizados, 560 estavam com alguma alteração, sendo diagnosticados, neste período, 29 casos de câncer, dos quais três eram de adenocarcinoma. A faixa etária mais atingida pelo câncer foi de 35 a 55 anos, entretanto, em 2007, dos cinco casos diagnosticados, em dois deles as mulheres tinham acima dos 60 anos. Já as alterações citológicas foram observadas em maior quantidade na faixa etária de 12 a 35 anos. O estudo conclui que o número de casos de câncer diminuiu neste período provavelmente devido ao maior número de mulheres rastreadas, o que contribuiu para um maior controle das lesões precursoras, justificando a necessidade de estimular a continuidade de campanhas de incentivo para a realização deste exame.

Palavras-chave

Citopatologia; lesões cervicais; epidemiologia

INTRODUÇÃO

A cada ano, aproximadamente 500 mil novos casos de câncer cervical são diagnosticados no mundo e cerca de 250 mil mulheres morrem, sendo considerada a segunda causa de morte mais frequente entre as mesmas.⁽¹⁾

Classicamente, a história natural do câncer do colo do útero é descrita devido a infecção persistente pelo Papilomavírus humano (HPV) no trato anogenital, caracterizada inicialmente pela presença de verrugas ou lesões condilomatosas. Desde que se identificaram estas lesões como precursoras do câncer de colo uterino na década de 1970, várias investigações têm sido realizadas com o objetivo de conhecer o papel da atividade sexual nesta etiologia. Indica-se que mulheres que iniciaram precocemente as atividades sexuais ou que tiveram vários parceiros consequentemente teriam maiores riscos de desenvolver futuramente o câncer cervical.⁽²⁾

Estima-se que 6,2 milhões de mulheres americanas sejam anualmente infectadas pelo HPV, sendo considerada a infecção sexual mais comum.⁽³⁾ A prevenção do câncer

cervical é possível, pois sua evolução, em geral, ocorre de forma lenta, com fases pré-clínicas detectáveis, caracterizadas por lesões de alto grau (HSIL), que podem evoluir para câncer do colo uterino ao longo de um período de até 10 anos, exibindo expressivo potencial de cura dentre todos os tipos de câncer.^(4,5) Em muitos países desenvolvidos que possuem programas efetivos de rastreamento organizado, a incidência de câncer cervical e as taxas de mortalidade foram reduzidas substancialmente.⁽⁶⁾

No Brasil, os índices são semelhantes ao resto do mundo, pois o câncer do colo uterino constitui o segundo tipo de tumor maligno mais comum entre as brasileiras e a quarta causa de morte.⁽⁷⁾ Em 2014, segundo o Instituto Nacional de Câncer – Inca,⁽⁸⁾ o câncer do colo do útero teve uma incidência de 15,3 novos casos no Brasil, sendo que a região sul apresentou-se como a terceira região de maior incidência com 2.320 casos. Para o Rio Grande do Sul, a estimativa para este ano com relação às taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes e de número de casos novos foi de 840, com uma taxa bruta de 14,63 a cada 100 mil mulheres.⁽⁸⁾

¹Curso de Farmácia, Universidade Federal do Pampa, Unipampa – Bagé-RS, Brasil.

²Departamento de Análises, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS – Porto Alegre-RS, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS – Porto Alegre-RS, Brasil.

Recebido em 08/07/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

Mulheres com lesões intraepiteliais escamosas de alto grau e câncer cervical geralmente possuem infecção por HPV oncogênico ou de alto risco. Aproximadamente 70% dos cânceres cervicais são causados pelo HPV 16 ou 18 e 90% das verrugas vulvares são causadas pelos HPVs tipo 6 ou 11, considerados de baixo risco oncogênico.⁽⁹⁾ Na cérvix, a infecção inicial ocorre nas células basais por meio de pequenas lesões no tecido ou durante o processo de metaplasia de células escamosas na zona de transformação quando as células basais são expostas. Uma vez que o HPV atinge as células-alvo, este permanece latente ou inicia seu processo de replicação no núcleo, resultando na síntese e liberação de partículas virais infectantes.⁽¹⁰⁾

Os programas de rastreamento ou *screening* sistemático da população feminina 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 desse câncer.⁽¹¹⁾ No entanto, apesar de ter sido um dos primeiros países no mundo a adotar esta ferramenta diagnóstica no Brasil, o câncer do colo do útero ainda é um grave problema de saúde pública, com o diagnóstico sendo frequentemente realizado nos estágios avançados da doença.⁽¹²⁾

Devido à importância epidemiológica desse tema e, sobretudo, em virtude da necessidade de se conhecer a prevalência das alterações cervicais inflamatórias e citológicas em regiões fronteiriças do Brasil, esse estudo teve por objetivos determinar estas alterações, a faixa etária mais atingida, bem como identificar o número de mulheres que realizam este rastreamento na cidade de Uruguaiana, no Sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional, transversal e retrospectivo, de base populacional, no município de Uruguaiana, localizado no extremo oeste do Rio Grande do Sul, a 625 km de Porto Alegre, na fronteira com a Argentina. O município avaliado possui cerca de 140 mil habitantes de acordo com o último censo realizado no Brasil.

Este estudo caracteriza-se através de uma pesquisa quantitativa sobre alterações cervicais inflamatórias e citológicas utilizando-se como instrumento de pesquisa o banco público de dados da Secretária Municipal de Saúde de Uruguaiana. Para a análise estratificada em função da faixa etária, utilizou-se o número de mulheres que realizaram o exame preventivo do colo uterino no período de 2004 a 2008.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período avaliado por este estudo foram efetuados 27.343 exames. Dos 3.354 exames citopatológicos realizados durante o ano de 2004 em Uruguaiana, 101 estavam

com algum tipo de alteração. Destes, sete apresentaram o diagnóstico de câncer cervical. Em 2005, dos 4.960 exames citopatológicos realizados, 133 apresentaram alterações, e em dez deles foi diagnosticado câncer do colo do útero. Das 5.895 de mulheres que realizaram o exame no ano de 2006, 130 obtiveram resultados com alterações e cinco tinham câncer do colo do útero. Em 2007, dos 7.044 citopatológicos realizados, em 122 encontrou-se alterações, onde novamente em cinco observou-se a presença de câncer cervical. No ano de 2008, dos 6.090 resultados apresentados, apenas 74 apresentaram alterações, onde em dois deles foi encontrada a presença de células compatíveis com diagnóstico de câncer do colo do útero.

Como observado na Tabela 1, o número de casos de câncer de colo uterino em Uruguaiana apresentou uma queda a partir de 2005 até 2008. Esta diminuição da prevalência é provavelmente consequência do aumento do número de mulheres que realizaram o exame citopatológico, passando de 9,75% em 2005 para 17,38% em 2008. Resultados semelhantes ao nosso estudo foram encontrados em pesquisa realizada na cidade de Maringá,⁽¹¹⁾ onde a cobertura de rastreamento foi de aproximadamente 16%, embora ainda seja um percentual muito aquém da meta preconizada de 80%.

Tabela 1 - Prevalência de casos de câncer do colo do útero em mulheres de Uruguaiana-RS

Ano	Número de casos para cada 1.000 mulheres
2004	2,10
2005	2,00
2006	0,85
2007	0,71
2008	0,33

Campanhas de incentivo à realização deste exame que é simples e de baixo custo permitem um diagnóstico precoce através da identificação de lesões precursoras. O Programa "Viva Mulher" (Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero), assim como os demais programas de prevenção primária e detecção precoce de doenças e agravos não transmissíveis, tem o sentido de alcançar os grupos mais vulneráveis, orientando o enfoque de políticas e ações educativas a fim de aumentar sua eficiência e efetividade.⁽¹²⁾

O incremento da adesão das mulheres à realização do exame preventivo ao longo dos anos também foi observado em estudo realizado no Recife.⁽¹⁰⁾ A cobertura de exames realizados foi de 11,1% em 2000 e 23,1% em 2004, verificando-se um aumento em torno de 100% na realização do exame, entre os anos 2000 e 2004, fato este decorrente, provavelmente, da melhoria de registro dos dados no

sistema. Neste estudo, observou-se que o maior percentual de óbitos por câncer do colo do útero (53,3%) ocorreu em residentes nos bairros pertencentes aos piores estratos de condição de vida do município, indicando a baixa efetividade das políticas públicas de controle na população de baixo nível socioeconômico.

Existe uma ligação entre as regiões pouco desenvolvidas e o câncer do colo do útero, medida por meio de indicadores de baixa condição socioeconômica, tais como: reduzida expectativa de vida, poucos médicos, mais crianças com baixo peso ao nascer e mais adultos com tuberculose e HIV (vírus da imunodeficiência humana). Este fato foi demonstrado por Desruisseau et al.⁽¹³⁾ em estudo que comparou a epidemiologia do HPV (agente etiológico do câncer cervical) e HIV, no qual as mulheres positivas para HIV apresentaram maior positividade também para mais de um tipo de HPV e para os oncogênicos do que as HIV negativas.

De 2004 a 2008, o percentual de exames preventivos realizados, através da técnica de Papanicolaou, variou de 9,57% a 20,11%, sendo o ápice em 2007, e a menor taxa de realização foi no ano de 2004. Segundo uma revisão sis-

temática sobre os determinantes e a cobertura do exame de Papanicolaou no Brasil, a não realização do exame associa-se a diversos fatores: baixa ou elevada idade, baixa escolaridade, baixo nível socioeconômico, baixa renda familiar, viver sem companheiro, cor parda, uso de contraceptivo oral, ausência de problemas ginecológicos, vergonha ou medo em relação ao exame e dificuldade de acesso à assistência médica.⁽¹⁰⁾

Em nosso estudo, até 2005 foram rastreadas mulheres acima de 16 anos; a partir desse ano, foram incluídas mulheres a partir de 12 anos, sexualmente ativas, o que demonstra também uma precocidade sexual. A faixa etária mais atingida por este tipo de câncer foi de 35 a 55 anos, apresentando semelhanças a um estudo anterior realizado no município do Rio de Janeiro,⁽¹⁴⁾ onde a faixa etária de maior risco para o desenvolvimento do câncer cervical foi entre 46 e 56 anos. No entanto, a faixa etária que maior apresenta alterações celulares é de 12 a 35 anos, como observado na Tabela 2, resultado semelhante ao encontrado em um estudo em Rio de Janeiro,⁽⁵⁾ que indicou que a incidência de alterações citopatológicas foi maior no primeiro ano de atividade sexual (24,1%).

Tabela 2 - Casos de alterações citológicas notificadas em Uruguaiana e estratificadas pelas faixas etárias nos anos de 2004 a 2008

Idade	2004				2005				2006				2007				2008			
	LIE B	LIE A	Carc.	Aden.	LIE B	LIE A	Carc.	Aden.	LIE B	LIE A	Carc.	Aden.	LIE B	LIE A	Carc.	Aden.	LIE B	LIE A	Carc.	Aden.
16-25	31	9	0	0	41	4	0	0	34	4	0	0	34	4	0	0	20	3	0	0
26-35	17	11	2	0	29	12	2	0	30	10	0	0	27	8	0	0	10	8	0	0
36-45	15	7	3	0	14	7	7	0	20	13	1	0	20	10	1	0	11	8	0	1
46-55	3	1	1	0	3	1	0	0	3	5	3	0	7	4	2	0	5	3	0	1
55-65	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	3	1	0	0	1	0	0
> 65	0	0	0	1	0	11	1	0	0	2	1	0	0	0	1	0	1	2	0	0
Total	66	28	6	1	87	36	10	0	90	35	5	0	88	29	5	0	47	25	0	2
	101				133				130				122				74			

LIE A = Lesão intraepitelial de alto grau; LIE B = Lesão intraepitelial de baixo grau; Carc. = Carcinoma; Aden. = Adenoma

De acordo com o protocolo publicado pela *American Cancer Society* e do Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas, recomenda-se o exame de rastreamento anual entre as idades de 21 e 30 anos. Após essa idade, quando três exames consecutivos anuais forem normais, o exame de Papanicolaou pode ser realizado a cada dois ou três anos.⁽¹⁵⁾

Desde 1988, o Ministério da Saúde do Brasil adota como norma a recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS), que preconiza a realização do exame citológico do colo do útero a cada três anos para mulheres de 25-59 anos de idade que já tenham iniciado atividade sexual ou que tenham tido dois exames anuais consecutivos negativos.⁽¹¹⁾ Atualmente o laudo citológico segue o Sis-

tema Brasileiro de Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais, criado com o objetivo de uniformizar a nomenclatura e reduzir confusões diagnósticas.

Utilizam-se atualmente os termos citológicos ASC-US (células escamosas atípicas, de significado indeterminado), "ASC-H" (células escamosas atípicas não se podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau), LSIL (lesão intraepitelial de baixo grau) ou NIC I, HSIL (lesão intraepitelial de alto grau e carcinoma "in situ") ou NICII e NIC III, respectivamente. Esta nova categoria, no entanto, apresenta limitações, pois não define se as alterações presentes à citologia são reparativas ou neoplásicas.⁽¹⁶⁾ Neste estudo, foram verificados fora dessa faixa etária sete (31,8%) e dez (33,3%) casos de LSIL e HSIL, respectivamente.

A cobertura da realização de exame citopatológico do colo uterino nos anos de 2004 a 2008, apresentada em percentual, foi considerada regular na cidade de Uruguaiana. Esta cobertura é semelhante à obtida em Pelotas,⁽¹⁷⁾ e no município de Rio Branco.⁽⁸⁾ Os resultados aqui apresentados sugerem a necessidade de aumentar o incentivo à realização deste exame entre mulheres do grupo de risco para desenvolver este tipo de câncer, bem como avaliar a qualidade dos exames prestados em serviços públicos e acompanhar o seguimento das mulheres submetidas ao teste, a fim de garantir a eficiência da cobertura populacional do exame preventivo.⁽¹⁸⁾ A triagem deve ser ampliada para contemplar mulheres mais jovens, tomando como base o aumento da incidência de lesões de alto grau entre as pacientes com idade entre 20 e 34 anos, o que também foi sugerido por um estudo na cidade de Maringá.

CONCLUSÃO

Houve uma diminuição na prevalência do câncer do colo uterino e um aumento no número de mulheres que realizaram o exame preventivo entre 2005 e 2008 em Uruguaiana. Apesar do aumento, a cobertura ainda está longe de alcançar a população mais atingida, que foi aquela que abrange a faixa etária entre 35 e 55 anos. Esse tipo de câncer, se detectado e tratado em fases precursoras, pode chegar a um índice de 100% de cura ou, ainda, pode ter suas estatísticas de mortalidade reduzidas em 80% se houver um rastreamento eficiente.

A educação para saúde do público em geral, através de campanhas de esclarecimento e estímulo à adesão aos programas de acompanhamento e prevenção, associadas à eficácia dos métodos diagnósticos, são as chaves para o sucesso de novas estratégias para combater o câncer cervical. Cabe ressaltar que a baixa frequência de lesões precursoras observada no período é um importante marcador na avaliação do processo de evolução do carcinoma nesta população. Este fato evidencia a necessidade de continuar as atividades de prevenção, na tentativa de cada vez mais minimizar as taxas de morbi-mortalidade por esta patologia nessa região. Sugere-se a realização de estudos longitudinais, em parceria com o poder público local, com número representativo de casos para um acompanhamento contínuo da eficácia dos programas preventivos.

Abstract

Given the importance of identifying abnormal cytology and cervix cancer precursor lesions, this study aimed to determine these changes, the age group of women most affected and identifies the total number of women who did screening in Uruguaiana, city border between Brazil and Argentina. For this, we performed an observational, cross sectional and retrospective study, which included women who did the screening test by the Municipal Health Secretariat in the period 2004 to 2008. Of the 27.343 tests, 560 were with some modification, being diagnosed in this

period, 29 cases of cancer, of who three were adenocarcinoma. The age group most affected by cancer was 35-55 years, however, in 2007 of five cases diagnosed in two patients, women had over 60 years. Already, cytological abnormalities were observed in greater quantity in the age group 12-35 years. The present study concluded that the number of cancer cases decreased during this period probably due to the greater number of women screened, which has contributed to greater control of precursor lesions, justifying the need to encourage continuity of campaigns for this exam.

Keywords

Cytopathology; cervical lesion; epidemiology

REFERÊNCIAS

1. Velicer C, Zhu X, Vuocolo S, Liaw KI, Saah A. Prevalence and Incidence of HPV Genital Infection in women. *Sex Transm Dis.* 2009 Nov;36(11):696-703.
2. Santos JO, Da Silva SR, Dos Santos CF, Araújo MCS, Bueno SD. Alterações cervico-uterinas em mulheres atendidas em uma Unidade Básica de Saúde no município de Campinas-SP. *REME - Rev. Min. Enf* 2007;11(4):439-445
3. Wingood GM, Seth P, DiClemente RJ, Robinson LS. Association of sexual abuse with incident high-risk human papillomavirus infection among young African-American women. *Sex Transm Dis.* 2009 Dec;36(12):784-6.
4. Christopoulos P, Papadias K, Panoulis K, Deligeoroglou E. Human papillomavirus in adolescence. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2008; 35(4):248-51.
5. Rama C, Martins C, Derchain S, Longatto-Filho A, Gontijo R, Sarian L, et al. Rastreamento anterior para câncer de colo uterino em mulheres com alterações citológicas ou histológicas. *Rev. Saúde Pública* [Internet]. 2008 June;42(3): 411-419. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102008000300004&lng=en.
6. Grace M. Primary and secondary prevention of cervical cancer. *Expert Rev Mol Diagn.* 2009;9(8):851-7.
7. Thum M, Heck RM, Soares MC, Depra AS. Câncer de colo uterino: percepção das mulheres sobre prevenção. *Cienc Cuid Saude* 2008; 7(4):509-16.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014> (accessed on 01/Nov/2015).
9. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. Human papillomavirus and cervical neoplasia. *Cad Saúde Pública* 2009; 25: 953-64.
10. Santana EA, Biselli PM, Biselli JM, Almeida MG, Bertelli EP. Cervical cancer: etiology, diagnosis and prevention. *Arq Ciênc Saúde* 2008;15(4):199-204.
11. Abreu ALP, Souza RP, Gimenes F, Consolaro ME. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Viro J.* 2012 Nov 6;9:262.
12. Da Cruz DE, Jardim DP. Adolescência e Papanicolaou: Conhecimento e Prática. *Adolesc. Saude, Rio de Janeiro* 2013;10, supl. 1: 34-42.
13. Desruisseau AJ, Schmidt-Griminger D, Welty E. Epidemiology of HPV in HIV-positive and HIV-negative fertile women in Cameroon, West Africa. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2009;2009:810596
14. Carvalho MCMP, Queiroz ABA. Mulheres Portadoras de lesões precursoras do câncer de colo e HPV: Descrição do perfil sócio-econômico e demográfico. *J Bras de Doenças Sex transm* 2011; 23(1):23-33.
15. Monteiro DM, Trajano AJ, Silva KS, Russomano FB. Incidence of cervical intraepithelial lesions in a population of adolescents treated in public health services in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saude Publica* 2009;25:1113-22.

16. Veiga FR, Russomano F, Camargo MJ, Monteiro AS, Reis A. Prevalência das lesões intra-epiteliais de alto grau em pacientes com citologia com diagnóstico persistente da ASCUS. Rev Bras Ginecol Obstet 2006;28:75-80.
17. Uchimura NS, Nakano K, Nakano LCG, Uchimura TT. Qualidade e desempenho do Papanicolaou em um programa de rastreamento do câncer do colo do útero em uma cidade do sul do Brasil. Rev Assoc Med Bras 2009;55:569-74.
18. Borges MFSO, Dotto LMG, Koifman RJ, Cunha MA, Muniz PT. Prevalência do exame preventivo de câncer do colo do útero em Rio Branco, Acre, Brasil, e fatores associados a não-realização do exame. Cad Saude Publ 2012; 28(6):1156-66.

Correspondência

Alexandre Meneghello Fuentefria
Departamento de Análises,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Avenida Ipiranga 2752, Bairro Santana
90610-000 – Porto Alegre-RS, Brasil
e-mail: alexmf77@gmail.com

Presença de células endocervicais em esfregaços citológicos com alterações em células escamosas: estudo de prevalência

Endocervical cell presence in cytological smears with squamous cell changes: study of prevalence

Daniel Fernandes de Oliveira¹

Mara Cristina Nolasco Sampaio¹

Nadja Lindany Alves de Souza¹

Suelene Brito do Nascimento Tavares¹

Rosane Ribeiro Figueiredo Alves²

Sílvia Helena Rabelo-Santos¹

Resumo

A representação de células endocervicais é considerada uma condição necessária à adequabilidade do esfregaço cervical. Elas indicam uma boa amostragem da zona de transformação, região onde se inicia a maioria das lesões precursoras e carcinomas cervicais. Contudo, existem controvérsias a respeito da relevância da presença de células endocervicais na detecção de achados citológicos anormais. Nosso objetivo foi determinar a prevalência de células endocervicais em esfregaços citológicos sugestivos de anormalidades em células escamosas com o intuito de avaliar a qualidade dos mesmos em relação ao critério de representação celular. Para a realização deste estudo foram utilizados 2.210 resultados de exames citopatológicos alterados, incluindo atipias de significado indeterminado, lesões intraepiteliais escamosas e carcinomas invasores. Os exames incluídos foram analisados no Laboratório Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás de janeiro de 2002 a dezembro de 2007. A prevalência de células endocervicais variou entre 87,07% e 95,74%. Houve maior prevalência destas células nos esfregaços com diagnóstico citológico de lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) (95,74%). Estes dados refletem uma adequada representação celular dos esfregaços citológicos em todo o período analisado e sugerem uma relação entre a representação de células endocervicais e a detecção de alterações em células escamosas.

Palavras-chave

Neoplasias do colo do útero; esfregaço vaginal; citologia

INTRODUÇÃO

O câncer cervical é o segundo tipo mais comum em mulheres no mundo todo, com uma estimativa anual de mais 500 mil novos casos que resultam em aproximadamente 265 mil óbitos.⁽¹⁾ Ainda é um problema de saúde pública, principalmente em regiões menos desenvolvidas, visto que alcança altas taxas de incidência e mortalidade em mulheres de estratos socioeconômicos mais baixos e que se encontram na fase reprodutiva.^(1,2)

Acredita-se que o exame citopatológico seja a melhor estratégia para a detecção precoce e prevenção do câncer cervical.⁽³⁾ Em países desenvolvidos, a implementação de programas de rastreamento de ampla cobertura tem levado a uma considerável redução na incidência e mortalidade por câncer cervical, devido à detecção e tratamento de lesões precursoras e cânceres em estágios iniciais.⁽⁴⁾ A citologia cervical convencional, que consiste na coleta, preparação e

análise das células cervicais esfoliadas, é um procedimento comum e muito utilizado para o diagnóstico do câncer do colo uterino. Estima-se que a sensibilidade da citologia convencional varie entre 30% e 87% e sua especificidade entre 86% e 100%. Entretanto, as taxas de resultados falso-negativos podem alcançar valores entre 25% e 50%.^(5,6) Mais de 90% destes resultados falso-negativos são causados por limitações de amostragem (coleta) e preparação do esfregaço cervical. A utilização de dispositivos de coleta, como a escova ginecológica (*cytobrush*), tem melhorado a representatividade de células endocervicais e pode estar relacionada a um decréscimo nas taxas de resultados falso-negativos.⁽⁷⁾

O método de coleta em meio líquido tem sido apontado como uma alternativa para melhorar a adequabilidade da amostra, diminuir o número de esfregaços insatisfatórios e aumentar o percentual de detecção de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (LIEAG).^(6,8,9) Porém, uma recente metanálise mostrou que não há diferença significati-

¹Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

²Faculdade de Medicina da Universidade Católica de Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

Instituição: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

Recebido em 07/04/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

va na proporção de esfregaços insatisfatórios e no diagnóstico de LIEAG quando se compara a citologia convencional à citologia em meio líquido.⁽¹⁰⁾

O esfregaço cervical deve conter um número adequado de células que sejam representativas de todo o sítio anatômico. A representação de células endocervicais é considerada uma condição necessária, porém não suficiente para a adequabilidade do esfregaço cervical. A presença destas células pode ser condicionada por diversos fatores, tais como idade da paciente, fase do ciclo menstrual, gravidez, paridade, uso de métodos contraceptivos, entre outros.⁽¹¹⁾ Quando presentes, as células endocervicais indicam uma boa representação da zona de transformação, região onde se inicia a maioria das lesões precursoras e carcinomas cervicais.^(12,13) O Sistema de Bethesda, revisado em 2001, recomenda que, para se considerar a presença de componentes do canal endocervical e da zona de transformação, deve ser observado um número mínimo de dez células endocervicais ou metaplásicas bem preservadas, isoladas ou em grupamentos.^(13,14)

Existem controvérsias a respeito da relevância clínica da presença de células endocervicais na detecção de achados citológicos anormais. Estudos têm mostrado que células escamosas atípicas sugestivas de lesões intraepiteliais escamosas são encontradas com menor frequência em amostras que não apresentam células endocervicais.⁽¹⁵⁻²⁰⁾ Contudo, alguns autores mostraram que não há diferença significativa nas taxas de detecção de atipias epiteliais entre exames com e sem a presença de células endocervicais.^(11,21) A conduta preferencial em mulheres submetidas

ao rastreamento de rotina é a repetição do exame em doze meses. Segundo a Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical (*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*), realizar o exame citopatológico dentro de um período de seis meses pode ser benéfico em alguns casos. Dentre as indicações para se realizar uma repetição precoce está a não visualização da cérvix e a ausência de componentes representativos do canal cervical.^(13,22)

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo determinar a prevalência de células endocervicais em esfregaços citológicos sugestivos de anormalidades em células escamosas com o intuito de avaliar a qualidade dos mesmos em relação ao critério de representação celular.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foi utilizada uma amostra composta por 2.210 resultados de exames citopatológicos alterados, incluindo atipias de significado indeterminado, lesões intraepiteliais escamosas e carcinomas invasores (Figura 1). Os exames incluídos, provenientes de unidades básicas de saúde da cidade de Goiânia e entorno, foram analisados no Laboratório Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2007. Os dados foram obtidos através dos formulários de Requisição de Exame Citopatológico e inseridos em um banco de dados no programa Epi Info™ versão 3.3.2. Para a análise dos dados foram utilizados os programas SAS (*Statistical Analysis System*) (1999) e Microsoft Excel (2003).

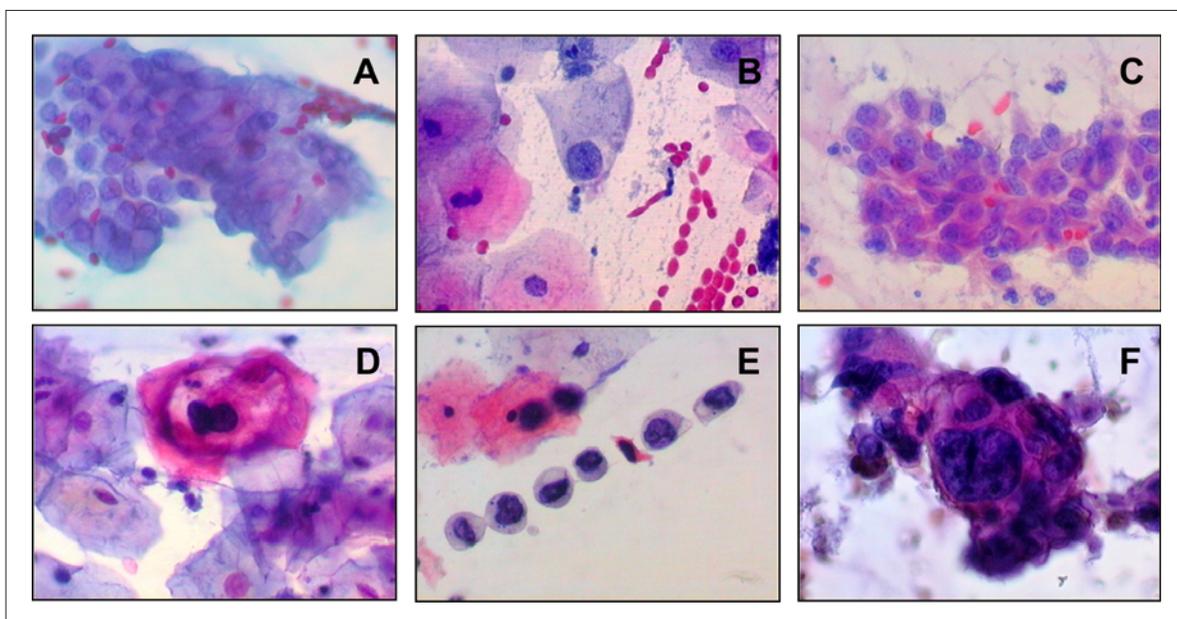


Figura 1. Imagens de esfregaços cervicais corados pelo método de Papanicolaou modificado. Aumento de 400x. **A:** Células endocervicais normais. **B:** Células escamosas atípicas possivelmente não neoplásicas. **C:** Células escamosas atípicas não podendo afastar lesão intraepitelial de alto grau. **D:** Células escamosas maduras discarióticas sugestivas de LIEBG. **E:** Células escamosas jovens discarióticas sugestivas de LIEAG. **F:** Células com características de malignidade sugestivas de CEC.

