

ISSN 2448-3877



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 51 - Nº 02 | Ano 2019

Movimento de Valorização das Análises Clínicas



VALORIZALAB

Movimento de Valorização das Análises Clínicas

Uma iniciativa da SBAC, que tem como objetivo valorizar as análises clínicas no Brasil através de quatro grandes pilares: a qualidade, a ética, a competência e o marketing.

Campanha em prol dos Laboratórios



O movimento de valorização das análises clínicas, é uma iniciativa da SBAC, que tem como objetivo valorizar as análises clínicas no Brasil através de quatro grandes pilares: a qualidade, a ética, a competência e o marketing. Busca-se, com esse projeto, dar subsídios para que os laboratórios consigam comunicar, de maneira mais assertiva, a sua importância para a sociedade, utilizando-se de conteúdos informativos, educacionais e materiais de apoio.



Saiba mais em:
sbac.org.br

 **SBAC**
Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



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 - Número 2 - 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 Cytology

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

Controle de Qualidade/Quality Control

José Abol Corrêa (RJ), 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

EDITORIAL/EDITORIAL

- 94** Personagem da História da Saúde VI: George Nicholas Papanicolaou
Personalities of History of Health VI: George Nicholas Papanicolaou
Neufeld PM

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 98** Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais
Patient orientation prior to laboratory examination
Aragão DP, Araujo RML

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/UPDATE

- 103** Doença de Chagas: uma atualização bibliográfica
Chagas disease: a bibliographic update
Lima RS, Teixeira AB, Lima VLS
- 107** Prevenção da doença meningocócica: o arsenal de vacinas disponíveis
Meningococcal disease prevention: the vaccines arsenal available
Silva ABS, Dantas Neto P, Sousa NMO, Santos PNS, Pereira IG, Reis CAB, Teixeira AB
- 111** Síndrome da rubéola congênita
Congenital rubella syndrome
Lima LAC, Linhares LPC, Araújo SS, Teixeira AB, Monteiro CGF

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 115** Incidência de sífilis adquirida em uma cidade da microrregião do sudoeste baiano
Incidence of acquired syphilis in a city of the microregion southeastern Bahia
Soares ES, Carvalho EM, Lima KTLL
- 120** Controle externo da qualidade em espermograma: avaliação do desempenho de laboratórios clínicos participantes de dois provedores de ensaio de proficiência
External quality control in spermogram: performance evaluation of participating clinical laboratories of two proficiency testing providers
Sertão AT, Nancy França Rehem Machado
- 127** Diagnóstico histopatológico diferencial entre hanseníase e leishmaniose tegumentar americana em pacientes de um hospital público em Recife-PE
Differential histopathological diagnosis between leprosy and American tegumentary leishmaniasis in patients of a public hospital in Recife-PE
Nascimento JJ, Carvalho PLB, Rocha FJS

Sumário/Contents

- 132** Análise integrada à biologia de sistemas para avaliação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias na infecção por Zika vírus
Analysis integrated with the systems biology pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine evaluation in Zika Virus infection
Oliveira NC, Pfrimer IAH
- 138** Soroprevalência para dengue em estudantes universitários da cidade de Caruaru-PE
Dengue seroprevalence in students of Caruaru City-PE
Souza AA, Oliveira AV, Albuquerque ACC
- 143** Resistência de bactérias Gram-positivas isoladas de infecção do trato urinário no LAC/PUC - Goiás
Resistance of Gram-positive bacteria isolated of urinary tract infection in Clinical analysis laboratory of PUC - Goiás
Santos LS, Damasceno NS, Souto RCF

COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION

- 149** Avaliação da qualidade microbiológica da água em bebedouros de uma instituição de ensino superior de Caxias do Sul - RS
Microbiological quality evaluation of drinking water fountains in a higher education institution of Caxias do Sul - RS
Glowacki DS, Crippa LB
- 154** Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de sucos de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) sobre cepas de *Escherichia coli* responsáveis por infecção urinária
Evaluation of the antibacterial activity of cranberry juices (Vaccinium macrocarpon) on Escherichia coli strains responsible for urinary infection
Simões LP, Souza LBG

NOTA TÉCNICA/TECHNICAL NOTE

- 157** Compêndio de métodos e de boas práticas em coleção de cultura de leveduras do Instituto de Biologia do Exército
Compendium of methods and good practices in yeast culture collection of the Brazilian Army Biology Institute
Ribeiro MD, Pinheiro EO, Colares AML, Figueiredo ALM, Dutra VG, Santos CGM, Neufeld PM

167 INSTRUÇÕES AOS AUTORES/INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Personagem da História da Saúde VI: George Nicholas Papanicolaou

Personalities of History of Health VI: George Nicholas Papanicolaou

George Nicholas Papanicolaou (Fig. 1) nasceu no ano de 1883, em Kymi, uma pequena cidade portuária nas encostas orientais da ilha grega de Eubeia, no mar Egeu. Era o terceiro filho de Maria e Nicholas Papanicolaou, de um total de quatro. Nicholas Papanicolaou era médico, bem como político, tendo sido senador e prefeito de Kymi. Maria Papanicolaou, por sua vez, era reconhecida por ser uma mulher de grande cultura e posição de destaque na sociedade grega da época. Papanicolaou foi uma criança carismática, inteligente e sensível, tendo tido uma infância normal em seu país. Após seus estudos iniciais em Kymi, transferiu-se para Atenas para cursar o ensino secundário e estudar francês, alemão e violino. Era considerado um jovem de extrema erudição, de comportamento polido e com uma grande capacidade de articulação de ideias e argumentação.



Fig.1. George Nicholas Papanicolaou

Por influência de seu pai, em 1898, com a idade de 15 anos, candidatou-se e foi aceito na Universidade de Atenas para estudar medicina. Em 1904, formou-se como médico, com louvor. Terminada a graduação, foi convocado para o serviço militar obrigatório, servindo no Terceiro Regimento de Infantaria do Exército Grego. Em janeiro de 1906, foi promovido a cirurgião militar assistente, permanecendo nesse posto até sua baixa em agosto de 1906. Papanicolaou, então, retornou a Kymi e iniciou uma carreira médica com seu pai. No entanto, como tinha mais interesse pela carreira de pesquisador, decidiu deixar a Grécia, em 1907, indo à Alemanha para mais estudos. Nesse país, passou por Jena para estudar a Teoria da Evolução das Espécies com Ernst Haeckel (1834-1919), transferindo-se depois para Freiburg para estudar genética com August Weismann (1834-1914), chegando, por fim, em Munique para estudar com Richard Goldschmidt (1878-1958) no Instituto de Zoologia, um dos melhores centros europeus de pesquisa, onde obteve seu doutorado sobre a diferenciação sexual, em 1910. Esse instituto foi de grande importância para ele porque nessa instituição pôde desenvolver habilidades e competências no método científico, as quais seriam fundamentais para seu futuro trabalho em citologia clínica.

Ao retornar para Kymi, passando por Atenas, Papanicolaou conheceu Andromache (Mary) Mavroyeni, que descendia de uma tradicional família de militares, com quem se casou em 25 de setembro de 1910. Após seu casamento, foi para a França e, por influência de seu sogro, conseguiu uma posição de investigador no Instituto Oceanográfico, no Principado de Mônaco. No período em que trabalhou nesse Instituto (1911-1912), participou de várias expedições científicas para explorar, como fisiologista, a vida marinha do Mediterrâneo e de outros ecossistemas locais, sendo

que, em uma de suas viagens, participou de uma expedição com o Príncipe Albert I de Mônaco, no Navio Real *L'Hirondelle II*. Com a morte de sua mãe e o início da guerra dos Bálcans, interrompeu suas atividades de pesquisa e, em 1912, retornou à Grécia. Em seu país, cogitou assumir uma posição na Universidade de Atenas, contudo, foi convocado para a guerra, servindo como tenente no Corpo Médico das Forças Armadas Gregas.

Durante o tempo em que serviu como médico militar, entrou em contato com muitos voluntários gregos que haviam emigrado para os Estados Unidos e relatavam com frequência a existência de uma gama de oportunidades profissionais para aqueles que desejavam uma colocação em suas áreas de atuação. Em decorrência disso, decidiu emigrar para os Estados Unidos com sua mulher, chegando em Nova York em 1913. Na América, por ter trazido poucos recursos (US\$250,00) e ter tido dificuldades para encontrar emprego, Papanicolaou e sua esposa começaram a trabalhar como vendedor de tapetes e costureira em uma grande loja de departamentos (Armazéns Gimble). Subsequentemente, ele trabalhou como violinista em restaurantes locais e como arquivista no jornal grego *Atlantis*. Por indicação de Thomas Hunt Morgan (Premio Nobel de Medicina de 1933), que já havia entrado em contato com a tese de doutorado de Papanicolaou e conhecia suas ideias sobre diferenciação sexual, foi-lhe oferecida uma posição como pesquisador no Departamento de Patologia e Bacteriologia do Hospital da Universidade de Nova York, o que ele prontamente aceitou. Nessa instituição, sua principal pesquisa era com oocistos de cobaias coletados em períodos determinados do ciclo estral desses animais para estudos de fisiologia do aparelho reprodutor. Em 1914, transferiu-se para o Departamento de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade de Cornell, onde ficou toda a sua vida profissional, dando continuidade aos seus estudos sobre a diferenciação sexual e desenvolvendo suas pesquisas em citopatologia. Nesse momento, sua esposa se juntou a ele como sua técnica assistente.

Na Universidade de Cornell, Papanicolaou começou a trabalhar com Charles Stockard, investigando os efeitos do vapor de álcool sobre o ciclo estral dos cobaias e o papel dos cromossomos X e Y na determinação sexual. Em 1915 publicou seus achados preliminares na Revista *Science* com o título *Sex Determination and Sex Control in Guine Pig*. Em 1916, estudando os estágios da ovulação, inicialmente a partir da análise de ovários retirados de animais sacrificados, e, posteriormente, empregando um pequeno espéculo nasal para a avaliação diária da descarga intravaginal, Papanicolaou decidiu confeccionar esfregaços das secreções vaginais e observar no microscópio, o que revelou a existência de uma relação entre tipos citológicos e alterações ovarianas e uterinas. Com esse achado, postulou que mudanças no ciclo ovariano e o *status* hormonal dos cobaias poderiam ser determinados pela observação microscópica das alterações celulares em esfregaços de fluidos vaginais. Os resultados dessa pesquisa foram publicados, em colaboração com Stockard, em 1917, na revista *Science* e no *American Journal of Anatomy*.

Em 1920, encorajado por seus resultados com animais, interessou-se em estudar a citologia do sistema reprodutivo humano. Curiosamente, iniciou seus estudos utilizando esfregaços de sua própria esposa Mary. Posteriormente passou a trabalhar com esfregaços vaginais obtidos de pacientes atendidas na Clínica Ginecológica do Hospital Universitário de Cornell e no Hospital de Mulheres da Cidade de Nova York. Em 1923, incidentalmente observou a presença de células neoplásicas, o que fez com que se fixasse nesse achado e passasse a buscar, de forma sistemática, esse tipo celular nos esfregaços vaginais. Em 1925 aprovou um projeto de pesquisa onde o *staff* feminino de um dos hospitais em que trabalhava deveria comparecer, diariamente, durante 2 a 3 meses, no Serviço de Ginecologia para que fossem realizados exames citológicos. Com esse projeto, pôde definir o que seriam as alterações fisiológicas decorrentes do ciclo menstrual/ hormonal e demonstrar o valor de

seu método como ferramenta diagnóstica para condições patológicas. Papanicolaou também desenvolveu uma técnica para a conservação das células, através de fixação e coloração do material vaginal. Em 1928, apresentou suas conclusões em uma comunicação intitulada *New Cancer Diagnosis*, na *III Race Betterment Conference*. Com esse método esfoliativo, conseguiu demonstrar que era possível detectar uma neoplasia da esfera ginecológica bem antes de ser palpada ou observada diretamente. No entanto, a comunidade de médicos patologistas da época não deu crédito ao seu método pois considerava a biópsia de colo de útero um método diagnóstico mais efetivo. Na verdade, o método foi considerado bom para avaliações hormonais.

Desapontado com a pouca receptividade da comunidade científica em relação ao seu método, Papanicolaou passou a focar na citologia hormonal e não mais no diagnóstico de câncer de colo de útero. Contudo, dez anos depois, em 1939, quando Joseph Hinsey tornou-se Chefe do Departamento de Anatomia da Universidade de Cornell, houve um novo interesse pelo trabalho de Papanicolaou. Nessa época, com a associação de outros pesquisadores da área da ginecologia e patologia, tais como Herbert Traut, Andrew Marchetti, Hashime Murayama e Henricus Stander, o estudo da citologia esfoliativa como meio de diagnóstico para o câncer uterino foi retomado de forma vigorosa. Novos projetos e experimentos foram propostos e um deles incluía a realização de exames citológicos em todas as mulheres atendidas no Serviço de Ginecologia do Hospital de Nova York. A partir desses estudos, foi possível comprovar que, de fato, a técnica de Papanicolaou se tratava de uma prova simples, não dolorosa e que, mediante o uso de uma espátula e uma pequena escova, obtinham-se células da vagina e do colo uterino que, posteriormente, eram coradas e visualizadas em microscópio. O tratamento estatístico dado aos resultados das pesquisas citopatológicas foram contundentes e mostraram que o uso rotineiro da técnica permitia diagnosticar um bom número de casos de neoplasias assintomáticas que não eram visíveis à inspeção médica e que só eram demonstradas por biópsia. Em 1941, Papanicolaou e Traut apresentaram seus achados à comunidade científica no seminal artigo intitulado *The Diagnostic Value of Vaginal Smears in Carcinoma of the Uterus* que foi publicado no *American Journal of Obstetrics and Gynecology* (Fig. 2). Pouco tempo depois, em 1942, Papanicolaou e Traut publicaram também uma importante monografia cujo título era *Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear*.

Em decorrência da divulgação e repercussão dos novos resultados das pesquisas de Papanicolaou, em 1947, a Universidade de Cornell realizou o primeiro de

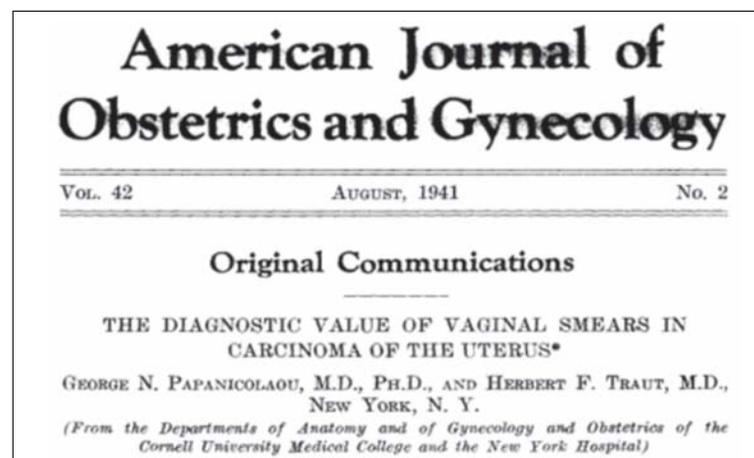


Fig. 2. Primeira página do artigo de Papanicolaou & Traut considerado a Pedra Fundamental da citologia clínica, publicado na *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, em 1941.

uma série de cursos de formação em citologia esfoliativa com o objetivo de treinar patologistas, ginecologistas e oncologistas no fundamento e na interpretação dos achados citológicos. Com isso, o laboratório de Papanicolaou se transformou em um centro de referência e treinamento internacional em citodiagnóstico. Em 1948, a recém-criada *American Cancer Society* realizou a *I National Cytology Conference*, em Boston, e criou um programa de citologia para a prevenção de câncer de colo de útero. Esse programa de citologia diagnóstica teve uma expansão quase que exponencial com a inauguração do programa de informação e triagem de massa de diferentes grupos.

Papanicolaou também testou sua técnica em outros sistemas orgânicos, tais como sistema respiratório, trato urinário, aparelho gastrointestinal, glândulas mamárias, secreções serosas e efusões, concluindo que células esfoliadas, normalmente descartadas e negligenciadas, eram de grande importância como material de diagnóstico, à semelhança das secreções vaginais. A partir dessas investigações, definitivamente nascia a citologia esfoliativa como especialidade na área médica e da saúde. Um marco temporal foi a publicação, por Papanicolaou, em 1954, do *Atlas of Exfoliative Cytology*.

Nos anos 50, a validade científica da técnica de Papanicolaou como um importante método de diagnóstico precoce de câncer em diferentes órgãos e sistemas foi definitivamente estabelecida no mundo. A realização do *I International Congress of Cytology* em Chicago, em 1956, e do *I Symposium de Cytologie Exfoliative* em Bruxelas, em 1957, com a presidência de Papanicolaou, e a criação da *Acta Cytologica*, por George Wied, também em 1957, foram de grande importância para esse reconhecimento. Importa mencionar que, com a difusão do uso da técnica de Papanicolaou, um declínio de cerca de 70% nas taxas de mortalidade por câncer de colo de útero tem sido relatado desde a metade do século XX.

George Papanicolaou tornou-se Professor Emérito da Universidade de Cornell, em 1951, tendo recebido muitos prêmios, comendas e honrarias nos Estados Unidos, na Grécia e em diversos outros países. Em 1960, foi indicado para o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina. Papanicolaou publicou mais de 150 artigos, monografias e livros. No final de sua vida, foi convidado para dirigir o *Cancer Research Institute*, em Miami, que seria inaugurado em 13 de maio de 1962, dia de seu aniversário de 79 anos; no entanto, em 19 de fevereiro desse mesmo ano sofreu um infarto, vindo a falecer. Por sua decisão, foi cremado em Nova Jersey. Seus contemporâneos relatam que ele era um homem simples, cheio de expectativas e planos, atento e consciente de sua missão, corajoso e que assumia riscos e um dedicado professor.

BIBLIOGRAFIA

- Austin RM. George Papanicolaou's Efforts to Develop Novel Cytologic Methods for the Early Diagnosis of Endometrial Carcinoma. *Acta Cytol.* 2017; 61(4-5):281-98.
- Chandrasekhar V, Krishnamurti C. George Papanicolaou (1883-1962): Discoverer of the Pap Smear. *J Obstet Gynaecol India.* 2018; 68(3):232-235.
- Diamantis A, Beloukas AI, Kalogeraki AM, Magiorkinis E. A brief chronicle of cytology: from Janssen to Papanicolaou and beyond. *Diagn Cytopathol.* 2013; 41(6):555-64.
- Elgert PA. George N. Papanicolaou, MD, PhD - Cytopathology. *Labmedicine.* 2009; 40(4):245-46.
- Mammas IN, Spandidos DA. George N. Papanicolaou (1883-1962), an exceptional human, scientist and academic teacher: An interview with Dr Neda Voutsas-Perdiki. *Exp Ther Med.* 2017;14(4):3346-3349.
- Michalas SP. The Pap test: George N. Papanicolaou (1883-1962). A screening test for the prevention of cancer of uterine cervix. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000; 90(2):135-8.
- Tan SY, Tatsumura Y. George Papanicolaou (1883-1962): Discoverer of the Pap smear. *Singapore Med J.* 2015;56(10):586-7.
- Zachariadou-Veneti S. George Papanicolaou (1883-1962). *Cytopathology.* 2000;11(3):152-7.

Paulo Murillo Neufeld, PhD

Editor-Chefe da Revista Brasileira de Análises Clínicas

Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais

Patient orientation prior to laboratory examination

Diêgo Passos Aragão

Raquel Márgda Lima Araujo

Resumo

Os laudos laboratoriais são fundamentais na tomada de decisões médicas. Os avanços tecnológicos e estatísticos proporcionaram à medicina diagnóstica melhorias significativas em todas as suas fases laboratoriais. A fase pré-analítica corresponde a aproximadamente 70% dos erros de todas as fases analíticas, associados às inúmeras variáveis existentes. A literatura mostra que os erros são atribuídos aos laboratórios, embora o paciente não seja fator nulo. O trabalho teve como objetivo relatar as variáveis decorrentes da má preparação do paciente, as quais podem impactar nos resultados dos exames laboratoriais e conduzir a intervenções médicas desnecessárias. A pesquisa bibliográfica foi realizada em livros de medicina laboratorial e plataformas *online* (LILACS, SciELO, PubMed e Google Acadêmico) utilizando as palavras-chave: "exames laboratoriais", "intervalos de referência no laboratório clínico", "interferentes em exames laboratoriais", "erros pré-analíticos", nas línguas portuguesa e inglesa. É evidente que diferentes setores laboratoriais podem emitir laudos não condizentes com a real situação clínica do paciente, decorrentes de uma má preparação do mesmo. As orientações repassadas devem ser claras e objetivas, garantindo o seu seguimento correto e assegurando a qualidade do serviço prestado. Diante do exposto, haveria minimização dos erros pré-analíticos externos ao laboratório e os laudos estariam de acordo com a situação clínica-patológica do indivíduo.

Palavras-chave

Laboratório; paciente; orientação para exames

INTRODUÇÃO

No âmbito da assistência à saúde, são imprescindíveis serviços que auxiliem na conduta médica acerca da situação clínica do paciente. Neste contexto, os laboratórios de análises clínicas têm papel fundamental, contribuindo na assistência e promoção da saúde através do funcionamento de diferentes setores (hematologia, bioquímica, imunologia, bacteriologia, parasitologia e uroanálise dentre outros) e pelos constantes progressos na automação, podendo atuar de forma inter-relacionada na análise de diversas amostras biológicas (sangue, urina, fezes, líquor, escarro e dentre outros) e na emissão de milhares de laudos (bioquímicos, hematológicos, imunológicos, microbiológicos, de uroanálise) diariamente, que analisam o estado fisiológico do indivíduo e emitem resultados de forma rápida, precisa, exata e confiável. Esses, após a interpretação pelo médico, podem comprovar, estabelecer ou adi-

cionar um diagnóstico condizente ao histórico clínico do paciente. Assim, os exames laboratoriais podem influenciar em aproximadamente 70% das decisões médicas aplicadas pela equipe médica ao paciente.⁽¹⁻⁹⁾

Os avanços tecnológicos na medicina diagnóstica iniciados desde a década de 1950 e a influência externa do mercado, com intuito de se firmar numa área cada vez mais competitiva, permitiram a automação em alguns setores laboratoriais, proporcionando melhorias significativas em todas as fases laboratoriais (pré-analítica, analítica e pós-analítica), como, por exemplo: teste de proficiência e acreditação laboratorial; aumento da competitividade laboratorial; identificação de amostras por código de barras; aumento da agilidade na execução dos testes e produtividade do laboratório; execução das análises de forma automatizada que minimizam os erros relacionados com processos manuais e, conseqüentemente, a redução do número de resultados falsos-negativos e/

¹Bacharel em Biomedicina pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Mestre em Ciências Biomédicas /UFPI, Especialista em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCM), Brasil.

²Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Especialista em Bioecologia, Genética e Aquicultura pela Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Mestra em Biotecnologia – Universidade Federal do Piauí (UFPI), Brasil.

Instituição: Centro Estadual de Educação Profissional Ministro Petrônio Portela (CEEP) – Parnaíba – Piauí, Brasil.

Recebido em 16/07/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900759

ou falsos-positivos; rapidez na obtenção dos resultados e na entrega dos laudos.^(6,10-18)

A fase pré-analítica, definida segundo a Organização Internacional de Padronização como "o processo que inicia cronologicamente com a requisição do exame por parte do médico, preparação e identificação do paciente, coleta da amostra, transporte e início da análise", ou seja, todas as ações e aspectos prévios antecedentes à fase analítica.^(19,20) De acordo com a literatura, os erros nessa fase representam cerca de 46% a 70% daqueles cometidos no processo laboratorial, no qual a maior frequência deles é atribuída ao laboratório. Contudo, na maioria das vezes são negligenciados aqueles relacionados ao paciente decorrentes de uma má preparação antes da obtenção do material biológico.^(2,6,19-24)

Mesmo com os consideráveis avanços na área já descritos e apesar da baixa incidência de erros em comparação com a quantidade de exames realizados e por estarem em um ambiente complexo, os testes laboratoriais ainda são propensos a erros em todas as fases laboratoriais. Esses, por sua vez, podem comprometer a precisão e exatidão das análises e, conseqüentemente, os resultados dos laudos emitidos, como também a reputação do laboratório frente à sua clientela por falta de garantia de qualidade no serviço prestado.^(3,8,18) Diante disso, os laboratórios adotam diferentes metodologias para assegurar a credibilidade, precisão e exatidão dos laudos emitidos. Isto inclui métodos para redução de erros nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, procedimentos de controle de qualidade interno e externo, como o monitoramento das análises realizadas, acreditação laboratorial e programas de certificação laboratorial e instruções ao paciente antes da coleta do material biológico.^(3,6,8,11,17,18,22,25-27)

Por ser um fator controlável, o presente trabalho teve como objetivo destacar a importância das recomendações ao paciente antes da coleta de amostra biológica e relatar os exames laboratoriais susceptíveis a erros pré-analíticos resultantes da má preparação do mesmo, com o intuito de minimização dos erros analíticos.

METODOLOGIA

Para produção deste artigo, a revisão bibliográfica teve como bases de dados livros para embasamento teórico, além da utilização de artigos escritos em língua portuguesa e inglesa, dissertações e normas e manuais técnicos referentes ao assunto em língua portuguesa sem restrição de ano de publicação indexados no Google acadêmico, LILACS, SciELO e PubMed. Os termos utilizados como palavras-chave foram pesquisados nas línguas portuguesa e inglesa: "exames laboratoriais", "intervalos de referência no laboratório clínico", "interferentes em exames laboratoriais", "erros pré-analíticos", "automação no laboratório de

análises clínicas", "laboratório de análises clínicas", "identificação de erros pré-analíticos".

Os critérios de inclusão utilizados levaram em consideração o conteúdo – se o mesmo estava relacionado com os objetivos propostos, e foram excluídos aqueles que não correspondiam a esses critérios. Dos 123 arquivos pesquisados e avaliados foram escolhidos 33, uma vez que estavam dentro dos critérios de inclusão proposto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os erros da fase pré-analítica podem impactar negativamente na saúde do paciente ao gerar resultados falso-positivos e/ou falso-negativos e estão relacionados principalmente às inúmeras variáveis envolvidas (Tabela 1).

Tabela 1 - Erros pré-analíticos

Requisição errônea do exame pelo médico
Instruções erradas ao paciente e/ou má preparação do mesmo
Requerimentos com dados incompletos
Procedimentos de coleta errados para o tipo de exame solicitado
Amostra insuficiente ou inadequada
Amostras não identificadas
Atraso no transporte ou no processamento

A detecção destes erros evitaria contratempos, como o inconveniente de coletar nova amostra biológica e custos adicionais ao laboratório pela repetição das análises, além de comprometer a sua reputação frente à clientela por ineficácia na qualidade do serviço prestado.^(2,6,8,17-19,24,28)

Existem certas variações nos resultados laboratoriais que podem ser previstas levando-se em consideração ciclos biológicos e circadianos não modificáveis. Conhecendo o ciclo desses ritmos biológicos, pode-se escolher a melhor época para a coleta da amostra biológica, na qual o analito de interesse esteja dentro dos parâmetros clínicos esperados. Contudo, a maioria dos analitos de interesse médico pode sofrer variações importantes decorrentes dos hábitos que antecedem a coleta da amostra biológica comprometendo a precisão e exatidão das análises. Em uma revisão sistemática realizada por Costa & Moreli (2012), constatou-se que nos estudos pesquisados os parâmetros biológicos mais passíveis de alterações são as dosagens de glicose, colesterol, triglicérides, enzimas e eletrólitos.⁽²⁸⁾

Por isso, durante a requisição de um exame laboratorial, o médico solicitante deve orientar de forma concisa e clara as precauções necessárias antes da coleta de amostra biológica, visto que o paciente não é um fator nulo, sendo capaz de comprometer a qualidade do serviço que lhe é prestado. Além disso, o paciente deve procurar o laboratório antes da coleta para reforçar as informações recebidas e sanar qualquer dúvida pertinente.^(28,32)

As recomendações a serem seguidas são como, por exemplo: a exigência de jejum para alguns exames e o tempo obrigatório; relatar ao laboratório no ato da coleta da amostra sobre o uso de algum medicamento para que esta informação conste na observação do laudo; alteração da dieta e de atividades físicas dias antes do teste laboratorial;

evitar o uso de álcool e cigarro dias ou até mesmo horas do procedimento, dentre outras orientações.^(3,28,29,32)

A Tabela 2 exemplifica alguns setores do laboratório, os testes laboratoriais e os interferentes da má preparação do paciente que podem gerar laudos equivocados e sua liberação.

Tabela 2 - Testes laboratoriais e interferentes pré-analíticos da má preparação/orientação do paciente

Setor	Exame Laboratorial	Interferente da má preparação do paciente*	Resultado*	
Hematologia	Hemograma	Consumo de alimentos gordurosos 2-4 horas antes da coleta	Leucopenia; plaquetopenia; eritrocitopenia; elevação da dosagem de hemoglobina (Hb)	
	Hemograma	Ingestão de café	Neutrofilia	
	Hemograma	Atividade física	Eritrocitose	
	Avaliação de anemia carencial	Etilismo	Deficiência de ácido fólico	
	Hemograma	Etilismo	Hemólise	
	Avaliação da função cardíaca	Tabagismo	Redução significativa do VHS.	
	Hemograma	Tabagismo	Aumento dos níveis de Hb	
	Hemograma	Tabagismo	Aumento do volume corpuscular médio (VCM)	
	Hemograma	Tabagismo	Leucocitose	
	Hemograma	Tabagismo	Eritrocitose	
	Hemograma	Penicilina, metildopa, carbonato de lítio, alguns anti-inflamatórios e glicocorticoides	Eritrocitopenia	
Bioquímica	Dosagem de colesterol	Tabagismo	Redução do HDL-colesterol	
	Avaliação de função renal	Tabagismo	Elevação dos níveis de aldosterona	
	Acompanhamento do Diabetes	Etilismo	Elevação da Hemoglobina glicada	
	Avaliação de eletrólitos	Etilismo	Elevação de lactato	
	Avaliação de artrite	Etilismo	Elevação do ácido úrico	
	Avaliação da função hepática	Etilismo	Elevação de gama-GT	
	Dosagem de colesterol	Etilismo	Elevação de triglicerídeos	
	Avaliação da função hepática	Etilismo	Elevação de bilirrubina direta	
	Avaliação de eletrólitos	Etilismo	Redução dos níveis de cálcio	
	Avaliação da função hepática	Etilismo	Elevação de bilirrubina direta	
	Avaliação de eletrólitos	Etilismo	Redução dos níveis de cálcio	
	Avaliação de eletrólitos	Medicamentos - nitroprussiato de sódio	Redução dos níveis de cálcio	
	Avaliação de eletrólitos	Atividade física	Elevação dos níveis de cálcio	
	Avaliação de eletrólitos	Jejum não realizado	Redução dos níveis de cálcio ionizado	
	Monitoramento de Diabetes	Tempo de Jejum elevado acima de 12 horas	Elevação dos níveis de corpos cetônicos	
	Avaliação de artrite	Tempo de Jejum elevado acima de 12 horas	Elevação dos níveis de ácido úrico	
	Avaliação de eletrólitos	Tempo de Jejum elevado acima de 12 horas	Elevação dos níveis de potássio	
	Avaliação de eletrólitos	Tempo de Jejum elevado acima de 12 horas	Elevação dos níveis de potássio	
	Avaliação da função renal	Consumo de proteínas	Elevação dos níveis de ureia, amônia, ácido úrico	
	Avaliação da função muscular	Atividade Física	Elevação de CK	
	Avaliação de eletrólitos	Atividade Física	Elevação de ácido láctico	
	Avaliação da função muscular	Atividade Física	Elevação de mioglobina	
	Avaliação de função hepática	Atividade Física	Elevação de ALT e AST	
	Monitoramento de diabetes	Atividade Física	Hipoglicemia	
	Monitoramento de diabetes	Medicamentos - sulfonilureias, metformina, metiglinidas, tiazolidinedionas	Hipoglicemia	
	Bacteriologia	Avaliação da infecção urinária	Na realização da assepsia da região genital	Macrobiota não condizente com a situação clínica do paciente
	Uroanálise	Avaliação da função renal	Demora na entrega da amostra do EAS	Macrobiota não condizente com a situação clínica do paciente
		Avaliação da função renal	Consumo de proteínas	Elevação dos níveis de ureia, amônia, ácido úrico

Fonte: adaptado de Pardini* (2013) e SBPC* (2013) ^(28,33)

Como pode ser observado na Tabela 2, os diferentes analitos avaliados nos diferentes setores laboratoriais são factíveis de variações decorrentes da má preparação do paciente. As consequências desta má preparação associada com a omissão de informações na requisição não relacionadas ao flebotomista durante a coleta do material biológico podem induzir a liberação de laudos de diferentes testes laboratoriais com resultados não coerentes com a real situação clínica do paciente. Esses laudos discrepantes com o quadro clínico do indivíduo seriam facilmente desconsiderados quando analisados os resultados com os dados contidos na requisição, levando à não liberação e repetição da análise e/ou coleta de nova amostra biológica.

O impacto ocasionado no sistema de saúde proveniente de erros analíticos onera significativamente os cofres públicos de um país devido aos gastos desnecessários com medicamentos e procedimentos médicos, prolongamento no tempo de hospitalização, novas coletas de amostra biológica, repetição de exames ou até mesmo demora ou não realização de uma intervenção cirúrgica. Erros durante assistência à saúde podem causar sérias consequências ao paciente, desde uma incapacidade ou até mesmo morte.^(2,6,7,28)

Goldschmidt & Lent (1995) observaram que 12,5% de erros laboratoriais levaram à tomada de decisões médicas erradas. Plebani e Carraro (1997) relatam que apenas 6,4% dessas decisões foram ocasionadas por esses erros. Segundo Kalra (2004), a frequência de erros laboratoriais mencionados na literatura varia entre os estudos, estimando a prevalência de um erro laboratorial a cada 330-1.000 incidentes, 900-2.074 pacientes e 214-8.316 resultados laboratoriais. Essas disparidades entre as pesquisas são decorrentes das diferentes abordagens na coleta de dados sobre os erros laboratoriais, subestimação e subnotificação até a dificuldade de determinar os danos ao paciente decorrentes desses erros.⁽³¹⁻³³⁾

CONCLUSÃO

Diante do contexto apresentado, fica evidente a importância das orientações que antecedem a coleta de material biológico ao paciente, e que o mesmo não omita nenhuma informação durante a coleta ou preenchimento da requisição, visto que as discrepâncias encontradas entre os resultados e situação clínica-patológica poderiam ser facilmente reconhecidas ao se analisar a requisição e, conseqüentemente, a não liberação dos laudos. Além disso, a garantia da qualidade dos resultados e dos laudos laboratoriais emitidos não depende somente do laboratório de análises clínicas, mas também da conscientização dos pacientes acerca dos fatores pré-analíticos anteriormente citados, os quais podem alterar os analitos de interesse médico. Por isso, é de suma importância que

o paciente/cliente siga as orientações prestadas, para, dessa forma, minimizar tais interferentes e garantir a precisão, exatidão dos laudos e segurança da prestação da conduta médica aplicada.

Abstract

Laboratory reports are critical in medical decision making. Technological and statistical advances have provided diagnostic medicine with significant improvements in all laboratory stages. The pre-analytical phase corresponds to approximately 70% of the laboratory errors, associated to the innumerable variables. The literature shows that errors are attributed to laboratories, although the patient is not a null factor. The aim of the study was to report the variables resulting from poor patient preparation that may impact the results of laboratory tests and lead to unnecessary medical interventions. The bibliographical research was conducted in laboratory medicine books and online platforms (LILACS, SciELO, PubMed and Google Scholar) using the keywords: "laboratory tests", "reference intervals in the clinical laboratory", "interferents in laboratory tests", "pre-analytical errors" in Portuguese and English. It is evident that different laboratory sectors can issue reports that do not correspond to the actual clinical situation of the patient due to poor preparation of the same. The guidelines passed should be clear and objective, ensuring their correct follow-up and ensuring the quality of the service provided. Therefore, there would be a minimization of the pre-analytical errors external to the laboratory and the reports would be in agreement with the clinical-pathological situation of the patient.

Keywords

Laboratory; patient; examen orientation

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC N° 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos [portaria na internet]. Diário Oficial da União 14 de out 2005 [acesso em 30 de jan 2018]. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19
2. Guimarães AC, Wolfart M, Brisolará MLL, Dani C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos. Rev Hosp das Clínicas Porto Alegre. 2011;31(1):66-72.
3. Rao LV. Fatores que influenciam os exames laboratoriais. In: Wallach J. Interpretação de exames laboratoriais. 10ª ed. Rio de Janeiro Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. P. 1-9.
4. Oliveira CA, Mendes ME. Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática [livro na internet]. Rio de Janeiro: ControlLab Controle de Qualidade para Laboratórios LTDA; 2010 [acesso em 4 mai 2018]. Disponível em: https://controllab.com/pdf/gestao_fase_analitica_vol1.pdf
5. Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? Clin Chem Lab Med. 2006;44(6):750-9.
6. Shcolnik W. Erros laboratoriais e segurança do paciente: Revisão Sistemática. [dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca - ENSP; 2012.
7. Vieira JGH. Avaliação dos potenciais problemas pré-analíticos e metodológicos em dosagens hormonais. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002;46(1):9-15.
8. Shcolnik W, Mendes W. Laboratory errors, adverse events and research methodologies: a systematic review. J Bras Patol Med Lab. 2013; 49(5):332-40.
9. Sarkozi L, Simpson E, Ramanathan L. The effects of total laboratory automation on the management of a clinical chemistry laboratory: retrospective analysis of 36 years. Clin Chim Acta. 2003; 329(1-2): 89-94.

10. Streitberg GS, Angel L, Sikaris KA, Bwititi PT. Automation in clinical biochemistry: core, peripheral, STAT, and specialist laboratories in Australia. *J LabAutom.* 2012;17(5):387-94.
11. Kishimoto ET, Moraes JCTB. Qual a contribuição da automação para um laboratório de ensaios. In: Congresso da Qualidade em Metrologia. 2008 jun 09-12; São Paulo, Brasil.
12. Armbruster DA, Overcash DR, Reyes J. Clinical Chemistry Laboratory Automation in the 21st Century - Amat Victoria (Victory loves careful preparation). *Clin Biochem Rev.* 2014;35(3):143-53.
13. Fernandes CFO, Talma RL. Analysis os the pre-analytical phase in a private pathology laboratory of Maringá city-PR, Brazil. *J Bras Patol Med Lab.* 2016;52(2):78-83. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442016000200078&lng=en.
14. Chaves CD. Controle de qualidade no laboratório de análises clínica. *J Bras Patol Med Lab.* 2010;46(5):352-352. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442010000500002&lng=en.
15. Dikmen ZG, Pinar A, Akbiyik F. Specimen rejection in laboratory medicine: Necessary for patient safety? *Biochem Med.* 2015;25(3):377-85.
16. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J.* 2016;14(1):49.
17. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem.* 2007;53(7):1338-42.
18. Plebani M. Laboratory errors: How to improve pre-and post-analytical phase? *Biochem Med.* 2007;17(1):5-9.
19. Lillo R, Salinas M, Lopez-Garrigos M, Naranjo-Santana Y, Gutiérrez M, Marín MD, Miralles M, Uris J. Reducing preanalytical laboratory sample errors through educational and technological interventions. *Cli Lab.* 2002;58(9-10):911-7.
20. Codagnone FT, Sibelle MFA, Shcolnik W, Chaves SRS, Silva LA, Henriques VHO, Spitz LC. The use of indicators in the pre-analytical phase as a laboratory management tool. *J Bras Patol Med Lab* 2014; 50(2):100-04.
21. Da Rin G. Pre-analytical workstations: a tool for reducing laboratory errors. *Clin ChimActa.* 2009;404(1):68-74.
22. Panteghini M. Application of traceability concepts to analytical quality control may reconcile total error with uncertainty of measurement. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(1):7-10. doi: 10.1515/CCLM.2010.020.
23. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev.* 2012;33(3):85.
24. Sourati J, Kazmierczak SC, Akcakaya M, Dy JG, Leen TK, Erdogmus D. Assessing subsets of analytes in contexto of detecting laboratory errors. In: Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2016 IEEE 38th Annual International Conference of the. IEEE, 2016. p. 5793-5796.
25. Sociedade Brasileira De Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica. [acesso em 28 de mar 2018]. Disponível em: http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf
26. Fraser CG. The nature of biological variation. In: Biological variation: from principles to practice. Washington DC: American Association for Clinical Chemistry. 2001. P. 1-28.
27. Best Practice Advocacy Centre New Zealand. Factors that can affect laboratory investigations. [acesso em 18 de abr 2018]. Disponível em: <http://www.bpac.org.nz/BT/2015/April/laboratory-investigations.aspx>.
28. Costa VG, Moreli ML. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. *J Bras Patol Med Lab.* 2012;48(3):163-8.
29. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: for the working group on preanalytical phase (WG-PA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin ChimActa.* 2014; 432:33-37.
30. Pardini H. Manual de exames [acesso em 15 de mai 2018]. Disponível em: <https://www3.hermespardini.com.br/pagina/997/manuais-de-exames.aspx>
31. Goldschmidt HMJ, Lent RW. Gross errors and work flow analysis in the clinical laboratory. *Klin Biochem Metab.* 1995;3:131-40.
32. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clin. Chem.* 1997;48(8):1348-51.
33. Kalra J. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical áreas. *Clin. Biochem.* 2004;37(12):1052-62.

Correspondência

Diêgo Passos Aragão

R. Virgílio Antunes, 399 - São Benedito
Parnaíba - PI, Brasil

Doença de Chagas: uma atualização bibliográfica

Chagas disease: a bibliographic update

Ronildo de Sousa Lima¹

Andrea Bessa Teixeira²

Vera Lucia da Silva Lima¹

Resumo

É uma doença infecciosa causada por um protozoário parasita chamado *Trypanosoma cruzi*, nome dado por seu descobridor, o cientista brasileiro Carlos Chagas, em homenagem a outro cientista, também brasileiro, Oswaldo Cruz. Essa doença é conhecida popularmente como doença do coração crescido, além disso, os locais com mais índices dessa doença são as regiões do Norte e Sudeste e tem como formas de diagnósticos exames de sorologia parasitários e xenodiagnóstico. E uma das principais formas de prevenção da doença vem sendo o uso de telas e repelentes.

Palavras-chave

Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; etiologia; epidemiologia; ensaios enzimáticos clínicos

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas (DC) é uma doença infecciosa, que também é conhecida popularmente por "doença do coração crescido" e é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, que é transmitido pelo contato com as fezes dos insetos vetores, chamados de "barbeiros" no Brasil. Além disso, algumas formas de transmissão são por via oral, pela ingestão de alimentos contaminados com os parasitas; da mãe para o filho ou de forma congênita; transplante de órgãos e até por acidentes laboratoriais. Além disso, as formas de diagnóstico são o exame parasitário, sorológico e métodos indiretos como a hemocultura e o xenodiagnóstico.

ETIOLOGIA

A doença é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, caracterizado pela presença de um flagelo e do cinetoplasto. Suas formas evolutivas são amastigota, tripomastigota e epimastigota. Por exemplo, no sangue dos vertebrados, o *T. cruzi* se apresenta sob a forma de tripomastigota, que é extremamente móvel, e, nos tecidos, como amastigotas. No tubo digestivo dos vetores ocorre a transformação do parasito, dando origem às formas infectantes presentes nas fezes do inseto. A partir disso, é possível entender a transmissão da DC e prevenir a doença.

EPIDEMIOLOGIA

A doença de Chagas tem uma maior distribuição no continente americano. No Brasil, a DC chegou a atingir cerca de 40% do território nacional e os estados com mais índices de casos são: Minas Gerais, Goiás, Bahia, São Paulo, Acre, Amazonas e Amapá. Além disso, sabe-se que a principal via de transmissão é a vetorial (inseto), por causa das casas rústicas, das habitações rurais, que são conhecidas como casas de pau a pique e taipas, que são caracterizadas pela má iluminação e presença de rachaduras, o que possibilita a procriação dos triatomíneos e, segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, foram contabilizados 112 surtos no território nacional entre 2005 e 2013, envolvendo em sua totalidade 35 municípios da região amazônica. A provável fonte de infecção foi a ingestão de alimentos contaminados com *T. cruzi*, entre eles: açaí, bacaba, suco de caldo de cana e o palmito de babaçu. A maioria dos surtos ocorreu nos estados do Pará - 75,9% (85) e Amapá - 12,5% (14) e, em menores proporções, nos estados do Amazonas - 4,5% (5), Tocantins - 1,8% (2) e Bahia - 1,8% (2).

As principais formas de transmissão são: a vetorial (pelas fezes do barbeiro, como é chamado popularmente, e podem infectar pela picada, coceira ou até mesmo pela boca); o transplante (doadores infectados para doadores sadios); a vertical ou congênita (passagem do parasita da

¹Atendente de Farmácia. Discente - Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

²Docente. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

³Discente. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

Instituição: Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

Recebido em 29/05/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900727

mãe para o feto que pode ocorrer durante o parto ou na gestação) e a oral (ingestão de alimentos contaminados).

FISIOPATOLOGIA

A DC é dividida em duas fases: a crônica (tardia, de evolução lenta e com baixa parasitemia) e a aguda (inicial, de rápida duração, com elevada parasitemia e geralmente autolimitada). Na fase aguda, a patologia causa, principalmente, dilatação cardíaca e derrame pericárdico. A miocardite é intensa e difusa, ocorrendo necrose miocitolítica, edema, vasculite e infiltrado inflamatório, de natureza mono e polimorfo nuclear. A maior parte dos casos agudos evolui para a forma indeterminada. Considera-se que pacientes nessa forma constituam a grande maioria de infectados em áreas endêmicas, podendo aproximadamente 40% de estes persistirem indefinidamente nessa condição. O estágio é caracterizado pela presença de infecção, confirmada por testes parasitológicos e/ou sorológicos, na ausência de manifestações clínicas, radiológicas (coração, esôfago e/ou cólon) e eletrocardiográficas. A evolução para as formas determinadas (cardiomiopatia e mega síndromes) geralmente ocorrerá 10-20 anos após a fase aguda. Levando-se em conta a gravidade das manifestações que pode acarretar, o envolvimento cardíaco representa, sem dúvida, o mais importante do ponto de vista médico-social. A apresentação clínica da forma cardíaca crônica pode variar amplamente, dependendo do grau de acometimento da estrutura e função cardíaca, dentre outros fatores. Os principais achados nos corações de chagásicos envolvem uma miocardite fibrosante progressiva e crônica. A perda de cardiomiócitos e a sua substituição por tecido fibrótico parece induzir desarranjos da estrutura e da função do miocárdio, resultando em mau funcionamento do sincício eletrofisiológico e predispondo ao desenvolvimento da insuficiência cardíaca (IC), bloqueios intra e atrioventriculares, além de taquiarritmias ventriculares, fatores com impacto prognóstico na DC.

Esta doença tem como principais sintomas: febre, mal-estar, inflamação e dor nos gânglios, vermelhidão, inchaço nos olhos (sinal de Romanã) e aumento do fígado e do baço, que são os principais sintomas. Com frequência, a febre desaparece depois de alguns dias e a pessoa não se dá conta do que lhe aconteceu, embora o parasita já esteja alojado em alguns órgãos.