Até o ano de 2006, os formulários de requisição encaminhados ao Laboratório Rômulo Rocha não continham informações sobre os tipos celulares presentes no esfregaço. Dessa forma, a presença ou ausência de células endocervicais (Figura 1-A) foi determinada pela descrição da adequabilidade da amostra. Considerou-se a presença de células endocervicais quando a amostra era classificada como satisfatória ou satisfatória com alguma limitação exceto a ausência de células endocervicais. Para os exames de 2006 e 2007, o critério utilizado para a verificação da presença destas células foi a sua indicação no formulário de requisição.

Os formulários de requisição também trazem informações diferentes quanto à classificação das alterações em células escamosas. Modificações realizadas no Sistema de Bethesda em 2001 alteraram a forma de se classificarem as atípicas escamosas, porém esta classificação não era especificada nos formulários de 2002 a 2005. Portanto, este estudo considera como células escamosas atípicas de significado indeterminado as atípicas celulares possivelmente não neoplásicas e os casos onde não se pode afastar lesão intraepitelial de alto grau, como descrito na Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais e Condutas Preconizadas.⁽²³⁾

RESULTADOS

A distribuição dos diagnósticos citológicos sugestivos de anormalidades em células escamosas está descrita na Tabela 1. Considerando os 2.210 exames analisados, houve uma maior prevalência de diagnósticos sugestivos de células escamosas atípicas de significado indeterminado, 46,4% (1.026/2.210). Esfregaços sugestivos de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LIEBG) e LIEAG foram observados em 32,9% (727/2.210) e 20,2% (446/2.210) dos casos, respectivamente. O diagnóstico de carcinoma espinocelular (CEC) foi observado somente em 0,5% (11/2.210) dos exames amostrados. Nos anos de 2002 a 2007, não houve diferença significativa na frequência da representação de células endocervicais em esfregaços com alterações em células escamosas. Os valores variaram de 87,2% (239/274) a 93,2% (207/222), como mostra a Tabela 2.

Tabela 1 - Distribuição dos diagnósticos citológicos sugestivos de anormalidades em células escamosas

Diagnóstico citológico	n	%
Células escamosas atípicas de significado indeterminado	1.026	46,4
LIEBG	727	32,9
LIEAG	446	20,2
CEC	11	0,5
TOTAL	2.210	100,0

LIEBG- Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; LIEAG - Lesão intraepitelial escamosa de alto grau; CEC - Carcinoma espinocelular

Tabela 2 - Frequência de representação de células endocervicais em esfregaços com alterações em células escamosas nos anos de 2002 a 2007

Ano	Número de casos	Presença de células endocervicais		Ausência de células endocervicais	
		n	%	n	%
2002	274	239	87,23	35	12,77
2003	222	207	93,24	15	6,76
2004	140	128	91,43	12	8,57
2005	541	487	90,02	54	9,98
2006	265	241	90,94	24	9,06
2007	768	686	89,32	82	10,68
Total	2.210	1.988	89,95	222	10,05

Nos diferentes diagnósticos citológicos, verificou-se uma pequena variação quanto à representatividade de células endocervicais. Em todos eles, a prevalência destas células foi superior a 87%. Esta prevalência foi maior nos esfregaços com diagnóstico citológico sugestivo de LIEAG (95,7%) (Tabela 3).

Tabela 3 - Relação entre o diagnóstico citológico e a presença de células endocervicais no período de 2002 a 2007

Diagnóstico citológico	Presença de células endocervicais		Ausência de células endocervicais		Total
	n	%	n	%	
Células escamosas atípicas de significado indeterminado	918	89,47	108	10,33	1026
LIEBG	633	87,07	94	12,93	727
LIEAG	427	95,74	19	4,26	446
CEC	10	90,91	1	9,09	11
Total	1.988	89,95	222	10,05	2.210

LIEBG- Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; LIEAG - Lesão intraepitelial escamosa de alto grau; CEC - Carcinoma espinocelular

DISCUSSÃO

Células endocervicais foram encontradas na maioria dos esfregaços com anormalidades em células escamosas. Isto reflete a boa qualidade, em relação ao critério de representação celular, dos esfregaços encaminhados ao Laboratório Rômulo Rocha. O exame citopatológico requer uma amostragem tanto do epitélio escamoso (ectocérvice) como do epitélio endocervical, utilizando instrumentos de coleta apropriados.⁽²⁴⁾ A recomendação do Ministério da Saúde (MS) para os programas de rastreamento do câncer cervical nas Unidades de Saúde é que se utilize a espátula de Ayre para a amostragem do epitélio ectocervical e a escova ginecológica para a amostragem das células do epitélio endocervical.^(23,25) O Laboratório Rômulo Rocha recebe esfregaços cervicais colhidos em unidades básicas de saúde da cidade de Goiânia e entorno, que seguem as recomendações do Ministério da Saúde em relação aos dispositivos de coleta. Este fato pode justificar a alta prevalência de células endocervicais em

esfregaços sugestivos de anormalidades em células escamosas encontrada neste estudo.

Carneiro et al. (8º Congresso Regional de Análises Clínicas do Centro-Oeste, 2007) avaliaram os resultados de 6.856 esfregaços cervicais analisados no Laboratório Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás entre julho de 2006 e agosto de 2007. As prevalências dos diagnósticos de anormalidades em células epiteliais foram calculadas em esfregaços com representação de células escamosas e esfregaços com representação de células escamosas e endocervicais. Estes autores demonstraram que anormalidades em células epiteliais foram diagnosticadas em 3,7% dos esfregaços com representação exclusiva de células escamosas e em 10,9% dos esfregaços com representação endocervical.

Um dos critérios de adequabilidade dos esfregaços citológicos, segundo o Sistema de Bethesda (2001), é a representatividade de células endocervicais. A representação de células do canal cervical sugere que a zona de transformação, sítio de maior ocorrência de lesões cervicais, está representada no esfregaço.⁽¹³⁾ Assim, a presença de células endocervicais leva a uma maior detecção de anormalidades em células escamosas.^(15,16,17,19,20) Resultados de um estudo desenvolvido por Zeferino et al.⁽¹⁸⁾ verificaram que amostras representativas do canal cervical possuem um maior desempenho no diagnóstico de lesões de alto grau. Contudo, a detecção de lesões de baixo grau mostrou um desempenho semelhante, tanto em esfregaços coletados somente da região ectocervical quanto em esfregaços amostrados da ectocérvice e do canal cervical. Estes resultados comprovam a importância de uma amostragem representativa de todo o colo uterino para um diagnóstico citológico adequado.

Uma meta-análise desenvolvida por Martin-Hirsch et al.⁽¹⁹⁾ confirmou a associação entre a presença de células endocervicais e a detecção de anormalidades citológicas. Entretanto, o mesmo estudo relata que alguns fatores podem estar relacionados, de forma independente, a esta associação. A idade da mulher pode ser um desses fatores. Em mulheres no período pós-menopausa ocorre uma diminuição do risco para o desenvolvimento de lesões cervicais. No mesmo período, também há uma menor frequência de achados endocervicais em exames citopatológicos devido ao processo atrófico que estreita o orifício externo do colo uterino e faz com que a junção escamocolunar localize-se no interior do canal.

Existem controvérsias em relação à presença de células endocervicais e a identificação de achados citológicos anormais.^(15,16,19) Siebers et al.⁽¹⁶⁾ sugeriram que a menor prevalência de anormalidades em exames limitados pela ausência de componentes endocervicais também pode estar relacionada à localização da zona de transformação. Em mulheres onde a zona de transformação encontra-se em uma

posição mais alta (entropia), há uma menor prevalência de esfregaços contendo células endocervicais. Do mesmo modo, estas mulheres podem apresentar uma menor suscetibilidade a fatores externos predisponentes ao câncer cervical, tais como a infecção pelo papilomavírus humano (HPV).

Por outro lado, um estudo realizado por Sultana et al.⁽²¹⁾ demonstrou que, no seguimento de mulheres com alterações citológicas de alto grau, houve uma taxa de confirmação destas lesões significativamente maior no exame histopatológico para os esfregaços que apresentavam células endocervicais quando comparados àqueles que não apresentavam este tipo celular. Entretanto, para os casos de carcinoma invasor não houve uma taxa significativa de confirmação.

Alguns trabalhos avaliaram a importância do número de células endocervicais presentes nos esfregaços.^(15,19) Um estudo realizado por Mintzer et al.⁽²⁶⁾ indicou que contagens baixas de células endocervicais (<25) não estão significativamente associadas com anormalidades escamosas. Contudo, quando a contagem de células endocervicais é ≥ 25 , existe uma relação significativa com o diagnóstico de anormalidades em células escamosas. Estes autores sugerem que a presença de componentes endocervicais pode ser usada como um parâmetro clínico significativo na avaliação da qualidade do esfregaço cervical. Em outro estudo, Ribeiro et al.⁽¹⁵⁾ correlacionaram o número de células endocervicais à quantidade de células atípicas em esfregaços com anormalidades citológicas. O número de células endocervicais e células escamosas atípicas foi computado de acordo com o seguinte escore: um (0-5 células); dois (6-10 células); três (11-25 células); quatro (26-50 células); e cinco (mais que 50 células). Estes autores demonstraram que esfregaços com um número de células endocervicais maior que 50 (escore cinco) foram significativamente associados à presença de no mínimo 10 células escamosas atípicas. O estudo também demonstrou que houve um maior número de células escamosas atípicas associadas à presença de componentes endocervicais em esfregaços sugestivos de LIEAG.

Em acordo com grande parte dos relatos encontrados na literatura, os resultados obtidos no presente estudo mostraram uma alta prevalência de células endocervicais em esfregaços cervicais sugestivos de anormalidades em células escamosas. Isto sugere uma possível relação entre a representação de células endocervicais e a detecção de alterações em células escamosas.

Agradecimentos

À Profa. Dra. Sílvia Helena Rabelo dos Santos pelo apoio, incentivo e dedicação. E à equipe do Laboratório Rômulo Rocha da UFG e aos mestrandos Marcelo, Andréa e Narriman por colaborarem para a realização deste trabalho.

Abstract

The representation of endocervical cells is considered a necessary condition for the adequacy of cervical smear. These cells indicate a good sampling of the transformation zone, a region where most of the precursor lesions and cervical carcinomas arises. However, there are controversies about the clinical relevance of the presence of endocervical cells in the detection of abnormal cytological findings. This study aims to determine the prevalence of endocervical cells in abnormal cervical smears to evaluate their quality regarding cellular representation criterion. Cervical smears were analyzed at Rômulo Rocha Laboratory of School of Pharmacy, Federal University of Goiás from January 2002 to December 2007. Data from 2210 results of abnormal smears, including atypia of undetermined significance, squamous intraepithelial lesions and invasive carcinomas were analyzed. The prevalence of endocervical cells ranged between 87.07% and 95.74%. There was higher prevalence of these cells in smears with cytological diagnosis of High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL) (95.74%). These data reflect the adequate cellular representation of cervical smears in all period analyzed and suggest a relationship between the representation of endocervical cells and the detection of abnormalities in cervical smears.

Keywords

Uterine cervical neoplasms; vaginal smears; cytology

REFERÊNCIAS

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(2):87-108.
2. Duavy LM, Batista FLR, Jorge MSB, Santos JBF. A percepção da mulher sobre o exame preventivo do câncer cérvico-uterino: estudo de caso. *Ciênc. saúde coletiva* [Internet]. 2007;12(3):733-742. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232007000300024&lng=en
3. Cong X, Cox DD, Cantor SB. Bayesian meta-analysis of Papanicolaou smear accuracy. *Gynecol Oncol*. 2007 Oct;107(1 Suppl 1):S133-7.
4. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine*. 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/63-70.
5. Celik C, Gezginç K, Toy H, Findik S, Yilmaz O. A comparison of liquid-based cytology with conventional cytology. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008 Feb;100(2):163-6.
6. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2000;132(10):810-9.
7. Rahnema P, Faghizadeh S, Ziaei S. Effect of the sampling sequence on the quality of Papanicolaou smear. *Int J Gynecol Cancer*. 2005 Jan-Feb;15(1):66-9.
8. Franco R, Amaral RG, Montemor EBL, Montis DM, Morais SS, Zeferino LC. Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino. *Rev Bras. Ginecol Obstet*. 2006; 28(8):479-85.
9. Sasieni P, Fielder H, Rose B. Liquid-based versus conventional cervical cytology. *Lancet*. 2006 May 6;367(9521):1481.
10. Davey E, Barratt A, Irwig L, Chan SF, Macaskill P, Mannes P, et al. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. *Lancet*. 2006; 367(9505):122-32.
11. Demay RM. *The Art and Science of Cytopathology: Exfoliative and Aspiration Cytology*. Chicago: ASCP Press, 1996. 1208 pp.
12. DiBonito L, Falconieri G, Tomasic G, Colautti I, Bonifacio D, Dudine S. Cervical cytopathology. An evolution of its accuracy based on cytohistologic comparison. *Cancer*. 1993 Nov 15;72(10):3002-6.
13. Birdsong GG, Davey DD. Specimen adequacy. In *The Bethesda system for reporting cervical cytology*. Springer International Publishing: 1-28, 2015.
14. Solomon D, Nayar R. *Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal*. Revinter. 2ª ed., 2004, p. 12, 1 v.
15. Ribeiro AA, Santos Sdo C, de Souza e Silva SR, Nascimento MA, Fonseca-Carvasan GA, Carneiro MA, et al. Endocervical component in conventional cervical smears: influence on detection of squamous cytologic abnormalities. *Diagn Cytopathol*. 2007 Apr;35(4):209-12.
16. Siebers AG, de Leeuw H, Verbeek AL, Hanselaar AG. Prevalence of squamous abnormalities in women with a recent smear without endocervical cells is lower as compared to women with smears with endocervical cells. *Cytopathology*. 2003 Apr;14(2):58-65.
17. Bos AB, van Ballegooijen M, van den Akker-van Marle ME, Hanselaar AG, van Oortmarssen GJ, Habbema JD. Endocervical status is not predictive of the incidence of cervical cancer in the years after negative smears. *Am J Clin Pathol*. 2001 Jun;115(6):851-5.
18. Zeferino LC, Catharino JMR, Araujo MAS, Silva LCB, Vedoato SR, Tambascia JK, et al. Desempenho das Amostras do Canal Cervical e do Fundo de Saco no Diagnóstico da Neoplasia do Colo Uterino. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [Internet]. 2000 Apr;22(3): 129-134. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032000000300002&lng=en.
19. Martin-Hirsch P, Lilford R, Jarvis G, Kitchener HC. Efficacy of cervical-smear collection devices: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 1999;354(9192):1763-70. Erratum in *Lancet* 2000;355(9201):414.
20. Vooijs PG, Elias A, Van der Graaf Y, Veling S. Relationship between the diagnosis of epithelial abnormalities and the composition of cervical smears. *Acta Cytol*. 1985;29:323-28.
21. Sultana F, English DR, Simpson JA, Canfell K, Gertig DM, Saville M. High-grade cervical abnormalities and cervical cancer in women following a negative Pap smear with and without an endocervical component: A cohort study with 10 years of follow-up. *Int J Cancer*. 2014 Sep 1;135(5):1213-9.
22. Davey DD, Austin RM, Birdsong G, Buck HW, Cox JT, Darragh TM, et al. ASCCP Patient Management Guidelines: Pap Test Specimen Adequacy and Quality Indicators. *J Low Genit Tract Dis*. 2002 Jul;6(3):195-9.
23. Brasil. Instituto Nacional de Câncer/Ministério da Saúde (INCA/MS). *Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais e Condutas Preconizadas: Recomendações para Profissionais de Saúde*. *J Bras Patol Med Lab*. 42(5): 351-373, 2006.
24. Arbyn M, Herbert A, Schenck U, Nieminen P, Jordan J, Mcgoogan E, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for collecting samples for conventional and liquid-based cytology. *Cytopathology*. 2007;18(3):133-9.
25. Brasil. Ministério da Saúde (MS). *Prevenção do câncer do colo do útero. Manual Técnico para Profissionais de Saúde*. Brasília, 2002.
26. Mintzer M, Curtis P, Resnick JC, Morrell D. The effect of the quality of Papanicolaou smears on the detection of cytologic abnormalities. *Cancer*. 1999 Jun 25;87(3):113-7.

Correspondência

Silvia Helena Rabelo dos Santos

Av. Universitária com a 1ª Avenida s/n, Setor Universitário
74605-220 – Goiânia-GO, Brasil
Fone: (62) 3209-6044 ramal 302
e-mail: silvia.rabelo@pesquisador.cnpq.br

Correlação entre citologia oncológica e a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) na detecção do papilomavírus humano na cérvix uterina

Correlation between oncology cytology and polymerase chain reaction technique (PCR) for detection of human papillomavirus in the uterine cervix

Monnyka Castro Lima¹

Fernanda Moura El Bayeh²

Samarah Yule F. C. Menegaz³

Thais Helena Dias Rodrigues⁴

Kivyo Rezende Vilarinho⁵

Camila Garcia M. Canevarolo⁶

Gismar Silva Vieira⁷

Samantha Ribeiro Béla⁸

Resumo

A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) tem sido descrita como um problema crescente de saúde pública devido à sua associação com o câncer cervical. O objetivo deste trabalho foi correlacionar, o estudo citopatológico com a Técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o diagnóstico do HPV. Amostras cervicais colhidas de 148 mulheres foram diagnosticadas quanto à presença ou ausência de características citológicas que indicam a infecção pelo HPV conforme nomenclatura utilizada. Foram selecionadas, dentro dos critérios estabelecidos, quarenta amostras cervicais para o diagnóstico molecular usando-se a Nested-Multiplex PCR. A PCR detectou a presença do vírus em 16/40 (40%) pacientes cuja citologia oncológica não detectou alterações celulares compatíveis com infecção pelo HPV. A técnica de PCR fornece resultados mais confiáveis, determinando-se não somente a presença do vírus, mas também a genotipagem viral de modo a possibilitar uma informação diagnóstica mais ampla, determinante na conduta da paciente.

Palavras-chave

HPV; PCR; Papanicolaou

INTRODUÇÃO

Com aproximadamente 500 mil casos novos por ano no mundo, o câncer do colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comum entre as mulheres, sendo responsável pelo óbito de, aproximadamente, 230 mil mulheres por ano. Sua incidência é cerca de duas vezes maior em países menos desenvolvidos comparado com os mais desenvolvidos tornando-se evidente na faixa etária de 20 a 29 anos e atingindo o máximo de incidência geralmente na faixa etária de 45 a 49 anos.⁽¹⁾

No Brasil, em 2010, foram esperados 18.430 números de casos novos de câncer do colo do útero, com um risco estimado de 18 casos a cada 100 mil mulheres, sendo a região norte (23/100.000) mais incidente, seguida pelas regiões centro-oeste (20/100.000), nordeste (18/100.000), sul (21/100.000) e sudeste (16/100.000).⁽¹⁾

Estudos recentes demonstraram que a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) precede o desenvolvimento do câncer de colo uterino, estando envolvido em até 97% dos casos, sendo ainda uma das doenças sexualmente transmissíveis mais frequentes em mulheres sexualmente

¹Biomédica, Pós-Graduanda Gestão Pública em Saúde, UFU; Pesquisadora em Desenvolvimento Tecnológico Industrial (CNPq), Geneal – Genética e Biotecnologia Animal - Análise, Pesquisa e Laboratório – Uberaba-MG, Brasil.

²Biomédica, Esp. Hematologia, Labsul Diagnósticos Clínico-Laboratoriais – Cruzeiro do Sul-AC, Brasil.

³Biomédica, Pós-Graduanda Acupuntura, IPGU-Unisaúde – Uberlândia-MG, Brasil.

⁴Biomédica, Araguari-MG, Brasil.

⁵Biólogo, Prof. Esp. Citologia Esfoliativa, Unipac; Laboratório Técnico de Citopatologia e Histopatologia Ltda (Latech) – Uberlândia-MG, Brasil.

⁶Biomédica, Prof. Esp. Citologia Esfoliativa, Unipac; Laboratório Exame – Uberlândia-MG, Brasil.

⁷Biólogo, Ms. Bioquímica e Imunologia (UFU), Pesquisador II, Geneal – Genética e Biotecnologia Animal- Análise, Pesquisa e Laboratório, Uberaba-MG, Brasil.

⁸Biomédica, Doutoranda Bioquímica e Imunologia, UFMG, Belo Horizonte – MG, Brasil.

*Pesquisa realizada na Policlínica Conceição Aparecida Rodrigues, Ambulatório Público Municipal, Prata-MG, Brasil (2008-2009).

** Artigo baseado no Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina, concluído e aprovado pela Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), Uberlândia - MG (2009).

*** Dados sobre a prevalência infecções cervicais por agentes microbiológicos, vinculados ao trabalho original, foram utilizados por outra pesquisa e apresentados no VI Encontro Mineiro de Biomedicina, realizado na Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba - MG (2009).

ativas.⁽²⁾ Estima-se que cerca de 75% da população em atividade sexual ativa entre em contato com um ou mais tipos de HPV durante a vida, entretanto, o sistema imunológico elimina a maioria destas infecções, não apresentando sintomas aparentes.⁽²⁾

No mundo, uma em cada quatro mulheres está infectada pelo HPV, e o Brasil é um dos cinco países onde é encontrado maior número de mulheres infectadas por esse vírus (10% a 40%), sendo que a maioria apresenta a forma latente ou subclínica da doença, dificultando o diagnóstico e favorecendo a transmissão.^(2,3)

A infecção pelo HPV provoca alterações citológicas características, que são comumente detectadas em esfregaços celulares corados pelo método de Papanicolaou, principalmente. Portanto, os métodos frequentemente utilizados na detecção da infecção viral (citológico, histológico e colposcópico) baseiam-se no efeito do vírus sobre as células e os tecidos infectados, mediante as formas clínicas e subclínicas apresentadas pelo vírus, sem identificar propriamente o vírus. Estes diagnósticos são classificados como indiretos e interpretativos, podendo apresentar resultados falso-positivos e/ou falso-negativos, sendo possível diagnosticar somente uma parcela das formas de infecção pelo vírus HPV.⁽⁴⁻⁶⁾

Na forma latente não existem evidências clínicas ou citológicas sugestivas de infecção, sendo detectado somente o DNA do HPV incorporado à célula infectada por meio de técnicas de biologia molecular mesmo quando não há crescimento ou multiplicação viral. Além disso, o advento destas técnicas de detecção dos genomas virais deixa evidente a baixa sensibilidade dos métodos rotineiramente utilizados.

Devido à relevante incidência da infecção e da observação de alguns estudos de resultados negativos para HPV em citologias de pacientes com diagnóstico positivo, este estudo teve como objetivo principal pesquisar casos de infecção pelo HPV e correlacionar o diagnóstico citológico e molecular na detecção do HPV em lesões do colo uterino na rede pública da cidade de Prata-MG.

MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade Federal de Uberlândia (CEP-UFU: 278/08) e pela Secretaria Municipal de Saúde da cidade de Prata-MG. Após orientação, as pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

No período de novembro de 2008 a fevereiro de 2009 foram selecionadas 148 mulheres que compareceram à Policlínica Conceição Aparecida Rodrigues Costa (Prata-MG) para consulta ginecológica. Foram excluídas do estudo as pacientes grávidas, hysterectomizadas, as que se recusa-

ram a assinar o TCLE, aquelas com impedimento para fornecer informações necessárias para o estudo (barreiras de linguagem e desorientação) e as que apresentaram amostras em quantidade e qualidade insuficientes para a realização dos exames.

Todas as pacientes foram submetidas antes da consulta a um questionário proposto pela pesquisa contendo perguntas sobre dados sociocomportamentais e, após anamnese, foi realizado o exame clínico e ginecológico seguindo as normas estabelecidas pelo serviço de saúde.

Citologia

Para o exame citológico, os procedimentos padrões adotados para a coleta das amostras foram estabelecidos em concordância com Neto et al.⁽⁷⁾ e, posteriormente, as mesmas foram enviadas ao Laboratório Técnico de Citopatologia e Histopatologia Ltda (LATECH) onde foram analisadas quanto à presença ou ausência das características citológicas que indicam a infecção pelo vírus HPV, conforme a nomenclatura de Bethesda (2001, apud Ministério da Saúde, 2006) em associação à Nomenclatura Brasileira (Ministério da Saúde, 2006).

A técnica de Papanicolaou modificada foi o método de escolha selecionado para a coloração das lâminas, com a utilização dos corantes: hematoxilina de Harris, EA 36 e Orange G6; adquiridos prontos na forma de kit (Cytocolor® - Merck KGaA).

Os critérios citológicos clássicos empregados para o diagnóstico de HPV foram a presença de coilocitose, caracterizada por um halo citoplasmático de forma irregular em torno do núcleo, e disceratose definida como uma queratinização citoplasmática prematura e anormal. Outras alterações celulares com significativa malignidade (não clássicas), tais como aumento nuclear, binucleação, metaplasia, dentre outras, foram associadas aos critérios clássicos para o diagnóstico viral.^(5,6,8)

PCR

Foram selecionadas quarenta amostras cervicais conforme os seguintes parâmetros: histórico de infecção por HPV, avaliação citológica, microbiológica e aspecto do colo uterino. A PCR foi escolhida como padrão em nosso estudo por ser um método de alta sensibilidade e especificidade para o HPV.

Para a análise citológica foram coletadas amostras cervicais raspadas cautelosamente de células do colo uterino, utilizando-se escova de cerdas flexíveis. Acondicionava-se a escova em um tubo de ensaio contendo aproximadamente 2 mL de Tampão de Lise Nuclear - TLN (400 mM NaCl, Tris HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 2 mM pH 8,0) de forma que todo o material ficasse submerso. O tubo era devidamente identificado com o código da paciente, data, hora da coleta e conservado à temperatura de 4°C até seu processamento.

Para a realização do diagnóstico molecular, as amostras foram submetidas à extração de DNA para células cervicais conforme Vieira.⁽⁹⁾ O material extraído foi estocado sob refrigeração para posterior realização de amplificação.

Na PCR foram utilizados dois procedimentos: o primeiro para a detecção e o segundo para a tipagem. Para controle da extração e atestado de qualidade do DNA extraído utilizou-se a amplificação do gene β -globina, de acordo com Vieira.⁽⁹⁾

As reações de detecção e tipagem viral foram realizadas com *primers* degenerados e modificados **MY09-A** (CGT CCW ARV GGA WAC TGA TC), **MY09-B** (CGT CCC AAT GGR AAT TGA TG), **MY09-C** (CGA CCC ARB GSR AAY TGG TC), **MY09-D** (CKA CCM AGK GGA WAY TGA TC), **MY09-E** (CKS CCW AGW GGA AAY TGA TC), **MY09-F** (GCG CCT AAG GGA AAC TGG GT), **MY11-1** (GCH CAR GGH CAY AAT AAT GG), **MY11-2** (GCD CRG GGT CWW AAC AAT GG), **MY11-3** (GCB CAG GGH YWH AAC AAT GG), baseados nos dois universais já existentes **MY09** (CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC) e **MY11** (GCM CAG GWW CAT AAY AAT GG) desenvolvidos pelo Laboratório Biogenetics Tecnologia Molecular, Uberlândia/MG,^(9,10) e descritos por Manos et al., apud Vieira e Saraiva.^(9,11) Para cada amostra foram feitas cinco PCR Nested - multiplex contendo no total quarenta pares de *primers* capazes de detectar quarenta tipos diferentes de HPV. Os DNAs resultantes das reações de PCR foram separados em eletroforese de agarose e visualizados em luz ultravioleta na presença de brometo de etíde de acordo com Vieira e Saraiva.^(9,11)

As amostras positivas foram genotipadas para os vírus de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), risco intermediário (06, 11, 42, 43, 44, 57) e baixo risco (MM7, MM8, 26, 30, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 74, 81) de acordo com a classificação de Vieira.⁽¹⁰⁾

Para evitar contaminação do DNA foram utilizadas salas independentes para cada uma das seguintes etapas e durante todo o processo de manuseio das amostras, desde a extração de DNA até a obtenção dos produtos amplificados pela PCR, os cuidados com a biossegurança foram estabelecidos de acordo com Chaves Borges e seus colaboradores.⁽¹²⁾

Estatística

O teste de McNemar foi utilizado para o cálculo amostral e correlações diagnósticas, considerando os valores de 80% para proporções de concordância entre os dois testes, 80% para o poder do teste escolhido e 5% para o erro experimental máximo permitido, determinando um intervalo de confiança de 95%.⁽¹³⁻¹⁵⁾ A comparação da frequência das características das diversas variáveis foi realizada por meio de tabelas de contingências, utilizando o teste χ^2 com correlação de Yates e intervalo de confiança

de 95% para comparação de proporções. As análises foram feitas utilizando-se o *software* BioEstat, versão 5.0,⁽¹⁶⁾ e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

De acordo com os critérios de inclusão e exclusão apresentados, do total de 148 amostras recebidas para a análise citológica, apenas uma foi considerada insatisfatória. Os resultados citológicos de Papanicolaou revelaram 143 (97,28%) amostras dentro dos padrões de normalidade, ou apenas com alterações benignas, e quatro (2,72%) apresentaram algum tipo de alteração da cérvix uterina. Dentre aquelas com alterações citológicas, duas apresentaram células atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas (ASCUS e AGUS) e duas displasia leve (NIC I) ou lesão intraepitelial cervical de baixo grau (LSIL). Em apenas uma das amostras foram identificadas características citológicas relacionadas com a presença do vírus HPV. Não foram detectadas lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (HSIL), carcinoma invasor ou lesões glandulares.