DIAGNÓSTICO

Na fase aguda da DC, o diagnóstico laboratorial é baseado na observação do parasito presente no sangue dos indivíduos infectados, através de testes parasitológicos diretos, como exame de sangue a fresco, esfregaço e gota espessa. O teste direto a fresco é mais sensível que o esfregaço corado e deve ser o método de escolha para a

fase aguda. Caso estes testes sejam negativos, devem ser usados métodos de concentração. Os testes de concentração (microhematócrito ou Strout) apresentam 80% a 90% de positividade e são recomendados no caso de forte suspeita de DC aguda e negatividade do teste direto a fresco. Em casos sintomáticos por mais de trinta dias, devem ser realizados os testes de escolha, uma vez que a parasitemia começa a declinar.

Na fase crônica da doença, o diagnóstico parasitológico direto torna-se comprometido em virtude da ausência de parasitemia. Os métodos parasitológicos indiretos (o xenodiagnóstico ou o hemocultivo) que podem ser utilizados apresentam baixa sensibilidade (20%-50%). Sendo assim, o diagnóstico na fase crônica é essencialmente sorológico e deve ser realizado utilizando-se dois testes de princípios metodológicos diferentes: um teste de elevada sensibilidade (ELISA com antígeno total ou frações semipurificadas do parasito ou a IFI) e outro de alta especificidade (ELISA, utilizando antígenos recombinantes específicos do *T. cruzi*). Recentemente, o Ministério da Saúde realizou um estudo multicêntrico que avaliou a sensibilidade e especificidade de 12 "kits" de ELISA disponíveis no mercado brasileiro, envolvendo os convencionais (que utilizam antígeno total ou frações semipurificadas do parasita) e não convencionais (que utilizam antígenos recombinantes).

Em casos suspeitos de transmissão congênita, é importante confirmar o diagnóstico sorológico da mãe. Caso a infecção materna seja confirmada, deve-se realizar o exame parasitológico no recém-nascido. Se for positivo, a criança deve ser submetida ao tratamento etiológico imediatamente. Os filhos de mães chagásicas com exame parasitológico negativo ou sem exame devem retornar entre seis e nove meses, a fim de realizarem testes sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* da classe IgG. Se a sorologia for negativa, descarta-se a transmissão vertical.

Nos países afetados pela doença de Chagas, é comum a prática de coletar amostras clínicas em áreas rurais, distanciadas do laboratório que pratica o diagnóstico, e essa rotina pode comprometer a integridade da amostra a ser analisada. Assim, a necessidade de se coletarem amostras clínicas em áreas rurais promoveu o desenvolvimento de um procedimento simples para a coleta, transporte e preservação de amostras de sangue e posterior análise por PCR, tendo como alvo de detecção o kDNA de *T. cruzi*. Amostras de sangue periférico (10 mL) são coletadas e misturadas com o mesmo volume de tampão específico (Guanidina-HCl 6M/ EDTA 0,2M), podendo permanecer à temperatura ambiente por até sessenta dias sem comprometer o resultado final do ensaio molecular. Também foi sugerido que o rompimento da estrutura em rede do kDNA para a liberação dos minicírculos, moléculas-alvo da amplificação era necessário para aumentar a sensibilidade de

detecção do parasito diretamente no sangue de pacientes crônicos. Para tal, Britto e colaboradores (1993) descreveram o método da clivagem física da rede de kDNA por calor (fervura dos lisados de sangue a 100°C por 15 min), um procedimento rápido e sem custos, que vem sendo usado rotineiramente por diferentes laboratórios, fornecendo um limite de detecção de até um único parasito presente em 10 mL de sangue coletado. Esse nível de sensibilidade se mostrou adequado para a pesquisa acurada do parasito diretamente no sangue de pacientes portadores da doença crônica. Estudos clínicos e epidemiológicos preliminares demonstraram que o ensaio da PCR pode alcançar uma melhor sensibilidade e especificidade quando comparado em associação ao diagnóstico sorológico e clínico. Além disso, a PCR é, sem dúvida, um método mais rápido e mais prático do que qualquer outro teste parasitológico, tais como o xenodiagnóstico e o hemocultivo. Uma série de investigações em regiões endêmicas do Brasil com perfis epidemiológicos particulares foi conduzida baseada na amplificação de sequências de minicírculos do kDNA. Inicialmente, os ensaios foram focados nos estados de Minas Gerais (Virgem da Lapa), Paraíba e Piauí – áreas endêmicas tradicionais da doença de Chagas, e na Bacia Amazônica, onde o *T. cruzi* é enzoótico. Nesses estados, a faixa de soroprevalência da doença é de 6%-13,3%. A detecção de parasitos circulantes nos indivíduos soropositivos foi obtida através dos testes de xenodiagnóstico e amplificação pela PCR.

TRATAMENTO E PREVENÇÃO

O tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde é o benzonidazol, que deve ser indicado exclusivamente pelo profissional qualificado logo após a confirmação da patologia. Fornecido gratuitamente pelas Secretarias Estaduais de Saúde, deve ser utilizado em pessoas que tenham a doença aguda assim que ela for identificada. No caso dos portadores da doença crônica, a indicação desse medicamento é para aqueles pacientes assintomáticos e com exames sem alterações (forma indeterminada) ou em formas clínicas iniciais, devendo ser avaliados individualmente. Em casos de intolerância ou que não respondam ao tratamento inicial, especialmente casos agudos e de reativação da DC em imunossuprimidos, o Ministério da Saúde disponibiliza o nifurtimox como alternativa de tratamento.

Ao localizar o inseto no domicílio, o morador precisa seguir algumas condutas, dentre elas:

- Preservá-lo para que possa ser devidamente identificado;
- Acondicionar o inseto em material plástico e tampado para inibir a possível fuga atendendo as especificações de acondicionar separadamente, caso encontre em mais de um cômodo no domicílio;
- Proteger as mãos ao manipular o inseto.

A profilaxia da patologia está diretamente voltada para a forma como ocorreu a contaminação. E um dos mecanismos de controle para impedir a multiplicação dentro da residência é utilizar o inseticida aplicado por equipe capacitada nos locais onde os insetos possam utilizar as frestas. Outra forma de prevenção é também a utilização de mosquiteiros.

Em relação à transmissão oral, as principais medidas de prevenção são:

- Ação efetiva da vigilância sanitária, com educação continuada, controle de liberação de alvarás e avaliação em todo o processo de produção dos alimentos. Vale ressaltar que esta é uma maneira de contaminação que afeta todas as classes sociais uma vez que, na zona urbana e nas regiões endêmicas, o uso de telas é mais efetivo.
- A cocção acima de 45°C, a pasteurização e a liofilização são formas de prevenção da transmissão oral por *T. cruzi*.

CONCLUSÃO

Apesar de ser uma patologia identificada há décadas, a DC ainda acomete e mata o cidadão de forma devastadora, pois a Política de Saúde Pública no país é precária e não uniforme, onde o morador da zona urbana certamente terá menos risco de contrair a DC que o morador sem recurso e plano de saúde da zona rural. Baseado no que foi exposto, é possível perceber que grandes desafios ainda permeiam o campo das questões relacionadas à DC, mesmo passados cem anos de sua descoberta. Conforme discutido no trabalho de Dias, várias situações devem ser levadas em consideração, permitindo explorar melhor os aspectos necessários ao entendimento das questões da DC, dentre as quais se destacam as relacionadas às leis de mercado, à economia em escala e às diversas situações de injustiça que inviabilizam o modelo agrícola e artesanal de pequenos produtores rurais, repercutindo diretamente em questões básicas da expansão da tripanossomíase; a questão educacional, a qual deve, sobretudo, desestimular o sistema educativo elitista e pouco voltado para questões sociais, o que de certa forma acentua o desinteresse pela doença. Mesmo com o tratamento oferecido pelo Ministério da Saúde como foi descrito, a patologia pode evoluir de forma silenciosa, o que contribui para que doentes assintomáticos percam a oportunidade de tratamento, ocorrendo então o agravamento dos casos.

Abstract

It is an infectious disease caused by a protozoan parasite called Trypanosoma cruzi, named after its discoverer, the Brazilian scientist Carlos Chagas, in honor of another scientist, also, Brazilian, Oswaldo Cruz. This disease is popularly known as a disease of the heart grown, in addition, the sites with the most indexes of this disease are the regions of the North and southeast and have as diagnostic methods serological

tests parasitic and xenodiagnosis. And one of the main forms of prevention of the disease has been the use of screens and repellents.

Keywords

Chagas Disease; Trypanosoma cruzi; etiology; epidemiology; Clinical Enzyme Tests

REFERÊNCIAS

1. Doença de Chagas: sintomas, tratamentos e causas. 2018. Disponível em: <Doença de Chagas: sintomas, tratamentos e causas>. Acesso em: 16 mar. 2018.
2. Saúde de A a Z: Doença de Chagas. 2018. Disponível em: <<http://portais.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>>. Acesso em: 16 mar. 2018.
3. Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de Chagas aguda e crônica. 2013. Disponível em: <https://www.infectologia.org.br/admin/zcloud/principal/2016/06/4599saff6d5sa499s4fdsa6d78bfgh299059.pdf>. Acesso em: 16 mar. 2018.
4. Brasil, Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle de Chagas. Doença de Chagas aguda: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento: guia de consulta rápida para profissionais de saúde. Rev Patol Trop. 2007 Set-Dez;36(3):1-32.
5. Cançado J. Romeu. Long term evaluation of etiological treatment of chagas disease with benznidazole. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 44 (1):29-37, January-February, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v44n1/a06v44n1.pdf>
6. Dias JCP, Ramos Jr. AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. Epidemiol. Serv. Saúde [Internet]. 2016 Jun; 25(esp):7-86. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000500007&lng=pt.
7. Gomes, Yara de Miranda. Doença de Chagas: Diagnóstico. 2017. Disponível em: <<http://chagas.fiocruz.br/diagnostico/>>. Acesso em: 16 mar. 2018.
8. Oliveira MF, Nagao-Dias AT, Pontes MO, Souza-Júnior AS, Coelho HLL, Coelho ICB. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. Rev Patol Trop 2008;37(3):209-28.

Correspondência

Vera Lucia da Silva Lima

*Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza
Rua Conselheiro Estelita, 500 - Centro
Fortaleza-CE, Brasil*

Prevenção da doença meningocócica: o arsenal de vacinas disponíveis

Meningococcal disease prevention: the vaccines arsenal available

Auricia Brena dos Santos Silva¹

Pedro Dantas Neto²

Naira Mariana Oliveira de Sousa²

Priscila Nayara Santiago dos Santos²

Ingrid Gomes Pereira²

Clara Aglaia de Brito Reis²

Andrea Bessa Teixeira³

Resumo

A doença meningocócica (DM) é uma infecção bacteriana aguda causada pela bactéria *Neisseria meningitidis*, sendo considerada uma das mais importantes emergências médicas devido ao seu prognóstico estar relacionado ao seu diagnóstico e tratamento serem iniciados precocemente. A prevenção é feita principalmente através de vacinação, hoje existente para diversos sorotipos da bactéria que causa a doença, sendo, dessa forma, uma importante estratégia no controle da enfermidade. O principal objetivo deste artigo é informar sobre a existência dos diversos tipos de vacinas existentes para prevenir a doença meningocócica. O estudo mostrou as suas especificidades e usos, além de ressaltar a importância de sua presença nos planos de vacinações de diversos países.

Palavras-chave

Infecções meningocócicas; vacinas; prevenção primária

INTRODUÇÃO

A doença meningocócica (DM) é uma infecção bacteriana aguda causada pela bactéria *Neisseria meningitidis*, sendo considerada uma das mais importantes emergências médicas devido à definição de que o seu prognóstico está relacionado ao seu diagnóstico e tratamento serem iniciados precocemente.⁽¹⁾

A *N. meningitidis*, conhecida como meningococo, é uma bactéria Gram-negativa que possui 12 diferentes sorogrupos: A, B, C, E, H, I, K, L, W, X, Y e Z, porém somente os sorogrupos A, B, C, W e Y estão mais relacionados com a forma invasiva da doença. Sua transmissão se dá principalmente pelo contato direto entre pessoas ou por dispersões das gotículas respiratórias de uma pessoa infectada para outra. A bactéria se desidrata facilmente fora do organismo humano, sendo seu *habitat* principal a nasofaringe, e, a partir desse local, dependendo de diversos aspectos como a imunidade do hospedeiro e resistência da bactéria, pode chegar à corrente sanguínea.⁽²⁾

Os sinais e sintomas iniciais da DM se assemelham a gripes e resfriados comuns, como febre, irritabilidade, cefaleia, perda de apetite, náuseas e vômito, o que dificulta seu diagnóstico precoce ou pode acarretar um diagnóstico

equivocado (Ministério da Saúde, 2016).⁽³⁾ Os aspectos clínicos tardios estão mais associados à meningite, que é a inflamação das meninges, meningococemia e a pneumonia meningocócica.⁽²⁾

A letalidade da doença está entre 9% e 12% em países desenvolvidos e mais elevada em países em desenvolvimento. A doença está mais incidente em crianças menores de 5 anos, especialmente em lactentes entre 3 e 12 meses. Aproximadamente 10% dos casos, mesmo com intervenção médica adequada e cuidados intensivos, acabam sendo fatais.^(1,4)

O diagnóstico da doença pode ser feito por diversos tipos de exames laboratoriais, como em cultura, a partir do líquido cefalorraquidiano (LCR), sendo este o mais adequado devido à especificidade, porém também há outros tipos de diagnósticos, como o exame quimiocitológico do LCR, que permite a contagem e diferencial das células, e outras com baixo grau de especificidade, como bacterioscopia direta utilizando a técnica de coloração.⁽³⁾

O tratamento consiste principalmente em antibioticoterapia com ampicilina, penicilina em crianças e ceftriaxona em adultos, e a prevenção é feita principalmente através de vacinação, hoje existente para diversos sorotipos da doença, sendo, dessa forma, uma importante estratégia no

¹Acadêmico de Farmácia. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza - CE, Brasil.

²Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza - CE, Brasil.

³Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil.

Instituição: Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza - CE, Brasil.

Recebido em 27/05/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900713

controle da enfermidade, além da necessidade de informação sobre métodos profiláticos corretos para que diminua sua disseminação.⁽³⁾

O presente artigo tem como principal objetivo ressaltar a existência dos diversos tipos de vacinas para prevenir a doença meningocócica, especificando seu mecanismo de ação e impacto na saúde da população brasileira.

PREVENÇÃO DA DOENÇA MENINGOCÓCCICA

O desenvolvimento de vacinas contra *Neisseria meningitidis* é um desafio constante devido a uma imensa variedade de sorogrupos e mudanças moleculares relacionadas à bactéria. As vacinas existentes garantem proteção aos sorogrupos A, B, C, W135 e Y, sendo estes os sorogrupos mais relacionados a infecções sistêmicas, assim como a doença meningocócica, e são divididas em vacinas não conjugadas e conjugadas.^(3,4)

A quimioprofilaxia é utilizada também como forma de prevenir a disseminação da bactéria, indicada para quando se confirma um caso e deve-se intensificar a avaliação para os contatos próximos ao enfermo, como moradores próximos ao seu domicílio, pessoas que compartilham dormitórios, casos em creches, escolas e pessoas que foram expostas às secreções do paciente. O medicamento mais indicado para esse método preventivo é a rifampicina, de preferência em até 48 horas após a exposição ou contato com o paciente contaminado, porém os antibióticos ciprofloxacino e ceftriaxona podem ser utilizados também.^(3,5)

VACINA MENINGOCÓCCICA POLISSACARÍDICA

O primeiro modo de prevenção para a doença meningocócica foram as vacinas não conjugadas, que se dividem em bivalentes (sorogrupos A e C) e tetravalentes (sorogrupos A, C, Y e W135), mas têm sido bem menos utilizadas atualmente por diversos motivos. Um dos principais motivos é a resposta imune inadequada, principalmente quando se trata de bactérias do sorogrupo C para crianças abaixo dos 2 anos de idade, devido a uma resposta falha aos antígenos por ser T independentes nessa faixa etária.⁽⁵⁾

Essas vacinas também apresentam uma curta duração em relação a outras vacinas, por não induzirem memória imunológica e também terem hiporresponsividade quando administradas doses posteriores da vacina, principalmente na faixa etária de adolescentes e jovens quando realizam reforços, podendo ocasionar prejuízo na imunização e esses usuários ficarem mais susceptíveis a adquirir uma infecção.⁽⁵⁾

Essas vacinas estão cada vez mais em desuso por esses motivos, mas podem ser utilizadas para pacientes de alto risco, adultos com mais de 55 anos ou na presença de surto ou epidemia em determinada comunidade ou espaço.⁽⁶⁾

VACINA MENINGOCÓCCICA POLISSACARÍDICA CONJUGADA

As vacinas conjugadas (Men A, Men C, MenACWY e MenCY-Hib) têm como principal característica a presença de proteínas carreadoras (toxina diftérica mutante atóxica, toxoide diftérico ou o toxoide tetânico) que garantem diversas vantagens em relação à imunidade ao usuário. A principal mudança é que a resposta imune se dá por células T dependentes, pois os polissacarídeos são reconhecidos pelas células B, processando-os e entregando-os em epítopos peptídicos para as células T-CD4+.^(5,6)

O diferencial se intensifica pela maior produção de anticorpos, assim elevando seu nível sérico, garantindo uma imunização mais eficiente, além de induzir a criação de células B de memória mais prolongada, obtendo maior atividade na redução da colonização na nasofaringe, área que está mais envolvida com a transmissão da doença.^(5,6)

Apesar da imunização em massa com essa vacina e da criação de uma imunidade de rebanho, que é justamente uma população imune a determinado tipo de doença, o agente etiológico pode se disseminar poucas horas após a infecção da nasofaringe, enquanto que mesmo em um indivíduo imunizado a resposta imune à doença pode ser de vários dias; logo, é possível se contrair a doença mesmo após a vacinação.^(5,6)

VACINA CONJUGADA PARA O SOROGRUPO B

A vacina com proteínas carreadoras para o sorogrupo B apresentou baixa imunogenicidade, ou seja, fraca resposta imunológica para criar anticorpos e memória imunológica capaz de combater a bactéria desse sorotipo; dessa forma, novas formulações tiveram de ser desenvolvidas com o intuito de criar uma resposta eficaz para esse sorogrupo.⁽⁸⁻¹⁰⁾

Para garantir a eficácia da vacina, foi utilizado o conceito de vacinologia reversa, em que são utilizados genes codificadores de proteínas retiradas da bactéria e que sejam acessíveis aos anticorpos. Dessa forma, na principal vacina existente no mercado foram utilizados quatro componentes antigênicos para serem incluídos na vacina: fHbp (Proteína de ligação ao fator H), NHBA (Antígeno da bactéria que se liga à heparina), NadA (Adesina A *Neisseria*) e PorA (Porina A: PorA P1.4 da NZ) e adicionadas à OMV, componente de vesícula de membrana externa, que também aumenta a imunogenicidade.^(8,9,10,11)

Atualmente, a utilização da vacina ainda está em observação e continuam sendo realizados estudos para garantir sua viabilidade, segurança e eficácia. Algumas pesquisas, principalmente realizadas no Reino Unido, garantem a eficácia e segurança em lactentes, crianças e adolescentes, além da evidente efetividade de prevenção con-

tra a bactéria do sorogrupo B, após dados colhidos da implantação da vacina no seu plano nacional de vacinação.^(10,11,12)

VACINAÇÃO NO BRASIL

No Brasil, atualmente, a vacina utilizada é a conjugada contra o sorogrupo C (Men C), sendo utilizada principalmente no primeiro ano de vida e reforço na adolescência. A criança faz uso da primeira dose no terceiro mês de vida, a segunda dose no quinto mês de vida e realiza um reforço com 12 meses. Com a idade de 10 a 19 anos pode ser utilizado um reforço ou dose única, nos casos de quem não havia sido vacinado anteriormente, devendo-se sempre verificar a situação vacinal do paciente.^(1,13,14)

A utilização como prevenção de apenas a Men C é justificada por esse sorogrupo ter estado durante anos como o mais comum a ocasionar a DM, e as doses de reforço são necessárias justamente por conta da queda sérica dos anticorpos que combatem a bactéria. Em 2015, a vacina contra o sorogrupo B foi validada no país, porém ainda não faz parte do plano nacional de vacinação.^(1,14,15)

Segundo dados do Ministério da Saúde, de 2010 para 2016 ocorreram decréscimos consideráveis de casos e óbitos da doença meningocócica no país, o que está relacionada ao controle e à promoção da vacinação no plano de vacinação, porém, apesar dos números de casos se mostrarem decrescentes, a letalidade da doença continua entre 21% e 22%, aproximadamente, mostrando o quanto é necessário a identificação precoce da doença para que se tenha um prognóstico favorável.^(1,14,15)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo tem como objetivo repassar e avaliar o arsenal de vacinas existentes atualmente para a prevenção da doença meningocócica, apresentando as particularidades de cada tipo de vacina e comparando-as. Um plano de vacinação abrangente e viável para toda a população torna cada vez mais eficaz a diminuição e até mesmo a erradicação da doença, porém diversas dificuldades devem ser enfrentadas, como a mutação da bactéria, não utilização de reforço das vacinas conjugadas ou não existências de promoções à saúde que exemplifiquem os sintomas e sinais da doença, fornecendo informações sobre sua transmissão e alertando para a dificuldade de seu diagnóstico, para que seja gerada maior conscientização e maior procura para a prevenção da doença.

Abstract

The meningococcal disease (MD) is an acute bacterial infection caused by Neisseria meningitidis, been considered one of the most important medical emergencies, because the definition of your prognosis is related

with early diagnosis and treatment. The prevention is mainly done through vaccination, nowadays existing too many diferents serotypes from the bacterium that causes the disease, being that way, a importante strategy in disease's control. The main objective from this article is to emphasize the existence of the many types of vaccines that can be used in meningococcal disease's prevention. The study showed their specifities and how can be used, beside the importance to have that vaccine in the vaccination plan in many countries.

Keywords

Meningococcal infections; vaccines; primary prevention

REFERÊNCIAS

- Masuda TM, Carvalhanas TRMP, Fernandes RMBP, Casagrande ST, Okada PS, Waldman EA. Mortalidade por doença meningocócica no Município de São Paulo, Brasil: características e preditores. Cad. Saúde Pública. 2015;31(2):405-416. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2015000200405&lng=en.
- Moraes C. Doença meningocócica no Brasil: descrição dos casos, evidências da efetividade e do impacto da vacina anti-meningocócica conjugada sorogrupo C, 2001 - 2013. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, volume 47, nº 49, 2016. Disponível em: < <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/julho/29/2016-015---DM.pdf>> Acesso em: Abril de 2018.
- Safadi MAP. Doença Meningocócica Fascículo 2: Prevenção da Doença Meningocócica, Sociedade Brasileira de Pediatria, 2015. Disponível em: < http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2015/11/Folheto_Meningite_Fasciculo2_111115.pdf> Acesso em: Abril de 2018.
- Ministério da Saúde. Guia de Vigilância em Saúde - Volume único, 2ª edição. Brasília - DF, 2017. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>. Acesso em: Abril de 2018.
- Weekly Epidemiological Record. Vacinas contra meningococo: vacinas polissacarídicas e conjugadas polissacarídicas. 77ª ANNEE, Nº 40, p 329 - 340, 2002.
- CDC. Vacinas Contra a Meningite Meningocócica dos Sorogrupos A, C, W, Y- MenACWY e MPSV4: Tudo o que você precisa saber. MenACWY VIS - Portuguese (3 - 31 - 2016). Disponível em: < http://www.immunize.org/vis/portuguese_meningococcal.pdf>. Acesso em: Abril, 2018.
- Novartis. Bexsero®. São Paulo, 2015.
- Simões MJ, Fernandes T, Gonçalves P, Bettencourt C, Furtado C. Doença meningocócica do sorogrupo B (MenB) em Portugal: uma reflexão sobre estratégias de imunização. Instituto Nacional de Saúde - Doutor Ricardo Jorge, artigos breves nº 9, p. 28-32, 2014.
- Sousa M. Uma vacina contra a Neisseria meningitidis sorogrupo B: lidar com a incerteza. Rev Port Med Geral Fam. 2014;30(6):412-414. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2182-51732014000600012&lng=pt.
- Safadi, Marco Aurélio Palazzi; Barros, Analíria Pimentel. Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. J. Pediatr. (Rio J.), Porto Alegre, v. 82, n. 3, supl. p. s35-s44, Julho, 2006. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572006000400005&lng=en.
- Sociedade Portuguesa de Pediatria. Recomendações sobre vacinas extra Programa Nacional de Vacinação. Portugal, 2017. disponível em: <http://www.arscentro.min-saude.pt/Institucional/projectos/crsmca/noc/Documents/saude%20infantil/nsc/spp/Recomenda%C3%A7%C3%B5es%20sobre%20vacinas%20extra-PNV%20da%20Comiss%C3%A3o%20de%20Vacinas%20SIP-SPP%202017.pdf>

13. Vacinação. Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://portalm.saude.gov.br/acoes-e-programas/vacinacao/calendario-nacional-de-vacinacao>>. Acesso em: Abril, 2018.
14. Monteiro LF, Frasson MZ, Trevisol DJ, Schuelter-Trevisol F. Vigilância clínico-epidemiológica das meningites em um hospital do sul de Santa Catarina, no período entre 2007 a 2013. Arq Catarin Med. 2014 out-dez; 43(4): 24-29.
15. Bastos CC. Suscetibilidade aumentada às infecções por Neisseria meningitidis. Trabalho de mestrado integral de medicina. 26f. Lisboa - Portugal, 2016.

Correspondência

Auricia Brena dos Santos Silva
Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza
Rua Conselheiro Estelita, 500 - Centro
Fortaleza-CE, Brasil

Síndrome da rubéola congênita

Congenital rubella syndrome

Laísa Anália Cadête Lima¹

Leiliane Pereira Câmara Linhares¹

Sávio da Silva Araújo¹

Andréa Bessa Teixeira²

Carlos Genilson Freire Monteiro¹

Resumo

A rubéola é uma doença viral, caracterizada como autolimitada e com evolução benigna, porém o fator de maior preocupação relacionado ao vírus da rubéola ocorre quando a infecção acomete gestantes, devido à capacidade que o vírus possui de causar infecção transpondo a barreira placentária podendo gerar a síndrome da rubéola congênita (SRC). **Objetivo:** O estudo pesquisou dados atualizados sobre a temática para advertir a população sobre os riscos relacionados à síndrome da rubéola congênita, além de contribuir com conhecimento científico de acadêmicos, profissionais da saúde e pesquisadores. **Método:** Para a elaboração do artigo de atualização, foi realizada uma revisão bibliográfica na ferramenta de busca Google Acadêmico, Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), Ministério da Saúde e alguns livros, a fim de selecionar artigos e conteúdos disponíveis e atualizados para proporcionar maior compreensão do tema. **Considerações Finais:** O surgimento da vacina contra o vírus da rubéola foi uma grande conquista para a humanidade, uma vez que, após sua inclusão, houve uma redução significativa no número de casos novos de síndrome da rubéola congênita. Além disso, observou-se no decorrer da pesquisa uma grande dificuldade de encontrar trabalhos recém-publicados relacionados ao tema estudado.

Palavras-chave

Rubéola; infecção viral; anormalidades congênitas

INTRODUÇÃO

A rubéola é uma doença viral, caracterizada como autolimitada e com evolução benigna. Conhecida por atingir preferencialmente crianças e adultos jovens, é muito comum em comunidades urbanas, apresentando como sinais clínicos o surgimento de exantema agudo, febrícula, linfadenopatia e, em alguns casos, artropatia, ou podendo também ser assintomática em 25% a 50% dos pacientes.^(1,2)

O fator de maior preocupação relacionado ao vírus da rubéola ocorre quando a infecção acomete gestante, devido à capacidade que o vírus possui de causar infecção transpondo a barreira placentária, podendo gerar a síndrome da rubéola congênita (SRC), e, dessa forma, provocar os casos de malformações anatômicas, neurológicas e até mesmo óbito do feto.^(1,3)

Nesse contexto, a rubéola teria pouca importância se não fosse a possibilidade de infecção materna durante os

três primeiros meses de gestação e a ação teratogênica do vírus devido à ocorrência da SRC.⁽¹⁾

Diante disso, torna-se de extrema importância um levantamento bibliográfico sobre o referido problema, a fim de fornecer informações atuais sobre a epidemiologia, fisiopatologia, diagnóstico clínico e laboratorial, tratamento, prevenção e controle da SRC.

Portanto, foi realizada uma revisão bibliográfica para construção de um artigo de atualização, utilizando-se como ferramenta de busca o Google Acadêmico, o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e o Ministério da Saúde, a fim de selecionar artigos disponíveis e atualizados para embasamento científico e assim proporcionar maior compreensão do tema de interesse.

EPIDEMIOLOGIA

Embora, desde 1996, seja caracterizada como uma doença de notificação compulsória, a rubéola e a SRC

¹Graduando(a) em Farmácia. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

²Graduada em Farmácia/Universidade Federal do Ceará (UFC) – Fortaleza-CE, Brasil.

³Acadêmico. Graduando em Farmácia/Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – CE, Brasil.

Instituição: Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflito de interesses de ambas as partes.

Suporte financeiro: não houve apoio financeiro de qualquer instituição, sendo a realização deste projeto de total custeio próprio.

Recebido em 28/05/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900715

passaram a ter seu monitoramento de forma mais eficaz no Brasil em 1999, após a implementação da vigilância epidemiológica integrada de sarampo e rubéola.⁽⁴⁾

Dessa forma, tornou-se evidente que quanto maior a ocorrência de surtos e a crescente incidência de casos de rubéola em adultos jovens amplia-se também a probabilidade de casos de SRC que, segundo o Ministério da Saúde (2017), aumentou de 38 casos em 1999 para 78 em 2000. O Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) complementa que, no período de 2001 a 2006,

foram confirmados 195 casos de SRC; destes, 48,72% pertencentes ao estado de São Paulo e Acre durante a ocorrência de um surto da doença em 2001.⁽⁴⁾

Diante disso, ainda entre 2001 e 2002, foram realizadas medidas de controle frente a surtos, como vacinação de bloqueio e campanhas de vacinação à mulher em idade fértil, que resultaram em redução substancial do número de casos de rubéola e SRC.⁽⁴⁾ Abaixo, podem ser observados os casos confirmados de SRC de acordo com a região, no período de 2001 a 2006 (Tabela 1) e 2007 a 2015 (Tabela 2).

Tabela 1 - Síndrome da rubéola congênita - Casos confirmados por região de notificação e ano diagnóstico. Período: 2001 - 2006

Região de Notificação	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Total
Norte	25	3	2	1	1	2	34
Nordeste	23	12	5	5	2	4	51
Sudeste	51	28	19	13	7	6	124
Sul	4	-	2	-	-	-	6
Centro-Oeste	5	3	1	3	-	2	14
Total	108	46	29	22	10	14	229

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net

Tabela 2 - Síndrome da rubéola congênita - Casos confirmados por região de notificação e ano diagnóstico. Período: 2007 - 2015

Região de Notificação	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
Norte	1	1	1	-	-	1	-	1	2	7
Nordeste	4	5	4	1	1	1	-	-	1	17
Sudeste	21	28	2	3	4	4	3	-	4	71
Sul	-	8	-	-	-	-	-	-	-	8
Centro-Oeste	4	6	2	1	-	2	-	2	1	18
Total	30	48	9	5	5	8	3	3	8	122

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net

De acordo com o Governo do estado do Ceará (2014), o último caso de SRC registrado no país foi em dezembro de 2008, motivo pelo qual levou a Organização Panamericana da Saúde (OPAS) a certificar o Brasil, em 2010, como o país sem circulação do vírus da rubéola por mais de 12 meses.⁽⁵⁾ No entanto, em âmbito mundial, ainda estima-se que o número de crianças que nascem acometidas pela síndrome da rubéola congênita seja de aproximadamente 100 mil por ano.⁽⁶⁾

AGENTE ETIOLÓGICO E TRANSMISSÃO

Classificado como togavírus, o vírus da rubéola pertence ao gênero *Rubivirus* e família *Togaviridae*. Possui um invólucro constituído de glicoproteínas, um envelope lipoproteico composto por material genético do tipo RNA simples fita senso positivo e apresenta um único tipo antigênico. É facilmente inativado por agentes químicos como calor, baixo pH e luz ultravioleta.⁽⁶⁾

O vírus afeta apenas seres humanos, sendo transmitido quando indivíduos sadios entram em contato direto com secreções respiratórias de pessoas infectadas, e esse contágio pode ocorrer mesmo em estágio subclínico da doença.⁽⁶⁾

É importante ressaltar que o período de incubação do vírus pode variar entre 14 a 21 dias, sendo observado como momento de maior transmissibilidade 7 dias antes e 7 dias após o surgimento do exantema característico da doença.⁽⁷⁾

Quanto à taxa de transmissão vertical, estima-se que possa chegar a 90% nas 12 primeiras semanas de gestação, havendo um declínio entre a décima segunda e a vigésima oitava semana, aumentando novamente no final da gestação com 100% de chances de contaminação materno-fetal, conforme mostra a Tabela 3.⁽⁷⁾

Após o nascimento, o vírus da rubéola pode ser encontrado em 80% das crianças no primeiro mês, 62% até os quatro meses, 33% do quinto ao oitavo mês, 11% entre nove e doze meses e apenas 3% no segundo ano de vida.⁽⁸⁾

Tabela 3 - Risco de infecção relacionado com a idade gestacional e risco de malformação

Semana de gestação	Risco de infecção	Malformações
1-12	55%-81%	50%-85%
13-16	54%	20%
17-22	36%	<1%
23-30	30%	0%
31-36	60%	0%
>37	100%	0%

Fonte: Freitas, Fernando et al. 2011.

FISIOPATOLOGIA

O vírus da rubéola, por meio das glicoproteínas presentes no seu envelope, consegue se ligar às células do epitélio respiratório do hospedeiro, liberando em pouco tempo seu capsídeo no citoplasma para o início da tradução do seu material genético, replicação viral e posterior viremia, momento no qual pode ocorrer, a depender da idade gestacional, a transmissão do vírus para o feto.⁽⁷⁾

Quando a infecção ocorre no primeiro trimestre da gestação, causa ao feto vasculite generalizada, o que provoca uma morbidade significativa. A forma pós-natal, normalmente, se desenvolve de forma benigna, enquanto que a forma congênita e crônica é mais severa.⁽⁹⁾

A SRC é capaz de acometer de formas diferentes qualquer estrutura do organismo, sendo os órgãos mais comprometidos o coração, olhos e aparelho auditivo. Em geral, a causa mais comum de manifestação da doença é a surdez, ocorrendo na maior parte dos casos.⁽⁷⁾

DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL

A rubéola é uma doença de baixa gravidade e comumente evolui com sintomas inespecíficos que podem facilmente ser confundidos com doenças causadas por outros patógenos. Por esta razão, o diagnóstico em bases clínicas é difícil, sendo necessária associação a dados epidemiológicos e laboratoriais.⁽¹⁰⁾

Nesse contexto, no período de cinco a dez dias podem ocorrer febre baixa, linfadenopatia na região cervical, occipital e retroauricular; após esse período pode aparecer exantema maculopapular e puntiforme difuso, com início na face, couro cabeludo e pescoço, espalhando-se posteriormente para tronco e membros. Em crianças, a doença pode ser assintomática, já em adolescentes e adultos pode apresentar períodos prodrômicos com febre baixa, cefaleia, artralgias, mialgias, conjuntivite, tosse, coriza e leucopenia.⁽¹¹⁾

O diagnóstico laboratorial pode ser feito por testes sorológicos ou isolamento do vírus, sendo a primeira técnica mais viável e utilizada. Os testes sorológicos se baseiam na identificação de imunoglobulinas do tipo G e M, que podem ser dosadas na gestante ou no feto, porém a IgG é

ineficiente no diagnóstico da SRC no recém-nascido, uma vez que este anticorpo é passado da mãe para a criança, tornando-se impossível no momento do nascimento diferenciar os anticorpos da criança dos anticorpos maternos transferidos durante a fase intrauterina. Por outro lado, os anticorpos IgM não atravessam a membrana placentária, exercendo função importante no diagnóstico de síndrome da rubéola congênita.⁽¹²⁾

TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

Atualmente, não há um tratamento específico para a SRC, havendo medidas farmacológicas restritas apenas para os sintomas em casos de pacientes com manifestações clínicas.⁽¹⁰⁾ Dessa forma, a prevenção por meio da vacinação de todas as mulheres em idade fértil torna-se uma importante ferramenta no combate à doença.⁽¹³⁾

A vacina é composta pelo vírus atenuado e, portanto, algumas informações devem ser levadas em consideração, pois embora não haja relatos de infecção fetal após a vacinação, não se pode descartar a possibilidade de contágio da placenta em mulheres grávidas ou que pretendem engravidar num período de até três meses após administração da dose. Já em mulheres expostas ao vírus e que apresentaram IgG positiva durante a gestação não se aconselha o uso da vacina, pois não possui benefício comprovado.⁽¹³⁾

É importante salientar que a disponibilidade de poucas doses da vacina também pode favorecer o risco de contaminação e disseminação viral e, portanto, fazer com que uma doença infantil passe a acometer adultos jovens, ocasionando um possível aumento na incidência da síndrome da rubéola congênita. Por esta razão, é imprescindível que a vacinação seja acessível e imunize toda a população.⁽¹⁰⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desta revisão é possível concluir que a implementação da vacina contra o vírus da rubéola foi uma grande conquista para a humanidade, uma vez que, após sua inclusão, houve uma redução significativa no número de casos novos de síndrome da rubéola congênita. Além disso, observou-se no decorrer da pesquisa uma grande dificuldade para encontrar trabalhos recém-publicados relacionados ao tema estudado. Por outro lado, apesar dos obstáculos enfrentados, a elaboração do artigo de atualização contribuirá para o conhecimento científico de acadêmicos, profissionais da saúde e pesquisadores.

Abstract

Rubella is viral disease, characterized as self-limiting and with a benign course, however the factor of greater concern related to rubella virus occurs when the infection affects pregnant women, due to the ability of the virus to cause infection by transposing the placental barrier, can

generate the congenital rubella syndrome (CRS). **Objective:** The study searched update data on the subject to warn the population on related risks congenital rubella syndrome besides contributing with scientific knowledge of academics, health professionals and researchers. **Method:** For the elaboration of the update article, a bibliographic review was carried out in the Google Scholar search tool, the Notification of Injury Information System (SINAN), the Ministry of Health and some books, in order to select articles and contents available and update to provide understanding of the theme. **Final considerations:** The emergence of the rubella virus vaccine was great achievement for mankind, since after its inclusion there was a significant a reduction in the number of new cases of congenital rubella syndrome. In addition, it was observed during the research a great difficulty to find recently published papers related to the subject studied.

Keywords

Rubella; viral infection; congenital abnormalities

12. Ministério da Saúde (BR); Prefeitura de São Paulo; Coordenação de Vigilância em Saúde. Informe técnico síndrome da rubéola congênita. São Paulo: Secretaria de Saúde do Estado; 2016. Disponível em: http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/chamadas/sindrome_da_rubeola_congenita_1506112979.pdf. Acesso em: 05 Abr. 2018.
13. Freitas F, et al. Rotinas em obstetrícia. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2011.

Correspondência

Carlos Genilson Freire Monteiro
Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza
Rua Conselheiro Estelita, 500 – Centro
60010-260 – Fortaleza-CE, Brasil

REFERÊNCIAS

1. Fonseca SMD, Dantas VCR, Dantas MT, Fernandes JV. Avaliação do estado imune de mulheres em idades reprodutiva em relação ao vírus da rubéola. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [Internet]. 1999 June; 21(5):261-266. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72031999000500003&lng=en. Acesso em: 13. Abr. 2018.
2. Ministério da Saúde (BR). Boletim eletrônico epidemiológico: surto de rubéola em Fortaleza - CE, janeiro a junho de 2007. n.7. Brasília: Secretaria de vigilância em saúde; 2008. Disponível em: <http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/junho/25/Ano08-n07-surto-rubeola-ce-completo.pdf>. Acesso em: 02 Mai. 2018.
3. Penna GO, Domingues CMAS, Siqueira Jr JB, Elkhoury ANSM, Cechinel MP, Grossi MAF, et al. Doenças dermatológicas de notificação compulsória no Brasil. An Bras Dermatol. 2011;86(5):865-77 Available from:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962011000500002&lng=en. Acesso em: 13 Abr. 2018.
4. Ministério da Saúde (BR). Situação epidemiológica - Dados; 2017. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/sindrome-da-rubeola-congenita/11895-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 02 Mai. 2018.
5. Ministério da Saúde (BR); Secretaria de Saúde do Estado do Ceará. Boletim epidemiológico rubéola. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: www.saude.ce.gov.br/index.php/boletins?download=63%3Arubeola-02...2008. Acesso em: 10 Abr. 2018.
6. Beckmann GA, Daher GAG, Sousa GHC, Teles ICM, Cruz JA, Guimarães PF. Rubéola congênita: um caso de prevenção. Rev Med Saude Brasília 2015;4(1):114-21. Disponível em: <https://portalrevistas.ucb.br/index.php/rmsbr/article/view/5611/3796>. Acesso em: 08 Abr. 2018.
7. Costa FAS, Quadrado AVM, Brandão AP, Leme BAP, Carneiro BV, Castanho DLM, et al. Síndrome da rubéola congênita: revisão de literatura. Revista de Medicina e Saúde de Brasília. 2013; v. 2, n. 1, p. 46-47. Disponível em: <https://portalrevistas.ucb.br/index.php/rmsbr/article/view/3895>. Acesso em: 06 Abr. 2018.
8. Ministério da Saúde (BR). Síndrome da rubéola congênita. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/sindrome-da-rubeola-congenita>. Acesso em: 01 Mai. 2018.
9. Montenegro CAB, Rezende Filho J – Rezende Obstetrícia fundamental. 14ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018.
10. Tavares W, Marinho LAC. Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. 4ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2015.
11. Ministério da Saúde (BR). Guia de vigilância em saúde. ed. 2. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. Disponível em: bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_volume_unico_2_ed.pdf. Acesso em: 30 Abr. 2018.

Incidência de sífilis adquirida em uma cidade da microrregião do sudoeste baiano

Incidence of acquired syphilis in a city of the microregion southeastern Bahia

Esleiane de Sena Soares¹
Eliane Maria de Carvalho¹
Kamila Tuany Lacerda Leão Lima²

Resumo

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de sífilis adquirida na cidade de Guanambi, Bahia, Brasil no período de 2011 a 2016. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa documental de estudo descritivo com uma abordagem quantitativa e transversal, utilizando as variáveis: gênero, etnia e idade. **Resultados:** Um total de 57 pacientes notificados e confirmados com sífilis adquirida foi avaliado entre os anos de 2011 e 2016. Encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) ao se avaliar em que faixa etária houve maior número de casos durante os anos estudados, sendo, portanto, entre 15-35 anos. **Conclusão:** Os resultados deste estudo constataram que não houve aumento dos casos notificados de sífilis e que a mesma não atinge um grupo específico, e por isso é de suma importância que as campanhas de prevenção e toda a assistência continuem sendo prestadas a toda a população, independentes de etnia, gênero ou idade, para que os números de casos não venham a aumentar.

Palavras-chave

Sífilis; incidência; doenças sexualmente transmissíveis

INTRODUÇÃO

A sífilis é uma doença infecto-contagiosa transmitida por via sexual e materno-fetal através da espiroqueta do agente etiológico *Treponema pallidum*, obtendo como classificação da doença, respectivamente, a forma adquirida e congênita, que possui um amplo espectro de manifestações com evolução crônica dividida em estágios, cada um deles com diferentes formas clínicas.⁽¹⁻³⁾ Na sífilis adquirida as espiroquetas irão se multiplicar no local onde foram inoculadas. Como resposta de defesa ocorrem erosões e ulcerações que acometem a pele, mucosa genitália, ou qualquer parte do corpo, dando início aos estágios da doença.⁽⁴⁻⁶⁾ Os estágios serão determinados de acordo com a forma conduzida do indivíduo infectado. A descoberta inicial da doença traz consigo o tratamento rápido e, consequentemente, uma cura, mas o retardamento do diagnóstico leva aos estágios com maiores consequências, como, por exemplo, a fase terciária.^(7,8) As fases iniciais da sífilis adquirida (primária e secundária) têm maior transmissibilidade da doença, e isso ocorre devido à grande quantidade de espiro-

quetas presentes nas lesões desses estágios. O diagnóstico laboratorial da sífilis no estágio primário pode estar negativo, e isso se deve ao teste de VDRL se positivar apenas entre cinco e seis semanas depois da infecção.^(9,10) O estágio secundário é caracterizado por lesões palmares e plantares, que auxiliam no diagnóstico da doença e da fase em que se encontra; além dessas características, há presença de febre, dor de cabeça, linfadenopatia entre outros sintomas. As lesões podem apresentar-se mínimas ou de maneira duvidosa; além disso, com a ausência de tratamento, elas podem desaparecer dando início ao período de latência.^(6,11-13)

No período de latência ocorre uma maior virulência, tornando mais fácil detectar a doença devido à grande reatividade nos testes sorológicos. Apesar disso, esse estágio não apresenta sinais e sintomas clínicos da sífilis, motivo pelo qual os pacientes não procuram o serviço de saúde, e tal diagnóstico só é possível através das testagens realizadas em campanhas promovidas pelos serviços de saúde.^(8,9,12,14-16) O terceiro estágio da doença é decorrente da evolução de pessoas com sífilis latente ou de pessoas

¹Biomédica. Centro Universitário dos Guararapes (UniFG) – Jaboatão dos Guararapes - PE, Brasil.

²Biomédica. Universidade de Uberaba, Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde/Pontifícia Universidade Católica de Goiás . Brasil.