Das amostras submetidas ao diagnóstico molecular, 16 (40%) foram positivas para o vírus HPV, sendo duas (20%) com alterações citológicas e 14 (80%) com citologia normal ou alterações benignas.

A infecção múltipla foi observada em oito (50%) das amostras analisadas, todas apresentando tipos virais de alto risco. Oito pacientes apresentaram infecção simples, onde apenas duas (12,5%) não apresentavam HPV de alto risco. A amostra classificada com alterações indeterminadas (ASCUS) pela citologia apresentou infecção múltipla com a presença de 11 tipos virais de alto e baixo risco.

Tipos de alto risco estiveram presentes em duas (12,5%) citologias normais e 14 (87,5%) daquelas com alterações sem evidências de malignidade. Os tipos de alto risco 66 e 51 prevaleceram, respectivamente, em três (37,50%) e dois (25,0%) dos casos de infecções simples. Nas infecções múltiplas, os tipos 18 e 51 foram os mais frequentes, ambos representando oito (27,58%) das amostras analisadas.

Ao analisarmos a eficácia de detecção do vírus HPV nos diagnósticos utilizados neste estudo, observamos uma discordância significativa entre as duas metodologias ($p < 0,0007$). Este achado corrobora o melhor desempenho e a superioridade da técnica de PCR, tanto em sensibilidade quanto especificidade na detecção do vírus HPV. A técnica molecular detectou a presença do vírus em 16 (40%) amostras cuja citologia oncológica não detectou alterações celulares compatíveis com infecção viral pelo HPV. A citologia foi positiva em apenas um caso (2,5%), onde não foi detectado o vírus pela técnica de biologia molecular.

A infecção pelo HPV em função da idade prevaleceu em uma (6,25%) das pacientes abaixo dos 20 anos, em sete (43,75%) entre 20-29 anos, em cinco (31,25%) entre 30-39 anos e em três (18,75%) entre 40-49 anos, porém este fator mostrou-se independente à infecção viral nesta pesquisa ($p > 0,05$).

Dentre as variáveis sociocomportamentais analisadas, somente o histórico anterior à infecção pelo HPV apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos positivos e negativos para o vírus.

DISCUSSÃO

A correlação entre as duas metodologias estudadas, citologia oncológica e PCR, demonstraram que, ao se diagnosticar o vírus HPV, é muito importante a escolha metodológica considerando a frequência deste vírus na população humana. De acordo com Machado, Cavalcante e colaboradores, e Carvalho,⁽⁴⁻⁶⁾ entre outros, os resultados falso-positivos, que indicam baixa especificidade, e falso-negativos (baixa sensibilidade) vêm sendo descritos na literatura, e diversos grupos de pesquisa questionam a eficiência do rastreamento das lesões cervicais utilizando-se apenas a citologia oncológica.

Os critérios clássicos adotados pelos citopatologistas no diagnóstico do HPV são os halos de colicitose e a disceratose, descritos anteriormente. Porém, existem controvérsias na literatura quanto ao número de critérios adotados no diagnóstico citológico na presença do HPV, segundo diferentes autores. Cavaliere et al., apud de Faria et al. e Jordão et al.,^(8,17) descrevem que quatro ou mais critérios não clássicos são suficientes para concluir que existe infecção pelo HPV; para Collaço et al., apud de Faria et al. e Jordão et al.,^(8,17) somente a presença de dois critérios, devendo um ser clássico, e Korobowicz et al., apud de Faria et al. e Jordão et al.,^(8,17) admitem, ainda, que a presença de três critérios não clássicos pode ser associada à existência do vírus.

No presente estudo, o diagnóstico citológico de infecção pelo HPV avaliou os critérios clássicos, levando em consideração também os critérios não clássicos. Entretanto, os resultados obtidos pela PCR demonstraram que nem sempre a ausência destes achados é suficiente para excluir a possibilidade da infecção por HPV, pois depende de medidas interpretativas adotadas, as quais apresentam variações caso a caso. Essa variabilidade de interpretação citológica na identificação do HPV pode ser vista especialmente nos casos que apresentam alterações de significado indeterminado (ASCUS e/ou AGUS), sendo falsamente diagnosticadas como negativas, conforme observado neste estudo, onde o caso classificado como ASCUS apresentou 11 genótipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico.

Carvalho⁽⁶⁾ descreve que diagnósticos do tipo ASCUS podem representar um amplo espectro de entidades clínicas, desde alterações benignas até o câncer. O mesmo estudo discute ainda sobre a média de 40%-50%, observada na literatura, de positividade para o HPV quando diagnósticos do tipo ASCUS são observados na citologia. Contudo, a frequência de HPV em mulheres com citologia de ASCUS é muito variável na literatura e depende da técnica utilizada e da população estudada. Fife et al.⁽¹⁸⁾ observaram a prevalência do DNA do HPV em material cérvico-vaginal em 21 (70,0%) de 30 mulheres com ASCUS na Universidade de Indiana. Boardman et al.⁽¹⁹⁾ mostraram a presença de HPV de alto risco em 68% de um total de 527 adolescentes com ASCUS. Huang et al.⁽²⁰⁾ avaliaram a presença de HPV oncogênico pela técnica de captura híbrida e encontraram vírus de alto risco em 36,2% de um total de 105 mulheres com ASCUS. Casos como estes ressaltam a importância do emprego de técnicas mais sensíveis à detecção do HPV, determinando um melhor posicionamento clínico quanto à conduta e ao acompanhamento da paciente.

Cavalcanti e Carestiato, e Salvia,^(5,21) entre outros, já abordaram a superioridade da técnica de PCR não só em relação à citologia, mas também em relação a outras técnicas de biologia molecular, como a hibridação com sondas de DNA marcadas. Nesta pesquisa, a PCR também mostrou superioridade em relação à citologia oncológica, tanto em sensibilidade quanto em especificidade na detecção do HPV ($p < 0,0007$), onde detectou a presença do vírus em 16 (40%) amostras cuja citologia não identificou alterações compatíveis com infecção viral.

O HPV de alto risco oncogênico observado em 2/10 (20%) das citologias normais, 8/27 (29,62%) das inflamações benignas, 1/2 (50%) dos ASCUS e em 8/16 (50%) das infecções por múltiplos tipos de HPV poderia sugerir a possibilidade de uma infecção persistente, que pode permanecer assintomática por tempo indeterminado, não sendo identificada pelos métodos de diagnósticos tradicionais. Liaw et al., apud Noronha et al.,⁽²²⁾ observaram a prevalência de HPV através da técnica de PCR em 9,2% de citologias dentro dos parâmetros de normalidade no Taiwan. Bauer et al., apud Noronha et al.,⁽²²⁾ também utilizando PCR, detectaram HPV em 31% (130/421) entre as citologias normais na Califórnia, e Young et al., apud Noronha et al.,⁽²²⁾ observaram a prevalência de HPV em 70% de dez mulheres com citologia normal que compuseram sua pesquisa.

Almeida et al. e Pereira et al.,^(23,24) correlacionam as infecções assintomáticas ao início da atividade sexual precoce (<18 anos), uma vez que, nesta fase, o epitélio cervical encontra-se imaturo, apresentando maior vulnerabilidade biológica para o vírus. Queiroz et al. acrescentam ainda que o uso prolongado de anticoncepcionais orais levaria a imunomodulação, facilitando a infecção viral.⁽²⁾ Cerqueira e Pereira et al.,^(3,24) correlacionam a infecção assintomática à infecção

ção causada por outros agentes patogênicos, que podem atuar induzindo uma inflamação crônica e diminuindo a imunidade local, tornando o epitélio vulnerável ao HPV. Contudo, estes fatores não se mostraram significativos neste trabalho ($p < 0,05$) devido à casuística ser pequena, e estudos futuros são necessários a fim de confirmar estes percentuais.

CONCLUSÃO

Levando-se em consideração a prevalência de infecções assintomáticas pelo vírus HPV, a alta subjetividade diagnóstica e a variabilidade nos resultados citológicos, este trabalho valida a sensibilidade e precisão das técnicas moleculares na detecção do HPV. Desta forma, a PCR possibilita resultados mais confiáveis, possibilitando informação diagnóstica mais ampla e determinante na conduta médica. Entretanto, vale ressaltar que os custos na realização dos exames moleculares quando comparados à citologia oncótica ainda são consideravelmente elevados, dificultando assim sua indicação como método diagnóstico em grande escala.

Agradecimentos

Ao Dr. Daniel Mendonça Vieira, Secretário Municipal de Saúde da cidade de Prata-MG, que recebeu e apoiou com interesse o estudo. À Dra. Maria do Carmo Silva Arantes e à Daiana Moreira Ulhôa, que acolheram o projeto com carinho e disposição, fornecendo todo o suporte necessário na realização do mesmo. A todas as pessoas não citadas explicitamente, cujo agradecimento jamais nos faltaram.

Abstract

Human papillomavirus infection (HPV) has been described as a growing problem in public health considering its association with cervical cancer. The aim of this study was correlate cytopathological study and Polymerase Chain Reaction (PCR) technique for HPV diagnosis. Cervical samples collected from one hundred forty eight women from Prata-MG were diagnosed for the presence or absence of cytologic features that indicate HPV infection as the nomenclature used. Were selected within the criteria established, forty cervical samples for the molecular diagnosis using nested-PCR method. The PCR detected the virus in 16/40 (40%) of patients whose cytology did not detect cellular changes consistent with HPV infection. PCR technique provides confiability on results, determining the presence of the virus and its genotyping, which enables a broader diagnostic information determinat in the conduct of the patient.

Keywords

HPV; PCR; Papanicolaou

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2009. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=1. Acesso em: 20 de dezembro de 2009.
2. Queiroz AMA, Cano MAT, Zaia JE. O papiloma Vírus Humano (HPV) em mulheres atendidas pelo SUS, na cidade de Patos de Minas - MG. Rev. bras. anal. clin. 2007;39(2):151-7.
3. Cerqueira DM. Prevalência, frequência de genótipos e de variantes de papilomavírus humanos em mulheres coinfetadas com o vírus da imunodeficiência humana Tipo 1 no Distrito Federal e entorno. Brasília: Dissertação (Pós- Graduação em Biologia Molecular). Universidade de Brasília, 2007. 172 Fl.
4. Machado JP. Estudo sobre variações no método de citologia em meio líquido para o exame de Papanicolaou. Curitiba: Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, 2007. 110 Fl. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/12098/1/MonoJaque.pdf>
5. Cavalcanti SB, Carestiatto FN. Infecções causadas pelos papilomavírus humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnósticos. DST - J bras Doenças Sex Transm 18(1):73-79, 2006.
6. Carvalho MO. Diagnóstico molecular das infecções causadas pelos papilomavírus humanos no colo uterino. Niterói: Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental). Universidade Federal Fluminense, 2004. 90 Fl. Disponível em: http://www.bdttd.ndc.uff.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=2466
7. Neto AR, Lascasas RJC, Focchi J, Baracat EC. Avaliação dos métodos empregados no Programa Nacional de Combate ao Câncer do Colo Uterino do Ministério da Saúde. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [Internet]. 2001 May;23(4):209-215. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032001000400003&Ing=en.
8. de Faria IM, Melo VH, de Castro LP, de Faria FM, Carvalho Nde O, de Araújo AC, et al. Accuracy of oncotic cytology for HPV infection diagnosis on the cervix uteri of HIV-infected women. Rev Bras Ginecol Obstet. 2008 Sep;30(9):437-44. [Article in Portuguese].
9. Vieira GS. Avanços moleculares na detecção e tipagem do HPV. Uberlândia: Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Uberlândia- UFU, 2001. 37 Fl.
10. Biogenetics - Tecnologia Molecular Ltda (Uberlândia - MG). Gismar Silva Vieira et al. Oligonucleotídeos, uso e método para a tipagem, determinação da dominância viral e quantificação relativa do Papilomavírus Humano que utiliza uma combinação de técnicas moleculares, oligonucleotídeos e compostos. BR n. P10302987-5, 05 abril 2001, 29 março 2005.
11. Saraiva ACM. Implicações do gene TP53 do vírus do papiloma humano no câncer da próstata. 2002. 144 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/15799>
12. Chaves Borges FA, Mineo JR. Medidas de Biossegurança e Laboratórios. UFU. 1997. World Health Organization. Laboratory biosafety manual. 2a. ed. 2003.
13. Hesselink AT, van Ham MA, Heideman DA, Groothuismink ZM, Rozendaal L, Berkhof J, et al. Comparison of GP5+/6+-PCR and SPF10-line blot assays for detection of high-risk human papillomavirus in samples from women with normal cytology results who develop grade 3 cervical intraepithelial neoplasia. J Clin Microbiol. 2008 Oct;46(10):3215-21.
14. Vernon SD, Unger ER, Williams D. Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and hybrid capture. J Clin Microbiol. 2000 Feb;38(2): 651-5.
15. Furrer VE, Benitez MB, Furnes M, Lanfranchi HE, et al. Biopsy vs. superficial scraping: detection of human papillomavirus 6, 11, 16 and 18 in potentially malignant and malignant oral lesions. J Oral Pathol Med. 2006 Jul;35(6):338-44.
16. Ayres M, Ayres Junior M, Ayres DL, Santos AS. 2007. Bioestat 5.0 - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. ONG Mamarua, Belém, PA. 364p.
17. Jordão AV, Ruggeri LS, Chicheta GI, Piva S, et al. Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano. J Bras Patol Med Lab. 2003; 39:81-9.

18. Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol*. 2001 Aug;64(4):550-9.
19. Boardman LA, Stanko C, Weitzen S, Sung CJ. Atypical squamous cells of undetermined significance: human papillomavirus testing in adolescents. *Obstet Gynecol*. 2005 Apr;105(4):741-6.
20. Huang SL, Chao A, Hsueh S, Chao FY, Huang CC, Yang JE, et al. Comparison between the Hybrid Capture II Test and an SPF1/GP6+ PCR-based assay for detection of human papillomavirus DNA in cervical swab samples. *J Clin Microbiol*. 2006 May;44(5):1733-9.
21. Salvia PND. Correlação entre critérios morfológicos, citológicos e histológicos e presença do DNA do Papilomavírus humano em biópsias cervicais uterinas detectado por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase. Campinas: Tese (Doutorado em Ciências Médicas - Anatomia Patológica) UNICAMP, 2004. Disponível em: <<http://libdigi.unicamp.br/document/?code=vtls000341702>>
22. Noronha VL, Noronha R, Carmona B, Macedo EC, et al. Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres com citologia oncológica dentro dos limites da normalidade. *DST - J Bras Doenças Sex Transm*. v. 17, 2005. p.49-55.
23. Almeida AC, Sakama AT, Campos RG. A correlação do Câncer do Colo Uterino com o Papilomavírus Humano. *Revista de APS*. v. 9, p. 2, 2007.
24. Pereira C. Fatores de Risco para Lesões Intra-Epiteliais Cervicais de Alto Grau e Câncer Cervical: um Estudo de Caso - Controle no Serviço de Patologia Cervical do HUAP. Niterói: Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas - Epidemiologia). Universidade Federal Fluminense, 2006. 130 Fl. Disponível em: <www.cipedya.com/web/FileDownload.aspx?IDfile=166977>

Correspondência

Samantha Ribeiro Béla

*Laboratório de Imunopatologia do Centro de
Pesquisas René Rachou - Fiocruz Minas
Belo Horizonte-MG, Brasil
Tel: 31-33497700*

Avaliação citológica do fluido papilar obtido por aspiração automática pelo HALO™ Mamo Cito Test

Cytological evaluation of nipple fluid aspiration obtained by automatic suction by HALO™ Mamo Cito Test

Mansur S¹

Zonta MA^{2,3}

Vemame F³

José Roberto Filassi⁴

Adhemar Longatto Filho⁴

Resumo

O câncer de mama é descrito desde a Antiguidade, e alguns relatos comprovam que o crescimento do tumor, por vezes lento e indolor, acabava comprometendo toda a glândula mamária na maioria dos casos. Na estimativa do Instituto Nacional do Câncer (Inca), o número de casos esperados para 2012 é de 52.680, sendo o risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres; a incidência maior será na região sudeste, com 68 casos por 100 mil, a sobrevida média mundial após cinco anos é de 61%, sendo que, no Brasil, as taxas de mortalidades continuam elevadas. **Objetivo:** A finalidade desse estudo é avaliar a capacidade da coleta de células em fluido mamário pelo método automático. **Casística e Métodos:** Foram analisadas 466 amostras de secreção mamária, obtidas de 233 mulheres que apresentaram secreção de fluxo papilar submetidas à técnica de colheita automática. O material celular coletado foi conservado em meio líquido (Surepath™) e corado pela metodologia de Prepstain™. As amostras foram avaliadas por microscopia ótica e classificadas conforme características citológicas e representação celular. **Resultados:** Das 233 mulheres submetidas à metodologia de Halo, 111 (47%) apresentaram representação celular satisfatória para avaliação. As 111 pacientes com celularidade positiva originaram 159 (35%) amostras de fluido papilar das mamas direita e esquerda, sendo que 39 (35%) pacientes apresentaram representação celular em amostras da mama direita, 24 (22%) apresentaram representação celular em amostras da mama esquerda e 48 (43%) obtiveram de ambas as mamas. Dentre os achados celulares representados nos esfregaços, observaram-se células inflamatórias, dentre elas polimorfonucleares e células espumosas, hemácias, células ductais normais e com alterações reativas e atípicas. **Conclusão:** O sistema automatizado demonstrou eficácia na coleta de aspiração de fluxo papilar, obtendo amostras celulares preservadas para avaliação citológica sem causar riscos às mulheres.

Palavras-chave

Halo Mamo Cito Test; citologia mamária; citologia em meio líquido

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é descrito desde a Antiguidade, e alguns relatos comprovam que o crescimento do tumor, por vezes lento e indolor, acabava comprometendo toda a glândula mamária na maioria dos casos. Na década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) registrou um aumento em dez vezes nas taxas de incidência de câncer de mama. Estimativa do Instituto Nacional do Câncer (Inca) revela que o número de casos esperados para 2012 é de 52.680, sendo o risco estimado de 52 casos a cada 100 mil mulheres. No Brasil, as taxas de mortalidade por cân-

cer de mama continuam elevadas, muito provavelmente devido à demora na identificação das lesões em estágios iniciais. Na população mundial, a sobrevida média após cinco anos é de 61%. Em 2008, 11.969 mulheres morrem com a doença.^(1,2)

A maioria dos cânceres de mama se origina no epitélio de revestimento dos ductos mamários, apresentam crescimento lento e evoluem a partir de lesões precursoras, identificadas microscopicamente. Estudos mostram que a atipia epitelial ductal e a hiperplasia ductal atípica (ADH) são indicadores de risco de desenvolvimento futuro de câncer de mama. Este aumento do risco tem sido avaliado

¹Universidade Feevale – Novo Hamburgo-RS, Brasil.

²Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) – São Paulo-SP, Brasil.

³Laboratório INCITO - Citologia Diagnóstica. João Câmara-RN, Brasil.

⁴Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo-SP, Brasil.

Instituição: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo-SP, Brasil.

Recebido em 11/08/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

através de metodologias invasivas e desconfortáveis como a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e a mamografia.⁽³⁻⁶⁾

O fluido papilar ou secreções, normalmente aspirado nos ductos mamários, é um material rico em proteínas e células capazes de serem avaliadas microscopicamente quanto à sua qualidade e características microscópicas. A produção de fluido ocorre de 25% a 95% das mulheres. Há uma variedade de fatores associados com a capacidade de produzir fluido papilar, particularmente relativas a características intrínsecas da mama. A obtenção deste material se dá pela compressão manual da mama ou aspirado por dispositivos manuais, compostos por seringas e dispositivo de sucção, trazendo grande desconforto e pouca qualidade à amostra.⁽⁴⁻⁶⁾

O Halo Mamo Cito Test™ (HMCT) é um método simples, seguro, rápido e automatizado para a coleta padronizada de material de secreção de fluxo papilar, tem capacidade de adquirir material celular com potencial para a detecção precoce de lesões benignas e neoplásicas de células epiteliais ductais, e foi desenvolvido para obtenção de material usado no rastreamento do câncer de mama. A associação HMCT com a citologia em meio líquido aumenta a sensibilidade na identificação de células, em virtude de uma melhor preservação do material celular, melhorando o

grau de avaliação do risco para o desenvolvimento de câncer de mama.^(6,7)

A finalidade desse estudo é avaliar a capacidade de obtenção de células viáveis para avaliação citológica pelo método automático denominado Halo Mamo CitoTest™.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 466 amostras de secreção mamária, obtidas de 233 mulheres que apresentaram fluido papilar de mama por aspiração pelo método Halo. O material coletado foi conservado em meio Surepath™ e corado pela metodologia de Prepstain™. As amostras foram avaliadas por microscopia ótica e classificadas conforme protocolo e representação celular. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Roberto Filassi, professor titular da disciplina de Ginecologia da Universidade de São Paulo.

A metodologia consiste de um aparelho automatizado termo-controlado capaz de promover a dilatação dos ductos mamários através do aquecimento da região de aréola e mamilo. Os copos acoplados nessa região aplicam massagem e sucção, promovendo a extração do conteúdo presente no interior do ducto (Figura 1).^(6,7)

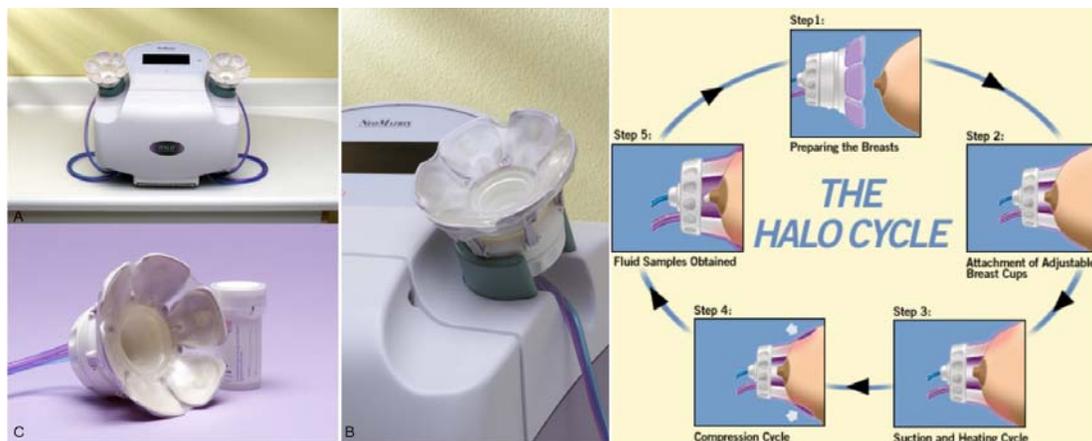


Figura 1. Dispositivo Halo antes e durante a aplicação na mama, os copos são colocados sobre os seios da mulher e ajustados para se adequarem; calor e sucção são simultaneamente aplicados na mama através das pétalas dos copos, a compressão leve é iniciada; qualquer amostra de NAF obtida é transferida para um frasco de citologia com fixador para ser transportado para o laboratório de citologia.

Após a captação do fluido, as amostras foram preservadas em meio líquido (Surepath™) e submetidas ao preparo automatizado (PrepStain®). Esse material celular foi enriquecido e submetido a ciclos de centrifugação para a obtenção do *pellet* celular. Esse material celular foi transferido para uma câmara de incubação montada numa lâmina previamente revestida e as amostras foram submetidas ao processo de coloração de Papanicolaou automatizado (Figura 2).^(6,7)

RESULTADOS

Das 233 pacientes foram obtidas 466 amostras; após preparo e avaliação, 307 amostras (66%) foram consideradas insatisfatórias, não apresentando nenhum tipo de representação celular, e 159 amostras (35%), obtidas de 111 pacientes, apresentaram celularidade, sendo classificadas como satisfatórias para avaliação. Quanto à lateralidade das amostras, das 111 pacientes com celularidade positi-



Figura 2. O PrepStain® transfere a amostra para a câmara de incubação montada nas lâminas, as células sedimentam por gravidade e é iniciado o processo de coloração automatizado.

va, 39 (35%) pacientes apresentaram representação celular somente em amostras da mama direita, 24 (22%) pacientes apresentaram representação celular em amostras da mama esquerda e 48 (43%) obtiveram de ambas as mamas, conforme Gráfico 1.

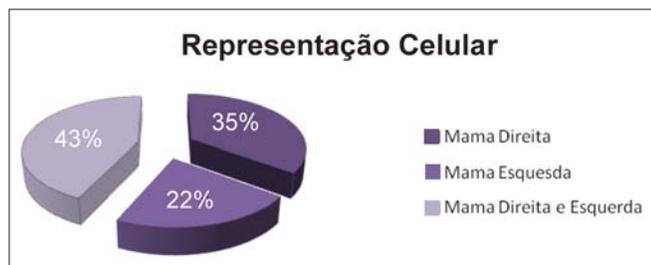


Gráfico 1. O gráfico mostra a representação celular referente à lateralidade das amostras satisfatórias em relação ao número de pacientes (111 pacientes).

Dentre as amostras 159 satisfatórias, 156 (33%) foram diagnosticadas como processos benignos e três (1%) casos classificados como atípicos (Tabela 1).

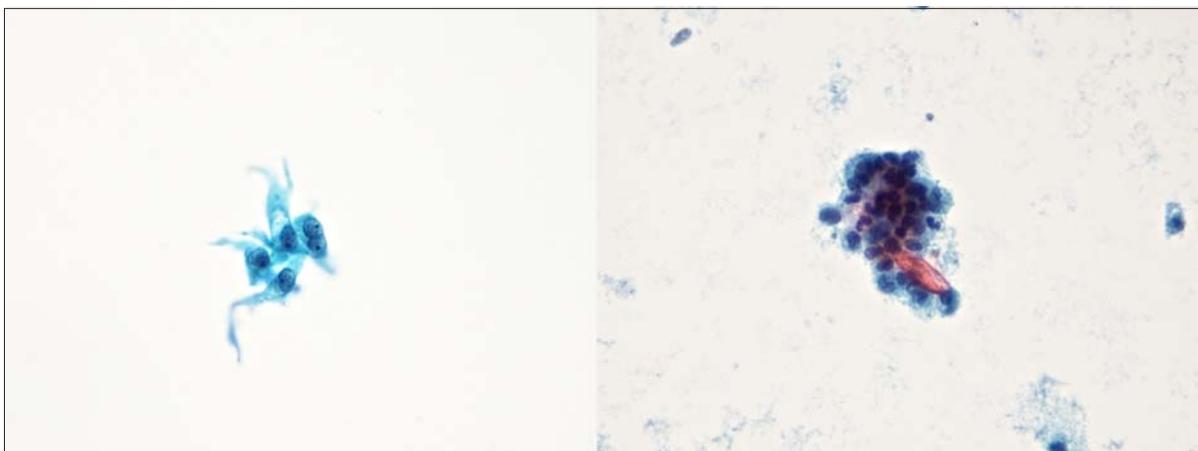
Células inflamatórias estavam presentes em 88% das amostras satisfatórias. Tipos celulares como células ductais com características inflamatórias apresentavam aumento da relação núcleo/citoplasma, hiper Cromia nuclear, cromatina com distribuição homogênea formando pequenos grumos, citoplasma basofílico, ora degenerado, distribuídas em meio proteináceo (Figura 3). Células espumosas, polimorfonucleares, mononucleares também foram observadas em meio proteináceo (Figura 4). Três (1%) casos exibiam células ductais com atipia nuclear, exibindo um grau de discariose leve, hiper Cromia nuclear e cromatina formando grumos, observando-se grupamento e sobreposição de células em meio proteináceo (Figura 5).

Tabela 1 - A tabela mostra o resultado da avaliação celular das amostras colhidas das 466 pacientes voluntárias

Diagnóstico Citológico		
Diagnóstico	Frequência	Porcentagem
Insatisfatório	307	66%
Benigno	156	33%
Atípicos	3	1%
Maligno	0	0%
Total	466	100%

Tabela 2 - O quadro quantifica as células presentes nas 159 amostras classificadas como satisfatórias para avaliação

Achados Celulares em Amostras Satisfatórias	
Tipos Celulares	Porcentagem
Epitelial	5%
Ductal	37%
Escamosa	80%
Inflamatória	88%



Figuras 3 e 4. A figura 3 exibe a presença de células ductais dentro dos padrões de normalidade. A Figura 4 exibe células espumosas e macrófagos agrupados em meio proteináceo basofílico (Surepath™-Papanicolaou 40x).