Instituição: Centro Universitário dos Guararapes (UniFG) – Jaboatão dos Guararapes - PE, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflito de interesses

Recebido em 12/07/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900757

não tratadas. O *Treponema* invade qualquer órgão ou tecido promovendo a formação de granulomas destrutivos e, como consequência dessa invasão, causa diversas doenças devastadoras, dentre elas destacam-se a sífilis cardiovascular e a neurosífilis. A sífilis cardiovascular geralmente é assintomática e o acometimento mais comum é a aortite, que causa complicações como aneurisma e insuficiência da válvula aórtica; já a neurosífilis se manifesta como assintomática e tardia (parenquimatosa), podendo apresentar uma paralisia geral ou um quadro similar ao de tumor cerebral.^(8,9,12,17,18) A notificação compulsória de sífilis adquirida em todo o território nacional foi instituída por meio da Portaria nº 2.472, publicada em 31 de agosto de 2010.⁽¹⁹⁾ A sua distribuição é mundial e a estimativa no ano de 2012 foi de 5,6 milhões casos novos de sífilis adquirida.⁽²⁰⁾ No Brasil, após uma série de aumentos de sífilis adquirida, congênita e gestacional, foram apresentados pela primeira vez os dados de sífilis adquirida no Boletim Epidemiológico, numa série histórica de 2010 – o ano em que foi instituída a portaria de notificação compulsória de sífilis adquirida – 2016, e estas notificações foram feitas por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). O controle da sífilis tem se tornado um desafio para a saúde pública, podendo ser notada claramente pelas notificações no SINAN nos anos de 2010 a 2016, onde obtiveram um total de 227.663 casos de sífilis adquirida.^(15,19) Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a incidência de sífilis adquirida na cidade de Guanambi, Bahia, Brasil no período de 2011 a 2016.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa documental de estudo descritivo com uma abordagem quantitativa e transversal. A população do estudo foi composta pelos casos de sífilis adquirida, com teste VDRL positivo, notificada no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). O instrumento de pesquisa utilizado foram os registros de notificação do banco de dados do SINAN, liberados pela Vigilância Epidemiológica de Guanambi, Bahia, utilizando as variáveis: gênero, etnia e idade. A pesquisa foi desenvolvida por meio de série temporal entre 2011 e 2016, realizada em Guanambi, Bahia. Foram incluídos no presente estudo dados de sífilis adquirida notificada e publicada no SINAN, independente do gênero e etnia. A idade utilizada para o estudo foi igual ou acima de 15 anos, que é a idade mínima do sistema para as notificações. Foram excluídas as formas primárias da doença devido ao teste de VDRL se encontrar negativo neste estágio da infecção. Foram também excluídos os casos notificados de sífilis congênita e gestantes com sífilis, visto que a pesquisa se propôs a trabalhar com casos de sífilis adquirida. Após a coleta dos dados, os mesmos foram tabulados e organizados em uma planilha

Excel, versão Windows 7, utilizando o *software* GraphPad prism 5.0 para análise estatística. Utilizou-se em todas as análises o teste do Q-quadrado, comparando o resultado do Q calculado com o Q-tabelado. O nível de significância adotado foi de 95% ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 57 pacientes notificados e confirmados com sífilis adquirida foi avaliado entre os anos de 2011 e 2016, visto que, durante o ano de 2015, não houve registros de casos. Os dados foram obtidos através de uma pesquisa pública realizada pelo SINAN e disponibilizados pela Vigilância Epidemiológica do município de Guanambi, Bahia. O número de casos de sífilis adquirida no município de Guanambi distribuiu-se de forma homogênea ($Q = 7,772$) entre os anos estudados (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de casos de Sífilis Adquirida entre os anos de 2011 a 2016 notificados e confirmados no município de Guanambi, BA

Ano	Casos	Q Calculado	Q Tabelado
2011	23		
2012	13		
2013	9		
2014	6		
2016	6		
Total	57	7,772	9,488

*Teste Q-quadrado

Segundo os dados apresentados na Tabela 1 não houve diferença estatística entre os números de casos nos anos analisados, ou seja, não houve crescimento na incidência de sífilis na cidade de Guanambi, Bahia entre os anos de 2011 e 2016. Segundo o Boletim Epidemiológico de 2016, a Bahia teve 6.334 casos de sífilis adquirida notificada entre 2011 e 2016, já no Brasil o crescimento entre os anos de 2010 e 2016 foi de 227.663 casos, com uma maior predominância na região sudeste com 62,1%, enquanto que na região nordeste a porcentagem foi de 4,7%.⁽¹⁹⁾ No ano de 2015, não houve notificação na presente pesquisa, sugerindo-se que houve subnotificações, pois esse problema corrobora com o de uma pesquisa de sífilis utilizando dados notificados e busca ativa feita na cidade de Palmas, em Tocantins. Na busca ativa foi identificado o triplo de casos de sífilis quando comparado com os casos notificados, sendo que, no final da pesquisa, os autores encontraram uma porcentagem de 64% de subnotificações no sistema.⁽²¹⁾ Ao relacionar os períodos analisados (anos) com as idades desses pacientes, encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$), confirmando uma distribuição não homogênea entre as idades mais acometidas ($Q=22,211$). A faixa etária predominante foi entre 15 e 35 anos (Tabela 2).

Tabela 2 - Relação entre os períodos analisados (anos) e as idades dos pacientes notificados com sífilis adquirida no município de Guanambi, Bahia

Idade	2011	2012	2013	2014	2016	Total	Q Calculado*	Q Tabelado
15-35	12	11	6	1	3	33		
36-55	7	2	3	5	3	20		
56-76	4	0	0	0	0	4		
Total	23	13	9	6	6	57	22,211	5,991

*Teste Q-quadrado

Os resultados apresentados na atual pesquisa são semelhantes aos dados apresentados no Boletim Epidemiológico do ano de 2016, onde, no Brasil, 55,6% dos casos de sífilis adquirida em 2015 eram na faixa etária de 20-39 anos.⁽¹⁹⁾ No entanto, se comparada com os dados da pesquisa feita na cidade de Feira de Santana no período de 2003 a 2012, a prevalência maior foi apresentada em adolescentes entre 11 e 20 anos,⁽²²⁾ o que também foi mostrado em uma pesquisa feita no estado de Goiás no período de 2007 a 2009.⁽²³⁾ Em Salvador, Bahia os entrevistados com resultados positivos para sífilis tinham idade média de 25 anos,⁽²⁴⁾ assim como no hospital de Santa Cruz, no Rio Grande do Norte (RN), onde foi feito um estudo sobre sífilis com pacientes de 19 a 23 anos como faixa etária predominante, com uma porcentagem de 50%. Assim sendo, com base em todos os outros estudos em consonância com o atual, sugere-se que a vida sexual esteja iniciando precocemente, trazendo consigo consequências, dentre elas uma exposição maior de risco de contaminação de infecções sexualmente transmissíveis. Além disso, é importante ressaltar que a vida sexual nessa faixa etária é mais ativa.⁽²⁵⁾ Na Tabela 3 analisou-se o gênero e o relacionou com os anos estudados, não demonstrando diferença estatisticamente significativa, confirmando uma distribuição homogênea entre homens e mulheres (Q= 2,123).

Tabela 3 - Relação entre os períodos analisados (anos) e o sexo dos pacientes notificados com sífilis no município de Guanambi, Bahia

Sexo	2011	2012	2013	2014	2016	Total	Q Calculado*	Q Tabelado
Feminino	12	2	4	2	3	23		
Masculino	11	11	5	4	3	34		
Total	23	13	9	6	6	57	2,123	3,841

*Teste Q-quadrado

No atual estudo não houve diferença estatisticamente significativa, ou seja, tanto homens quanto mulheres que adquiriram sífilis preservaram equivalência durante os anos avaliados, mas os dados da presente pesquisa são desiguais quando comparados com uma pesquisa feita em Feira de Santana, Bahia no qual se atestou maior presença de sífilis entre adolescentes do sexo masculino, sugerindo uma oscilação entre os gêneros.⁽²²⁾ No Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, na série histórica anali-

sada havia 60,1% de casos de homens com sífilis adquirida.⁽¹⁹⁾ Em São Paulo, uma pesquisa feita sobre a prevalência de sífilis adquirida em moradores de rua teve positividade de 9,1% em mulheres e 6,6% em homens.⁽²⁶⁾ Em Salvador, Bahia, um estudo feito sobre a vulnerabilidade no contexto da infecção por HIV e sífilis, a porcentagem de homens com sífilis foi de 14%, com a prevalência de sífilis e HIV maior entre os homossexuais.⁽²⁴⁾ Segundo Miranda et al.⁽²⁷⁾ e Souza,⁽²⁸⁾ a prevalência das infecções sexualmente transmissíveis (IST) é mais comum em homens do que em mulheres devido à resistência ao uso de preservativo ainda muito comum entre os homens. A Tabela 4 apresenta a relação da etnia dos pacientes com os anos analisados, tendo como resultado uma relação homogênea (Q = 4,404) cujos dados não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Tabela 4 - Relação entre os períodos analisados e a etnia dos pacientes notificados com sífilis no município de Guanambi, Bahia.

Etnia	2011	2012	2013	2014	2016	Total	Q Calculado*	Q Tabelado
Branca	9	1	5	4	1	20		
Preta	1	2	3	1	2	9		
Parda	8	4	1	1	1	15		
Ignorado	5	6	0	0	2	13		
Total	23	13	9	6	6	57	4,404	7,815

*Teste Q-quadrado

A sífilis, segundo o presente estudo, não prevalece em uma etnia específica, o que não corrobora com os resultados do Boletim Epidemiológico,⁽¹⁹⁾ que apresentaram 40,1% para pessoas de cor branca e 31,0% para as de cor parda. Em outro estudo na Bahia, 16,7% dos homens e 7,1% das mulheres eram pardos(as) e 83,3% dos homens e 92,3% das mulheres foram identificados como não pardos(as),⁽²²⁾ enquanto que no Rio Grande do Norte a prevalência foi de 83% de pacientes pardos; segundo os estudos, a prevalência de sífilis em pardos é sugestiva de uma população mais exposta a essa infecção.⁽²⁵⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo constataram que a sífilis adquirida não atinge um grupo específico, apesar de ter apresentado um valor significativo em pessoas com idade entre 15-35 anos. A pesquisa possui dados fragilizados visto que ocorreram possíveis subnotificações no município, informação essa baseada na falta de notificações durante o ano de 2015. A subnotificação impossibilita conhecer a verdadeira situação de sífilis adquirida, tornando-se prejudicial às ações de controle da doença, pois essas são baseadas nos dados de notificações do sistema (SINAN). Apesar desse estudo não apresentar uma diferença estatisticamente significativa em relação ao número de casos

nos anos avaliados, não se pode negligenciar uma queda perceptível no número total de casos, ao se compararem os anos separadamente. Esse resultado é sugestivo de duas possíveis causas: a subnotificação e as ações adotadas pelo CTA/SAE como medidas de controle direcionadas à informação à população, incentivo ao uso do preservativo e, principalmente, diagnóstico e tratamento dos pacientes e parceiro/as. O crescimento no número de casos de sífilis adquirida no território brasileiro vem aumentando consideravelmente, trazendo uma preocupação geral, pois, além dos problemas causados pela própria doença, ainda há o aumento do risco de infecção pelo HIV.

Abstract

Objective: The objective of this study was to evaluate the incidence of acquired syphilis in the city of Guanambi, Bahia, Brazil from 2011 to 2016. **Methods:** This is a documentary research of descriptive study with a quantitative and transversal approach, using the variables: Gender, ethnicity and age. **Results:** A total of 57 reported and confirmed patients with acquired syphilis were evaluated during 2011-2016. Among which there was a statistically significant difference ($p \leq 0, 05$) in relation to the age group with the highest number of cases during the studied years, being herefore, between 15-35 years. **Conclusion:** The results of this study showed that there was no increase in syphilis cases notified and that it did not affect a specific group, and so it is very important that the prevention campaigns and all assistance be provided to the entire population, regardless of gender, ethnicity and age; so that the numbers of cases will not increase.

Keywords

Syphilis; incidence; sexually transmitted diseases

REFERÊNCIAS

- Fraga DD. Detecção de *Treponema pallidum* em líquido cefalorraquidiano (LCR) por reação em cadeia da polimerase (PCR) em pacientes HIV positivos assintomáticos com diagnóstico de sífilis latente. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013.
- Giacani L, Lukehart SA. The Endemic Treponematoses. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Jan; 27(1): 89–115.
- Miranda LF. O seguimento de doadores de sangue com sorologia positiva para sífilis na Rede-SUS do Distrito Federal. 85 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)- Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- Lawrence D, Cresswell F, Whetham J, Fisher M. Syphilis treatment in the presence of HIV: the debate goes on. *Curr Opin Infect Dis.* 2015 Feb;28(1):44-52.
- Stamm LV. Syphilis: antibiotic treatment and resistance. *Epidemiol Infect.* 2015 Jun;143(8):1567-74
- Guimarães RA. Epidemiologia da sífilis em usuários de crack institucionalizados em Goiânia, Goiás. 2016. 118 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2016.
- Benzaken A. Detecção de sífilis adquirida em comunidades de difícil acesso da região Amazônica: desafio a ser superado com a utilização dos testes rápidos? Tese (Doutorado Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública) - Fiocruz / Escola Nacional de Saúde Pública, 2009.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica.* 6ª ed. Ed. Elsevier. 2009. p. 397-403.
- Avelleira JCR, Bottino G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. *An. Bras. Dermatol.* Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 111-126. 2006.
- Anand A, Luthra A, Dunham-Ems S, Caimano MJ, Karanian C, LeDoyt M, et al. TprC/D (Tp0117/131), a trimeric, pore-forming rare outer membrane protein of *Treponema pallidum*, has a bipartite domain structure. *J Bacteriol.* 2012 May;194(9):2321-33. Erratum in *J Bacteriol.* 2014 Sep;196(18):3360.
- Ronald Ballard, Edward W. Hook III. Sífilis. p.121-127, 2013. Em: Diagnóstico laboratorial de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo o vírus da imunodeficiência humana. Publicado pela Oms em 2013. Acessível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diagnostico_laboratorial_doencas_sexualmente_transmissiveis.pdf
- Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Infecções Sexualmente Transmissíveis. Brasília, 2015. Acessível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeutica_atencao_integral_pessoas_infecoes_sexualmente_transmissiveis.pdf
- Kremastinou J, Polymerou V, Lavranos D, Aranda Arrufat A, Harwood J, Martínez Lorenzo MJ, et al. Evaluation of elecsys syphilis assay for routine and blood screening and detection of early infection. *J Clin Microbiol.* 2016 Sep;54(9):2330-6.
- Mattei PL, Beachkofsky TM, Gilson RT, Wisco OJ. Syphilis: a reemerging infection. *Am Fam Physician.* 2012;86(5):433-40.
- Brasil. Ministério da Saúde. Diagnóstico de Sífilis. Brasília, 2016a.
- Seña AC, Wolff M, Martin DH, Behets F, Van Damme K, Leone P, et al. Predictors of serological cure and Serofast State after treatment in HIV negative persons with early syphilis. *Clin Infect Dis.* 2011 Dec;53(11):1092-9.
- Binnicker MJ, Jespersen DJ, Rollins LO. Direct comparison of the traditional and reverse syphilis screening algorithms in a population with a low prevalence of syphilis. *J Clin Microbiol.* 2012;50(1):148-50.
- Carvalho GP. Sífilis: a importância investigatória e sua cadeia de transmissão - relato de experiência em estratégia de saúde da família. 2015.62 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Saúde Comportamento) - Universidade Católica de Pelotas.
- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico Sífilis. Volume 47-nº 35. Brasília, 2016b. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.472, de 31 de agosto de 2010. Disponível em: bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt2472_31_08_2010.html. Acesso em: 20 de março de 2017.
- WHO Guidelines for the Treatment of *Treponema pallidum* (Syphilis). Geneva: World Health Organization; 2016. Disponível em: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/syphilis-treatment-guidelines/en/>. Acesso em: 20 de março de 2017.
- Komka MR, Lago EG. Sífilis congênita: notificação e realidade. *Sci méd.* 2007;17(4): 205-11.
- Monteiro MOP, Costa MCO, Vieira GO, Silva CAL. Fatores associados à ocorrência de sífilis em adolescentes do sexo masculino, feminino e gestantes de um Centro de Referência Municipal/CRM-DST/HIV/AIDS de Feira de Santana, Bahia. *Adolescência & Saúde*, v. 12, n.3, p. 21-32, 2015.
- Garcia FLB. Prevalência de sífilis em adolescentes e jovens do sexo feminino no estado de Goiás. [dissertação]. Goiás: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás, 2009.
- Brignol S, Dourado I, Amorim LD, Kerr LRFS. Vulnerabilidade no contexto da infecção por HIV e sífilis numa população de homens que fazem sexo com homens (HSH) no Município de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad. Saúde Pública* [Internet]. 2015 May;31(5):1035-1048. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2015000500015&lng=en
- Dantas LA, Jerônimo SHNM, Teixeira GA, Lopes TRG, Cassiano AN, Carvalho JBL. Perfil epidemiológico de sífilis adquirida diagnosticada y notificada en hospital universitario materno infantil. *Enferm. glob.* 2017;16(46):217-245. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412017000200217&lng=es

26. Pinto VM, Tancredi MV, Alencar HDR, Camolesi E, Holcman MM, Grecco JP, et al. Prevalência de Sífilis e fatores associados a população em situação de rua de São Paulo, Brasil, com utilização de Teste Rápido. *Rev. bras. epidemiol.* 2014;17(2):341-354. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2014000200341&lng=en
27. Miranda AE, Carvalho MF, Lara LTR, Moherdau F, Barreira D. Prevalência de infecção pelo HIV, sífilis, hepatites em homens com sinais e sintomas de DST. *DST j. bras. doenças sex. transm;*18(1): 18-22, fev. 2006.
28. Souza AP. Coinfecção HIV e sífilis: prevalência e fatores de risco/ HIV and syphilis coinfection: prevalence and risk factors. Rio de Janeiro; s, n, 2015. 90p. Tese apresentada à Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca para obtenção do grau de Mestre.

Correspondência

Eseiane de Sena Soares
Rua Estrela Dalva, nº 09 – Bairro São Francisco
46445-000 – Carinhanha- BA, Brasil

Controle externo da qualidade em espermograma: avaliação do desempenho de laboratórios clínicos participantes de dois provedores de ensaio de proficiência

External quality control in spermogram: performance evaluation of participating clinical laboratories of two proficiency testing providers

Agatha Thais Sertão
Nancy França Rehem Machado

Resumo

Objetivo: Identificar os parâmetros com maior incidência de erros no programa de controle de qualidade externo em espermograma e descrever o panorama da participação dos laboratórios brasileiros em ensaios de proficiência para espermograma. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo de análise de dados com abordagem quantitativa que descreve e avalia o desempenho de laboratórios de análises clínicas participantes do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) e Controllab entre os anos de 2010 - 2017. **Resultados:** Os resultados obtidos revelaram que até o momento existe um total de 273 participantes de controle externo da qualidade na especialidade de espermograma e, quando comparado com o total de laboratórios de análises clínicas no Brasil (20.800), esse percentual é de 1,3%. Em ambos os programas, o maior percentual de erros foi na análise da concentração espermática com 12,6% (PNCQ) e 20,7% Controllab) e esses dados podem inferir as deficiências de padronização na contagem espermática. **Conclusão:** Esses resultados apontam para um déficit de participação, que, apesar de não poder ser estatisticamente comprovado, alerta para a nula participação de alguns estados. Os ensaios de proficiência associados ao treinamento constante do pessoal do laboratório são importantes medidas em atenção à qualidade da análise seminal.

Palavras-chave

Controle de qualidade; análise do sêmen; melhoria de qualidade

INTRODUÇÃO

A qualidade total como modelo de gestão teve origem no Japão e foi adotado posteriormente por empresas norte-americanas e europeias.⁽¹⁻³⁾ Os preceitos da qualidade na área da saúde são os mesmos aplicados às indústrias. Um produto ou serviço que se molde às necessidades dos clientes é um princípio de qualidade totalmente aplicável aos diversos serviços de assistência à saúde.

Um estudo realizado no EUA indicou que de 6% a 12% dos erros laboratoriais expõem os seus pacientes a risco de cuidados inadequados e potencialmente eventos adversos, e de 26% a 30% dos erros têm um impacto negativo em outros aspectos do atendimento ao paciente. Existe atualmente uma grande preocupação com o processo de melhoria da qualidade do laboratório clínico, fortalecendo assim os sistemas de gerenciamento da qualidade para

manter e melhorar continuamente a qualidade dos processos laboratoriais.^(3,4,5)

Os serviços médicos precisam de um suporte laboratorial confiável para tomar medidas adequadas, formular políticas e tomar decisões. O sistema de acreditação de laboratório é importante para a aceitação dos resultados dos testes nas esferas nacional e internacional. Esse processo repercute de forma positiva na imagem da instituição, conferindo fidedignidade na qualidade dos serviços, traduzindo-se na confiança tanto dos profissionais que fazem parte das instituições quanto dos clientes e usuários desses serviços.^(3,6,7)

A interpretação dos resultados de exames laboratoriais é muito mais complexa que a simples comparação com os valores de referência e a atividade laboratorial, que, em grande parte, depende da execução humana, estando sujeita ao aparecimento de erros. Sabendo a importância dos

Checklab Laboratório de Análises Clínicas/Gerente de qualidade. Jequié - BA, Brasil.

Instituição: Checklab Laboratório de Análises Clínicas/ Universidade Estácio de Sá Jequié - BA, Brasil.

Recebido em 15/07/2018
Artigo aprovado em 27/06/2019
DOI: 10.21877/2448-3877.201900758

exames laboratoriais e admitindo a possibilidade da existência de erros nas diversas fases, torna-se necessária uma avaliação constante nesse serviço, para que, além de encontrar e corrigir erros, possa garantir confiabilidade quanto aos resultados gerados.^(8,9)

Para tal, os laboratórios precisam instalar um sistema de gestão de qualidade com controles específicos para todas as fases, de forma a identificar e tratar as não conformidades, aplicando ações corretivas e preventivas, visando à garantia da qualidade das análises laboratoriais, o diagnóstico preciso e a minimização dos impactos negativos sobre a saúde dos pacientes.⁽¹⁰⁾

Os laboratórios clínicos que participam de um sistema de avaliação externa podem melhorar continuamente a qualidade do seu serviço e, em consequência, auxiliar no diagnóstico e tratamento das enfermidades dos pacientes.^(3,11,12) Muito se tem discutido sobre a padronização do espermograma, e, em 2010, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou o manual do espermograma com novos valores de referência e padronizações técnicas para sua realização manual. Embora a análise do sêmen seja feita por colaboradores treinados, o espermograma é um exame que muito depende de inspeção visual e da experiência deles, pois estas condições expõem a uma maior possibilidade de erros de diagnóstico devido à alta subjetividade.

O controle de qualidade externo permite aos laboratórios participantes comparar os resultados obtidos sobre uma amostra comum a todos, e assim avaliar seu desempenho frente à exatidão dos resultados. Diante disso, além de obrigatório pelas normas de qualidade, a avaliação do controle externo fornece informações significativas sobre o grau de padronização técnica contribuindo assim para a qualidade do exame.⁽¹³⁻¹⁵⁾

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi identificar os parâmetros com maior incidência de erros no programa de controle de qualidade externo em espermograma, PNCQ e Controllab, no intuito de conhecer em quais etapas desse exame os laboratórios apresentam maiores dificuldades de exatidão, além de descrever o panorama da participação dos laboratórios brasileiros em ensaios de proficiência para espermograma.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo de análise de dados com abordagem quantitativa, que descreve e avalia o desempenho de laboratórios clínicos participantes dos provedores de ensaios de proficiência do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) e Controllab entre os anos de 2010 - Jul/2017. Os participantes da pesquisa foram todos os laboratórios participantes dos ensaios de proficiência para espermograma do PNCQ e do Controllab. A autorização do acesso aos dados foi concedida por meio de um ofício emitido às instituições solicitando essa autorização.

A coleta dos dados foi focada apenas em dados relevantes aos objetivos da pesquisa como: Quantidade de participantes do provedor (geral e por estado) em todos os períodos; Quantidade de participantes do ensaio espermograma (geral e por estado) em todos os períodos; Os resultados reportados pelos participantes, bem como as taxas de erros e acertos para cada parâmetro do ensaio espermograma obtidos entre os de janeiro de 2016 e julho de 2017, não havendo necessidade de conhecimento de dados pessoais por questões éticas e irrelevância. Essa pesquisa não envolve participação direta de seres humanos e do mesmo modo obedece às normas éticas exigidas pela Resolução nº466/12.

RESULTADOS

Até março de 2017, o Programa Nacional de Controle de Qualidade registrou 5.154 participantes. Sobre o quantitativo de laboratórios de análise clínica existente no Brasil foi realizado levantamento por meio da base de dados do CNESWeb – Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde, em novembro de 2015 (Tabela 1).⁽¹⁶⁾

Até junho de 2017, no sistema CNESWeb constava um total de 20.800 laboratórios de análises clínicas/patologia. Considerando os 5.154 mil participantes do PNCQ, esse valor equivale a 24,7% de participação nesse programa de qualidade. Quando observado o número de participação, a região sudeste foi a que apresentou o maior

Tabela 1 - Quantidade de laboratórios no Brasil por região e por tipo de atendimento.

Região	Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN	Laboratório de Saúde Pública	Unidade de Serviço de Apoio de Diagnose e Terapia	Total
Total	43	251	21.242	21.536
Norte	10	40	1.028	1.078
Nordeste	15	72	3.938	4.025
Sudeste	10	78	9.202	9.290
Sul	4	31	5.104	5.139
Centro-Oeste	4	30	1.970	2.004

* Fonte:Ministério da Saúde - Cadastro Nacional dos Estabelecimentos de Saúde do Brasil - CNES (2015)

número de laboratórios participantes (2.058), seguida pela região sul (1.397) e região nordeste (788); as regiões com menores participações foram região centro-oeste (441) e região norte (291).

No entanto, quando comparamos o percentual de participação em relação à quantidade de laboratório na região, a região sul apresenta melhor proporção (27,2%), seguida da região norte (27%), enquanto que a região sudeste, apesar de ter o maior número de participantes, fica abaixo em proporção (22,1%), uma vez que é a região com maior número de laboratórios também. Sobre o programa de espermograma, a Figura 1 mostra a quantidade de laboratórios por região e compara com a quantidade total de par-

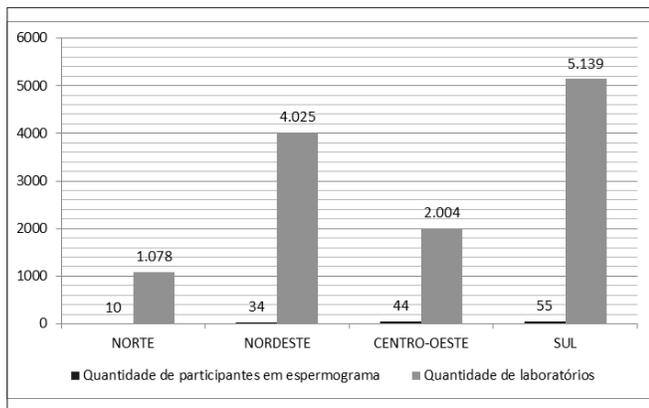


Figura 1. Quantidade de laboratórios por região em comparação com a quantidade total de participantes dos dois programas de controle de qualidade em espermograma.

ticipantes dos dois programas de controle de qualidade em espermograma (PNCQ e Controllab).

O programa de controle de qualidade externo em espermograma do PNCQ foi implantado em janeiro de 2016 com um total de seis participantes, e até julho de 2017 já constava com 91 participantes. O maior número de inscrições foi observado em nov/16, quando 51 laboratórios participavam do programa. Contudo, em jul/17 o programa teve a menor adesão do período, com apenas sete novas inscrições de laboratórios. A média de novas inscrições no período estudado foi de 14 laboratórios inclusos por rodada no programa de espermograma, e esses dados são representados na Figura 4.

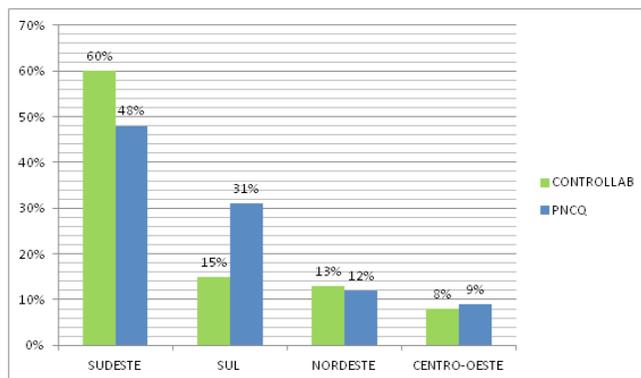


Figura 2. Percentual do número de laboratórios participantes dos dois programas de controle externo da qualidade em espermograma, por região, até Jul/17.

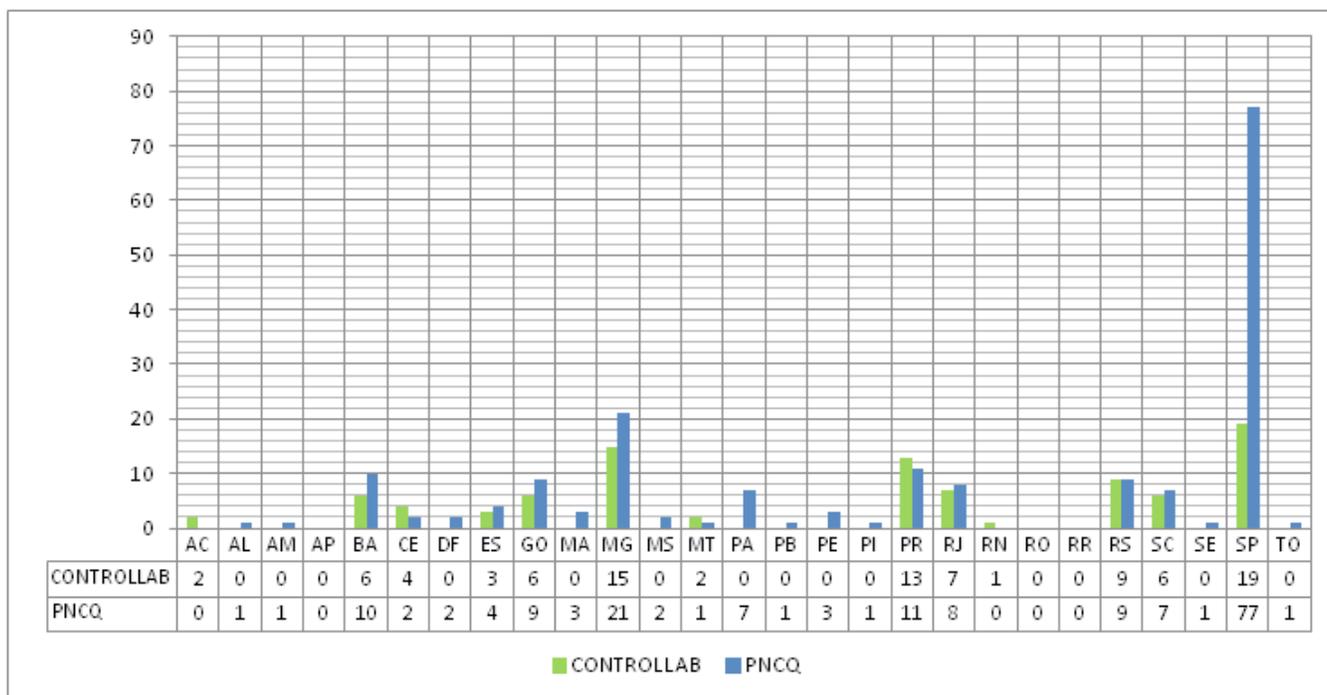


Figura 3. Quantidade de laboratórios participantes do programa externo de controle de qualidade em espermograma, por estados brasileiros, até Jul/17.



Figura 4. Número de adesões de participantes na especialidade espermograma do PNCQ, no período de Abr/16 a Jul/17.

O programa de controle de qualidade externo em espermograma Controllab foi implantado em 2010 com um total de 55 participantes e até julho de 2017 já constava com 182 participantes. O maior número de inscrições foi observado em 2014 quando 155 laboratórios participavam do programa. Contudo, em 2016 o programa teve a menor adesão do período, apenas seis novas inscrições de laboratórios. A média de novas inscrições no período estudado foi de 18 laboratórios inclusos por rodada no programa de espermograma. Esses dados são representados na Figura 5.



Figura 5. Número de adesões de participantes na especialidade espermograma do Controllab, no período de 2011 a 2017.

A taxa de erros e acertos nos parâmetros do espermograma enviados pelos participantes do PNCQ é mostrada na Figura 6. No período analisado houve 1.822 respostas; destas, 1.709 (93,8%) foram consideradas certas (conceito B ou A) e 113 (6,2%) avaliadas como incorretas (conceito I). A média de acertos e erros por rodada foi de 284,8 (15,6%) e 18,8 (1%) respectivamente.

Entre os participantes do PNCQ, a maior média de percentual de acertos foi na avaliação da Morfologia (99,8%), seguida pela Vitalidade (97,9%). Todavia, a Concentração e a Motilidade foram os parâmetros que apresentaram a maior média do percentual de erros (12,6% e 7,8% respectivamente).

Entre os participantes do Controllab, a maior média de percentual de acertos foi na avaliação da Vitalidade (89,9%), seguida pela Motilidade (88,7%). Todavia, a Concentração foi o parâmetro que apresentou a maior média de percentual de erros (20,7%).

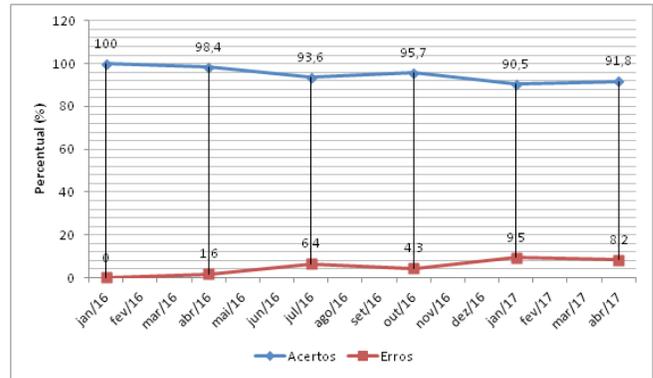


Figura 6. Evolução da taxa de erros e acertos observados nos resultados informados pelos participantes do programa externo da qualidade em espermograma PNCQ no período de Jan/16 a Abr/17.

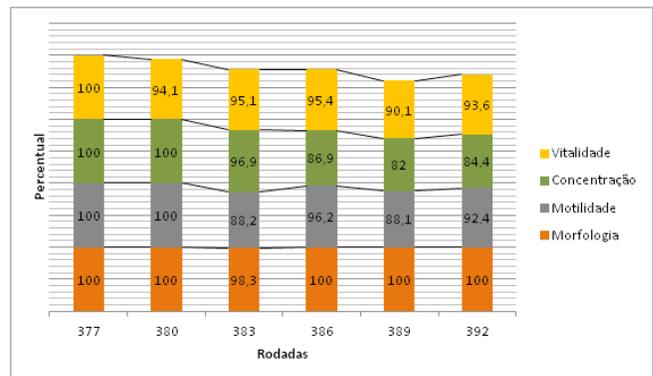


Figura 7. Evolução dos acertos (conceitos "A e B") por parâmetros analisados pelos participantes do programa externo da qualidade em espermograma do PNCQ no período de Jan/16 a Abr/17.

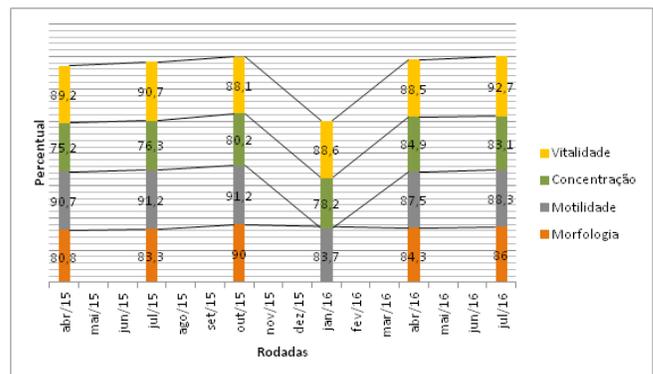


Figura 8. Evolução dos acertos ("resultados adequados") por parâmetros analisados pelos participantes do programa externo da qualidade em espermograma do Controllab no período de Jan/15 a Jul/16.

DISCUSSÃO

Os erros de diagnóstico são uma ameaça significativa para a segurança dos pacientes. Diante disso, vários estudos têm se concentrado na verificação dos principais erros e suas respectivas fases. A comunidade laboratorial evidencia que dentre as três fases (pré-analítica, analítica e pós-analítica), é na fase analítica que há uma redução considerável na taxa de erros. Isto deve estar relacionado com os avanços da tecnologia, os quais melhoram a sensibilidade e exatidão das análises.⁽¹⁷⁾

A RDC 302 lançada em 2005, além do programa de controle interno, estabeleceu a obrigatoriedade dos laboratórios clínicos participarem de ensaios de proficiência para todos os exames realizados em sua rotina, alcançando também, esta determinação, o diagnóstico do espermograma.

A participação dos laboratórios em atividades de ensaio de proficiência tem por finalidade demonstrar o desempenho e a competência do laboratório para a realização de determinados exames e são de grande importância, pois permite ao laboratório aplicar ações corretivas ou preventivas, aprimorando seu desempenho analítico.^(17,18)

Atualmente, o espermograma é o principal exame para avaliação de infertilidade masculina, seguido pela avaliação do perfil hormonal. A realização desse exame pode ser por técnicas automatizadas ou manuais, no entanto, diante dos altos custos dessa tecnologia, a maioria dos laboratórios de análises clínicas realiza o exame por técnicas manuais, o que torna o exame sujeito à subjetividade caso não seja seguida uma padronização de análise.^(13,15)

A OMS estabelece um manual com determinações de padronização tanto para técnicas manuais como para as automatizadas. Contudo, as divergências entre os padrões dos laudos laboratoriais para esse exame têm levantado discussões sobre a necessidade de uma padronização conforme o manual da OMS. Apesar da aplicação de técnicas padronizadas não ser garantia de sucesso, indubitavelmente elas orientam o trabalho da análise seminal e conduzem a resultados mais confiáveis.⁽¹⁹⁾

Não é possível garantir a qualidade no setor de espermograma sem uma rigorosa adesão aos protocolos de cada análise. Estes, na verdade, são compostos por metodologias simples, mas necessitam de técnicas apuradas e um padrão rigoroso de análise. Os provedores, por meio do ensaio, têm o propósito de conferir confiança e credibilidade aos resultados fornecidos por laboratórios clínicos para esse exame, pois os programas objetivam a avaliação dos métodos executados pelo laboratório clínico para a análise da concentração, motilidade, vitalidade e morfologia espermática.

Ao se analisarem os dados do programa de espermograma do PNCQ, foi observado que, no período analisado (de janeiro de 2016 a julho de 2017), 91 laboratórios, participaram desse programa de controle externo. No programa do Controllab, no período de 2010 até julho de 2017, 182 participantes estavam inscritos. Ao somar os inscritos nos dois provedores temos um total de 273 participantes de controle externo da qualidade na especialidade de espermograma, e quando comparado com o total de laboratórios de análises clínicas no Brasil (20.800) esse percentual é de 1,3%, e até o momento não há estudos publicados para comparar esses dados. Outro fator que dificulta essa análise é que nem todos os laboratórios de análises clínicas realizam espermograma, bem como não foi encontrado um levantamento sobre esse dado.

No entanto, a distribuição dos participantes do programa de espermograma por estado brasileiro foi irregular, tendo até mesmo três estados sem participação em nenhum dos provedores, o que se conclui que, mesmo diante da obrigatoriedade da legislação, esse exame ainda carece de controle externo.

A região sudeste foi a que apresentou maior número de participantes, seguida da região sul. Em conjunto, o número de participantes somam 70,4% e esta distribuição acompanha tanto o grau de desenvolvimento científico e tecnológico quanto a densidade demográfica dessas regiões, que são as duas regiões com maior número de laboratório de análises clínicas (41% e 28% respectivamente).

A análise dos parâmetros enviados nas rodadas do programa de espermograma do PNCQ apresentou resultados variáveis. O maior percentual de acertos foi na análise da morfologia (99,8%), enquanto que o maior percentual de erros foi na análise da concentração espermática (12,6%) seguida da motilidade (7,8%). Nos resultados obtidos pelo Controllab, o maior percentual de acertos foi na análise da vitalidade e o maior percentual de erros foi na análise da concentração espermática. Esses dados podem inferir as deficiências de padronização na contagem espermática, visto que existem várias técnicas disponíveis para esta análise, e, em algumas delas, o processo inclui a diluição da amostra (como no uso da câmara de Neubauer), fato que aumenta a possibilidade de erros. No entanto, nessa pesquisa não foi possível discriminar a metodologia utilizada nos resultados reportados para a concentração, o que impossibilita a comparação entre os métodos.

Quanto à motilidade, apesar da OMS estabelecer um procedimento para sua avaliação pelo método direto (lâmina/laminula), sabe-se que essa análise é mais dificultosa e muito mais subjetiva quando se leva em consideração o método de análise em câmaras. No entanto, o método usado pelos participantes, nesse caso, foi a videolâmina disponibilizada pelo provedor, a qual simula a câmara de Makler.⁽¹⁴⁾

CONCLUSÃO

Mesmo diante das dificuldades de comparação com demais estudos, os resultados obtidos nesse levantamento apontam para um déficit de participação que, apesar de não poder ser estatisticamente comprovado, alerta para a nula participação de alguns estados, visto que, ainda que sejam poucos os laboratórios que realizam espermograma, é provável que existam e não estejam cobertos pelo programa de controle externo da qualidade.⁽¹⁷⁾

A carência de estudos similares para comparação, e a necessidade de dados referente aos resultados reportados, mais específicos e detalhados para conclusão das análises, sugerem novos estudos que visem descrever as metodologias aplicadas em cada parâmetro reportado. Na concentração espermática é importante segregar por método (câmara utilizada), uma vez que o provedor disponibiliza uma amostra que pode ser processada por técnicas diferentes, e, portanto, os resultados devem ser agrupados separadamente. Nesse estudo, essa diferenciação ficou prejudicada por falta de discriminação do banco de dados de um dos provedores, bem como no caso das variáveis quantitativas. É importante levar em consideração as medidas de tendência central e os desvios estabelecidos pelo provedor para uma análise estatística mais apurada, permitindo fazer melhores inferências.

O programa de avaliação dos indicadores de qualidade do PNCQ estabelece como meta na avaliação do controle externo um valor inferior a 7% de não conformidades (conceitos Inaceitáveis). Diante dessa meta, as análises da concentração espermática e a motilidade reportada nesse estudo excederam o limite de não conformidade, alertando para a necessidade de maior intervenção, capacitação e padronização desses parâmetros.

Apesar das dificuldades inerentes à padronização da análise espermática, seja pela complexidade na contagem ou na motilidade, ou ainda pela formação ineficiente dos profissionais de análises clínicas, o ensaio de proficiência é uma ferramenta que permite a detecção de erros e indica as medidas corretivas e de manutenção da qualidade, agindo de forma terapêutica e profilática. Os ensaios de proficiência associados ao treinamento constante do pessoal do laboratório são importantes medidas em atenção à qualidade da análise seminal.

Abstract

Objective: To identify the parameters with higher incidence of errors in the program of external quality control in spermogram and to describe the panorama of the participation of the Brazilian laboratories in tests of proficiency for spermogram. **Methods:** This is a descriptive, retrospective study of data analysis with a quantitative approach that describes and evaluates the performance of clinical analysis laboratories participating in the National Quality Control Program (PNCQ) and Controllab between the years 2010 - 2017. **Results:** The results show that up to now there are 273 participants of external quality control in the specialty of sperm

and, when compared to the total of clinical laboratories in Brazil (20,800), this percentage is 1.3%. In both programs, the highest percentage of errors was in the sperm concentration analysis with (12.6% PNCQ and 20.7% Controllab). These data can infer the deficiencies of sperm count standardization. **Conclusion:** These results point to a deficit of participation, which, although it can not be statistically proven, warns of the null participation of some states. The proficiency test, associated with constant training of laboratory personnel, is an important measure in the quality of seminal analysis.

Keywords

Quality control; semen analysis; quality improvement

REFERÊNCIAS

1. Silva MÂG. Desenvolvimento e Implementação de um Sistema de Gestão da Qualidade. Alveiro. Tese [Mestrado em Engenharia e Gestão Industrial] - Universidade de Aveiro; 2009.
2. Proença TAH. O processo de certificação de um sistema de gestão da qualidade e ambiente: Hotel Tryp. Coimbra. Tese [Mestrado] - Faculdade de Economia da Universidade de Coimbra; 2011.
3. Sisay A, Mindaye T, Tesfaye A, Abera E, Desale A. Assessing the outcome of Strengthening Laboratory Management Towards Accreditation (SLMTA) on laboratory quality management system in city government of Addis Ababa, Ethiopia. Pan Afr Med J. 2015; 20:314. doi:10.11604/pamj.2015.20.314.5375.
4. Seitz EM. Erro humano na saúde: o caso com medicamentos de alto risco por via intravenosa. Florianópolis. Tese [Doutorado em engenharia de produção] - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico; 2015.
5. Melchiades EP. Segurança do paciente: análise das notificações de eventos em um hospital privado. Botucatu. Tese [Mestrado profissional em enfermagem] - Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; (2016).
6. Freire RP, Claudio P, Antonio AG, Denise S. Gestão de equipamentos médicos: o papel das práticas de qualidade em um hospital de excelência brasileiro. Revista de Administração Hospitalar e Inovação em Saúde RAHIS. 2012 jan./jun;8(8):28-41. doi: http://dx.doi.org/10.21450/rahis.v8i8.1662.
7. Bonato VL. Gestão de qualidade em saúde: melhorando assistência ao cliente. O Mundo da Saúde. 2011 mar;35(5): 319-31.
8. Cezar FM. Controle de qualidade laboratorial: uma atualização em urinalise. Curitiba. Tese [Pós-graduação em análises clínicas] - Universidade Federal do Paraná; 2016.
9. Roso CI, Reis ZC, Nodari CH, Ganzer PP, Rasia ICRB, Olea PM. Competitividade em um laboratório de análises clínicas: Melhoria no processo de coleta de materiais. Gestão contemporânea [periódicos na internet]. 2015 [acesso em: 21 de jun de 2017]; (2). Disponível em: <http://seer4.fapa.com.br/index.php/arquivo>.
10. Chaves JSC, Marin VA. Avaliação do controle externo da qualidade nos laboratórios clínicos do Rio de Janeiro de 2006 a 2008. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2010;46(5):391-394. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442010000500008&lng=en.
11. PNCQ. História do PNCQ. [acesso em: 17 de jun de 2017]. Disponível em: <https://www.pncq.org.br/Noticia/BR/Index/12>.
12. Hammerling JA. A review of medical errors in laboratory diagnostics and where we are today. Lab Med. 2012 Feb-Mar;43(2):41-4.
13. Larach J, González D, Barrera S, Epifanio R, Morgan M, Palma A. The impact of the new 2010 World Health Organization criteria for semen analyses on the diagnostics of male infertility. JBRA Assisted Reproduction. 2013;17(2):93-7.
14. Maya C, Walter D. Morfología espermática: comparación de las observaciones realizadas por 10 expertos. Rev. chil. obstet. ginecol. [Internet]. 2017;82(2):110-114. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262017000200004&lng=en.

15. Rodríguez-Montaña DF, Roa-Guerrero EE. Detección de Trayectorias de Espermatozoides Humanos Mediante Técnicas de Procesamiento de Vídeo. Rev. mex. ing. bioméd, México, v. 38, n. 1, p. 115-125, abr. 2017. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-95322017000100115&Ing=es&nrm=iso>.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Boletim do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Serviços de Hemoterapia. Brasília, 2015 [acesso em: 25 de Nov de 2017]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents>.
17. Becker MG, Selow MMLC, Rucieli MMT. A importância do controle de qualidade em laboratórios clínicos. Revista Dom Acadêmico, Curitiba, v.1, n.1, p.183-268, jul/dez. 2016.
18. Brasil. Norma ABNT ISO IEC. 17025 Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração ABNT. São Paulo; 2005 [acesso em: 20 de out de 2017]. Disponível em: <http://www.abnt.org.br/imprensa/releases/5685-publicada-a-nova-versao-da-iso-iec-17025>.
19. Zorzi PM. Comparação entre os critérios de análise seminal da OMS de 1999 e de 2010 e contagem total de espermatozoides móveis. Porto Alegre. Tese [Mestrado em ciências médicas] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2016.

Correspondência

Agatha Thais Sertão

Av. Rio Branco, 847, Centro

Jequié - BA, Brasil

Rua Xingu, nº 179 - Jardim Atalaia/STIEP

Salvador-BA, Brasil

Diagnóstico histopatológico diferencial entre hanseníase e leishmaniose tegumentar americana em pacientes de um hospital público em Recife-PE

Differential histopathological diagnosis between leprosy and American tegumentary leishmaniasis in patients of a public hospital in Recife-PE

Jessica Juliana do Nascimento¹

Priscilla Layanna Bezerra de Carvalho²

Francisca Janaina Soares Rocha³

Resumo

Objetivo: Analisar biópsias de pele de pacientes com suspeita de hanseníase e LTA atendidos no serviço de dermatologia de um hospital público de Recife-PE. **Métodos:** Trata-se de um estudo de caráter retrospectivo, transversal, descritivo, qualitativo no qual foram analisadas biópsias de pele de pacientes com suspeita de hanseníase e/ou LTA, atendidos no serviço de dermatologia do Hospital das Clínicas, Recife-PE, no período de janeiro de 2016 a abril de 2018. **Resultados:** Um total de 46 pacientes com suspeita de hanseníase e/ou LTA foi atendido, as idades variaram entre 13 a 90 anos, 22 pacientes eram do sexo feminino e 24 do sexo masculino. Dentre esses 46 pacientes, havia 25 (54%) com suspeita de leishmaniose, sendo 10 (40%) confirmados com positividade para *Leishmania braziliensis* pela PCR, e 12 (26%) confirmados para hanseníase. **Conclusão:** A análise histopatológica contribuiu para confirmação e diagnóstico diferencial entre hanseníase e leishmaniose tegumentar, além de auxiliar na diferenciação com outras doenças de características clínicas semelhantes.