Fonte: Acervo pessoal - Laboratório IN CITO - Citologia Diagnóstica Ltda.

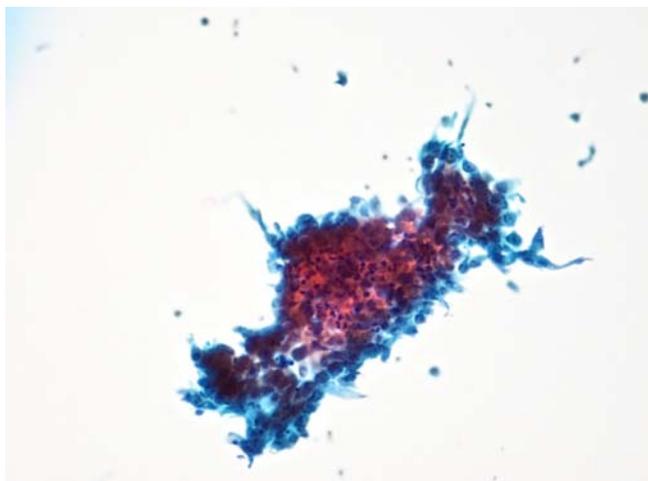


Figura 5. Observa-se células ductais, agrupadas e sobrepostas, com núcleo apresentando discaríose leve, condensação da cromatina e citoplasma metacromático, distribuída em meio proteináceo (Surepath™-Papanicolaou 40x). Fonte: Acervo pessoal - Laboratório IN CITO - Citologia Diagnóstica Ltda

DISCUSSÃO

O câncer de mama é uma doença de alta morbidade e mortalidade, aumentando o número de óbitos entre as mulheres. A ocorrência de novos casos aumenta a cada ano. Estes dados demonstram a importância da detecção precoce desta doença, melhorando o prognóstico e o tratamento dessas mulheres.⁽¹⁾

Os métodos disponíveis para detecção precoce, além do autoexame, são o exame clínico da mama, mamografia, ultrassonografia, ressonância magnética, punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e *cory biopsy*.⁽⁸⁻¹²⁾

O exame físico é importante para identificação de nódulos palpáveis, cuja incidência é bastante elevada, porém nesta fase podem indicar uma progressão da doença. A mamografia é o exame de escolha para mulheres acima dos 40 anos de idade, bom na identificação de processos em desenvolvimento, porém de baixa eficácia na identificação de estruturas em mamas densas, além do desconforto significativo relatado pela grande maioria das mulheres no ato do exame. O *Breast Cancer Detection Demonstration Project* mostra que apenas 9% de cânceres visualizados na mamografia foram identificados no exame clínico.⁽⁸⁻¹²⁾

Um dos exames de escolha para melhorar a qualidade, sensibilidade e especificidade no diagnóstico das lesões de mama é a ressonância magnética, permitindo a identificação de lesões em seus estágios iniciais, porém essa metodologia, ainda cara e de baixa abrangência nos programas de saúde, não vem sendo usada em larga escala.

A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) é um excelente método para a identificação de alterações celulares, podendo diferenciar processos benignos e malignos através de material citológico aspirado.⁽¹³⁻¹⁵⁾ Esse método

apresenta boa sensibilidade, porém, é invasivo e desconfortável para a mulher. Nazario et al.⁽¹⁶⁾ relataram que 80% dos tumores mamários palpáveis são diagnosticados através da PAAF, como alterações benignas, revelando-se um procedimento desnecessário, pois estas alterações benignas poderiam ser diagnosticadas no exame de triagem pela metodologia Halo.

A metodologia HMCT vem com o principal objetivo de obtenção de material celular com informações capazes de identificar precocemente algum tipo de doença proliferativa na mama de cunho maligno e benigno. Essa técnica não apresenta comprometimento invasivo, podendo ser utilizada como método de rastreamento, principalmente para o diagnóstico de nódulos não palpáveis e sem sintomatologia.^(9,11,14,16,17)

O HMCT é um método de fácil procedimento, demonstrando eficácia na obtenção de fluxo papilar contendo ou não componentes celulares. A metodologia não oferece desconforto para a mulher no ato da colheita de material. Essa técnica de fácil obtenção não requer nenhum tipo de preparo para se fazer o exame.

Um ganho observado nessa tecnologia foi que, após uma massagem prévia das mamas e aquecimento proporcionado pelo método, observou-se uma maior saída de fluido papilar gerando uma maior celularidade.

O fato de o HMCT ser um exame de triagem e selecionar pacientes sem sintomatologia justifica o número de amostras sem representação celular (66%). Das amostras com celularidade positiva, 88% apresentaram células inflamatórias como células espumosas e polimorfonucleares, concordando com os resultados de Andrea et al.,⁽¹⁶⁾ que obtiveram células inflamatórias em 83% das amostras.

Em 98% dos casos, as células epiteliais não apresentaram nenhuma atipia, e nos casos suspeitos (2%) foram observadas células epiteliais com discreta atipia, as quais os esfregaços apresentaram um considerável número de células com núcleos apresentando discaríose leve. Em relação ao fundo do esfregaço, a literatura descreve fundo geralmente hemorrágico em casos suspeitos e positivos para malignidade. Neste estudo, o fundo manteve-se proteináceo e relativamente limpo, fato que é justificado pela utilização do meio líquido.^(8,9,11,13,14,18-20)

Um grande avanço na melhoria da qualidade das células foi a associação do material obtido por aspiração e preservado em meio líquido. O aproveitamento total da amostra coletada e a possibilidade de utilização em outras técnicas diagnósticas se mostrou como um ganho deste método.

A qualidade da amostra, melhor distribuição das células, fundo limpo, características citomorfológicas bem preservadas são os grandes ganhos na associação dos métodos. A preservação das características celulares permite que mesmo com uma celularidade escassa é possível dar um diagnóstico seguro.^(6,21)

A identificação precoce dessas atipias aplicadas ao uso de metodologias que garantam a qualidade das amostras poderiam ser aplicadas na forma de programas de rastreamento de possíveis lesões do tecido mamário, antecipando possíveis evoluções malignas em mulheres antes dos 40 anos de idade.

CONCLUSÕES

O HMCT mostrou ser capaz de obter material celular para avaliação diagnóstica.

A associação dessa metodologia ao método de citologia em meio líquido garantiu uma melhor preservação da amostra e uma melhor qualidade na avaliação celular.

Abstract

Breast cancer is described since antiquity, some reports have shown that tumor growth and sometimes slow and painless, all ended up compromising the mammary gland in most cases. Estimate of the National Cancer Institute (NCI), the number of cases expected for 2012 is 52,680, being the estimated risk of 52 cases per 100,000 women, the incidence is higher in the Southeast with 68 cases per 100 000, survival world average after five years is 61% in Brazil mortality rates remain high. Objective: The purpose of this study is to evaluate the capacity of collection of cells in breast fluid by automatic method. Methods: We analyzed 466 samples of mammary secretion obtained from 233 women who had papillary secretion flow subjected to automated harvesting technique. The cellular material collected was preserved in liquid medium (SurePath™) and stained with Prepstain™ methodology. The samples were evaluated by light microscopy and classified according to cytological features and cellular representation. Results: Of 233 women who underwent methodology Halo, 111 (47%) showed satisfactory cellular representation for evaluation. The 111 patients with positive cellularity originated 159 (35%) papillary fluid samples from right and left breasts, with 39 (35%) patients had cellular representation in samples of the right breast 24 (22%) patients had cellular representation in samples the left breast and 48 (43%) patients had both breasts. Among the findings represented in cell smears, there were inflammatory cells, among which polymorphonuclear cells and foam cells, red blood cells, and normal ductal cells and atypical reactive changes. Conclusion: The automated system was effective in collecting suction flow papillary obtaining cell samples preserved for cytological evaluation without causing risks to women.

Keywords

Halo Mammo Cito Test; breast cytology; liquid based cytology

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional do Câncer (INCA), Disponível em: <http://www2.inca.gov.br>.
2. Moraes AB, Zanini RR, Turchiello MS, Riboldi J, Medeiros LR. Estudo da sobrevida de pacientes com câncer de mama atendidas no hospital da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 22(10):2219-2228, out, 2006.
3. Fogaça EI, Garrote LF. Câncer de mama: atenção primária e detecção precoce. Arq Ciênc Saúde 2004 jul-set;11(3):179-81.
4. Koss LG, Melamed MR. Koss' Diagnostic Cytology and its histopathologic bases. Vol. 2, 50ª edição. Editora: Lippincott Williams e Wilkins. USA, 2006.
5. Koss LG, Gompel C. Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. 1ª edição. Roca. São Paulo, 2006.
6. Proctor KA, Rowe LR, Bentz JS. Cytologic features of nipple aspirate fluid using an automated non-invasive collection device: a prospective observational study. BMC Womens Health. 2005 Aug 3;5:10.
7. PrepStain® System - Folheto Informativo do Produto PrepStain® System 779-07085-00.
8. Barra AA. Avaliação da acurácia dos métodos de punção aspirativa por agulha fina e core biopsy guiadas por ultra-som de acordo com o tamanho da lesão mamária suspeita de malignidade. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [Internet]. 2003 Sep;25(8):613-613. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032003000800014&lng=en.
9. Almeida OJ, Alvarenga M, Cecatti JG, Jorge JPN, Tambascia JK. Punção aspirativa por agulha fina: desempenho no diagnóstico diferencial de nódulos mamários palpáveis. Rev Bras Ginecol Obstet. v. 20, nº 8, 1998.
10. Andrea CE, Sobral ACL, Costa ESM, Totsugui JT, Araújo SR, Collaço LM. Citologia do derrame papilar. J Bras Patol Med Lab [Internet]. 2006 Out;42(5):333-337. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442006000500007&lng=pt.
11. Duarte DL. Punção aspirativa com agulha fina guiada por estereotaxia (PAAFE) em lesões não-palpáveis da mama. (Editorial). Radiol Bras. 1995;28:287-288.
12. Urbanetz AA, Oliveira LJ, Hatschbach SBB. Análise crítica dos métodos diagnósticos do câncer inicial da mama. J. bras. ginecol; 102(1/2):3-9, jan.-fev. 1992.
13. Freitas Jr. R, Paulinelli RR, Moreira MAR. Fatores associados ao material insuficiente em punção aspirativa por agulha fina nos nódulos sólidos da mama. Rev Bras Ginecol Obstet. v. 23, nº 10, 2001.
14. Kemp C, Elias S, Borrelli K, Garcia y Narvaiza D, Kemp CGM, Schor AP. Punção aspirativa por agulha fina orientada por ultrassonografia em lesões não-palpáveis. Rev Bras Ginecol Obstet. [Internet]. 2001 June;23(5):321-327. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032001000500008&lng=en.
15. Sidawy MK, Stoler MH, Frable WJ, Frost AR, Masood S, Miller TR, et al. Interobserver variability in the classification of proliferative breast lesions by fine-needle aspiration: results of the Papanicolaou Society of Cytopathology Study. Diagn Cytopathol. 1998 Feb;18(2):150-65.
16. Nazario AC, Rego MF, Oliveira VM. Benign breast masses: a review on diagnosis and management. Rev Bras Ginecol Obstet., Rio de Janeiro, v. 29, n. 4, Apr. 2007.
17. Novelino P, Carneiro PC, Alves, Silva EA, Piscini MCC, Barcelos JM, Costa OT, et al. Valor da punção aspirativa com agulha fina nas afecções malignas da mama. Folha Med; 99(5/6): 253-7, nov.-dez. 1989.
18. Stanley MW, Löwhagen T. Fine needle aspiration of palpable masses. Imprint: Butterworth-Heinemann, 1993, 172 p.
19. Tabbara SO, Frost AR, Stoler MH, Sneige N, Sidawy MK. Changing trends in breast fine-needle aspiration: results of the Papanicolaou Society of Cytopathology Survey. Diagn Cytopathol. 2000 Feb; 22(2):126-30.
20. Tice JA, Miike R, Adduci K, Petrakis NL, King E, Wrensch MR. Nipple aspirate fluid cytology and the Gail model for breast cancer risk assessment in a screening population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005 Feb;14(2):324-8.
21. Pereira SM, Utagawa ML, Pittoli JE, Aguiar LS, Maeda MYS, Longatto Filho A, et al. Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida. Rev Inst Adolfo Lutz. 2003;62(1):35-9.

Correspondência

Adhemar Longatto Filho

Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo – USP
São Paulo-SP, Brasil
Tel: 11-30617141

Análise dos resultados de exames citopatológicos realizados em uma Unidade Básica de Saúde

Analysis of the cytopathological exams results performed in a Basic Health Units

Yonna Costa Barbosa¹

Maria Isis Freire de Aguiar²

Poliana Pereira Costa Rabêlo³

Isura Letícia Tavares Palmeira Rolim⁴

Juliana de Freitas Góes Campos⁵

Máira Francy Anchieta Scrivener⁶

Mirian da Silva Maia⁶

Resumo

O exame preventivo visa à detecção precoce de lesões pré-neoplásicas, além de verificar a microflora da vagina. O objetivo deste trabalho foi descrever a frequência dos resultados dos exames de citologia oncótica coletados em uma Unidade Básica de Saúde no ano de 2009. Trata-se de um estudo documental, com abordagem quantitativa. Foram analisados os resultados dos exames preventivos de mulheres atendidas em uma Unidade Básica de Saúde localizada em São Luís-MA, realizados do período de janeiro a dezembro de 2009. A coleta de dados foi realizada no Laboratório Central do Município, a partir do livro de laudos de exames citopatológicos. O banco de dados foi elaborado no programa Epi Info® 2008, versão 3.5.1. Analisaram-se 1.150 resultados de exames de Papanicolaou, que resultaram em 1.658 diagnósticos. A idade das mulheres compreendeu dos 14 aos 89 anos, e a faixa etária que realizou maior número de exames foi dos 25 aos 35 anos (30,3% do total), sendo também a faixa etária mais acometida por afecções vaginais. Os agentes microbiológicos patológicos mais prevalentes foram: *Gardnerella vaginalis* (15,80%), *Candida* sp. (8,20%). Necessita-se adotar medidas preventivas que incentivem a realização do exame de Papanicolaou a partir de profissionais qualificados e de um sistema de saúde acessível às mulheres.

Palavras-chave

Teste de Papanicolaou; saúde da mulher; atenção primária à saúde

INTRODUÇÃO

As inflamações e/ou infecções vaginais constituem uma das principais causas de queixas em mulheres que procuram clínicas ginecológicas.⁽¹⁾ Podem ser causadas por agentes infecciosos endógenos, por agentes sexualmente transmitidos, ou por fatores físicos, químicos, hormonais, anatômicos e orgânicos. Podem haver sintomas ou a infecção pode ser completamente assintomática.⁽²⁾ Dentre os microrganismos responsáveis pela infecção, destacam-se *Candida* sp., *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*.⁽³⁾ Assim, entende-se que as queixas ginecológicas relacionadas ao trato genital inferior constituem síndromes clínicas que devem ser valorizadas e, sempre que possível, solucionadas antes da coleta do exame preventivo.⁽²⁾

A microflora da vagina pode ser analisada através do exame preventivo,⁽⁴⁾ que pode indicar ainda a presença de agentes patológicos, os quais, uma vez diagnosticados, devem receber o tratamento adequado para controle da propagação da infecção,^(5,6) visto que são um fator de risco para o desenvolvimento do câncer cérvico-uterino. Porém, o principal objetivo do exame é a detecção precoce de lesões pré-neoplásicas que, quando tratadas precocemente, previnem o desenvolvimento do câncer do colo do útero.⁽⁵⁾ Este exame é conhecido popularmente como exame de Papanicolaou, citologia oncótica e PapTest.⁽⁴⁾

O exame citopatológico deve ser realizado prioritariamente nas mulheres a partir dos 25 anos de idade até os 64 anos.⁽⁷⁾ Os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento do câncer do colo do útero são: infecção pelo

¹Acadêmica de Enfermagem da Universidade Federal do Maranhão. Acadêmica de Biologia do Instituto Federal do Maranhão. Egressa da monitoria do PET-Saúde/Saúde da Família/UFMA.

²Doutoranda em Enfermagem pela Universidade Federal do Ceará - UFC. Professora Assistente do Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Maranhão - UFMA. Coordenadora do PET-Saúde/Pró-Saúde/UFMA.

³Doutoranda em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo - USP. Professora Assistente do Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Maranhão. Coordenadora Adjunto do PET-Saúde/Pró-Saúde/UFMA.

⁴Doutora em Enfermagem pela Universidade Federal do Ceará - UFC. Professora Adjunta do Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Maranhão.

⁵Enfermeira. Especialista em Saúde de Família. Especialista em Terapia Intensiva.

⁶Enfermeira.

Instituição: Universidade Federal do Maranhão – São Luís-MA, Brasil.

Recebido em 09/09/2012

Artigo aprovado em 15/02/2016

papiloma vírus humano (HPV); início precoce da atividade sexual; multiplicidade de parceiros sexuais; tabagismo; baixa condição socioeconômica; imunossupressão; uso prolongado de contraceptivos orais e higiene íntima inadequada.⁽⁴⁾

O câncer do colo do útero é uma afecção progressiva iniciada com transformações intraepiteliais⁽⁷⁾ que possuem um crescimento lento e silencioso,⁽⁴⁾ constituindo-se um importante problema de saúde pública no mundo. Para o Brasil, no ano de 2012, esperam-se 17.540 casos novos de câncer do colo do útero, com um risco estimado de 17 casos a cada 100 mil mulheres. Destes, são esperados 780 casos para o estado do Maranhão, com aproximadamente 24 casos a cada 100 mil mulheres, e, para a capital, a incidência esperada é de 210 casos, sendo aproximadamente 38 casos a cada 100 mil mulheres.⁽⁷⁾ Necessita-se aumentar a cobertura da detecção precoce do câncer do colo do útero para que haja redução na mortalidade e no número de casos novos. Nesse sentido, a atenção primária em saúde tem papel fundamental.⁽⁴⁾

Considera-se a relevância deste estudo no sentido de oferecer subsídios para a implementação de políticas públicas voltadas para a população feminina, buscando fortalecer as estratégias de prevenção primária e secundária (diagnóstico e tratamento precoce), que podem permitir o controle das afecções ginecológicas.

Nesta perspectiva, o objetivo deste estudo foi analisar a frequência dos resultados dos exames de citologia oncológica coletados em uma Unidade Básica de Saúde no ano de 2009.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo documental, retrospectivo com abordagem quantitativa, desenvolvido no Laboratório Central do Município (Lacem), que é responsável pela análise citopatológica de todos os exames de Papanicolaou realizados no município de São Luís-MA. A coleta de dados foi realizada no período de janeiro a setembro de 2010.

Foram analisados os resultados dos preventivos de mulheres atendidas em uma Unidade Básica de Saúde (UBS), localizada em São Luís-MA, mediante os critérios de inclusão: mulheres submetidas ao exame de Papanicolaou no período de janeiro a dezembro de 2009, de qualquer idade e acompanhadas no serviço de ginecologia da UBS. O total de exames colpocitológicos analisados foi de 1.150.

Os critérios de exclusão foram: os preventivos considerados insatisfatórios para a análise e os que não apresentaram diagnósticos. Os dados referentes às variáveis estudadas foram coletados no livro de laudos de exames citopatológicos referentes à UBS, que permanecem no Lacem. Nele consta o nome, idade, data da coleta e do recebimento do laudo do exame citopatológico, bem como o resultado do mesmo.

Os dados coletados, que se constituíram da idade das mulheres e do diagnóstico citológico, foram armazenados em um banco de dados no programa Epi Info® 2008, versão 3.5.1., apresentados em forma de tabelas e discutidos a partir de confronto com a literatura pertinente.

A pesquisa foi autorizada pela Superintendência de Educação e Saúde da Secretaria Municipal de Saúde da cidade de São Luís. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão e aprovado sob protocolo 3100/11.

RESULTADOS

A amostra do estudo abrangeu 1.150 resultados de exames de Papanicolaou, que resultaram em 1.659 diagnósticos. Os agentes microbiológicos foram analisados conforme a sua frequência nos resultados de exames e não pelo número de exames preventivos realizados.

A faixa etária das mulheres compreendeu o intervalo dos 14 aos 89 anos, com o maior número de exames preventivos realizados entre mulheres com 25 aos 30 anos, correspondendo a um total de 30,3% (348) dos exames preventivos, seguido pela faixa etária dos 36 aos 46 anos, com 25,2% (290) dos exames; a faixa etária dos 14 aos 24 anos com 19,7% (226) do total de exames e dos 47 aos 57 anos, na qual verificaram-se 15,2% (175) exames. Destaca-se a ausência de informação sobre a idade em 0,6% (7) dos resultados de preventivos.

Concernente à análise microbiológica dos resultados dos exames de citologia oncológica, pôde-se observar a frequência de diagnósticos distribuídos da seguinte forma: Cocos com 27,37% (454), seguido de Bacilos com 23,80% (395), *Lactobacillus* sp. com 18,14% (301), *Gardnerella vaginalis* com 15,80% (262), *Candida* sp. com 8,20% (136), Outros com 4,04% (67), NIC I com 1,15% (19), Insatisfatório com 0,84% (14), *Trichomonas vaginalis* com 0,54% (09), e NIC II e NIC II e III com 0,06% cada (um caso) (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição das frequências dos diagnósticos de citologia oncológica, segundo microbiologia no Laboratório Central do Município de São Luís, 2009

Microrganismos	Total de diagnósticos	%
Cocos	454	27,37
Bacilos	395	23,80
<i>Lactobacillus</i>	301	18,14
<i>Gardnerella</i>	262	15,80
<i>Candida</i>	136	8,20
Outros	67	4,04
NIC I	19	1,15
Insatisfatório	14	0,84
<i>Trichomonas</i>	9	0,54
NIC II	1	0,06
NIC II e III	1	0,06
Total	1.659	100

A categoria definida como Outros inclui resultados de citologia oncótica com presença de flora indistinta, flora indeterminada, atrofia, metaplasia imatura, citólise, compatível com lesão do vírus da herpes, e sem diagnóstico. Não houve resultado de adenocarcinoma ou adenocarcinoma invasor.

Quanto aos agentes microbiológicos e as idades das mulheres (Tabela 2), verificou-se que a faixa etária que obteve maior prevalência de agentes microbiológicos foi dos

25 aos 35 anos, com: 27,1% (123) de cocos, 37,6% (131) bacilos, 34% (89) *Gardnerella* sp., 32,4% (44) *Candida* sp. e 47,4% (09) de NIC I. Para *Lactobacillus* sp., a faixa etária com maior prevalência foi dos 26 aos 36 anos com 32,1% (93). *Trichomonas vaginalis* obteve frequência de 22,2% (dois casos) que se manteve nas faixas etárias de 14 aos 57 anos. Quanto às idades dos diagnósticos de NIC II e NIC II e III, foram respectivamente 42 anos e 58 anos de idade.

Tabela 2 - Distribuição das frequências dos diagnósticos de citologia oncótica por faixa etária, segundo microbiologia no Laboratório Central do Município de São Luís, 2009

Faixa etária (em anos)	Cocos		Bacilos		<i>Lactobacillus</i> sp.		<i>G. vaginalis</i>		<i>Candida</i> sp.		<i>T. vaginalis</i>		NIC I		Outros	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
14 - 24	88	19,4	72	31,9	57	25,2	76	29,0	25	18,4	2	22,2	6	31,6	5	6,2
25 - 35	123	27,1	131	37,6	89	25,6	89	34,0	44	32,4	2	22,2	9	47,4	14	17,3
36 - 46	103	22,7	108	37,2	93	32,1	65	24,8	40	29,4	2	22,2	2	10,5	16	19,8
47 - 57	68	15,0	60	34,3	49	28,0	24	9,2	24	17,6	2	22,2	1	5,3	21	25,9
58 - 68	51	11,2	20	26,7	8	10,7	5	1,9	2	1,5	1	11,1	0	0,0	17	21,0
69 - 79	15	3,3	2	8,7	3	13,0	0	0,0	1	0,3	0	0,0	1	5,3	5	6,2
80 - 90	4	0,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	3,7
Não informado	2	0,4	2	28,6	2	28,6	3	1,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

DISCUSSÃO

A faixa etária que realizou maior número de exames citopatológicos correspondeu dos 25 a 35 anos, seguida pela faixa etária dos 36 aos 46 anos, sendo compatível com o rastreamento oportunístico. Verificou-se uma ordem crescente do número de preventivos dos 14 até os 46 anos, com decréscimo significativo a partir dos 47 anos. Assim, o número de preventivos realizados diminuiu com o aumento da idade, o que também foi observado na literatura.^(1,8) Em um estudo realizado em Goiás com as mulheres submetidas ao exame de Papanicolaou, o número de exames preventivos realizados diminuiu a partir da faixa etária de 51 a 60 anos, com somente 10,3% do total de exames realizados.⁽¹⁾

Nesse contexto, apontou-se um estudo observacional realizado em um município de pequeno porte do norte do Paraná, onde se constatou que 7,7% das mulheres com 60 anos ou mais apresentaram alguma alteração no exame de Papanicolaou.⁽⁹⁾ Diante dessa realidade, essas mulheres devem ser incentivadas à realização do exame preventivo. O desconhecimento sobre a necessidade de fazer o exame nessa faixa etária é um dos fatores pelos quais as mulheres não buscam sua realização.⁽¹⁰⁾

Em relação à análise microbiológica dos resultados de citologia oncótica, é necessário ressaltar que o trato

genital feminino possui um mecanismo de defesa natural contra microrganismos patogênicos, que se caracteriza pela presença de lactobacilos em sua microbiota.⁽¹¹⁾ *Lactobacillus* sp., Cocos, e outros bacilos são achados microbiológicos considerados normais, uma vez que compõem a microbiota vaginal.⁽¹²⁾

Quando há um desequilíbrio na microbiota vaginal, microrganismos patogênicos proliferam-se,⁽¹³⁾ o que levará a infecções cérvico-vaginais; entre estes microrganismos, destacam-se: *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp. e *Trichomonas vaginalis*.⁽³⁾ Pesquisas indicam que vaginites e vaginoses podem facilitar a infecção pelo HPV, o que se relaciona com o câncer do colo do útero.⁽¹⁴⁾

Conforme os resultados da pesquisa, a *Gardnerella vaginalis*, um dos agentes bacterianos mais frequentemente associados à vaginose bacteriana, foi encontrado em 15,80% (262 casos) dos resultados de exames analisados. O exame de Papanicolaou tem boa sensibilidade para o diagnóstico de *G. vaginalis*, embora não seja o seu principal objetivo.⁽¹⁵⁾ Nesta pesquisa foi a bactéria que mais se evidenciou, sendo constatado ainda em outros estudos com uma prevalência significativa.^(1,15)

Em pesquisa realizada em uma UBS da periferia de Fortaleza, com o objetivo de avaliar os resultados de exames citopatológicos para fins preventivos em mulheres em uma Unidade Básica de Saúde da periferia de Fortaleza no

ano de 2007, a frequência de *Gardnerella* encontrada foi de 19,6%.⁽¹⁶⁾

A infecção por *G. vaginalis* causa geralmente corrimento vaginal de cor esbranquiçada, acinzentada ou amarelada, de odor fétido semelhante a "peixe podre", que se acentua após as relações sexuais e no período menstrual, acometendo principalmente mulheres em idade reprodutiva.⁽¹⁷⁾ A etiologia ainda não está definida, porém, parece estar relacionada com a alta frequência de coitos, uso do dispositivo intrauterino (DIU), espermicidas, antibióticos de largo espectro e o uso de duchas vaginais.⁽¹⁾

Neste estudo, a faixa etária mais acometida foi dos 25 aos 35 anos, com 34% dos diagnósticos (89 casos). Há ainda estudiosos que relacionam a maior prevalência de infecção por *G. vaginalis* à faixa etária, sendo mais prevalente de 21 a 30 anos, ao menor grau de escolaridade e ao tipo de ocupação, sendo mais associada a mulheres com atividades de comércio e do lar (donas de casa e domésticas).⁽¹⁵⁾

O segundo microrganismo potencialmente patogênico mais prevalente neste estudo foi a *Candida* sp., presente em 8,20% das amostras (136 casos). Outros estudos também apontam frequência significativa de *Candida* sp.⁽⁶⁾ Em uma pesquisa, realizada no Espírito Santo, a prevalência de infecção por *Candida* sp. foi de 9,3%, constituindo-se também na segunda maior prevalência do estudo.⁽¹⁸⁾ A faixa etária mais acometida foi dos 25 aos 35 anos de idade com 32,4% dos diagnósticos (44 casos).