Palavras-chave

Hanseníase; Leishmaniose cutânea; histopatologia

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infectoparasitária que acomete o homem e algumas espécies de animais silvestres e domésticos.⁽¹⁾

É uma das doenças infecciosas de maior incidência no mundo, de 1 a 1,5 milhão de casos anualmente. No Brasil, de 1980 a 2013 foram notificados 789.278 casos da doença. É uma doença que acomete a pele e as mucosas e manifesta-se em formas distintas.⁽²⁻⁴⁾

A forma cutânea apresenta lesões indolores com formatos arredondados ou ovalados, a base eritematosa, fundo granuloso e de cor vermelha, e bordas bem delimitadas e elevadas, e a forma mucosa apresenta lesões destrutivas localizadas nas mucosas das vias aéreas superiores.⁽¹⁾

O diagnóstico se faz com a associação de aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais para se chegar ao diagnóstico final devido à sua similaridade com outras patologias, como a hanseníase.⁽⁴⁾

Os exames laboratoriais mais empregados para o diagnóstico da LTA são a pesquisa do protozoário, que pode ser realizada através dos métodos de exame direto de esfregaços corados, que é o padrão ouro atualmente, por cultura ou exame histopatológico. O diagnóstico histopatológico é importante para o diagnóstico diferencial.⁽⁵⁾

A hanseníase também é uma doença infectocontagiosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, que possui alta infectividade.^(1,6) A doença acomete pele, mucosa nasal e nervos periféricos e possui um amplo espectro de manifestações clínicas de acordo com a resposta imune do indivíduo frente aos bacilos. As manifestações podem possuir diversas formas e, ao longo dos estudos, foram separadas de acordo com diversas classificações conforme a resistência ou susceptibilidade do indivíduo infectado. Todas as formas da doença apresentam manifestações neurológicas de maior ou menor grau, e manifestações dermatológicas. As lesões na pele podem ser máculas pálidas e

¹Bacharel em Ciências Biológicas. Universidade de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

²Biomédica. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

³Doutora. Professora Associada. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

Recebido em 29/06/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900749

anestésicas, infiltrações difusas da pele ou nódulos infiltrados eritematosos; as manifestações neurológicas podem ser na forma de infiltração e espessamento de nervos, anestesia, parestesia, neurites, encurtamento dos dedos e úlceras tróficas.⁽⁷⁻⁹⁾

O diagnóstico é realizado principalmente por meio do perfil clínico com base na presença de lesões na pele, espessamento neural e perda de sensibilidade. É avaliado também o perfil epidemiológico do paciente, e, quando necessário, realizam-se exames de baciloscopia e análise histopatológica. Após a análise clínica é realizada a biópsia de pele ou mucosas nasais, na área onde está a lesão, sendo coletadas as amostras da borda da lesão e coradas a partir da técnica de Ziehl-Neelsen.^(1,10,11)

Tanto a LTA como a hanseníase são doenças de grande importância na saúde pública. O diagnóstico precoce é importantíssimo, pois poderá levar à completa remissão sem sequelas, com a administração do tratamento adequado. A avaliação histopatológica dessas enfermidades funciona como uma importante ferramenta para diferenciá-las de outras dermatoses que apresentam as mesmas características clínicas, sendo eficaz na evolução da terapêutica e para fins prognósticos.

Dada a importância desse diagnóstico diferencial, esse trabalho se propôs analisar biópsias de pele de pacientes com suspeita de hanseníase e LTA atendidos no serviço de dermatologia do Hospital das Clínicas, Recife-PE.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de caráter retrospectivo, transversal, descritivo, qualitativo. Foram analisadas biópsias de pele de pacientes com suspeita de hanseníase e/ou LTA, atendidos no serviço de dermatologia do Hospital das Clínicas, Recife-PE, no período de janeiro de 2016 a abril de 2018.

Os dados da pesquisa foram coletados e analisados a partir de informações clínicas obtidas através dos prontuários e fichas clínicas dos pacientes.

Cortes histológicos de blocos parafinizados de pele e/ou mucosas dos pacientes foram feitos na espessura de 5 µm, processados e corados por técnicas específicas, dependendo da suspeita diagnóstica do paciente. A confirmação da presença de *M. leprae* foi feita pela coloração específica Ziehl-Neelsen,⁽⁸⁾ enquanto que para LTA, além da visualização eventual de amastigotas intracelulares, coradas pela técnica de hematoxilina-eosina,⁽⁴⁾ a confirmação se deu pela reação em cadeia de polimerase (PCR).

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CAAE: P. 51426415.0.0000.5208 e CAAE: 88560218.8.0000.5208).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos no estudo corresponderam aos atendimentos de pacientes com suspeita diagnóstica de hanseníase e LTA, atendidos no serviço de dermatologia do Hospital das Clínicas, em Recife, Pernambuco, no período entre janeiro de 2016 a abril de 2018. Durante esses dois anos foram avaliados 46 pacientes com suspeita de hanseníase e/ou LTA. As idades variaram entre 13 a 90 anos, 22 pacientes eram do sexo feminino e 24 do sexo masculino. Dentre esses 46 pacientes, havia 25 com suspeita de leishmaniose, sendo que apenas 10 tiveram diagnóstico confirmado para *Leishmania braziliensis* e 12 (26%) foram confirmados com hanseníase.

A análise histopatológica das biópsias cutâneas dos pacientes com diagnóstico confirmado de hanseníase mostrou padrões reacionais específicos para cada forma clínica (Figuras 1 a 11).

Com base na literatura pertinente,⁽¹¹⁾ confirmou-se nesse estudo a presença de um leve infiltrado de histiócitos e linfócitos, de localização perianexial, e perineural, nos casos de hanseníase indeterminada (Figuras 1 a 6), enquanto que na hanseníase tuberculoide (Figuras 7, 10 e 11) modificou-se o padrão reacional, onde os macrófagos e histiócitos se diferenciaram em células epitelioides e juntaram-se para formar os granulomas, os quais às vezes produziam atrofia na epiderme.

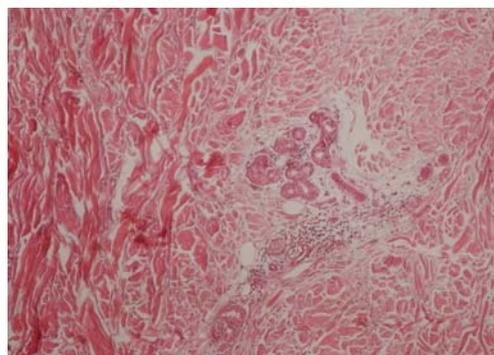


Figura 1. Dermatite linfocitária profunda (10X) com forma indeterminada de hanseníase.

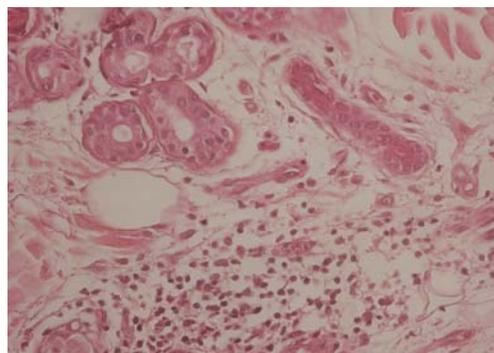


Figura 2. Dermatite linfocitária profunda perianexial (40X) com forma indeterminada de hanseníase.

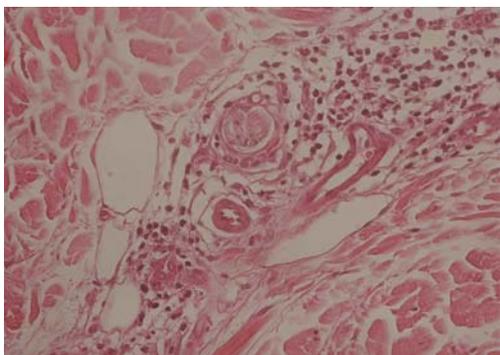


Figura 3. Dermatite linfocitária profunda perivascular (40X) com forma indeterminada de hanseníase.

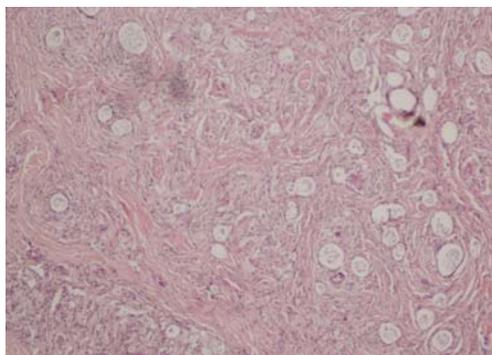


Figura 7. Hanseníase de padrão virchowiano (10x) observada em paciente com hanseníase atendido em hospital público de Recife-PE.

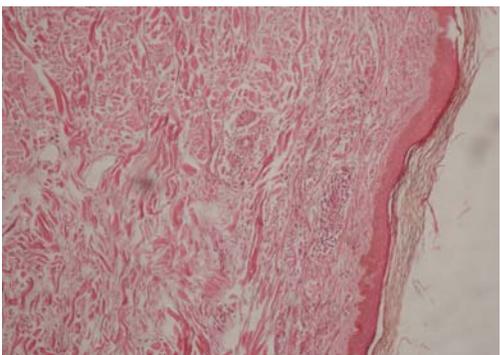


Figura 4. Dermatite linfocitária superficial (10x) observada em paciente com forma indeterminada de hanseníase atendido em hospital público.

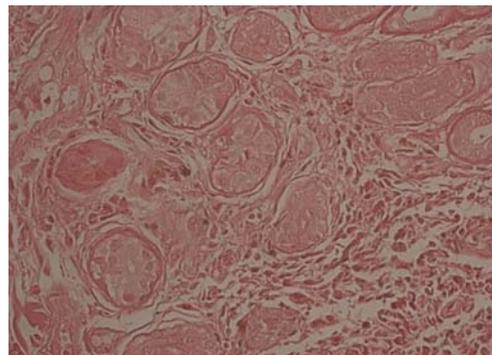


Figura 10. Dermatite granulomatosa profunda com agressão neural (40x) observada em paciente com hanseníase atendido em hospital público de Recife-PE.

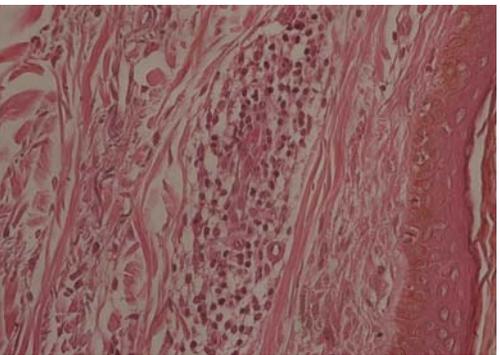


Figura 5. Dermatite linfocitária superficial (40x) observada em paciente com forma indeterminada de hanseníase atendido em hospital público.

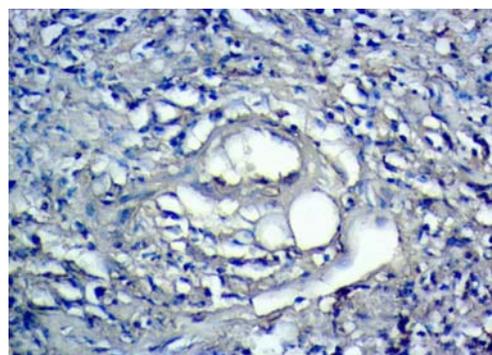


Figura 11. Dermatite granulomatosa sem necrose (40X) observada em paciente com Leishmaniose Tegumentar por *L. braziliensis* atendido em hospital público de Recife-PE

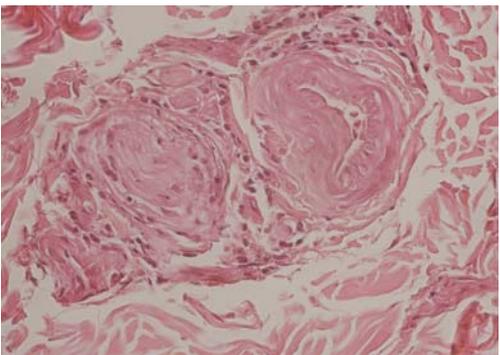


Figura 6. Dermatite linfocitária profunda com agressão neural (40x) observada em paciente com forma indeterminada de hanseníase atendido em hospital público (Recife, PE).

Nos casos de hanseníase virchowiana observou-se a presença de macrófagos carregados de bacilos que apresentavam citoplasma vacuolar e espumoso, com degeneração lipídica, a célula de Virchow. Os macrófagos pareciam ser incapazes de eliminar os bacilos e globias, resultando no contínuo afluxo de histiócitos. Os linfócitos eram raros. (Figuras 8 e 9)

A histopatologia de LTA mostrou uma variedade de padrões reacionais na epiderme e na derme, como já descrito por outros autores,⁽¹⁾ revelando a presença de um infiltrado inflamatório polimorfo, com predominância de macrófagos, linfócitos e neutrófilos, reação inflamatória granulomatosa

na derme profunda, às vezes acompanhada de necrose, além de padrões de recuperação do tecido por formação de fibrose cicatricial (Figuras 12 e 13)

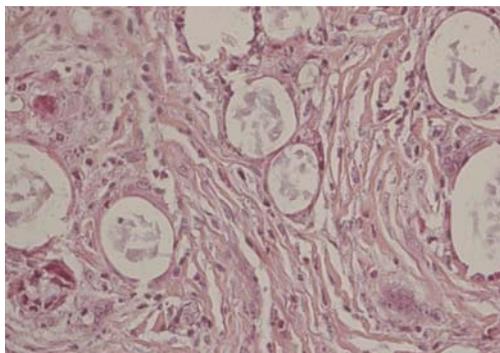


Figura 8. Hanseníase de padrão virchowiano (40x) observada em paciente com hanseníase atendido em hospital público de Recife-PE.

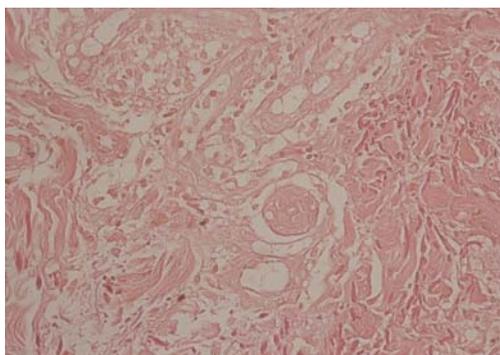


Figura 9. Dermatite granulomatosa profunda (10x) observada em paciente com hanseníase atendido em hospital público de Recife-PE.

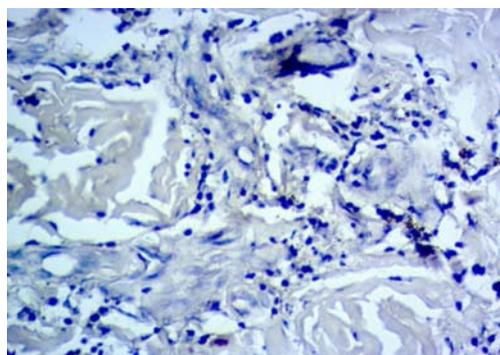


Figura 12. Infiltrado inflamatório na derme profunda (40X) em paciente com Leishmaniose Tegumentar por *L. braziliensis* atendido em hospital público de Recife-PE.

Apesar das alterações histopatológicas serem condizentes com a resposta do hospedeiro frente a *Leishmania*, apenas 40% dos pacientes com suspeita clínica de LTA tiveram seu diagnóstico confirmado para *Leishmania braziliensis*, o que mostra que nenhuma técnica isolada de diagnóstico é 100% eficiente. Faz-se necessário, portanto a utilização de mais de duas técnicas de diagnóstico laboratorial para essa doença, além dos dados ecopidemiológicos e a supremacia do diagnóstico clínico.⁽¹²⁾

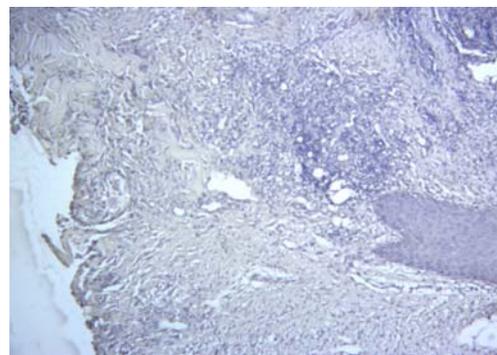


Figura 13. Fibrose cicatricial de úlcera crônica ativa (10X) em paciente com Leishmaniose Tegumentar por *L. braziliensis* atendido em hospital público de Recife-PE

CONCLUSÕES

A análise histopatológica pode confirmar o diagnóstico e fazer a diferenciação de outras doenças de características clínicas semelhantes, além de poder definir o grupo ou subgrupo da doença. Esta análise, tanto na LTA quanto na hanseníase, pode servir como ferramenta diagnóstica complementar e contribuir na compreensão da patogênese e prognóstico dessas patologias.

Abstract

Objective: To analyze the skin biopsies of patients with suspicion of leprosy and LTA treated at the dermatology department of a public hospital in Recife-PE. **Methods:** This was a cross-sectional, descriptive and qualitative retrospective study of skin biopsies of patients with suspected leprosy and/or ACL, treated at the dermatology department of the Hospital das Clínicas, Recife, period from January 2016 to April 2018. **Results:** A total of 46 patients with suspected leprosy and/or LTA were attended, ages ranged from 13 to 90 years, 22 were female and 24 were male. Among these 46 patients, 25 (54%) with suspected leishmaniasis, with 10 (40%) confirmed positive for *Leishmania braziliensis* by PCR, and 12 (26%) confirmed for leprosy. **Conclusion:** The histopathological analysis contributed for confirmation and differential diagnosis of leprosis and cutaneous leishmaniasis, moreover it served to help in the differentiation of other diseases with similar clinical characteristics.

Keywords

Leprosy; cutaneous Leishmaniasis; histopathology

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância em saúde. Brasília, 2017. 706 p.
2. Martins AL, Barreto JA, Lauris JR, Martins AC. American tegumentary leishmaniasis: correlations among immunological, histopathological and clinical parameters. *An Bras Dermatol.* 2014;89(1):52-8.
3. Oliveira RZ, Oliveira LZ, Lima MVN, Lima AP, Lima RB, Silva DG, et al. Leishmaniose tegumentar americana no município de Jussara, estado do Paraná, Brasil: série histórica de 21 anos. *Revista de Saúde Pública do Paraná.* Londrina, v. 17, n. 2, p. 59-65, 2016.
4. Gontijo B, Carvalho MLR. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2003;36(1):71-80. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000100011&lng=pt.

5. Araújo AIF. Avaliação do método de coleta através do swab para o diagnóstico molecular da leishmaniose tegumentar americana em pacientes de áreas endêmicas de Pernambuco, Brasil. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2013.
6. Mendonça VA, Costa RD, Melo GEBA, Antunes CM, Teixeira AL. Imunologia da hanseníase. An. Bras. Dermatol. [Internet]. 2008; 83(4):343-350. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962008000400010&lng=en.
7. Romão ER, Mazzoni AM. Perfil epidemiológico da hanseníase no município de Guarulhos, SP. Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul, v. 3, n. 1, p. 22-27, 2013.
8. Brooks GF, et al. Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 26ª. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.
9. Gonçalves A. Realidades do controle da hanseníase: atualizando cenários. Rev Bras Epidemiol. 2013; 16(3): 611-21.
10. Santos VS, de Mendonça Neto PT, Falcão Raposo OF, Fakhouri R, Reis FP, Feitosa VL. Evaluation of agreement between clinical and histopathological data for classifying leprosy. Int J Infect Dis. 2013 Mar;17(3):e189-92.
11. Obadia DIL, Verardino G, Alves MFG. Hanseníase: correlação clínico-histopatológica. Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto. Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 20-23, 2011.
12. Vasconcelos PP, Araújo NJ, Rocha FJS. Ocorrência e comportamento sociodemográfico de pacientes com leishmaniose tegumentar americana em Vicência, Pernambuco, no período de 2007 a 2014. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 38, n. 1, p. 105-114, 2017.

Correspondência

Francisca Janaina Soares Rocha
R. Prof. Moraes Rego, S/N - Cidade Universitária
50670-420 - Recife-PE, Brasil

Análise integrada à biologia de sistemas para avaliação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias na infecção por Zika vírus

Analysis integrated with the systems biology pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine evaluation in Zika Virus infection

Nelson Côrtes de Oliveira¹

Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer²

Resumo

Objetivo: O presente estudo objetivou analisar as citocinas pró e anti-inflamatórias em pacientes infectados pelo Zika vírus. **Métodos:** Através da Biologia de Sistemas, que contribuiu de forma a sumarizar os dados quantitativos complexos. **Resultados:** Observamos em nossa pesquisa a elevação das citocinas IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES, IP-10 e IL-1ra dos indivíduos infectados pelo ZIKV na fase aguda, relacionadas à atividade de linfócitos T e B, que indica uma possível proliferação desses tipos celulares mediante a infecção pelo ZIKV. **Conclusão:** Constatamos que nas infecções pelo ZIKV não ocorre uma grande liberação de citocinas, o que era esperado devido ao caráter benigno da doença.

Palavras-chave

Zika vírus; citocinas; Biologia de Sistemas

INTRODUÇÃO

O vírus Zika (ZIKV) é um patógeno veiculado principalmente por mosquitos, tendo sido descoberto em 1947 em macacos "rhesus" na Floresta Zika de Uganda.⁽¹⁾ Pertence à família *Flaviviridae* que contém diversos vírus relacionados a enfermidades que acometem os seres humanos.⁽²⁾

Antes do grande surto que se iniciou no Nordeste brasileiro em 2015 sugestivo de uma interação entre a infecção por ZIKV com a microcefalia fetal e a síndrome de Guillain-Barré, o ZIKV não era considerado um patógeno humano relevante,^(3,4) visto que anteriormente os casos de infecção por ZIKV relatados na África, Ásia e Oceania se restringiam a uma febre aguda.⁽⁵⁾

As pesquisas mostram que os vetores relacionados à transmissão do ZIKV são as espécies do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.⁽⁶⁾ Entretanto, foram descritas na literatura outras vias de transmissão de ZIKV, incluindo a transmissão sexual, perinatal, congênita e por transfusão sanguínea.^(7,8) Segundo a atualização epidemiológica da Organização Pan-Americana da Saúde, cinco países das Américas já notificaram casos de transmissão sexual do ZIKV.⁽⁹⁾

Na maioria dos casos, a infecção humana por ZIKV é assintomática, cerca de 20% das pessoas infectadas manifestam algum sintoma,⁽¹⁰⁾ com período de incubação estimado entre 3 a 14 dias.⁽¹¹⁾ Os sintomas apresentados são cefaleia, artralgia, mialgia, erupção cutânea, conjuntivite não purulenta e mal-estar, sendo estes comuns a outras arboviroses e de curta duração.⁽¹²⁾

Contudo, na Polinésia francesa e nas Américas têm-se relatado síndromes congênitas e condições neurológicas, como a microcefalia, síndrome de Guillain-Barré e encefalopatias associadas à infecção por ZIKV.^(13,14) Até o momento, a transmissão autóctone vetorial da doença do ZIKV foi relatada em 48 países e territórios do continente americano desde 2015.⁽⁹⁾

Em virtude desta emergência, os estudos sobre ZIKV foram intensificados com o intuito de comprovar os mecanismos de transmissão e patogênese, encontrar testes diagnósticos precisos, evidenciar a relação etiológica das sequelas neurológicas com a infecção por ZIKV, para então desenvolver tratamentos eficazes e até mesmo métodos profiláticos.⁽¹⁵⁾

As citocinas são moléculas hidrossolúveis de composição glicoproteica ou polipeptídica extracelulares, de tamanho variável entre 8 e 30 kDa, responsáveis por influ-

¹Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO, Brasil.