A presença de *Candida* sp. no resultado de exame citopatológico pode ou não indicar a presença de infecção por este fungo, já que pequena quantidade já é suficiente para indicar sua presença, mas não infecção.⁽¹⁹⁾

A candidíase vulvovaginal é uma infecção causada por fungos ou por levedura causada por cepas de *Candida*. Esta pode ser encontrada em muitas mulheres, porém, são assintomáticas. O desequilíbrio que acarreta mudança do estado assintomático para o sintomático é observado com maior frequência na gravidez ou na presença de uma condição sistêmica, como diabetes melito e infecção por vírus da imunodeficiência humana (HIV), ou quando as pacientes estão recebendo certos medicamentos, como corticosteroides ou contraceptivos orais. O quadro sintomático é caracterizado por prurido e subsequente irritação, e secreção esbranquiçada.⁽³⁾ A ocorrência está associada a hábitos sexuais, higiênicos ou comportamentais.⁽¹⁾

O *Trichomonas vaginalis* é o agente causador da doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum e foi observado em 0,54% dos resultados (9 casos). No estado do Rio de Janeiro, encontrou-se prevalência de 1,79% de resultados positivos para *Trichomonas* sp.⁽²⁰⁾ Observa-se que não só no local da pesquisa mas também em outros estudos o *T. vaginalis* foi mais inferior que os demais microrganismos estudados.^(6,18,21)

A ocorrência deste diagnóstico foi observada em igual porcentagem (22,2% dos casos) nas faixas etárias dos 14 aos 24 anos, dos 25 aos 35 anos, dos 36 aos 46 anos, dos 47 aos 57 anos. Assim, não se observaram mudanças significativas na prevalência de *T. vaginalis* na sua distribuição relacionada às faixas etárias das mulheres.

Nas últimas décadas, observa-se que o número de casos de tricomoníase teve uma diminuição substancial, e um dos motivos é o aumento do incentivo ao uso do preservativo nas relações sexuais.⁽²⁰⁾

T. vaginalis é transmitido por meio da relação sexual e pode sobreviver por mais de uma semana sob o prepúcio do homem sadio após o coito com mulher infectada. Apesar disso, transmissão não sexual teoricamente pode ocorrer em casos de duchas contaminadas, espéculos ou assento de vasos sanitários.⁽²²⁾

Os homens geralmente são assintomáticos, já as mulheres podem apresentar corrimento vaginal abundante, disúria, ou polaciúria, dor pélvica,⁽¹⁶⁾ odor vaginal anormal e prurido vulvar;⁽²²⁾ assim, deve-se orientar o tratamento do casal em conjunto.^(2,16) A tricomoníase vaginal pode alterar a classe da citologia oncológica,^(2,4) por isso, deve-se realizar o tratamento e repetir a citologia após três meses.⁽⁴⁾

Quanto às neoplasias intraepiteliais, verificou-se prevalência de 19 (1,15%) resultados de preventivos que indicavam NIC I, com maior número de casos dos 25 aos 35 anos (47,4% dos casos); e 0,06% (1 caso) para NIC II e para NIC II e NIC III. Uma pesquisa documental, realizada em uma UBS no Ceará, constatou que as neoplasias intraepiteliais I, II e III foram identificadas em 14 preventivos (1,2%).⁽¹⁶⁾ Os resultados de NIC I, neste estudo, foram significativamente superiores aos de NIC II e III. Não foi evidenciado na pesquisa nenhum laudo de carcinoma *in situ* e invasor.

O colo do útero é revestido por várias camadas de células epiteliais pavimentosas, arranjadas de forma bastante ordenada. Quando a desordem ocorre nas camadas mais basais do epitélio estratificado, estamos diante de uma Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau I - NIC I - Baixo Grau (anormalidades do epitélio no 1/3 proximal da membrana). Se a desordenação avança 2/3 proximais da membrana estamos diante de uma Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau II - NIC II - Alto Grau. Na Neoplasia Intraepitelial Cervical Grau III - NIC III - Alto Grau, o desarranjo é observado em todas as camadas, sem romper a membrana basal.⁽⁴⁾

De acordo com uma pesquisa realizada em São Paulo, os fatores de risco para o diagnóstico tardio de lesão do colo do útero são: idade igual ou superior a 35 anos, não achar importante o exame de Papanicolaou, não saber a diferença entre o exame ginecológico e o exame de Papanicolaou, histórico de laqueadura e ausência de sintomas.⁽²³⁾

Neste estudo, 1,2% dos resultados de exames preventivos foram considerados como insatisfatórios, o que demonstra a necessidade de se implantarem programas de treinamento nas UBS para a melhoria na qualidade das amostras, desde a coleta até a emissão dos laudos, sendo fundamental para o sucesso dos programas de rastreamento citológico.⁽²⁴⁾

Diante dessa realidade, cabe aos profissionais de saúde atender de forma integral, informando a mulher sobre a importância da realização do preventivo, e participar de programas de educação permanente para aperfeiçoamento da prática profissional. Além disso, as ações para controle do câncer de colo do útero devem ser acessíveis à população e resolutivas.⁽¹⁰⁾

CONCLUSÕES

A prevalência de agentes patológicos e de lesões intraepiteliais mostraram-se relevantes e desafiadoras neste estudo. Assim, é fundamental que se adotem medidas preventivas para se evitarem afecções ginecológicas; para isso, são necessários profissionais qualificados e um sistema de saúde acessível às mulheres e integrado entre os níveis de assistência à saúde.

Neste sentido, a Estratégia Saúde da Família possui um papel fundamental no rastreamento, acompanhamento e desenvolvimento de programas de educação em saúde para as mulheres que procuram a atenção básica de saúde.

O conhecimento dos resultados de exames preventivos oferece aos profissionais a oportunidade de fundamentar suas ações e contribuir para a qualidade da assistência da saúde da mulher.

O estudo apresentou limitações quanto à coleta de dados porque os dados fornecidos no livro de laudos são insuficientes, pois não possuem demais dados demográficos, socioeconômicos, dificultando uma análise mais ampla de fatores de risco. Incentiva-se a realização de outros estudos que abordem também a relação das condições socioeconômicas e clínicas com os diagnósticos dos exames citopatológicos.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório Central do Município de São Luís - Maranhão, por disponibilizar os resultados para análise.

Abstract

The screening test is aimed at early detection of precancerous lesions, and to identify the microflora of the vagina. The objective was to describe the frequency of examination results of cytology collected in a health basic unit in 2009. This is a documentary study with a quantitative approach. We analyzed the results of preventive women attended at a Health Basic Unit located in Sao Luis - MA, conducted from January to

December 2009. Data collection was performed at the Central Laboratory of the City, from the book of reports of cytopathology. The database was developed using Epi Info 2008®, version 3.5.1. We analyzed 1.150 results of Pap tests, which resulted in 1.658 diagnoses. The age of women comprised of 14 to 89 years, and age has done more tests was 25 to 35 years (30.3% of total), and also the age group most affected by vaginal disorders. The pathological microbiological agents were most prevalent: Gardnerella vaginalis (15.80%), Candida sp. (8.20%). Need to adopt preventive measures to encourage the implementation of the Pap smear, from qualified professionals and a health system accessible to women.

Keywords

Vaginal smears; women's health; primary health care

REFERÊNCIAS

- Ribeiro AA, Oliveira DF, Sampaio MCN, Carneiro MAS, Tavares SBN, Souza NLA, et al. Agentes microbiológicos em exames citopatológicos: estudo de prevalência. *Rev Bras Anál Clín.* 2007; 39(3):179-81.
- Brasil; Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
- Smeltzer SC, Bare BG, Hinkle JL, Cheever KH. Brunner & Suddarth - Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de atenção básica. Controle dos cânceres do colo do útero e da mama. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
- Soares MBO, Silva SR. Resultados de citologia oncológica em uma regional de saúde no período de 2007-2008. *Rev. Rene.* 2010;11 (Número Especial): 23-31.
- Terres AF, Machado NA, França FS, Ramos CDT, Haas P. Análise dos resultados de exames preventivos e de rastreamento de câncer de colo do útero realizados em uma clínica ginecológica particular no município de Curitiba, PR. *Estud. Biol.* 2009;31(73/74/75):103-9.
- Brasil; Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2012. Rio de Janeiro: Inca, 2011.
- Gonçalves S, Rech RJ, Sica S, Merlin JC, Haas P. Panorama da colpocitologia oncológica na rede pública do Estado de Santa Catarina, Brasil. *Estud. Biol.* 2007;29(67):137-44.
- Melo SCCS, Prates L, Carvalho MDB, Marcon SS, Pelloso SM. Alterações citopatológicas e fatores de risco para a ocorrência do câncer de colo uterino. *Rev Gaúcha Enferm.* 2009;30(4):602-8.
- Ribeiro MGM, Santos SMR, Teixeira MTB. Itinerário Terapêutico de Mulheres com Câncer do Colo do Útero: uma abordagem focada na prevenção. *Revista Brasileira de Cancerologia.* 2011; 57(4):483-91.
- Oliveira EH, Soares LF. Prevalência de vaginites infecciosas através da citologia clínica: um estudo no Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí. *Rev Bras Anál Clín.* 2007;39(1):33-35.
- Brasil; Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. 2ª. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2006. 56 p.
- Nai GA, Mello ALP, Ferreira AD, Barbosa RL. Frequência de Gardnerella vaginalis em esfregaços vaginais de pacientes hysterectomizadas. *Rev Assoc Med Bras.* 2007;53(2):162-5.
- Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine.* 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/42-5151.

15. Oliveira AB, França CAS, Santos TB, Garcia MAF, Tsutsumi MY, Brito JLC. Prevalência de Gardnerella e Mobiluncus em exames de colpocitologia em Tome-Açu, Pará. Rev Para Med. 2007;21(4): 47-51.
16. Vieira NMA. Análise de exames preventivos de uma Unidade Básica de Saúde da periferia de Fortaleza no ano de 2007. Dissertação. Fortaleza. Universidade de Fortaleza. Centro de Ciências da Saúde. Mestrado em Saúde Coletiva para obtenção do grau de mestre. 2009.
17. Giraldo PC, Passos MRL, Bravo R, Varella RQ, Campos WNA, Amaral RL, et al. O frequente desafio do entendimento e do manuseio da vaginose bacteriana. DST - J bras Doenças Sex Transm. 2007; 19(2): 84-91.
18. Barcelos MB, Vargas PRM, Baroni C, Miranda AE. Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. Rev Bras Ginecol Obstet. 2008;30(7):349-54.
19. Fundação Oncocentro de São Paulo. Condutas Clínicas frente aos resultados do exame de Papanicolaou. São Paulo: imprensa oficial, 2006.
20. Souza LG, Vianna ACC. Análise dos exames colpocitopatológicos de clientes atendidas pelo ambulatório de ginecologia preventiva do Hospital Geral de Bonsucesso, RJ, no período entre maio/2004 e abril/2005. Novo Enfoque [on line]. 2010; 5(3):1-16. Disponível em: <http://www.castelobranco.br/sistema/novoenfocue/files/05/03.pdf>.
21. Martins MCL, Bôer CG, Svidzinski TIE, Donida LOG, Martins PFA, Boscoli FNS, et al. Avaliação do método de Papanicolaou para triagem de algumas infecções cérvico-vaginais. Rev Bras Anál Clín. 2007;39(3):217-21.
22. Feitosa CF, Consolaro MEL. Tricomoníase: aspectos gerais e diagnóstico pela colpocitologia de Papanicolaou. Arq. ciências saúde UNIPAR. 2005; 9(3): 199-206.
23. Lourenço AV. Fatores de risco implicados com o atraso no diagnóstico do câncer do colo do útero. Dissertação. São Paulo. Fundação Antônio Prudente. Curso de Pós-Graduação em Ciências para obtenção do grau de mestre. 2010.
24. Etlinger DLR, Ducatti C, Gomes LP, Pereira SMM, Teixeira MS, Silva VL, et al. Importância do controle de qualidade para a redução das amostras insatisfatórias cérvico-vaginais. Rev Bras Anál Clín. 2009;41(1):61-3.

Correspondência

Yonna Costa Barbosa
Faculdade de Enfermagem
Universidade Federal do Maranhão - UFMA,
São Luís-MA, Brasil
e-mail: yonna@ibest.com.br

Controle de qualidade em laboratórios de análises clínicas da cidade de Anápolis, GO

Quality control in clinical laboratories of Anapolis city, GO

Darcimeire Fernandes de Lima¹

Jívago Carneiro Jaime²

Resumo

Controle da qualidade são técnicas e atividades operacionais utilizadas para monitorar o cumprimento dos requisitos da qualidade especificados. Sabe-se que o mercado está sendo muito disputado e, para se manter ativo, o laboratório de análises clínicas deve buscar a melhor qualidade através de programas intra e interlaboratoriais. Nestes programas, todos os processos analíticos desenvolvidos devem ser continuamente monitorados pelos controles de qualidade, permitindo assim detectar falhas que possam ocorrer dentro do sistema analítico e assim tomar decisões no sentido de corrigir tais problemas. O controle da qualidade em laboratório clínico é um processo muito amplo e deve alcançar todos os processos de análises desde o primeiro contato com o cliente até a entrega dos resultados. O objetivo deste trabalho foi verificar a participação dos laboratórios de análises clínicas de Anápolis em programas de controle de qualidade analítico. A metodologia foi realizada por meio de pesquisa bibliográfica e questionários destinados ao setor de controle da qualidade com questionamentos pertinentes à avaliação proposta pelo trabalho. A pesquisa foi realizada na cidade de Anápolis-Goiás, onde foram pesquisados 25 laboratórios de análises clínicas. Os dados mostram que grande parte dos laboratórios de Anápolis está inscrita em programas de controle de qualidade, atendendo assim os requisitos da RDC 302 da Anvisa. Percebe-se também que presença do farmacêutico é muito pequena, ficando bem abaixo dos profissionais biomédicos. Isso mostra que o farmacêutico não está tendo interesse pela área e/ou está perdendo o seu espaço no mercado. Com os resultados obtidos conclui-se que os laboratórios de análises clínicas cumprem com suas metas no controle de qualidade analítica dos seus processos, tendo como consequência a boa execução produtiva de seus serviços, conseguindo alcançar a confiabilidade de seus clientes.

Palavras-chave

Controle da qualidade; gestão da qualidade; regras de Westgard

INTRODUÇÃO

O controle da qualidade (CQ) não é uma proposta que surgiu recentemente, desde a pré-história os produtos de má qualidade já poderiam ser reconhecidos como objetos que não atendiam as expectativas dos artesãos e eram descartados. O controle da qualidade surgiu em outros países bem antes da Revolução Industrial, mas pode-se considerar como implantado numa amplitude maior principalmente nos países com maior nível de desenvolvimento econômico. Após a Revolução Industrial, quando houve a evolução tecnológica, a busca da qualidade deu grande ênfase nos processos de produção.⁽¹⁾

A preocupação com o CQ começou mesmo no século XX quando o sistema da qualidade começou a despertar a

necessidade de sua implantação nas indústrias, mas logo após a II Guerra Mundial esse acontecimento, no Japão, foi ao ápice, onde a área produtiva e mercadológica do país se sentiu ameaçada por outros países, os quais mostravam maiores qualificações e isso fez com que surgisse o que se chama Sistema Toyota de Produção, onde várias indústrias, principalmente a indústria automobilística, se expandiram juntamente com a Toyota, a qual implantou novos conceitos e metas de qualidade na área produtiva de seus automóveis para atender as necessidades de outros países que foram destruídos pelas guerras.⁽¹⁾

Após a guerra, o Japão se sentiu destruído e acabado, mas não deixou de se desenvolver, procurando possibilidades de se sobressair à chamada crise de competitividade. Portanto, foi necessária uma reestruturação e uma

¹Farmacêutica. Prefeitura Municipal de Itaguari, GO, Brasil.

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

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

Artigo recebido em 05/07/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

"limpeza" geral. Para que isso ocorresse foi implantado o Método 5S, que são conceitos básicos e simples de algumas regras que fazem a diferença na qualidade, sendo a base da implantação do Sistema da Qualidade Total nas empresas. No Brasil, somente em 1991 o Método 5S foi implantado, viabilizando mudanças de comportamento e de atitude das pessoas, possibilitando o desenvolvimento de um ambiente propício à obtenção da qualidade total.⁽²⁾

Com o mercado atual muito competitivo, os laboratórios de análises clínicas sentiram a necessidade de buscar a sua expansão no mercado adotando o Sistema de Controle da Qualidade (CQ). Dentro dos laboratórios, o CQ tem uma importância muito grande, pois através da sua implantação e da utilização de ferramentas analíticas seus processos analíticos podem ser monitorados constantemente, resultando em uma maior segurança em seus laudos e, por consequência, confiabilidade dos seus clientes.

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC 302, de 13 de outubro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de laboratórios clínicos, controle da qualidade são técnicas e atividades operacionais utilizadas para monitorar o cumprimento dos requisitos da qualidade especificados.

No Brasil, somente na década de 1970 e 1980 os programas de controle da qualidade em laboratório clínico foram implantados, através da ControlLab, em 1976, quando criou o primeiro programa de controle de qualidade interno e externo em bioquímica do país, o Programa Nacional de Controle da Qualidade (PNCQ), também, em 1976, patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) e o Programa de Excelência para Laboratórios Clínicos (PELM), em 1977, patrocinado pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC).⁽³⁾

Para participar dos programas de controle da qualidade laboratorial, os laboratórios de análises clínicas devem primeiramente definir quais são suas atividades analíticas e então se inscrever junto a um ou mais programas disponíveis no âmbito nacional e/ou internacional.

Até recentemente poucos laboratórios sentiam a necessidade de buscar e controlar a qualidade de seus serviços prestados, muitos acabavam por utilizar controles de qualidade próprios, porém sem qualquer tipo de padronização que pudesse ser avaliado de forma mais sistemática. A chegada da RDC 302 e por consequência a obrigatoriedade de implantação de um serviço de controle da qualidade obrigou uma fração significativa de laboratórios a se inscrever em programas de controle de qualidade. Os laboratórios têm percebido que, além de agregarem maior qualidade aos serviços prestados, o controle da qualidade passou a ser também visto como uma estratégia de marketing junto a seus clientes médicos e pacientes. Como maneira de divulgar esta condição, os laboratórios dispõem de selos com

atestados de participação em controle da qualidade e certificados de qualidade mensal e anual que podem facilmente ser divulgados a seus clientes.

A avaliação da implantação de um dos controles da qualidade nos laboratórios de análises clínicas, aliado a um programa de garantia da qualidade permite observar as práticas utilizadas e traçar metas para aperfeiçoá-las e produzir exames de qualidade. Além disto, é possível manter sob constante vigilância os aspectos relativos à segurança da instalação e dos indivíduos que, direta ou indiretamente, estão envolvidos na execução dos exames atendendo aos requisitos do Regulamento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

O objetivo deste trabalho foi verificar a participação dos laboratórios de análises clínicas de Anápolis nos programas de controle de qualidade analítico: PNCQ, PELM ou ControlLab.

REFERENCIAL TEÓRICO

A preocupação com qualidade existe desde que o homem começou a manufaturar utensílios. Na pré-história, quando o artesanato separava os vasos de cerâmica que julgava não bonitos e os quebrados, estava fazendo controle da qualidade.⁽⁴⁾

O século XX é considerado como o Século da Qualidade, pois os conceitos de qualidade sofreram uma evolução considerável em função das características do tipo de serviços prestados pelas empresas. As ideias que antes pareciam corretas, hoje são consideradas ultrapassadas. O conceito da qualidade tem evoluído acompanhando o ritmo das mudanças vividas pela sociedade. Hoje, a qualidade de um produto não se refere apenas à sua beleza ou ao alto custo, mas, sim, se ele atende as especificações e expectativas do cliente. Com relação ao percentual de rejeição que antes era aceitável pelo setor de produção, tem-se uma visão completamente diferente segundo os conceitos de qualidade desenvolvidos na atualidade de maneira que os índices que antes eram aceitos ou tolerados são praticamente inexistentes, ou seja, procura-se alcançar o "defeito zero".

Sabe-se que o mercado está sendo muito disputado e, para se manter ativo, o laboratório de análises clínicas deve buscar a melhor qualidade através de programas intra e interlaboratoriais. Nestes programas, todos os processos analíticos desenvolvidos devem ser continuamente monitorados pelos controles da qualidade, permitindo assim detectar falhas que possam ocorrer dentro do sistema analítico e assim tomar decisões no sentido de corrigir tais problemas.⁽⁵⁾

A área de diagnóstico laboratorial vem passando por intensas modificações ao longo dos anos, e com a regulamentação proposta pela RDC 302 temos observado um

maior número de laboratórios realizando controle da qualidade em seus processos analíticos. Segundo dados obtidos da SBAC, 2009, no Brasil estimam-se a existência de aproximadamente 18 mil laboratórios; destes, apenas cerca de 5.500 estão inscritos nos programas de controle da qualidade. Poucos laboratórios participam de dois ou mais programas. Apesar de obrigatório, não mais que 30% do total de laboratórios do país fazem parte de algum programa oficial de controle da qualidade, mantido pelas sociedades científicas e, destes, alguns não estão aptos a receber os certificados de excelência e ótimo desempenho por não responderem a todas as avaliações ou não atingirem os índices de desempenho necessários para tal.

Com o crescente aumento da demanda analítica e a disponibilidade do uso de equipamentos de automação, o laboratório tem a capacidade de fornecer respostas rápidas com maior eficiência no controle da qualidade e na implantação de mecanismos que possam promover a modernização das estruturas laboratoriais, buscando viabilizar a relação médico/paciente no tratamento de patologias.⁽⁶⁾

O controle da qualidade em laboratório clínico é um processo muito amplo e deve alcançar todos os processos de análises desde o primeiro contato com o cliente até a entrega dos resultados.⁽³⁾ O processo tem início ainda na fase pré-analítica, onde há o preparo do paciente até o momento em que o exame solicitado seja coletado. Segundo as Recomendações da SBPC/ML (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial), 2005, esta é a fase onde ocorre a maior parte dos erros dentro do laboratório. Seguindo o processo temos a fase analítica, onde as análises são realizadas segundo métodos e técnicas padronizadas e validadas. Nesta fase, o CIQ deve fazer parte como uma amostra qualquer e seus resultados serem avaliados para validar as análises realizadas ou não. A última etapa do processo compreende a fase pós-analítica em que se destaca a emissão e conferência dos laudos, devendo ser monitorada para se evitarem erros que possam prejudicar o exame final.⁽⁷⁾

Os laboratórios de análises clínicas devem realizar os controles interno e externo da qualidade, conforme norma estipulada pela RDC 302, de 13 de outubro de 2005. Estes controles têm diferentes funções quando aplicados na rotina laboratorial, podem ser avaliados separadamente das amostras dos pacientes ou em conjunto com essas amostras, dependendo do tipo de sistema analítico que o laboratório dispõe. O Controle Interno da Qualidade (CIQ) tem o objetivo de assegurar um funcionamento eficiente e confiável dos procedimentos laboratoriais através da reprodutibilidade e exatidão de seus resultados. Estes tipos de controle podem ser realizados simultaneamente ou não às amostras dos pacientes, e os mesmos deveriam preferencialmente ser analisados anteriormente para validar o sistema analítico, porém observa-se que nem sempre isto é realizado

dessa forma, principalmente quando se tem um sistema analítico manual ou semiautomatizado.⁽⁸⁾

Controle Interno da Qualidade (CIQ)

O Controle Interno da Qualidade é incluído rotineiramente em cada processo analítico. Os valores dessas amostras são conhecidos pelo analista, e essas amostras têm a finalidade de ajudá-lo a decidir se o sistema analítico está ou não reproduzindo resultados analiticamente confiáveis e, quando alterados, permite detectar e estimular tomadas de decisão no sentido de se buscar a causa do erro e solucioná-lo. O funcionamento de um programa de controle interno da qualidade pode ser representado através de por um fluxograma, como demonstrado na Figura 1.⁽⁸⁾

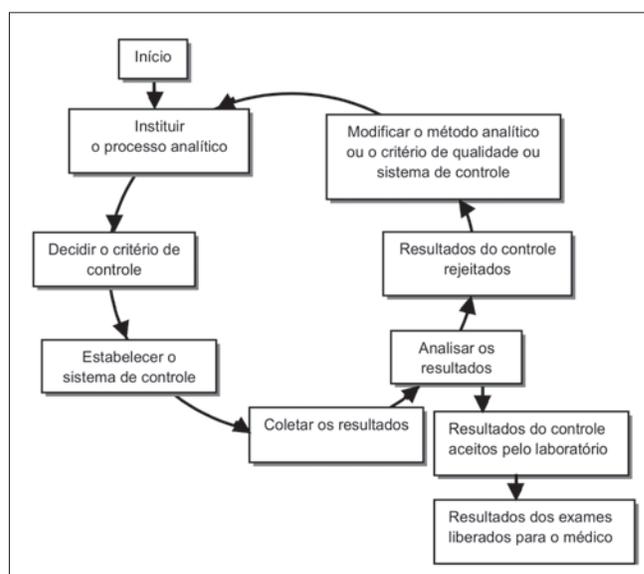


Figura 1. Fluxograma representando as diferentes fases do Controle Interno da Qualidade.⁽⁸⁾

Cada laboratório de análises clínicas deve estabelecer os limites aceitáveis de seus CIQ, e esses limites são estabelecidos após a realização de, no mínimo, vinte dosagens de cada analito. Uma vez estabelecidos média e desvio padrão, os dados dos controles da qualidade devem ser rotineiramente avaliados segundo esses valores. As análises diárias do CIQ plotadas em um gráfico Levey-Jennings e interpretadas segundo as regras de Westgard permitem classificar os erros ocorridos e, por consequência, se tomarem decisões no sentido de corrigi-los.

Existem ferramentas que são usadas no controle interno da qualidade buscando informações sobre as análises para saber se estão dentro ou fora de controle. Os sistemas mais utilizados são os gráficos de Levey-Jennings e a utilização das regras de Westgard. Os gráficos de controle passaram a ser empregados nos laboratórios clínicos por

Levey-Jennings, em 1950, a partir de técnicas de controle desenvolvidas para a indústria. Henry e Sagalove (1952) difundiram aplicação dos gráficos de Controle de Levey-Jennings, analisando simultaneamente amostras de controle (valores conhecidos) juntamente com amostras de pacientes (valores desconhecidos).⁽³⁾ Nas aplicações, principalmente bioquímicas, as regras de Westgard mais recomendadas são aquelas em que se aplicam duas ou quatro medições de controle por corrida, as quais são interpretadas pelas regras múltiplas, que facilitam a interpretação dos gráficos na identificação de erros, sejam eles aleatórios ou sistemáticos, podendo perceber também a exatidão e a precisão das análises.⁽⁹⁾

O gráfico de controle de Levey-Jennings deve ser realizado para cada analito avaliado no laboratório, no qual se deve diariamente colocar neste gráfico os resultados obtidos no ensaio do analito na amostra controle, buscando detectar os resultados "dentro de controle" e "fora de controle. Quando os resultados dos controles estiverem "dentro dos Limites Aceitáveis de Erro (LAE)" (média \pm 2s), o resultado do exame pode ser liberado, caso contrário, ou seja, se os resultados dos controles estiverem "fora dos LAE" (média \pm 2s), os exames dos pacientes devem ser retidos. Semanalmente, o gráfico de controle deve ser examinado com vistas a detectar se está ocorrendo tendência, desvio, perda da exatidão e perda da precisão.⁽³⁾

Controle Externo da Qualidade (CEQ)

O Controle Externo da Qualidade é o controle interlaboratorial. Esse tipo de controle é feito com amostras desconhecidas, enviadas pelos programas de gestão de CQ aos laboratórios participantes e devem ser analisadas seguindo os mesmos procedimentos técnicos e metodológicos das amostras de uma rotina laboratorial e seus resultados devem ser reportados ao programa de CQ ao qual o laboratório está inscrito. Logo após, cada laboratório recebe um relatório especificando as médias de desvio padrão obtidas pelos outros laboratórios participantes, e o "SDI" (Intervalo de Desvio Padrão) dos valores reportados, onde são comparados com os resultados encontrados pelos laboratórios. Os valores reportados que diferem excessivamente da média do valor são evidenciados para alertar o participante da possibilidade de um erro analítico representado pela falta de exatidão.⁽¹⁰⁾

Quando se fala em controle externo da qualidade, está se falando de ensaios de proficiência, onde existem programas de auxílio oferecendo opções para aprimoramento da qualidade das empresas. Através dos ensaios de proficiência, avalia-se o desempenho de um laboratório clínico comparando-o com seus pares e com os laboratórios clínicos de referência, proporcionando orientações valiosas nos processos de melhoria da qualidade dos seus resultados.

Isso permite não só um constante aprimoramento científico da equipe técnica, mas também um modo de garantir a confiabilidade dos laudos, valorizando a imagem profissional da empresa.⁽¹¹⁾

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada com base nos acervos da Biblioteca Central da UniEvangélica e da Faculdade Anhanguera, unidade de Anápolis, e nas bases de dados virtuais SciELO e Medline disponibilizados pelo Centro Universitário da UniEvangélica de Anápolis⁽¹³⁾ e outros sites confiáveis da internet. A normatização das citações e referências obedeceu às regras da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) e às normas citadas em "Do contexto ao texto: os desafios da linguagem científica".⁽¹²⁾

O estudo inclui a coleta de dados qualitativo ao quantitativo, constituído de um questionário padronizado aos responsáveis técnicos dos Laboratórios de Análises clínicas de Anápolis (Anexo 1 - pag.10). A aplicação do questionário foi realizada durante o mês de junho de 2010.

Após a seleção dos laboratórios através de uma relação obtida junto à Anvisa, realizamos o contato inicial por telefone e/ou visitas pessoais com os responsáveis pelo controle da qualidade nos laboratórios de análises clínicas de Anápolis, e, quando da visita, levamos a carta de anuência convidando-os a participarem do projeto. Após a aprovação do projeto pelo comitê de ética e pesquisa da UniEvangélica, iniciou-se a pesquisa de campo, quando foram levadas, novamente, as cartas de anuência, juntamente com o questionário, aos responsáveis técnicos dos laboratórios para a realização da pesquisa pelo preenchimento do questionário.

O estudo foi Transversal – feito para descrever os laboratórios da cidade de Anápolis com relação à implantação do Controle da Qualidade Analítica nos Laboratórios de Análises Clínicas.

A pesquisa foi realizada na cidade de Anápolis-Goiás, onde foram pesquisados 25 laboratórios de análises clínicas, tendo sido os gestores desses laboratórios abordados em seus locais de trabalho, alguns em horário previamente agendado. Os laboratórios participantes, tendo ou não respondido ao questionário, foram mantidos em sigilo e cada um deles recebeu uma numeração que variou de 1 a 25.

Foram inclusos na pesquisa os laboratórios de análises clínicas que exercem suas atividades analíticas na cidade de Anápolis e que seus gestores assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando em participar da entrevista na qual foram respondidas questões pertinentes ao controle de qualidade.

Os laboratórios nos quais seus gestores não concordaram em assinar o TCLE, os que estavam fechados e os

postos de coletas ou filiais do laboratório pesquisado foram excluídos dessa pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram convidados 25 laboratórios de análises clínicas a participarem da pesquisa; desses, apenas 13 concordaram em participar do levantamento, dois encontravam-se com suas atividades encerradas e dez se recusaram a responder o questionário. Anápolis apresenta hoje aproximadamente 35 laboratórios de análises clínicas, o que significa que nossa amostragem abrangeu aproximadamente 70% desses laboratórios.

Os dados mostraram que todos os laboratórios de Anápolis que concordaram em participar da pesquisa estão inscritos em algum programa de controle de qualidade, atendendo assim os requisitos da RDC 302/2005 da Anvisa. Essa participação total dos laboratórios entrevistados não significa que possamos extrapolar para os demais laboratórios de Anápolis, uma vez que a principal hipótese para a não participação de outros laboratórios em nossa entrevista pode ter sido exatamente o fato desses outros laboratórios não estarem inscritos em programas de controle de qualidade como determina a RDC 302/2005.

Com relação aos laboratórios participantes do levantamento, verificou-se que em todos os estabelecimentos os profissionais de saúde responsáveis técnicos pelas unidades ou eram farmacêuticos bioquímicos, 23,08%, ou eram biomédicos, 76,92% (Figura 2), o que mostra a importância dessas duas categorias na condução dos processos de gestão na área de análises clínicas.

Entre os programas de controle de qualidade, os laboratórios se dividiram em dois grupos: 46,15% estão inscritos no programa do PNCQ e 53,85% estão inscritos no programa da ControlLab;⁽¹¹⁾ nenhum dos laboratórios tem participado de mais de um programa de controle de qualidade (Figura 2). O fato de nenhum laboratório estar inscrito no programa PELM conduzido pela SBPC, pode ser de-

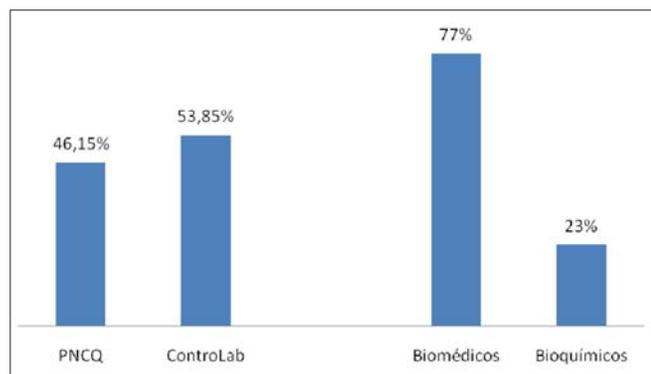


Figura 2. Profissionais responsáveis técnicos e participação em programas de controle da qualidade dos laboratórios de Anápolis-GO.

vido a questões de custo, logística de distribuição dos materiais, ou pelo fato de que os profissionais que conduzem a área de análises clínicas tenham mais vínculos como sócio com a SBAC, fato que diminui os custos do programa PNCQ.

Quando questionados sobre o uso de soro controle interno, todos afirmaram utilizar o soro controle interno distribuído pelos programas de controle de qualidade no seu dia a dia. Em relação ao duplo-cego, um laboratório respondeu que também faz uso como medida de controle interno e dois laboratórios afirmaram utilizar ainda controles internos adquiridos de outras empresas. Nenhum usa amostras de soro preparadas pelo próprio laboratório.

Quanto aos setores existentes dentro dos laboratórios e que realizam controle de qualidade, observamos que todos os participantes possuem as áreas de bioquímica, hematologia, uranálise; 92% possuem as áreas de imunologia e parasitologia; 53,85% possuem a área de microbiologia e 15,38% possuem a área de citologia. Nenhum desses laboratórios possui a área de biologia molecular. Quanto à periodicidade da realização do controle interno da qualidade nas áreas existentes nos laboratórios, 92,31% o realizam diariamente e 7,69% realizam mensalmente o CIQ no setor de bioquímica; 61,54% realizam diariamente o CIQ em hematologia, 23,08% o realizam semanalmente e 15,38% o realizam mensalmente. Na uranálise, 30,77% realizam diariamente o CIQ, 15,38% o realizam semanalmente, 23,08% o realizam mensalmente e 30,69% não realizam o CIQ. Na imunologia, 33,33% realizam diariamente o CIQ, 33,33% o realizam semanalmente, 8,34% o realizam mensalmente e 25% não o realizam. Na parasitologia, 25% o realizam diariamente, 16,67% o realizam semanalmente, 25% o realizam mensalmente e 33,33% não realizam o CIQ. Na microbiologia, 28,57% realizam o CIQ diariamente, 14,29% o realizam semanalmente, 28,57% o realizam mensalmente e 28,57% não o realizam nessa área. Já na citologia, 50% realizam o controle interno mensalmente e 50% não realizam o controle interno nessa área (Tabela 1). Por meio desses dados percebe-se um fato importante onde nem todos os setores do

Tabela 1 - Setores presentes nos laboratórios de análises clínicas de Anápolis-GO e frequência de realização do CIQ

Setores	Laboratórios %	Frequência de realização do CIQ			Não realizam
		Diária	Semanal	Mensal	
Bioquímica	100	92,31	-	7,69	-
Hematologia	100	61,54	23,08	15,38	-
Uranálise	100	30,77	15,38	23,08	30,69
Imunologia	92	33,33	33,33	8,34	25
Parasitologia	92	25	16,67	25	33,33
Microbiologia	53,85	28,57	14,29	28,57	28,57
Citologia	15,38	-	-	50	50

Fonte: Coleta de dados.

laboratório aplicam o controle de qualidade interno, fato relevante, pois, segundo a RDC 302/2005, todos os setores analíticos de um laboratório devem realizar o controle interno de qualidade.

Em relação ao Controle Externo de Qualidade (CEQ), todos os laboratórios afirmaram realizá-lo, porém com

percentual diferenciado para os diferentes setores do laboratório, sendo: 92% realizam o CEQ nas áreas de bioquímica, hematologia e imunologia; 84,61 na uranálise, 76,92% na parasitologia e 38,46% na microbiologia. Na área de citologia nenhum dos laboratórios realiza o controle externo de qualidade (Figura 3).

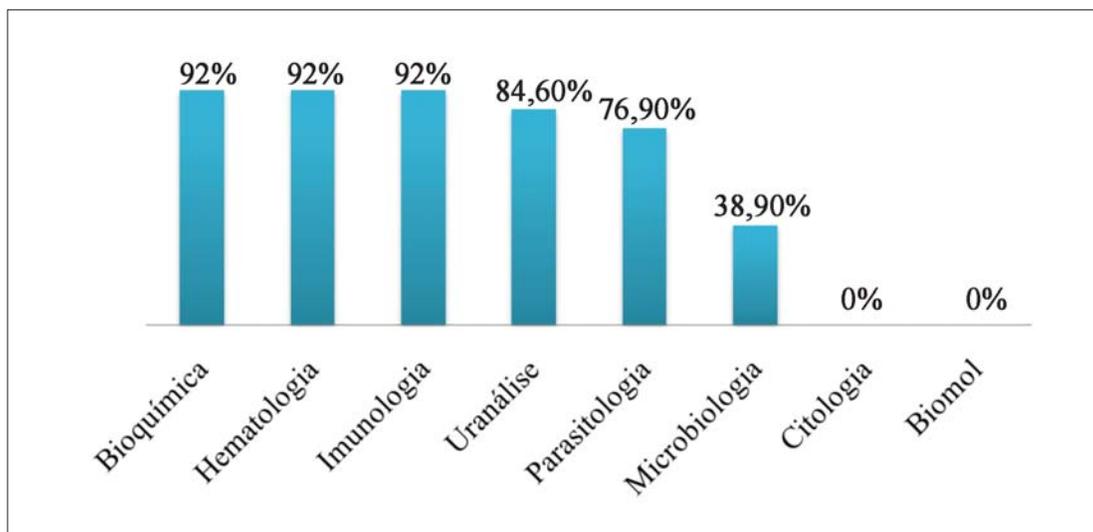


Figura 3. Frequência de participação em CEQ dos laboratórios de análises clínicas de Anápolis-GO. Fonte: coleta de dados.

Em relação às ferramentas de análise do controle de qualidade, observamos que 46,15% utilizam o gráfico de Levey-Jennings e 53,85% não utilizam este gráfico na avaliação de seu controle da qualidade. Entre aqueles que utilizam esses gráficos todos afirmam utilizá-los no setor de bioquímica e 16,67% os utilizam também em hematologia, nenhum dos demais setores foram citados.

Em relação às regras de Westgard, 38,46% dos laboratórios conhecem as regras e as aplicam no laboratório; 46,16% conhecem as regras, mas não as aplicam no laboratório; 15,38% não conhecem as regras e não as aplicam no laboratório.

Sabe-se que o uso dos gráficos de Levey-Jennings e das regras de Westgard são de suma importância dentro dos laboratórios e a pesquisa mostra ainda que os laboratórios pouco conhecem sobre esses gráficos e muito menos sobre como usá-los segundo as regras de Westgard. Podemos imaginar com isso a pouca capacitação dos analistas bioquímicos e biomédicos e que atitudes devem ser tomadas para reverter esse quadro.

Esse pouco conhecimento observado quanto à interpretação do controle interno da qualidade pode proporcionar a prestação de um serviço de menor qualidade por parte desses laboratórios, uma vez que erros analíticos ou sistemáticos podem ocorrer e não ser identificados, proporcionando assim resultados não confiáveis aos seus pacientes.

Todos os laboratórios consideram muito importante a participação nos programas de controle da qualidade e justificam como importante a avaliação de seus processos analíticos, porém observamos que, mesmo sendo laboratórios com muitos anos de atuação na cidade de Anápolis, apenas quatro dos que responderam à pesquisa fazem parte de programas de controle da qualidade há mais de quatro anos e que a maior parte, nove laboratórios, ingressaram nestes programas há menos de quatro anos (Figura 4), coincidindo assim com a publicação da RDC 302/2005, que passou a exigir a participação nestes programas como um dos critérios para liberação do alvará de funcionamento. Isso nos faz imaginar que, mesmo não respondendo dessa forma, muitos laboratórios ainda vêem o controle de qualidade como mais um "documento" necessário para a obtenção do alvará de funcionamento.

Corroborando ainda com o relato expresso no parágrafo anterior o fato de muitos laboratórios não utilizarem os gráficos de Levey-Jennings nas análises de seus resultados de controle da qualidade, o que torna o CQ inócuo para monitoramento dos processos analíticos.

Com relação à utilização de um ou mais controles internos da qualidade no laboratório, 46,15% utilizam somente um controle e 53,85% utilizam dois controles. Observa-se que a maioria dos laboratórios reconhece a importância da utilização de mais de um controle interno da qualidade no laboratório, pois a utilização de dois ou mais

controles facilita a identificação dos erros, conseguindo perceber a exatidão e a precisão das análises com mais facilidade, podendo detectar falhas caso venham a existir.

Em relação à utilização dos manuais de Procedimento Operacional Padrão (POP) dentro dos laboratórios, observamos que 7,7% não os possuem; 7,7% os possuem somente para alguns setores e 84,6% os possuem para todos os setores do laboratório. Sabe-se que os POP são fundamentais em qualquer âmbito da saúde, e através desse levantamento foi possível encontrar laboratório que não possui esses procedimentos em nenhum dos seus setores e que os mesmos são inexistentes em algumas áreas dos laboratórios, deixando assim de cumprir com as exigências do regulamento vigente.

Com relação à periodicidade com que são realizadas as análises do CIQ e CEQ, observamos que 76,92% realizam as suas análises em conjunto com as amostras dos pacientes; 23,08% realizam tudo em apenas um dia sem misturar com as análises dos pacientes. Isto nos chama a atenção uma vez que uma amostra de controle da qualidade deve ser tratada como se faz com as amostras dos paci-

entes, não sendo admissível tratá-la de maneira diferenciada, pois se não for feito dessa forma essa amostra passa a ter tratamento diferenciado e pode ter seus resultados manipulados.

Em todos os laboratórios de análises clínicas, quando ocorrem não conformidades, 92,3% sempre aplicam ações corretivas, mas 7,7% raramente executam essas ações.

Os gestores discutem os resultados do controle de qualidade com sua equipe em 84,61% dos laboratórios participantes e em 15,39% desses laboratórios os resultados não são discutidos com a equipe.

Quando questionados sobre o motivo da realização dos controles da qualidade nos laboratórios, 7,7% aplicam estes controles devido a ser uma exigência da Anvisa; 7,7% responderam que, além de ser uma exigência da Anvisa, permitem avaliar os processos desenvolvidos no laboratório; 76,9% dizem que o controle interno permite avaliar os processos desenvolvidos no laboratório e outros 7,7% responderam que, além de permitir avaliar os processos desenvolvidos no laboratório, também é uma questão estratégica de marketing, como mostra a Figura 5.

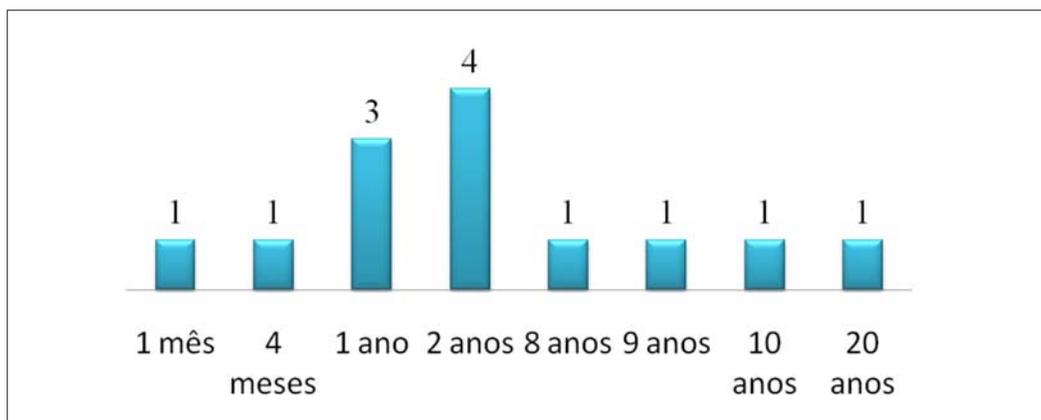


Figura 4. Tempo de permanência em programa de controle da qualidade dos laboratórios de análises clínicas de Anápolis-GO. Fonte: dados da coleta.

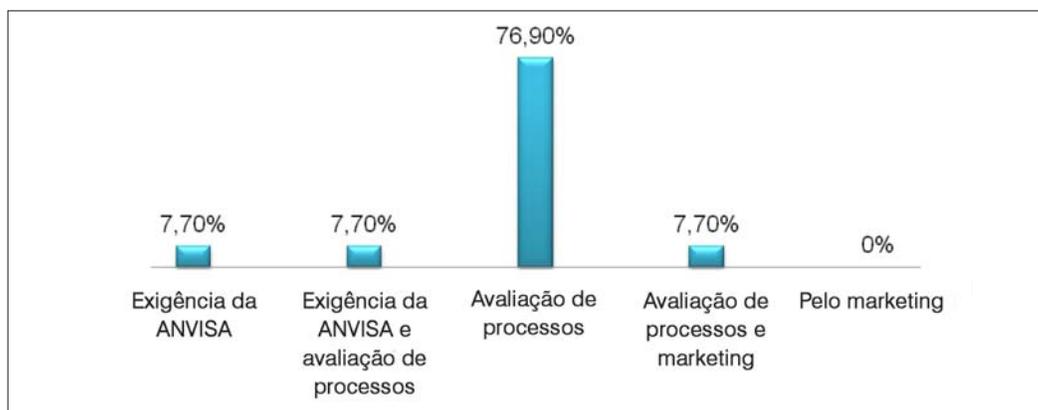


Figura 5. Motivos pelos quais os laboratórios de análises clínicas de Anápolis-GO estão inscritos em programas de controle da qualidade. Fonte: coleta de dados.

Em relação a Controle da Qualidade Analítico em Laboratórios, a literatura é escassa, apresentando poucos trabalhos. Nenhum estudo foi encontrado sobre a importância da implantação do controle da qualidade em laboratórios de análises clínicas onde mostra a aplicação dos controles internos e externos nas áreas analíticas e como são aplicados.

CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos através do estudo realizado, conclui-se que os laboratórios de análises clínicas de Anápolis-GO não seguem ainda todas as regulamentações inerentes ao Controle da Qualidade Analítico, ou seja, não cumprem com os objetivos que devem ser alcançados com um programa de controle da qualidade analítico, observando-se a necessidade, por parte dos profissionais da área laboratorial, de se buscarem qualificações pertinentes a esse controle para que conheçam melhor essa importante ferramenta para a condução de um programa de qualidade dentro do laboratório, sendo isto fundamental para se alcançar a qualidade na prestação de serviços que os clientes necessitam. Ressalta-se ainda a importância da regulamentação através da RDC 302/2005 que pode ser considerada a alavanca para a participação inicial dos laboratórios de análises clínicas nos programas de controle da qualidade.

Abstract

Control of quality technical and operational activities are used to monitor compliance with the requirements of the quality specified. We know that the market is being very disputed, and to stay active, clinical laboratory analyses must seek the best quality through inter-laboratory intra and programs. These programs all developed analytical processes must be continuously monitored by the quality controls, thus detect failures that might occur within the analytical system and take decisions in order to correct such problems. Quality control in Clinical Laboratory is a very broad and must reach all processes analysis from the first contact with the customer until the delivery of results. The goal of this work was to ensure the participation of clinical laboratories of Annapolis in programs of analytical quality control. The methodology was accomplished through bibliographic search and questionnaires for QA industry with enquiries relevant to the assessment proposed by work. The search was performed in the city of Annapolis-Goiás, where they were searched 25 clinical laboratories. The data show that a large part of laboratories in Annapolis is enrolled in quality control programs, meeting the requirements of the DRC 302 of Anvisa. Realize also that presence of pharmacist is very small and well below the biomedical professionals. This shows that the pharmacist is not taking interest in area and/or is losing its market space. With the results obtained concluded that assist clinical laboratories comply with your goals in analytical quality control processes having as a consequence the proper performance of its services achieving productive achieve reliability of its customers.

Keywords

Quality control; quality management; Westgard rules

REFERÊNCIAS

1. Muller, Cláudio J. Sistema Toyota de Produção. NET. Disponível no site: http://www.producao.ufrgs.br/arquivos/disciplinas/383_SistemaToyotaGeral.pdf. Acesso em: 08 de jun. 2010.
2. Ribeiro H. 5S: A Base para a Qualidade Total. Salvador, BA: Casa da Qualidade, 1994.
3. Lopes HJJ. Garantia e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico. Assessoria Técnico-Científica da GoldAnalisa Diagnóstica Ltda. Belo Horizonte, MG, 2003.
4. Vitor, Gilberto, Paschoal, Claudia. A história do desafio da qualidade. NET. Setembro 1999. Disponível em: <http://www.crd2000.hpg.com.br/textos/artigo98.htm>. Acesso em 18 out. 2009.
5. Chui QSH, Antonoff HB, Olivieri JC. Utilização de índices r e R obtidos de programas interlaboratoriais para o controle de precisão de método analítico: determinação de água por Karl Fischer. Revista Química Nova. 2002;25(4):657-9.
6. Lutz, Instituto Adolfo. Experiência de modelo de programa de garantia de qualidade em hematologia e bioquímica. Revista Saúde Pública 2007; 41(6):1070. Disponível no site: <http://www.scielo.org/pdf/rsp/v41n6/ss.pdf>. Acesso em 20 de set. 2009.
7. Oliveira GL. Gestão estratégica em medicina laboratorial. Rio de Janeiro. Ano V. 53ª edição. p.2-4, fev. 2009. Disponível no site: <http://www.sbpcc.org.br/upload/publicacao/fb9d6b6cb6dcb5b63309885a5b6e6f8.pdf>. Acesso em 20 set. 2009.
8. Motta VTC, Motta JA, Leonardo R. Gestão da Qualidade no Laboratório Clínico. 2ª Edição. Caxias do Sul: Editora Médica Missau, 2001.
9. Westgard, James O. Regras Múltiplas e "Regras de Westgard. O que são? Inc 2002 <http://www.westgard.com>. Traduzido por ControlLab © 2003. disponível no site www.controllab.com.br. Acesso em 04 fev.2010.
10. Henry JB. Diagnósticos Clínicos & Tratamento por Métodos Laboratoriais. 18ª edição. Editora Manole Ltda. São Paulo-SP, 1995.
11. PNCQ. RDC 302 Comentada pelos assessores científicos do PNCQ. Disponível no site: www.pncq.org.br. Acesso em 04 fev.2010.
12. Pietrafesa JP, Silva DCS, Borba OF, Pereira LLP, (orgs). Do Contexto ao Texto: Os desafios da Linguagem Científica. Anápolis: Kelps, 2006.

Correspondência

Jivago Carneiro Jaime

Centro Universitário de Anápolis – UniEvangélica

Av. Universitária Km 3,5 – Cidade Universitária

Anápolis-GO, Brasil

Tel: 62-33106600

ANEXO 1



UniEvangélica CURSO DE FARMÁCIA

Av. Universitária Km 3,5 Cx. Postal 122 e 901 – CEP: 75.070-290 – Anápolis-GO
Fones: (0xx62) 2210-6600 e 3310-6705

QUESTIONÁRIO APLICADO AO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA DA UNIEVANGÉLICA SOB O TÍTULO: CONTROLE DE QUALIDADE ANALÍTICO NOS LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS DE ANÁPOLIS-GOÍÁS

Informação Geral

Laboratório: _____

Natureza da Instituição: () Pública () Privada () Filantrópica

Responsável Técnico: _____

Conselho Regional: _____ np _____

1 - O laboratório está inscrito em algum programa de Controle de Qualidade?

() Sim, participa do PNCQ

() Sim, participa da Controlab

() Sim, Qual? _____

() Não

Caso tenha respondido não a primeira questão, favor não responder a questão: 02

2 - Caso o laboratório participe de algum programa de controle de qualidade, há quanto tempo está inscrito neste programa?

3 - Qual tipo de Controle Interno o laboratório realiza?

() Duplo-cego

() Amostra preparada pelo próprio laboratório

() Soro-controle interno disponibilizado pelos Programas de Controles

() Não realizamos controle de qualidade interno

4 - Primeiramente, marque os setores que existem em seu laboratório e depois a periodicidade em que são realizados o Controle Interno?

Setor	Diário	Semanal	Mensal	Não realiza	Não realizamos o CIQ
Bioquímica					
Hematologia					
Uranálise					
Imunologia					
Parasitologia					
Microbiologia					
Citologia					
Biologia molecular					

5 - Em quais desses setores do laboratório são realizados o Controle de Qualidade Externo?

- Bioquímica
- Hematologia
- Uranálise
- Imunologia
- Parasitologia
- Biologia Molecular
- Microbiologia
- Citologia

6 - Você utiliza gráficos de Levey-Jennings no laboratório?

- Sim
- Não

7 - Caso utilize gráficos de Levey-Jennings, em quais setores do laboratório eles são empregados?

- Bioquímica
- Hematologia
- Uranálise
- Imunologia
- Parasitologia
- Biologia Molecular
- Microbiologia
- Citologia

8 - Em relação às regras de Westgard

- Conheço as regras e aplico no laboratório
- Conheço as regras e não aplico no laboratório
- Não conheço as regras porém aplico no laboratório
- Não conheço as regras e não aplico no laboratório

9 - Quantos Controles de Qualidade Internos você utiliza por analito?

- Um
- Dois
- Três
- Mais de três

10 - Em relação aos manuais de procedimento operacional padrão (POP) o laboratório:

- Não tem
- Tem apenas para alguns setores
- Tem para todos os setores

11 - Como você realiza o controle de qualidade interno ou externo:

- Realizo as suas análises conforme analiso as amostras dos pacientes
- Realizo as análises no mínimo em duplicata
- Realizo tudo em apenas um dia sem misturar com as análises dos pacientes

12 - As não conformidades detectadas pelo Programa de Controle Interno ou Externo da Qualidade sofrem ações corretivas?

- Nunca
- Raramente
- Sempre

13 - Os resultados do Controle de Qualidade Externo são discutidos com os demais colaboradores do laboratório?

- Não
- Sim
- As vezes

14 - Você realiza Controle de Qualidade, Por que?

- É uma exigência da ANVISA
- Permite avaliar os processos desenvolvidos no laboratório
- Por questões estratégicas de marketing
- Outra. Qual?

Análise dos resultados de exames bioquímicos realizados em um laboratório de pequeno porte

Analysis of biochemistry exam results performed in a small laboratory

Iara Alonso¹

Moacir Martins Júnior²

Resumo

A necessidade de conhecer o real custo na realização de um exame de bioquímica se faz obrigatória para que o laboratório consiga se manter no concorrido mercado de análises clínicas. Os exames de bioquímica compreendem vasto campo de análise, englobando determinações de eletrólitos, exames metabólicos, função renal, função hepática, marcadores cardíacos e ósseos. Neste estudo, utilizaremos a nomenclatura de "exames de bioquímica" para todos os exames realizados neste setor. Foram observadas todas as etapas do processo para mensurar e identificar pontos de melhoria no controle eficiente dos custos. O objetivo do trabalho foi apurar o custo unitário de todos os exames de bioquímica em um laboratório de pequeno porte e, posteriormente, encontrar o ponto de equilíbrio entre as despesas e as receitas, considerando todos os custos diretos e indiretos necessários para a realização desses exames. Utilizamos, para este estudo, o método de Sistema de Custeio baseado em atividade. Analisando todas as áreas do laboratório, podemos observar que a área em estudo é responsável por 31% de todos os exames realizados no laboratório, tendo assim grande relevância para o resultado final.

Palavras-chave

Bioquímica; custo; lucro; ponto de equilíbrio

INTRODUÇÃO

"As mudanças ocorridas nos negócios desde meados da década de 70, desencadeadas pela competição global e pelas inovações tecnológicas, provocaram inovações impressionantes quanto à utilização de informações financeiras e não financeiras pela empresa. O novo ambiente demanda informações mais relevantes relacionadas a custos e desempenho de atividades, processos, produtos, serviços e clientes".⁽¹⁾

Informações são o resultado de dado ou conjunto de dados adequadamente processados para que o usuário final as compreenda e possa tomar decisões com base nelas.⁽²⁾

Nesse cenário de competitividade global, a empresa precisa ser analisada como um conjunto de atividades inter-relacionadas e preocupadas em atender às necessidades, expectativas e anseios dos clientes.

Aliada a essa economia globalizada, o laboratório de análises clínicas tem enfrentado sérias dificuldades perante as entidades que ditam as tabelas de honorários. Os compradores de serviços buscam reduzir seus gastos, e, por outro lado, os prestadores de serviços procuram mostrar os riscos de reduzir seus preços à custa da qualidade e até mesmo da viabilidade financeira.

É indispensável dispor de ferramentas e técnicas apropriadas e padronizadas para administrar. Com o acentuado avanço tecnológico na última década, os exames de bioquímica saltaram do artesanal para o automatizado num curto espaço de tempo, diminuindo consideravelmente o tempo para o diagnóstico. Os benefícios são evidentes não só na introdução de novas tecnologias, adequação de mão-de-obra, avaliação de desempenho de equipamento, mas também na análise da viabilidade financeira, aumentando a qualidade em todos os processos.

¹Graduada em Administração; Pós-Graduada em Gestão Empresarial - Universidade Federal de Uberlândia – MG; Pós-Graduada em Administração Hospitalar - Instituto Brasileiro de Extensão Educacional e Pós-Graduando em MBA Executivo e Inteligência de Negócios - Instituto de Pós-Graduação.

²Graduado em Tecnologia Mecânica - Universidade Estadual Paulista - Unesp-SP; Pós-Graduação em Direito Educacional pela Faculdade São Luis - Jaboicabal-SP, Brasil; Pós-Graduado em Administração da Produção pela Faculdade de Ciências Contábeis e Adm. de Sorocaba (FACCAS) - SP; Especialização em Aprendizado Cooperativo e Desenvolvimento Regional pela Faculdade de Ciências Empresariais de Mondragón - Espanha; Especialização em Desenvolvimento de Cooperativas pela LKS - Mondragón - Espanha; Especialista em Gestão de Sistema e Estruturas de Serviços; Acreditor Hospitalar pelo CQH- 2005

Instituição: Faculdade de Tecnologia de Piracicaba - FATEP

Artigo recebido em 13/10/2010

Artigo aprovado em 15/02/2016

O objetivo estratégico dos laboratórios, diante do contexto atual, é desenvolver uma gestão de custos eficientes, onde a administração consiga visualizar o cenário interno do laboratório, utilizando a tecnologia como aliada, maximizando a importância dos profissionais qualificados, de treinamentos constantes, além de determinar quais serviços são mais lucrativos e analisar até onde pode reduzir custo sem comprometer a qualidade.

Neste estudo, o objetivo é demonstrar como apurar o custo unitário dos exames e, posteriormente, encontrar o ponto de equilíbrio entre as despesas e as receitas, através dos custos diretos e indiretos, necessários na realização dos exames de bioquímica no laboratório de análises clínicas onde foi realizado este trabalho.

MATERIAL E MÉTODO

O método adotado no decorrer deste estudo se refere ao de custeio, baseado em atividade. Esta abordagem de custos é voltada à máxima produtividade e à necessidade de maior controle sobre os custos indiretos.

Essa metodologia é denominada Custeio Baseado em Atividade – ABC (*Activity Based Costing*). O sistema de custeio baseado em atividades não se diferencia do sistema de custeio baseado em volume, apenas pela mudança das bases de alocação de custos indiretos, mas também pela identificação que faz dos custos por atividade e pela maneira como aloca os custos aos produtos, por meio de maior número de bases. De acordo com Brimson,⁽³⁾ "a abordagem da contabilidade por atividades para gerenciamento de custos divide uma empresa em atividades. Uma atividade descreve o que uma empresa faz – a forma como o tempo é gasto e os produtos do processo. A principal função de uma atividade é converter recursos (material, mão-de-obra e tecnologia) em produtos e serviços. A contabilidade por atividades identifica as atividades desenvolvidas em uma empresa e determina seu custo e desempenho (tempo e qualidade)." Chalos⁽⁴⁾ explicita que "a premissa básica do ABC é que atividades consomem recursos e produtos consomem atividades. Isto significa que custos nos negócios devam ser primeiro acumulados no nível de atividades e de lá então para determinado produto. Os custos acumulados sob uma atividade são determinados para o produto usando direcionador de custo".

Na realização do estudo da contabilidade de custos, é preciso considerar todos os setores de um laboratório de análises clínicas como sendo consumidores efetivos e, nesse sentido, deverão ser conceituados como centro de custo.

Os custos podem ser classificados por diferentes critérios; sendo assim, utilizamos somente a apresentação de conceitos essenciais, que são: custos diretos e custos indiretos.

Para Bernardi,⁽⁵⁾ com relação à forma de associação de custos, eles podem ser classificados em:

Custos diretos: são custos que, por sua natureza, características próprias e objetividade de identificação no produto, são imputados por medições objetivas, por controles individuais, sempre de forma direta e englobam a maioria dos materiais utilizados na fabricação de um produto, bem como a mão-de-obra diretamente utilizada na produção;

Custos indiretos: são custos imputados aos produtos de forma indireta, não havendo possibilidade de medições objetivas individuais e, conseqüentemente, apropriação direta. Incluem-se os materiais indiretos, mão-de-obra indireta e outros custos de fabricação e são alocados por meio de critério de rateio adequados para apropriá-los aos produtos.

Após classificar os custos, eles serão identificados, apurados e mensurados de acordo com as fases envolvidas na análise. O custo unitário da análise foi realizado de acordo com a apuração dos custos diretos e indiretos.⁽⁶⁾ Utilizando esta metodologia, o custo unitário total da análise se dá pela soma do custo direto e indireto.

RESULTADOS

Os custos foram levantados no período de 01 a 28 de fevereiro de 2010, em um laboratório de análises clínicas de pequeno porte, agregado a uma cooperativa, no interior do estado de Goiás, que atende a pacientes de convênios e clientes particulares. Utilizamos como base para o referido estudo o setor de bioquímica. Todos os dados foram analisados estatisticamente, utilizando-se recursos do próprio laboratório.

Cálculo do Custo Direto

Segundo Perez e Costa,⁽⁷⁾ o custeio direto ou variável fundamenta-se na separação dos gastos em variáveis e fixos, isto é, em gastos que oscilam proporcionalmente ao volume da produção e vendas e gastos que se mantêm estáveis perante volumes da produção e vendas oscilantes dentro de certos limites. O custeio direto só considera aquilo que acompanha diretamente a produção, admitindo que os custos fixos devam ser excluídos porque não seguem o ritmo do que se fabrica. Os custos fixos, no processo do custeio direto, são alocados somente para efeito de apuração de resultados como custo do período, mas não integram a avaliação dos estoques.

Seguindo esta metodologia foram identificados e separados quantitativamente os exames do setor de bioquímica, alocando-se os custos diretos como apresentados no Quadro 1.

Custo direto por tipo de exames

Quadro 1 - Valores unitários inclusos: reagentes, calibradores e controles - mensais

Qtde	Exames Bioquímica	Valor Unitário	Valor Total
422	Glicose	1,62	583,64
281	Lipidograma	1,62	455,22
194	Creatinina	1,62	314,28
147	TGP- Transaminase Piruvica	1,62	238,14
124	TGO- Transaminase Oxalacética	1,62	200,88
86	Acido Úrico	1,62	139,32
83	Uréia	1,62	134,46
59	Gama Gt.	1,62	95,58
51	Colesterol Total	1,62	82,62
45	Triglicerídeos	1,62	72,90
38	Lactose, teste de tolerância	4,86	184,68
23	Cálcio	1,62	37,26
21	Fosfatase Alcalina	1,62	34,02
19	Bilirrubina Total e Frações	3,24	61,56
19	Glicose pós prandial	1,62	30,78
17	Colesterol HDL	1,62	27,54
14	CPK- creatino fosfoquinase	1,62	22,68
10	Curva glicêmica simplificada	3,24	32,40
10	Amilase	1,62	16,20
09	Magnésio	1,62	14,58
09	Ferro sérico	1,62	14,58
07	Fósforo	1,62	11,34
06	Albumina	1,62	9,72
05	Curva glicêmica	1,62	8,10
04	DHL - desidrogenasse láctica	1,62	6,48
03	Proteínas totais e Frações	3,24	9,72
03	Colesterol LDL	0,00	0,00
03	Proteínas totais	1,62	4,86
02	Colesterol VLDL	0,00	0,00
01	Clearance de Creatinina	3,24	3,24
1715	Total		2.846,78

Nota: 1-Estão sendo consideradas as repetições de exames no setor, que, no mês de análise, foi de 1,3%.

2- Valores unitários inclusos reagentes, calibradores e controles.

Material de consumo

Foram considerados todos os materiais utilizados na realização dos exames de bioquímica. Os valores foram obtidos por meio de Notas Fiscais de compras dos fornecedores.

Cálculo do custo unitário de consumo

Cálculo do custo unitário de materiais de consumo para realização dos exames de bioquímica. Considerando a utilização de analisador bioquímico modelo Selectra Flexor, os materiais necessários são: algodão, álcool, agulhas, tubos (S- Monovette) e adesivos.

O método utilizado foi o rateio dos gastos pelo número total de exames realizados no laboratório, dividido pelo ticket médio dos exames por pacientes, conforme quadro abaixo.

Onde:

$$ER = \frac{PA}{TM}$$

$$ER = \frac{5.485}{3,60}$$

$$ER = 1.524$$

ER = Número de exames realizados por paciente

TM = Ticket Médio

PA = Número de pacientes atendidos

Onde:

$$CMCD = AL + AO + AG + TB + AD$$

$$CMCD = 0,04 + 0,02 + 0,36 + 0,41 + 0,03$$

$$CMCD = 0,86$$

CMCD = Custo material de consumo direto

AL = Algodão

AO = Álcool

AG = Agulha

TB = Tubos

AD = Adesivos

Quadro 2 - Custo de materiais de consumo direto

Materiais	Exames realizados	Custo Total R\$	Custo total por exame
Algodão	1524	60,96	0,04
Álcool	1524	30,48	0,02
Agulhas	1524	548,64	0,36
Tubos- adultos e crianças	1524	635,45	0,41
Adesivos	1524	45,70	0,03
Total			0,86

Cálculo da mão-de-obra direta

A mão-de-obra, por sua vez, pode ser classificada quanto à sua relação com o produto em direta e indireta. Para alguns autores, a mão-de-obra direta está relacionada com o quanto tempo de trabalho do operário pode ser identificado com o produto, ou seja, o quanto do salário do operário pode ser alocado diretamente ao produto sem que necessite de rateio ou qualquer outra forma de apropriação.⁽⁸⁾ Isso só acontece quando é possível mensurar o tempo de trabalho despendido pelo operário naquela atividade específica.

Estabelecemos como base para o cálculo da mão-de-obra direta os profissionais diretamente envolvidos na realização dos exames. Para o cálculo levamos em conta salário, benefícios, encargos sociais, insalubridade, adicional por tempo de serviço, férias e 13º salário. (Quadro 3).

Profissional por tempo utilizado/valor

O cálculo do tempo foi determinado levando-se em conta a medição do tempo de cada funcionário, utilizando-se um cronômetro de minuto, medimos o tempo gasto por todos os profissionais envolvidos no processo em cada área

Quadro 3 - Cálculo do custo de mão-de-obra direta/total

Profissional	Técnico de laboratório	Técnico de laboratório	Coordenador técnico	Auxiliar laboratório	Coletador (I)	Coletador (II)	Coletador (III)
Salário	1.461,64	1.100,00	2.192,47	510,00	650,00	742,86	650,00
Insalubridade (I)	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00
Adicional tempo de serviço (II)	14,62	0,00	21,92	5,10	0,00	0,00	0,00
INSS (III)	430,71	328,03	632,14	168,41	205,22	230,56	205,22
FGTS (IV)	126,26	96,16	185,31	49,37	60,16	67,59	60,16
FAP (V)	23,54	17,93	34,55	9,20	11,22	12,60	11,22
PIS (VI)	15,78	12,02	23,16	6,17	7,52	8,45	7,52
Férias	131,52	100,17	193,03	51,43	62,67	70,41	62,67
1/3 férias	43,80	33,36	64,28	17,12	20,87	23,44	20,87
13 salários	131,52	100,17	193,03	51,43	62,67	70,41	62,67
Auxílio Alimentação (VII)	237,41	237,41	237,41	237,41	237,41	237,41	237,41
Auxílio Educação (VIII)	125,76	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	125,76
Vale transporte (IX)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	176,00	0,00
Plano de Saúde (X)	59,09	59,09	59,09	82,72	56,09	82,72	56,09
Total por profissional	2.903,65	2.186,34	3.938,39	1.290,36	1.475,83	1.824,45	1.601,59
Total de mão-de-obra direta							15.220,61

Nota: (I) Insalubridade: 20% do salário mínimo; (II) Adicional por tempo de serviço: 1% do salário bruto ao ano; (III) INSS 20%; (IV) FGTS 8%; (V)FAP 1,4918%; (VI) PIS 1%; (VII) Auxílio Alimentação- Acordo Coletivo; (VIII) Auxílio Educação- Acordo Coletivo; (VIII) Auxílio Educação- Acordo Coletivo

do laboratório e transformamos o tempo gasto em porcentagem (%) por setor e, finalmente, dividimos o tempo utilizado por funcionário pela quantidade de exames realizada por setor. (Conforme quadro abaixo).

Onde:

Para Técnico de Laboratório I

$$CTMDB = \frac{RTL \cdot TUB}{NEB}$$

$$CTMDB = \frac{2903,65 \times 24\%}{1.715}$$

$$CTMDB = 0,41$$

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta para bioquímica

TUB = Tempo em % gasto para realizar exames de bioquímica

RTL = Remuneração do trabalho para realização de todos os exames laboratoriais

NEB = Número de Exames Bioquímicos

Para os demais profissionais, foi utilizada a mesma metodologia, conforme Quadro 4

A somatória de todos os profissionais envolvidos no processo de mão-de-obra direto totalizou um valor de R\$1,10 por exames realizados no setor de Bioquímica. (Quadro 4).

Quadro 4 - Valor do exame pelo tempo gasto

Profissional	Tempo Utilizado	Valor/ tempo	Valor/exame Bioq./R\$
Técnico de laboratório I	24%	696,87	0,41
Técnico de laboratório II	4%	87,45	0,05
Coordenador de laboratório	10%	393,4	0,23
Auxiliar de Lab.	5%	64,52	0,04
Coletador I	13%	191,85	0,11
Coletador II	13%	237,18	0,14
Coletador III	13%	208,21	0,12
Total			1,10

Custos indiretos

Custos indiretos são aqueles que não podem ser alocados diretamente a cada produto, ou seja, são passíveis de rateio para que possam integrar a cada setor, sendo gastos comuns a várias atividades e setores.

Custos administrativos e utilidades

Os Custos Administrativos e Utilidades são compostos por: Energia Elétrica, Água tratada, Telefone, Internet, Controle de Qualidade externa, Água Mineral, Material de escritório, Consultoria, Aluguel, Serviço de Frete, Material de limpeza, Material de consumo, TV a cabo, Manutenção, IPTU, Seguro, Alarme Monitorado.

Os custos indiretos foram calculados através de rateio dos custos apurados, utilizando o número de exames realizados no laboratório durante um mês (Quadro 5 a seguir).

Cálculo do custo unitário de despesas administrativas e utilidades

Onde:

$$CUIDAU = \frac{CT}{N}$$

$$CUIDAU = \frac{8.955,49}{5.485}$$

$$CUIDAU = 1,63$$

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CT = Custo total de despesas administrativas e utilidades

N = Número total de exames realizados mensalmente no laboratório

Quadro 5 - Custo com despesas administrativas e utilidades

Custo mensal	
Item	Custo
*Energia Elétrica	1.913,75
Água Tratada	122,28
Telefone	450,00
Gás	10,00
Internet	343,55
Controle de qualidade	539,01
Material de escritório	126,39
Omnia Consultoria	642,21
*Aluguel	2815,00
Serviços de Frete	369,69
Material de Limpeza (50%)	145,60
Material de Consumo	539,23
TV a Cabo	46,80
Manutenção	564,13
IPTU	36,13
Seguro	181,72
WG-Alarme	110,00
Total	8.955,49

Nota: *Algumas metodologias sugerem o rateio do Custo Indireto para energia elétrica, segundo a Potência Instalada e para aluguel, conforme o espaço ocupado. Para fins deste trabalho, utilizamos o rateio por número de exames realizados.

Cálculo do custo da mão-de-obra indireta

Tivemos como base para o cálculo da mão-de-obra indireta, todos os profissionais que não fazem parte direta da produção, calculamos salário, benefícios, encargos sociais, insalubridade, adicional por tempo de serviço, férias e 13º salário (Conforme o quadro 6 abaixo)

Quadro 6 - Custo total de mão-de-obra indireta

Profissional	Atendente I	Atendente II	Auxiliar Operacional	Recepcionista	Auxiliar Adm.
Salário	640,56	640,56	510,00	510,00	640,56
Insalubridade (I)	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00
Auxilio Creche (II)	0,00	198,00	0,00	0,00	0,00
Adicional tempo de serviço (III)	12,81	6,41	5,10	0,00	12,81
INSS (IV)	206,14	258,43	168,41	167,01	206,14
FGTS (V)	60,43	75,76	49,37	48,96	60,43
FAP (VI)	11,26	14,12	9,20	9,12	11,26
PIS (VII)	7,55	9,47	6,17	6,12	7,55
Férias	62,95	62,41	51,43	51,00	62,95
1/3 férias	20,96	20,78	17,12	16,98	20,96
13 salários	62,95	62,41	51,43	51,00	62,95
Auxilio Alimentação (VIII)	237,41	237,41	237,41	237,41	237,41
Auxilio Educação (IX)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vale transporte	0,00	0,00	176,00	0,00	0,00
Plano de Saúde	50,19	50,19	82,72	50,19	50,19
Total por profissional (X)	1.475,21	1.737,95	1.466,36	1.249,79	1.475,21
Total de mão-de-obra direta					7.404,52

Notas: (I) Insalubridade: 20% do salário mínimo; (II) Auxilio Creche: Acordo Coletivo; (III) Adicional por tempo de serviço: 1% do salário bruto ao ano; (IV) INSS: 20%; (V) FGTS: 8%; (VI) FAP: 1,4918%; (VII) PIS: 1%; (VIII) Auxilio Alimentação- Acordo Coletivo; (IX) Auxilio Educação- Acordo Coletivo; (IX) Vale Transporte- Quatro ao dia (2,20 valor unitário do passe x 4 passes dia X 20 dias trabalhados = R\$176,00)

Onde:

$$CTE = \frac{CMDI}{N}$$

$$CTE = \frac{7.404,52}{5.485}$$

$$CTE = 1,35$$

CTMIE = Custo total de mão-de-obra Indireta por exame

CMDI = Custo Total de mão-de-obra indireta

N = Número total de exames realizados mensalmente no laboratório.

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica

Os exames do setor em estudo, foram alocados em cinco grupos, tendo como critério de associação o valor igualitário dos custos diretos. Conforme os quadros 7 e 8.

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica - Grupo I (Quadro 7)

Onde:

$$CUB I = CRCC + CTMDB + CMCD + CUIDAU + CTMIE$$

$$CUB I = 1,62 + 1,10 + 0,86 + 1,63 + 1,63 + 1,35$$

$$CUB I = 6,56$$

CUB I = Custo unitário - Bioquímica- Grupo I

CRCC = Custo de reagentes calibradores e controle do setor de bioquímica

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta da bioquímica

CMCD = Custo material de consumo direto

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CTMIE = Custo total de mão-de-obra indireta por exame

Quadro 7 - Apuração do custo unitário total dos exames de bioquímica

	Descrição de custo	Valor
	Reagente, Calibrador e Controle - Grupo I	1,62
Direto	Mão-de-obra	1,10
	Custo de materiais de consumo	0,86
	Subtotal	3,58
	Despesas Administrativas e utilitárias	1,63
Indireto	Mão-de-obra indireta	1,35
	Subtotal	2,98
	Total Exame Bioquímica - Grupo I	6,56

Nota: Os exames referentes ao grupo (I) são: Ácido Úrico, Albumina, Amilase, Cálcio, Colesterol HDL, Colesterol Total, CPK creatino fosfoquinase, Creatinina, DHL - desidrogenase láctica, Ferro Sérico, Fosfatase Alcalina, Fósforo, Gama GT, Glicose, Glicose Pós Prandial, Lipidograma, Magnésio, Proteínas Totais, TGO, TGP, Triglicérides e Ureia.

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica - Grupo II (Quadro 8)

Onde:

$$CUB II = CRCC II + CTMDB + CMCD + CUIDAU + CTMIE$$

$$CUB II = 3,24 + 1,10 + 0,86 + 1,63 + 1,35$$

$$CUB II = 8,18$$

CUB II = Custo unitário Bioquímica- Grupo II

CRCC II = Custo de reagentes calibradores e controle do setor de bioquímica-grupo

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta da bioquímica

CMCD = Custo material de consumo direto

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CTMIE = Custo total de mão-de-obra Indireta por exame

Quadro 8 - Cálculo do custo unitário dos exames de bioquímica

	Descrição de custo	Valor
	Reagente, Calibrador e Controle - Grupo I	3,24
Direto	Mão-de-obra	1,10
	Custo de materiais de consumo	0,86
	Subtotal	5,20
	Despesas Administrativas e utilitárias	1,63
Indireto	Mão-de-obra indireta	1,35
	Subtotal	2,98
	Total Exame Bioquímica - Grupo II	8,18

Nota: Os exames referentes ao grupo II são: Bilirrubina total e frações, Proteínas totais e frações e Clearance de creatinina e Curva glicêmica simplificada.

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica - Grupo III (Quadro 9)

Onde:

$$CUB III = CRCC III + CTMDB + CMCD + CUIDAU + CTMIE$$

$$CUB III = 0,00 + 1,10 + 1,63 + 1,35$$

$$CUB III = 4,08$$

CUB III = Custo unitário Bioquímica- Grupo III

CRCC III = Custo de reagentes calibradores e controle do setor de bioquímica

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta da bioquímica

CMCD = Custo material de consumo direto

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CTMIE = Custo total de mão-de-obra Indireta por exame

Quadro 9 - Cálculo do custo unitário dos exames de bioquímica

	Descrição de custo	Valor
	Reagente, Calibrador e Controle - Grupo I	0,00
Direto	Mão-de-obra	1,10
	Subtotal	1,10
	Despesas Administrativas e utilitárias	1,63
Indireto	Mão-de-obra indireta	1,35
	Subtotal	2,98
	Total Exame Bioquímica - Grupo III	4,08

Nota: Os exames referentes ao grupo III são: Colesterol LDL e Colesterol VLDL.

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica - Grupo IV (Quadro 10)

Onde:

$$CUB IV = CRCC IV + CTMDB + CMCD + CUIDAU + CTMIE$$

$$CUB IV = 4,86 + 1,10 + 2,80 + 1,63 + 1,35$$

$$CUB VI = 11,74$$

CUB IV = Custo unitário Bioquímica- Grupo IV

CRCC IV = Custo de reagentes calibradores e controle do setor de bioquímica-grupo

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta da bioquímica

CMCD = Custo material de consumo direto

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CTMIE = Custo total de mão-de-obra Indireta por exame

Quadro 10 - Cálculo do custo unitário dos exames de bioquímica

	Descrição de custo	Valor
	Reagente, Calibrador e Controle - Grupo IV	4,86
Direto	Mão-de-obra	1,10
	Custo de material de consumo	2,80
	Subtotal	8,76
	Despesas Administrativas e utilitárias	1,63
Indireto	Mão-de-obra indireta	1,35
	Subtotal	2,98
	Total Exame Bioquímica - Grupo IV	11,74

Nota: São realizados três testes por paciente, utilizando reagentes e materiais de consumo triplicados. O exame referente ao grupo IV é: Lactose - teste de tolerância

Apuração do custo unitário dos exames de bioquímica - Grupo V (Quadro 11)

Onde:

$$CUB V = CRCC V + CTMDB + CMCD + CUIDAU + CTMIE$$

$$CUB V = 8,10 + 1,10 + 4,30 + 1,63 + 1,35$$

$$CUB V = 16,48$$

CUB V = Custo unitário Bioquímica- Grupo V

CRCC V = Custo de reagentes calibradores e controle do setor de bioquímica-grupo

CTMDB = Custo total de mão-de-obra direta da bioquímica

CMCD = Custo material de consumo direto

CUIDAU = Custo unitário indireto de despesas administrativas e utilidades

CTMIE = Custo total de mão-de-obra Indireta por exame

Quadro 11 - Cálculo do custo unitário dos exames de bioquímica

	Descrição de custo	Valor
	Reagente, Calibrador e Controle - Grupo V	8,10
Direto	Mão-de-obra	1,10
	Custo de material de consumo	4,30
	Subtotal	13,50
	Despesas Administrativas e utilitárias	1,63
Indireto	Mão-de-obra indireta	1,35
	Subtotal	2,98
Total Exame Bioquímica - Grupo V		16,48

Nota: São realizados cinco testes por paciente, utilizando reagentes e materiais de consumo quintuplicado. O exame referente ao grupo V é: Curva glicêmica 5 dosagem

Apuração de Resultado

Considerando que cada convênio do laboratório em estudo tem sua própria tabela com valores diferenciados, as receitas foram apuradas pela média dos valores recebidos pelos convênios. Nas despesas foram considerados os custos que incidiram em cada exame realizado no setor de bioquímica. A apuração Geral dos Resultados se refere a cada grupo com o seu respectivo resultado.

Apuração Geral do Resultados

A apuração geral dos Resultados foi realizada através da soma das receitas e das despesas por grupo e, posteriormente, a diminuição da receita total com a despesa total, como demonstram os quadros a seguir.

Apuração de Resultado - Grupo I

	N.º exames realizados	Descrição dos exames	Despesas Unitárias	Despesa Total	Receita Unitária	Receita Total
Grupo I	86	Ácido Úrico	R\$ 6,56	R\$ 564,16	R\$ 3,60	R\$ 309,60
	6	Albumina	R\$ 6,56	R\$ 39,36	R\$ 3,60	R\$ 21,60
	10	Amilase	R\$ 6,56	R\$ 65,60	R\$ 4,64	R\$ 46,40
	23	Cálcio	R\$ 6,56	R\$ 150,88	R\$ 3,36	R\$ 77,28
	17	Colesterol HDL	R\$ 6,56	R\$ 111,52	R\$ 7,25	R\$ 123,25
	51	Colesterol Total	R\$ 6,56	R\$ 334,56	R\$ 3,93	R\$ 200,43
	14	CPK creatino Fosfoquinase	R\$ 6,56	R\$ 91,84	R\$ 12,10	R\$ 169,40
	194	Creatinina	R\$ 6,56	R\$ 1.272,64	R\$ 3,50	R\$ 679,00
	4	DHL- desidrogenase láctica	R\$ 6,56	R\$ 26,24	R\$ 7,20	R\$ 28,80
	9	Ferro Sérico	R\$ 6,56	R\$ 59,04	R\$ 4,32	R\$ 38,88
	21	Fosfatase Alcalina	R\$ 6,56	R\$ 137,76	R\$ 4,32	R\$ 90,72
	7	Fósforo	R\$ 6,56	R\$ 45,92	R\$ 3,36	R\$ 23,52
	59	Gama GT	R\$ 6,56	R\$ 387,04	R\$ 5,04	R\$ 297,36
	422	Glicose	R\$ 6,56	R\$ 2.768,32	R\$ 3,59	R\$ 1.514,98
	19	Glicose Pós Prandial	R\$ 6,56	R\$ 124,64	R\$ 4,80	R\$ 91,20
	281	Lipidograma	R\$ 6,56	R\$ 1.843,36	R\$ 17,49	R\$ 4.914,69
	9	Magnésio	R\$ 6,56	R\$ 59,04	R\$ 3,89	R\$ 35,01
	3	Proteínas Totais	R\$ 6,56	R\$ 19,68	R\$ 3,36	R\$ 10,08
	124	TGO	R\$ 6,56	R\$ 813,44	R\$ 3,99	R\$ 494,76
	147	TGP	R\$ 6,56	R\$ 964,32	R\$ 4,03	R\$ 592,41
45	Triglicéres	R\$ 6,56	R\$ 295,20	R\$ 5,36	R\$ 241,20	
83	Ureia	R\$ 6,56	R\$ 544,48	R\$ 3,62	R\$ 300,46	
Total	1634			R\$ 10.719,04		R\$ 10.301,03

Apuração de Resultado - Grupo II

	N.º exames realizados	Descrição dos exames	Despesas Unitárias	Despesa Total	Receita Unitária	Receita Total
Grupo II	19	Bilirubina Totais e frações	R\$ 8,18	R\$ 155,42	R\$ 4,78	R\$ 90,82
	01	Clearance de creatinina	R\$ 8,18	R\$ 8,18	R\$ 6,75	R\$ 6,75
	10	Curva Glicêmica simplificada	R\$ 8,18	R\$ 81,80	R\$ 15,60	R\$ 156,00
	03	Proteínas Totais e frações	R\$ 8,18	R\$ 24,54	R\$ 3,60	R\$ 10,80
Total	33			R\$ 269,94		R\$ 264,37

Apuração de Resultado - Grupo III

Grupo III	N.º exames realizados	Descrição dos exames	Despesas Unitárias	Despesa Total	Receita Unitária	Receita Total
	03	Colesterol LDL	R\$ 4,08	R\$ 2,24	R\$ 10,00	R\$ 30,00
	02	Colesterol VLDL	R\$ 4,08	R\$ 8,16	R\$ 7,65	R\$ 15,30
Total	05			R\$ 20,40		R\$ 45,30

Apuração de Resultado Grupo IV

Grupo III	N.º exames realizados	Descrição dos exames	Despesas Unitárias	Despesa Total	Receita Unitária	Receita Total
	38	Lactose- intolerância	R\$ 11,74	R\$ 446,12	R\$ 19,32	R\$ 734,16
Total	38			R\$ 446,12		R\$ 734,16

Apuração de Resultado- Grupo V

Grupo III	N.º exames realizados	Descrição dos exames	Despesas Unitárias	Despesa Total	Receita Unitária	Receita Total
	05	Curva Glicêmica 5 dosagem	R\$ 16,48	R\$ 82,40	R\$ 15,60	R\$ 78,00
Total	05			R\$ 82,40		R\$ 78,00

Apuração Geral de Resultado

Identificação do Grupo	Total de exames	Receita	Despesa	Saldo
Grupo I	1634	R\$ 10.301,03	R\$ 10.719,04	-418,01
Grupo II	33	264,37	269,94	-5,57
Grupo III	5	45,30	20,40	24,90
Grupo IV	38	734,16	446,12	288,04
Grupo V	5	78,00	82,40	-4,40
Total	1715	11.422,86	11.537,90	-115,04

Ponto de Equilíbrio

"Devemos ressaltar que o conceito de equilíbrio em Economia é similar ao conceito da Física, em que a situação de equilíbrio só se altera se outro fator ocorrer, tirando o corpo da inércia inicial. Em vista disso, há quem aconselhe o uso da denominação Ponto de Ruptura - do Inglês *break-even-point*."⁽⁹⁾

Apesar de o Ponto de Equilíbrio ser uma ferramenta fundamental na Administração Financeira, este coeficiente não é exato, sendo passível de alguma diferença no decorrer do período. E isso é fácil de explicar. O Custo Fixo, na realidade ele não é fixo como se diz. Ele tem esta denominação, de custo fixo, porque não varia de acordo com as vendas, por isso é chamado de custo fixo. Porém, os custos que o compõem, na realidade variam de acordo com o desperdício administrativo. Por exemplo, a energia elétrica, o gasto com comunicações, com combustível e outros gastos considerados fixos, se não houver controle, sempre estarão variando e, com eles variando, o Ponto de Equilíbrio também variará. Por isso, este coeficiente tem seu valor aproximado. Mas, apesar disso, o Ponto de Equilíbrio é uma ferramenta extremamente importante na Administração Financeira.

Sabendo que a empresa em estudo possui diversidade de exames, há a necessidade de se calcular o ponto de equilíbrio por grupo. Para uma análise geral do setor em estudo iremos utilizar o método aritmético. Desta forma, a demonstração do ponto de equilíbrio pelo método aritmético nos proporcionará maior simplicidade para o entendimento. Embora o ponto de equilíbrio seja uma informação útil, a maioria das empresas gostaria de obter resultado operacional maior que zero. Assim, a análise do custo-volume-lucro, segundo Hasen e Mowen,⁽¹¹⁾ dá-nos uma maneira de determinar quantas unidades precisam ser vendidas para se obter um resultado alvo específico. O resultado operacional alvo pode ser expresso em unidades monetárias ou em porcentual de receita de vendas. A partir dessa análise, podem ser revistos o resultado operacional, a margem de contribuição e a política de preços e custos.

Neste caso, será necessário utilizarmos o "Mix de Venda" para nos auxiliar na formação do preço. Devemos estabelecer então um modelo matemático que represente as relações existentes entre os diversos produtos e as diversas variáveis existentes, e que maximize os resultados da empresa, determinando as quantidades a serem vendidas para

os múltiplos exames, atendendo às restrições de capacidade instalada e de mercado. Conforme quadro a seguir.

Onde:

Grupo I

$$MV = \frac{NTE (I) \times 100}{NEB}$$

$$MV = \frac{1634 \times 100}{1715}$$

$$MV = 95,28\%$$

MV = Mix de venda

NEB = Número de Exames Bioquímicos

NTE (I) = Número total de exames do Grupo (I)

Onde:

Grupo II

$$MV = \frac{NTE (II) \times 100}{NEB}$$

$$MV = \frac{33 \times 100}{1715}$$

$$MV = 1,92\%$$

MV = Mix de venda

NEB = Número de Exames Bioquímica

NTE (II) = Número total de exames do Grupo (II)

Onde:

Grupo III

$$MV = \frac{NTE (III) \times 100}{NEB}$$

$$MV = \frac{5 \times 100}{1715}$$

$$MV = 0,29\%$$

MV = Mix de venda

NEB = Número de Exames Bioquímicos

NTE (III) = Número total de exames do Grupo (III)

Onde:

Grupo IV

$$MV = \frac{NTE (IV) \times 100}{NEB}$$

$$MV = \frac{38 \times 100}{1715}$$

$$MV = 2,22\%$$

MV = Mix de venda

NEB = Número de Exames Bioquímicos

NTE (IV) = Número total de exames do Grupo (IV)

Onde:

Grupo V

$$MV = \frac{NTE (V) \times 100}{NEB}$$

$$MV = \frac{5 \times 100}{1715}$$

$$MV = 0,29\%$$

MV = Mix de venda

NEB = Número de Exames de Bioquímicos

NTE (V) = Número total de exames do Grupo (V)

Apuração Geral de Resultado

Exames	Grupo (I)	Grupo (II)	Grupo (III)	Grupo (IV)	Grupo (V)
Preço de venda (despesas unitárias)	R\$ 6,56	R\$ 8,18	R\$ 4,08	R\$11,74	R\$ 6,48
Custo variável (custos diretos)	R\$ 3,80	R\$ 5,20	R\$ 1,10	R\$ 8,76	R\$ 13,50
Margem de contribuição	R\$ 2,76	R\$ 2,98	R\$ 2,98	R\$ 2,98	R\$ 2,98
Mix de venda	95,28%	1,92%	0,29%	2,22%	0,29%
Custo Fixo - total					5110,70

Margem de Contribuição Ponderada

Margem de contribuição: Segundo Martins,⁽¹⁰⁾ "É a diferença entre as Receitas e a soma de custos e despesas", no caso em estudo, iremos realizar a margem de contribuição ponderada que é calculada, considerando a participação do respectivo produto nas vendas totais, como um peso da ponderação. O ponto de partida é a determinação do valor da margem de contribuição ponderada. Conforme quadro a seguir.

Onde:

$$PMC = (MC \times MV) + (MC \times MV) + (MC \times MV) + (MC \times MV) + (MC \times MV) =$$

$$PMC = 2,62 + 0,06 + 0,01 + 0,07 + 0,01$$

$$PMC = 2,77$$

PMC = Ponderação da Margem de Contribuição
MC = Margem de contribuição
MV = Mix de venda

Podemos calcular o Ponto de Equilíbrio considerando como Margem de Contribuição o valor de R\$ 2,77 conforme a seguir:

Onde:

$$PE = \frac{CF}{PMC}$$

$$PE = \frac{5.110,70}{2,77}$$

$$PE = 1.845 \text{ Unidades.}$$

PE = Ponto de Equilíbrio

CF = Custo Fixo

PMC = Ponderação da Margem de Contribuição

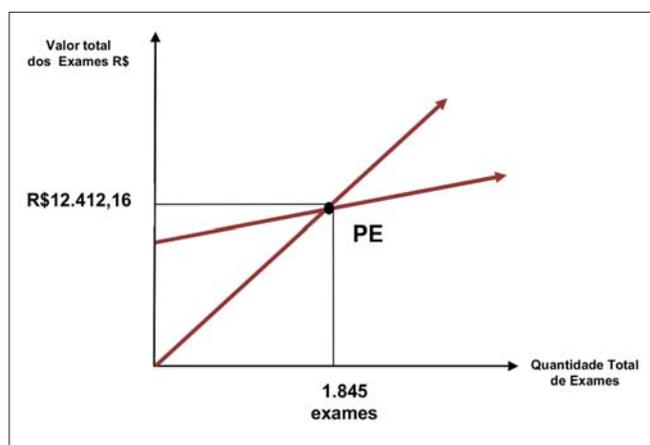
Os grupos do ponto de equilíbrio serão distribuídos da seguinte forma:

Grupos	PMC	PE
Grupo (I)	95,28%	1.759
Grupo (II)	1,92%	35
Grupo (III)	0,29%	5
Grupo (IV)	2,22%	41
Grupo (V)	0,29%	5
Total	100,00%	1.845

Podemos calcular o Ponto de Equilíbrio necessário para cobrir as despesas, através do número PE em quantidade multiplicado pelo custo total dos exames. (conforme tabela abaixo).

Grupos	PE Unidades	Custo Unitário	PE	R\$
Grupo (I)	1.758	R\$ 6,56	R\$	11.531,93
Grupo (II)	35	R\$ 8,18	R\$	289,77
Grupo (III)	5	R\$ 4,08	R\$	21,83
Grupo (IV)	41	R\$ 11,74	R\$	480,86
Grupo (V)	5	R\$ 16,48	R\$	88,18
Total	1.845		R\$	12.412,56

Apresentação Gráfica Ponto de Equilíbrio



DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Uma das grandes dificuldades no ramo laboratorial está na formação de seus custos. O mercado está sendo ditado pelos convênios, em grande parte pelos planos de saúde, que, neste sentido, estabelecem os preços seguindo sua disponibilidade para pagamento, restando para os prestadores de serviços buscarem o equilíbrio em seus gastos, o que pode levar muitos deles a reduzirem os seus custos à custa da qualidade.

A concorrência do mercado exigiu que as empresas buscassem ferramentas de gestão que assegurassem a excelência empresarial. A administração gerencial passou a ser fundamental para o sucesso dos negócios, pois sua função principal é analisar e apresentar informações através de indicadores gerenciais que auxiliem os gestores a planejar e controlar as atividades organizacionais, contribuindo assim para a tomada de decisão.

A análise e o controle dos custos empresariais demonstram os pontos fortes e fracos da gestão e proporcionam bases para ações corretivas quanto ao rumo empresarial.

"Apurar custos traz benefícios que são evidentes não só na análise de viabilidade financeira, mas também na análise de mudanças, seja de recursos humanos, mão-de-obra empregada, recursos materiais, recursos técnicos e implantação de novas metodologias."⁽¹¹⁾

No presente caso, estudamos o setor de bioquímica de um laboratório de pequeno porte, observamos que, com o acentuado avanço tecnológico e com a introdução de equipamentos automatizados e interfaciados, tornou-se necessária a contratação de profissionais atualizados e especializados, e o investimento em equipamentos e treinamento de pessoal. Esta realidade gerou um impacto sobre a receita, aumentando os custos de manutenção e de materiais o que torna o número de exames realizados preponderante para diluir os custos fixos do laboratório. Por outro lado, criou-se a oportunidade de agregar ao laboratório a confiabilidade e segurança necessária para o médico no diagnóstico de seus pacientes. Segundo Masakazu,⁽²⁾ no ponto de equilíbrio, a empresa está produzindo (e vendendo) a quantidade de produtos suficiente para cobrir os custos e despesas totais.

Para que o laboratório possa atingir o Ponto de Equilíbrio, no setor de bioquímica, será necessário um acréscimo de 7% no número total de exames realizados. No acompanhamento e seguindo a tendência registrada, este acréscimo deverá ser atingido ao longo de dois meses.

Agradecimento

Meus sinceros agradecimentos:

À minha família, pais, irmãs, meu esposo Danilo e minhas amadas filhas, Isabela e Rafaela, pelo estímulo, atenção e paciência.

Ao professor Moacir, incentivador inicial desta proposta, participando ativamente de todas as etapas e pelas valiosas discussões e sugestões no decorrer deste trabalho.

Ao coordenador, médico, Dr. André Luiz, pelo apoio e incentivo em diversas situações.

A todos os meus colegas de trabalho pela receptividade, acolhida, apoio técnico e administrativo, em especial, à Rykeyla e Aline.

Todas as pessoas lembradas, acima, fazem parte da minha vida, sem elas o presente trabalho teria sido impossível.

Abstract

The need of knowing the actual cost in conducting a biochemistry examination of is mandatory for the laboratory to be able to remain in the competitive market of Clinical Analysis. The biochemical tests include a wide field of analysis, involving determinations of electrolytes, metabolic tests, renal function, liver function, cardiac and bone markers. In this study, we use the nomenclature of "biochemical tests" for all the tests performed in this field. We observed all stages of the

process in order to measure and identify points for improvement in the efficient control of costs. The objective of the research was to determine the unit cost of all the biochemistry examinations, in a small laboratory and, later, to find the balance between expenditure and revenue, considering all direct and indirect costs necessary for conducting these examinations. We used for this study, the method of System of Cost based on activity. Through the analysis of all areas of the laboratory, we noted that the study area accounts for 31% of all tests performed in the laboratory, being of great importance for the final result.

Keywords

Biochemistry; cost; profit; balance

REFERÊNCIAS

1. Kaplan RS, Cooper R. Custo e desempenho. São Paulo; Futura , 2000.
2. Masakazu H. Administração financeira. São Paulo; Atlas, 2004.
3. Brimsom JA. Contabilidade por atividades: uma abordagem de custeio em atividades. São Paulo; Atlas, 1996.
4. Chalos P. Managing cost in today's manufacturing environmet. New Jersey; Prentice-Hall, 1992.
5. Bernardi LA. Política e Formação de Preços - Uma Abordagem Competitiva, Sistêmica e Integrada. São Paulo; Atlas, 1998.
6. Sannazzaro CAC. Administração de Laboratórios de Análises Clínicas. São Paulo; Grafipress artes gráficas, 1998.
7. Perez Jr OL, Costa R. Gestão estratégica de custos. São Paulo; Atlas, 1999.
8. Martins E. Contabilidade de Custo. São Paulo; Altas.2009
9. Bruni A, Famá R. Gestão de Custos e Formação de Preços. São Paulo; Atlas 2004.
10. Hansen Don R, Mowen MM. Gestão de Custos - Contabilidade e Controle. São Paulo; Pioneira, 2001.
11. Cardoso S. Contribuição para o estudo dos custos unitários das análises laboratoriais e sua comparação com os preços estabelecidos pelo Sistema Único de Saúde - SUS em um laboratório hospitalar em 2001. 171 f. Dissertação para obtenção do grau de mestre - Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2003.

Correspondência

Moacir Martins Júnior

Faculdade de Tecnologia de Piracicaba – FATEP

Av. Rio Claro, 290

Piracicaba-SP, Brasil

Tel: 19-34329917

Dificuldades transfusionais em paciente aloimunizado: um relato de caso

Transfusion difficulties in an alloimmunized patient: a case report

Egberto Munhoz¹

Marcelo Cândido de Sá¹

Akiko Nilce Joo Koti¹

Márcia Regina da Silva Turra¹

Marilza Celina da Silva¹

Adriana Aparecida Spinosa¹

Maria Grazia Giovenazzi¹

Mariza Saito²

Resumo

A aloimunização eritrocitária é uma complicação da prática transfusional que dificulta a seleção adequada de concentrados de hemácias compatíveis. Apesar dos avanços metodológicos na imuno-hematologia, este relato de caso ilustra as dificuldades e limitações laboratoriais encontradas na identificação da especificidade de uma mistura de anticorpos irregulares e na fenotipagem eritrocitária, principalmente quando da presença de um teste direto de antiglobulina (Coombs) positivo e/ou autoanticorpos. Ainda, o texto ressalta a importância do uso de hemácias fenotipadas tanto na resolução destes casos complexos quanto para a prevenção da formação de novos anticorpos irregulares em pacientes que necessitam de constantes transfusões sanguíneas.

Palavras-chave

Transfusão de sangue; incompatibilidade; aloimunização

INTRODUÇÃO

A aloimunização é uma situação particularmente preocupante na rotina dos bancos de sangue pois a presença de anticorpo(s) irregular(es), além de dificultar a seleção de concentrados de hemácias compatíveis, pode gerar graves reações transfusionais. O significado clínico dos anticorpos antieritrocitários depende da incidência do antígeno (que pode variar em diferentes origens étnicas), da sua imunogenicidade e de situações clínicas específicas.⁽¹⁾ Entretanto, é sabido que o risco de desenvolvimento de novos aloanticorpos aumenta 3 a 4 vezes quando o paciente já apresenta anticorpos pré-existentes.⁽²⁾ Dessa forma, o relato de caso a seguir teve por objetivo discutir a conduta adotada na transfusão de hemácias para uma paciente com múltiplos anticorpos antieritrocitários, ressaltando as dificuldades encontradas na realização e interpretação dos exames imuno-hematológicos.

RELATO DE CASO

Paciente sexo feminino, 80 anos, cinco gestações, em tratamento de câncer gástrico, foi encaminhada ao Hemocentro Regional de Londrina - HURNP/UEL para transfusão de dois concentrados de hemácias (hemoglobina pré-trans-

fusão: 8,3 g/dL). Paciente apresentava-se consciente, eupneica, PA 108/57, temperatura axilar 36,7°C e relatou que já havia recebido duas transfusões anteriores em outros hospitais, porém negou reações transfusionais.

Os resultados dos testes imuno-hematológicos iniciais (realizados pela metodologia de gel-centrifugação) mostraram que a paciente, O Rh(D) negativo, apresentava pesquisa de anticorpo irregular positiva (4+), autocontrole positivo (2+) e coombs direto (poliespecífico) positivo (2+), sendo IgG com título 1:10. Ainda, a interpretação do painel de hemácias, realizada em LISS/Coombs e com papaína, sugeriu presença de múltiplos anticorpos (possíveis anti-C, D, E, K, Jkb).

Na tentativa de retirar o autoanticorpo que porventura pudesse estar interferindo na identificação dos aloanticorpos, foi realizada a técnica de autoadsorção a quente (37°C). Também realizou-se eluição (método glicina ácida) dos anticorpos antieritrocitários e tanto o eluato quanto o plasma autoadsorvido foram incubados com um painel de 11 hemácias comerciais e/ou painel de hemácias selecionadas (com fenótipos conhecidos). Entretanto, com estes testes complementares também não foi possível determinar a especificidade dos anticorpos presentes.

Uma amostra da paciente foi então encaminhada ao Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná – Heme-

¹Farmacêutico(a)-bioquímico(a) do Hemocentro Regional de Londrina-PR, Brasil.

²Diretora Técnica do Hemocentro Regional de Londrina-PR, Brasil.

Instituição: Hemocentro Regional de Londrina, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

Recebido em 12/06/2011

Artigo aprovado em 15/02/2016

par/Curitiba. Neste centro, a fenotipagem eritrocitária estendida após tratamento das hemácias da paciente com difosfato de cloroquina e bloqueio com anti-IgG (soro de Coombs mono específico) sugeriu que a paciente era negativa para os seguintes antígenos eritrocitários: D, C, E, K, Kp^a, C^w, Le^a, Lu^a, S e Di^a. Para a identificação dos aloanticorpos, o painel de hemácias em LISS/Coombs e com papaína foi feito empregando-se soro adsorvido com hemácias alogênicas e pós-tratamento da amostra com ZZAP, sugerindo-se a presença de anti-D, C, K e possível anti-S, além da presença do autoanticorpo, cuja especificidade não foi possível determinar.

Por fim, em virtude da necessidade da transfusão, optou-se pela transfusão lenta e em alíquotas de dois concentrados de hemácias (O Rh(D) negativo) filtrados cujo fenótipo era bastante semelhante ao possível fenótipo da paciente. Ao término das transfusões, a paciente apresentava-se bem (PA 130/70, temperatura axilar 36,7°C, hemoglobina 9,4 g/dL) e sem intercorrências.

DISCUSSÃO

Em situações normais, é sabido que a exposição do indivíduo a antígenos não próprios é capaz de induzir a formação de anticorpos, ditos irregulares. Esta situação é observada, a exemplo, na transfusão de sangue incompatível e nas gestantes, cujos fetos expressam em suas células sanguíneas antígenos de origem paterna, que podem chegar à circulação materna durante a gestação ou no parto.⁽³⁾ Entretanto, a probabilidade de aloimunização também depende de fatores genéticos e adquiridos do paciente, frequência das transfusões, dose e da imunogenicidade do antígeno.⁽²⁾ De qualquer forma, a aloimunização sempre se torna um fator agravante para as transfusões subsequentes, dificultando o encontro de hemocomponentes compatíveis para o paciente.

Pacientes submetidos a constantes transfusões de sangue, a exemplo daqueles com doenças oncológicas (caso apresentado) ou hemoglobinopatias, se tornam especialmente vulneráveis ao desenvolvimento de anticorpos irregulares.⁽⁴⁾ Schonewille e colaboradores⁽⁵⁾ analisaram 564 pacientes oncológicos entre 1987 e 1996 e constataram, apesar do conhecido déficit imunológico decorrente da própria doença e/ou da quimioterapia, uma taxa de aloimunização de 9%. Os anticorpos formados apresentavam especificidade principalmente contra o sistema Rh (em especial, anti-E e anti-c) e Kell. Ainda, estes mesmos autores puderam estimar um risco de 0,5% de aloimunização por unidade de concentrado de hemácia transfudida.

Segundo a RDC 153, de 24 de junho de 2004, que regulamenta os procedimentos hemoterápicos, quando um receptor apresentar anticorpos irregulares clinicamente significativos ou tiver antecedentes de presença de tais

anticorpos, o sangue total ou as hemácias a serem transfundidas devem ser compatíveis e carecer dos antígenos correspondentes.⁽⁶⁾ Desta forma, a fenotipagem eritrocitária tem contribuído para reduzir o índice de aloimunização dos pacientes politransfundidos e aumentar a segurança transfusional.

Assim, perante uma pesquisa de anticorpos irregulares positiva, é possível definir a especificidade do aloanticorpo presente através do seu perfil de aglutinação com um painel contendo 11 hemácias comerciais selecionadas. Entretanto, na presença de vários anticorpos (caso apresentado), o perfil de aglutinação de um anticorpo pode ser mascarado por outro, não sendo possível, assim, definir claramente quantos e qual a especificidade dos vários anticorpos presentes. Ainda, a presença de autoanticorpo, em virtude do seu efeito panaglutinante, também pode mascarar a identificação dos aloanticorpos capazes de causar reação hemolítica no receptor.⁽⁷⁾

Ahrens e colaboradores⁽⁸⁾ observaram que 28% dos pacientes do Charité University Hospital (Berlim) apresentavam autoanticorpo associado com um ou mais aloanticorpos e que em 75% destes pacientes o histórico de imunização envolvia a transfusão prévia de hemácias. Grande parte destes autoanticorpos reagem com antígenos eritrocitários de alta incidência e causam diminuição da sobrevivência das hemácias, fazendo com que o número de transfusões ou o uso de drogas imunossupressoras nestes pacientes seja maior.⁽⁹⁾ De uma perspectiva sorológica, em função da presença do autoanticorpo, 30% a 40% destes pacientes apresentam Coombs direto e indireto positivos assim como provas cruzadas incompatíveis com a grande maioria dos doadores.⁽⁸⁾

Segundo Liembruno e colaboradores,⁽⁷⁾ no processo de seleção de unidades de concentrado de hemácias, a remoção do autoanticorpo pode ser realizada pela adsorção autóloga (em pacientes não transfundidos no período de três meses) ou pela adsorção com hemácias alogênicas (em pacientes transfundidos recentemente ou com anemia severa), com a subsequente identificação do aloanticorpo remanescente no soro adsorvido. Entretanto, mesmo o emprego destas metodologias não permitiram definir com clareza a especificidade dos anticorpos antieritrocitários presentes na paciente.

Ainda, segundo os mesmos autores, restaria a possibilidade de transfusão de concentrado de hemácia selecionado a partir da semelhança com o fenótipo eritrocitário da paciente. Entretanto, na presença de hemácias sensibilizadas por anticorpo IgG (caso apresentado), os resultados de fenotipagem de grupos sanguíneos podem ficar comprometidos. Nessas situações, o tratamento das hemácias com difosfato de cloroquina, que permite a dissociação dos anticorpos IgG sem a desnaturação dos antígenos eritrocitários, e bloqueios posteriores com anti-IgG mono específica,⁽¹⁰⁾

permitiu a identificação mais precisa do fenótipo eritrocitário estendido da paciente. Porém, segundo Castilho,⁽¹⁾ a genotipagem de grupos sanguíneos tem se mostrado uma ferramenta mais útil e eficiente nestas situações, porém ainda se constitui uma técnica bastante distante da realidade laboratorial de muitos bancos de sangue brasileiros.

Vale ressaltar, ainda, que o teste direto da antiglobulina é um dos parâmetros laboratoriais para investigação de anemias hemolíticas. Infelizmente, no caso desta paciente, não foi solicitado nenhum exame hematológico e/ou bioquímico adicional, não sendo possível descartar alguma doença hemolítica de base.

Por fim, quando um autoanticorpo altamente reativo está presente, geralmente todas as unidades de concentrado de hemácias cruzadas serão incompatíveis. Segundo Garratty, Telen & Petz,⁽¹¹⁾ nestes casos, a decisão sobre a transfusão depende mais da urgência e do estado clínico do paciente do que os achados dos testes de compatibilidade. Assim, em função do tempo despendido e das dificuldades encontradas na resolução deste caso, a seleção do concentrado de hemácia foi baseada na semelhança do fenótipo eritrocitário estendido da paciente e dos doadores. Esta pode ser uma alternativa mais apropriada em circunstâncias nas quais as técnicas imuno-hematológicas complementares não permitem a elucidação completa das dificuldades transfusionais. Desta forma, evita-se também transfusões de unidades "menos incompatíveis", que certamente causariam reações transfusionais induzidas pelos aloanticorpos presentes.⁽¹¹⁾ Ainda, segundo Shirey e colaboradores,⁽¹²⁾ a escolha do hemocomponente a partir da compatibilidade antigênica entre doador e receptor atuaria profilaticamente na prevenção de novas aloimunizações.

CONCLUSÃO

Este caso clínico ilustra os esforços empreendidos em técnicas imuno-hematológicas que visam orientar a seleção adequada de hemocomponentes, principalmente a pacientes que receberão múltiplas transfusões. Cientes das lacunas que ainda existem nas rotinas laboratoriais, mas em consonância à prática transfusional atual e segura, os protocolos utilizados em nossa instituição visam a redução do desenvolvimento de aloanticorpos antieritrocitários e de reações transfusionais. E, apesar de dispendiosa, a manutenção de um estoque de concentrado de hemácias fenotipadas continua sendo um recurso valioso em situações complexas como exemplificado neste caso.

Agradecimentos

Aos funcionários do Hemocentro Regional de Londrina - HURNP/UUEL e a Josiane Poli Baldon e Sérgio Túlio Stingham do Hemepar/Curitiba pelo apoio técnico.

Abstract

Alloimmunization against red blood cell antigens is a complication of transfusion practice that makes the accurate selection of a cross-matched packed red blood cells more difficult. Despite of all metodological advances in Immunohematology, this case report illustrates laboratorial difficulties and limitations found in the identification of the specificity of a mixture of unexpected antibodies and in the red blood cells extensive phenotyping, mainly in the presence of positive direct antiglobulin test and/or autoantibodies. Besides, this report highlights the importance of phenotyped red blood cells both in the approaching of such complex cases and to prevent the generation of new unexpected antibodies in patients under frequently blood transfusions.

Keywords

Blood transfusion; incompatibility; alloimmunization

REFERÊNCIAS

1. Castilho L. O futuro da aloimunização eritrocitária [editorial]. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2008 Aug;30(4): 261-2.
2. Santos FWR, Magalhães SMM, Mota RMS, Pitombeira MH. Post-transfusion red cell alloimmunisation in patients with acute disorders and medical emergencies. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2007 Dec;29(4):369-372. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000400009&lng=en
3. Baiochi E, Nardoza LMM. Aloimunização. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [Internet]. 2009 June;31(6):311-19.
4. Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine. Transfus Med Rev. 2007 Jan;21(1):58-71.
5. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. Transfusion. 1999 Jul;39(7):763-71.
6. Brasil, Ministério Da Saúde. Resolução nº 153, de 14 de junho de 2004. Regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos. Brasília (ANVISA), 2004.
7. Liembruno GM, Tognaccini A, Bonini R, Curciarello G, Masini I, Ringressi A, et al. The role of the direct antiglobulin test in pre-transfusion investigations and the approach to selecting blood for transfusion in autoimmune haemolytic anaemia: results of a regional survey. Blood Transfus. 2008 Jul;6(3):156-62.
8. Ahrens N, Pruss A, Kähne A, Kiesewetter H, Salama A. Coexistence of autoantibodies and alloantibodies to red blood cells due to blood transfusion. Transfusion. 2007 May;47(5):813-6.
9. Noor Haslina MN, Ariffin N, Illuni Hayati I, Rosline H. Red cell autoantibodies among thalassaemia patients in Hospital Universiti Sains Malaysia. Singapore Med J. 2007 Oct;48(10):922-5.
10. Edwards JM, Moulds JJ, Judd WJ. Chloroquine dissociation of antigen-antibody complexes. A new technique for typing red blood cells with a positive direct antiglobulin test. Transfusion. 1982;22(1):59-61.
11. Garratty G, Telen MJ, Petz LD. Red cell antigens as functional molecules and obstacles to transfusion. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2002:445-62.
12. Shirey RS, Boyd JS, Parwani AV, Tanz WS, Ness PM, King KE. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion management. Transfusion. 2002 Nov;42(11):1435-41.

Correspondência

Egberto Munhoz

Hemocentro Regional de Londrina - Setor de Distribuição

Rua Cláudio Donizete Cavaliere, 156, Jardim Tarumã

86038-670 Londrina- PR, Brasil

Telefone: (43) 33712688

e-mail: egbertomunhoz@hotmail.com



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS
Brazilian Journal of Clinical Analyses

ISSN 2448-3877 – Versão Online
ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

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 se, 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/PMC2600811/ (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/bsd/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 Diabéticos,⁽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. Paracoccidioidomycosis. *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 MV, 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: ____/____/____.