²Doutora. Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO, Brasil.

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO, Brasil.

Recebido em 22/05/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900708

enciar a proliferação, diferenciação, atividade e sobrevivência das células imunitárias, bem como regular a atividade e síntese de outras citocinas, que podem atenuar (anti-inflamatórias) ou aumentar (pró-inflamatórias) a resposta inflamatória. De modo que o equilíbrio entre essas duas classes de citocinas é fundamental na homeostasia e regulação do sistema imune.^(16,17)

A Biologia de Sistemas visa organizar e armazenar os dados biológicos, de forma que são utilizados softwares, no intuito de realizar sondagem de dados, processamento de imagens, simulações computacionais e algoritmos, que dependem de fundamentos teóricos, teoria de sistemas, teoria da informação e da estatística.⁽¹⁸⁾ O MATLAB é um destes *softwares* da Biologia de Sistemas voltado para o cálculo numérico, contendo em sua plataforma o gráfico "Box Plot" utilizado para avaliar a distribuição empírica dos dados.⁽¹⁹⁾

Por conta da expansão de casos notificados em diversos países, a infecção pelo ZIKV tem sido considerada uma doença endêmica e emergente.⁽²⁰⁾ Este trabalho objetivou, através da Biologia de Sistemas, verificar a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12p70, IL-15, IL-17A, RANTES, IL-8, TNF α , INF- γ , EOTAXINA e IP-10) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13 e IL-1ra), em indivíduos infectados pelo ZIKV, pois a compreensão do padrão imunitário na infecção pode ser benéfico na monitorização do curso da doença e na avaliação da extensão da atividade inflamatória.

MATERIAL E MÉTODOS

População de estudo

A pesquisa foi realizada no município de Goiânia, sendo incluídos indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos e que apresentavam quadro clínico sintomatológico do ZIKV, e excluídos os que apresentavam comorbidades capazes de propiciar alterações na expressão das citocinas pesquisadas.

Portanto, a população de estudo foi composta por um banco de dados constituído de 176 indivíduos com suspeita de infecção pelo ZIKV, entre fevereiro e março de 2016, que tiveram suas amostras coletadas no Núcleo de Estudo e Pesquisas Imunológicas (NEPY), localizado na área V da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Goiás. Todas as amostras foram analisadas para o ZIKV por PCR em Tempo Real (RT-qPCR). O grupo controle, formado por doadores saudáveis, foi constituído a partir de 49 amostras selecionadas da Central Goiânia de Sorologia e Imunohematologia.

Foram coletados de cada paciente 10 mL de sangue com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA. Após a coleta, o sangue foi centrifugado por cinco minutos a 2.500 rpm, e conduzido à capela de fluxo laminar para separação do plasma. Esse foi armazenado em freezer

-80°C e posteriormente utilizado para a extração do RNA viral e dosagem de citocinas.

Considerações Éticas

Os indivíduos dispostos a participar voluntariamente da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sob a prerrogativa do Comitê de Ética da PUC-Goiás pelo parecer CAEE: 57696716.9.0000.0037.

Extração e detecção do RNA Viral

O RNA total foi obtido a partir do plasma dos pacientes, através do kit QIAamp®Viral RNA Mini (QIAGEN, Hilden, Alemanha). Todo o processo de extração ocorreu na capela de fluxo laminar, com todos os cuidados referentes à extração de RNA, como a utilização de microtubos, pipetadores e ponteiras RNase free.

O kit utilizado na detecção do RNA foi o Zika Vírus PCR (Bioclin®, Lote 004, MS: 10269360300, Registro Anvisa 10269360300), desenvolvido segundo as recomendações do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention, USA*) e que apresenta como gene alvo de amplificação a poliproteína 5' UTR. A detecção do RNA viral e do controle da extração nas amostras foi realizada pelo termociclador PCR Real Time (Light Cycler® 480 II, Roche). A curva padrão e a detecção do ZIKV foram obtidas pelo detector fluorescente FAM (465-510 nm), e o controle pelo VIC (533580 nm).

Quantificação e análise das citocinas

A quantificação de citocinas foi realizada na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) do Rio de Janeiro. As concentrações das citocinas foram determinadas no plasma dos pacientes por meio de um imunoenensaio com microesferas do tipo multiplex. As amostras foram avaliadas para IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12p70, IL-15, IL-17A, IL-4, IL-10, IL-13 e IL-1ra, RANTES, IL-8, TNF α , INF- γ , Eotaxina e IP-10, usando um kit comercial (Lincoplex, Millipore, Missouri, USA) e um analisador Luminex (Luminex®, MiraiBio, Alameda, CA).

As citocinas foram analisadas e apresentadas com o uso da Biologia de Sistemas por meio da técnica de quartis aliado a um gráfico Box Plot gerado pelo software interativo de alta performance voltado para o cálculo numérico MATLAB.

Box Plot

A técnica do Box Plot trabalha com valores máximos (V.máx), medianas, 1º, 2º e 3º quartis e valores mínimos (V.mín). Os valores máximos e mínimos evidenciam o tamanho dos dados que serão trabalhados. A mediana se aplica em séries extensas, sendo a posição central dos dados ordenados de forma crescente ou decrescente, de maneira que demonstra a dispersão de um grupo de dados. Já os quartis são divididos em três conjuntos em que cada um tem 25% dos dados da série. O primeiro quartil (1º Q) está situado entre o (V.mín) e a mediana. O segundo quartil

(2º Q) ou mediana define a posição central da série. Já o terceiro quartil (3º Q), está situado entre a mediana e o (V.máx). Os Outliers são valores distantes que compõem a série, sendo representados pelo símbolo (+). A título de exemplo, segue abaixo uma representação de um Box Plot.⁽²¹⁾

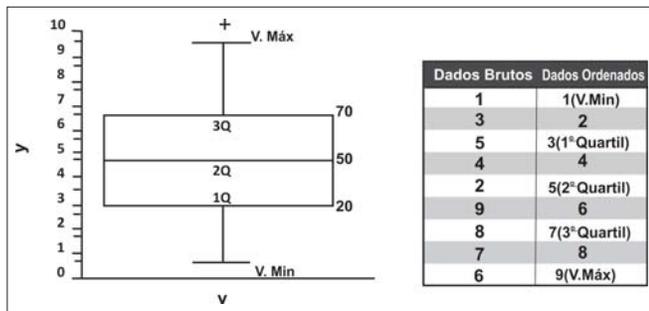


Figura 1. Representação Box Plot para um conjunto de dados arbitrários. Fonte: Galvani & Luchiarri (2004).

RESULTADOS

O estudo foi constituído por uma população de 176 indivíduos, 55 homens (31,2%) e 121 mulheres (68,8%), com idade média de 36 anos. Já o grupo controle foi formado por 49 indivíduos com idade média de 35 anos. As 176 amostras que apresentavam suspeita clínica de infecção pelo ZIKV foram submetidas a análise por RT-qPCR, sendo 36 positivas para o ZIKV. As amostras que apresentaram positividade foram colhidas principalmente no 2º dia de manifestação de sinais e sintomas. No entanto, tivemos uma amostra obtida no 15º dia que também foi positiva para o ZIKV.

Foram quantificadas 15 citocinas pró-inflamatórias e 4 anti-inflamatórias nas 36 amostras positivas para o ZIKV e nas do grupo controle.

Quando avaliados os níveis das citocinas pró-inflamatórias, observou-se um aumento de IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES e IP-10 nos indivíduos infectados com o ZIKV. Já as citocinas IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6 e IL-15, IL-12(P70), IL-8, TNF-α, INF-γ e eotaxina não apresentaram resultados com diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle. (Figuras 2 e 3).

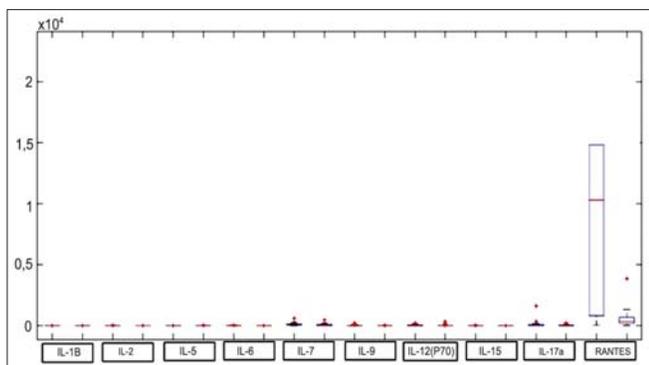


Figura 2. Perfil das citocinas pró-inflamatórias em indivíduos infectados com o ZIKV e grupo controle. Boxplot (MATLAB).

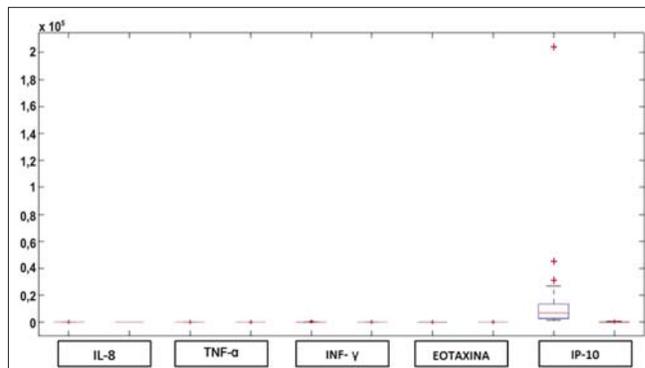


Figura 3. Perfil das citocinas pró-inflamatórias em indivíduos infectados com o ZIKV e grupo controle. Boxplot (MATLAB).

A síntese de IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES e IP-10 estava aumentada nos indivíduos positivos para o ZIKV quando comparados aos pacientes do grupo controle. Sendo a citocina RANTES a que apresentou níveis mais elevados variando entre 1.313 a 14.839 pg/mL. (Figuras 4, 5, 6, 7 e 8).

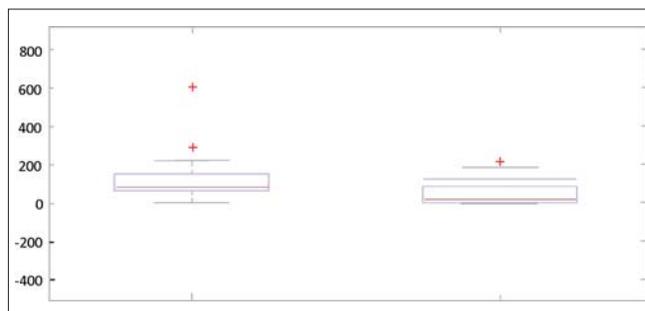


Figura 4. Análise de IL-7. Boxplot (MATLAB).

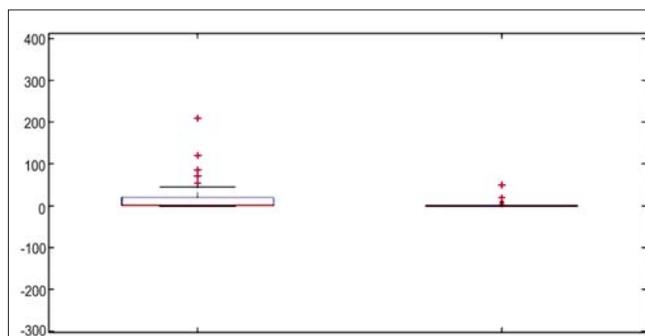


Figura 5. Análise de IL-9. Boxplot (MATLAB).

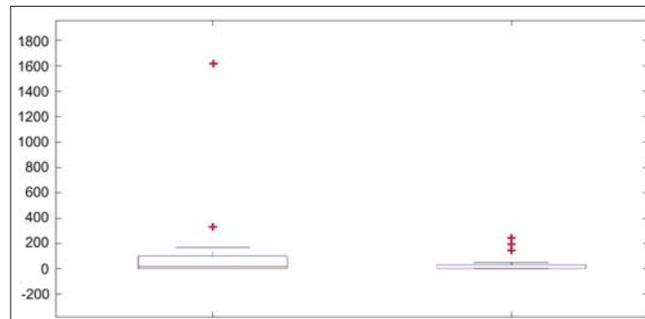


Figura 6. Análise de IL-17a. Boxplot (MATLAB).

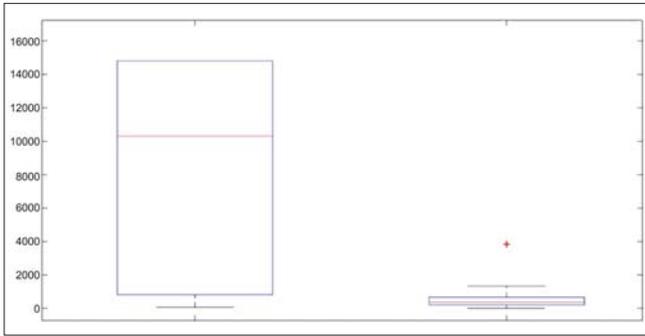


Figura 7. Análise de RANTES. Boxplot (MATLAB).

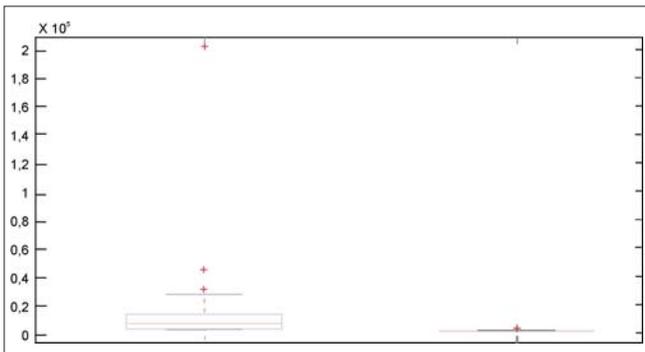


Figura 8. Análise de IP-10. Boxplot (MATLAB).

Na avaliação das citocinas anti-inflamatórias foi observado um perfil elevado da IL-1ra, enquanto que as demais não demonstraram nenhuma alteração significativa quando comparadas aos controles. (Figura 9).

A IL-1ra, foi a que apresentou a diferença significativa mais marcante de todo o estudo com níveis que variaram entre 0,603 a 21,060 pg/mL no grupo controle, e 2,110 a 110,807 pg/mL nos indivíduos positivos para o ZIKV.

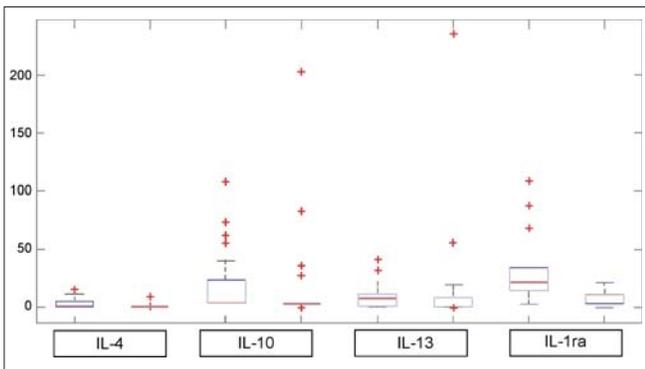


Figura 9. Perfil das citocinas anti-inflamatórias em indivíduos infectados com o ZIKV e grupo controle. Boxplot (MATLAB).

DISCUSSÃO

Estando de acordo com as diretrizes da *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC, 2016),⁽²²⁾ que definem que para haver um diagnóstico

molecular preciso, as amostras sanguíneas devem ser colhidas nos quatro primeiros dias da infecção. Em nosso estudo, as amostras positivas para o ZIKV foram colhidas principalmente no 2º dia de apresentação clínica da doença.

Entretanto, uma de nossas amostras foi positiva no plasma no 15º dia após as manifestações clínicas, sendo um episódio raro, que já foi observado por outros autores no soro e plasma. Como no estudo de Driggers et al.,⁽²³⁾ em que o RNA viral foi detectado no soro de uma gestante com indícios de infecção congênita aproximadamente dez semanas após o início dos sintomas, e no estudo de Mansuy et al.,⁽²⁴⁾ onde foi observada positividade no plasma até 37 dias após os sinais e sintomas clínicos da doença.

As citocinas são utilizadas em estudos clínicos pelo fato de atuarem como modificadores da resposta imune.⁽²⁵⁾ Em nossa pesquisa, os níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES e IP-10 dos indivíduos infectados pelo ZIKV na fase aguda, demonstraram-se elevadas. Essas citocinas estão relacionadas à atividade de linfócitos T e B, por isso, indicam uma possível proliferação desses tipos celulares mediante a infecção pelo ZIKV.⁽²⁵⁾

A IL-7 é responsável por estimular a proliferação das células precursoras de linfócitos B e a maturação de megacariócitos, já a IL-9 por estimular a proliferação de células T CD4+, que por sua vez faz com que haja produção de IL-17a. Dados sobre as funções destas citocinas durante a infecção viral humana são escassos, mas demonstram a maturação e ativação das células imunitárias.⁽²⁶⁾

Tappe et al.⁽²⁷⁾ realizaram um estudo semelhante relacionando diretamente às citocinas e à infecção pelo ZIKV em uma coorte, onde também foi demonstrado um aumento significativo de IL-9, IL-17, RANTES e IP-10.

A RANTES e IP-10 em concentrações elevadas sugerem um recrutamento efetivo de células T para sítios de infecção e formação de células T efetoras. Portanto, é necessária a realização de ensaios funcionais e de imunofenotipagem de células T do sangue periférico de pacientes infectados pelo ZIKV, a fim de contribuir para um melhor entendimento sobre o papel da RANTES e IP-10 durante a febre Zika.^(28,29)

Estudos correlacionam os níveis de RANTES, que está armazenada em grânulos de plaquetas, com a trombocitopenia, nas infecções por vírus da Dengue, visto que esta é secretada por ativação plaquetária; assim, seria esperado que seus níveis diminuíssem por conta da trombocitopenia. Em contraste, a trombocitopenia grave é raramente observada em pacientes com febre Zika, e a RANTES não mostrou níveis reduzidos quando comparados ao grupo controle.⁽³⁰⁾

Os resultados das citocinas anti-inflamatórias foram contrários aos achados de Tappe et al.,⁽²⁷⁾ visto que o receptor IL-1ra apresentou-se elevado. Contudo, o aumento de IL-1ra explica os baixos níveis de IL-1β, uma vez que

este é um antagonista que compete com o receptor da IL-1 β , bloqueando as respostas celulares e fisiológicas dessa citocina. Estudos publicados demonstram este fato, em que os níveis de IL-1 β são indetectáveis porque o IL-1ra é um potente inibidor.^(31,32) Barros et al.⁽³³⁾ avaliaram a produção de IL-1 β por meio de culturas com diferentes Flavivírus, e não constataram nenhuma alteração em sua produção, mesmo diante da estimulação com lipopolissacarídeo bacteriano.

Constatamos que nas infecções pelo ZIKV, não ocorre uma grande liberação de citocinas, o que era esperado devido ao caráter benigno da doença. Diferente do que ocorre no quadro clínico da dengue, que também é um *Flavivírus*, em que a resposta imune é bastante expressiva.⁽²⁷⁾

A realização de estudos biológicos por intermédio da Biologia de Sistemas é pertinente, em razão de que esta pode contribuir de forma a sumarizar e analisar dados quantitativos complexos.

CONCLUSÃO

No período de nosso estudo que ocorreu durante os meses de fevereiro a março de 2016, o ZIKV esteve circulante na cidade de Goiânia, e a infecção pelo vírus apresentou uma resposta imune pró e anti-inflamatória moderada na fase aguda, com elevação das citocinas IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES, IP-10 e IL-1ra. Portanto, ocorre uma ativação da resposta imune celular e humoral mediada por células T e B no quadro clínico da febre Zika.

Apesar de os pacientes que foram incluídos no estudo apresentarem manifestações clínicas semelhantes à infecção pelo ZIKV, a viremia transitória impossibilitou a detecção do material genético viral e confirmação da doença na maioria deles.

Estudos futuros, por meio de citometria de fluxo e anticorpos monoclonais, são necessários a fim de demonstrar quais linhagens de linfócitos estão ativos na infecção do ZIKV, bem como abordar a resposta destes linfócitos e das citocinas com mais detalhes, incluindo na pesquisa um número maior de pacientes infectados pelo vírus Zika.

Abstract

Objective: The present study objected to analyze the pro and anti-inflammatory cytokines in patients infected with zika virus. **Methods:** Through the Systems Biology that contributed in a way to summarize the complex quantitative data. **Results:** In our study, we observed elevation of the cytokines IL-7, IL-9, IL-17a, RANTES, IP-10 and IL-1ra of the infected individuals by ZIKV in the acute phase, related to T and B lymphocyte activity, which indicate a possible proliferation of these cell types through ZIKV infection. **Conclusion:** We found that in the infections by the ZIKV, does not occur a great release of cytokines, which was expected due to the benign nature of the disease.

Keywords

Zika virus; cytokines; systems biology

REFERÊNCIAS

- Dick GW, Kitchen SF, Haddock AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46(5):509-20.
- Gaunt MW, Sall AA, de Lamballerie X, Falconar AK, Dzhanian TI, Gould EA. Phylogenetic relationships of flaviviruses correlate with their epidemiology, disease association and biogeography. *J Gen Virol.* 2001;82(Pt 8):1867-76.
- Ministério da Saúde do Brasil. Ministério da Saúde investiga aumento de casos de microcefalia em Pernambuco. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agenciasaude/20629ministerio-da-saude-investigacao-aumento-de-casos-de-microcefaliaempernambuco>. Acesso em: 24 de março de 2017.
- Pan American Health Organization (PAHO). Epidemiological Update: Neurological Syndrome, Congenital Malformations, and Zika Virus Infection. Washington: PAHO, 2016. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=docdownload&Itemid=&gid=32879&lang=em. Acesso em: 24 de março de 2017.
- World Health Organization (WHO). Zika Virus Fact Sheet. Geneva: WHO, 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/en/>. Acesso em: 25 de março de 2017.
- Grard G, Caron M, Mombouli IM, Nkoghe D, Mbouli Ondo S, Jiolle D, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)-2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis.* 8(2):e2681, 2014.
- Besnard M, Lastere S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* 2014;19(13). pii: 20751
- Hills SL, Russell K, Hennessey M, Williams C, Oster AM, Fischer M, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission-Continental United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 65(8):215-6, 2016.
- Organização Pan-Americana Da Saúde/Organização Mundial Da Saúde (OPAS/OMS). Zika Epidemiological Update - 9 de fevereiro de 2017. Washington, D.C.
- Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014;19(14). pii: 20761. Erratum in *Euro Surveill.* 2014;19(15):pii/20771.
- Krow-Lucal ER, Biggerstaff BJ, Staples JE. Estimated Incubation Period for Zika Virus Disease. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(5):841-845.
- Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A, et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLoS Negl Trop Dis.* 10(4):e0004636, 2016a.
- Brasil P, Sequeira PC, Freitas AD, Zogbi HE, Calvet GA, De Souza RV, et al. Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. *Lancet.* 387(10026):1482, 2016b.
- Thiery G, Valentino R, Meddhaoui H. Zika virus-associated Guillain-Barré syndrome: a warning for critical care physicians. *Intensive Care Med.* 2016 Sep;42(9):1485-6.
- Barzon L, Trevisan M, Sinigaglia A, Lavezzo E, Palù G. Zika virus: from pathogenesis to disease control. *FEMS Microbiol Lett.* 2016;363(18). pii: fnw202.
- de Oliveira CM, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. Cytokines and pain. *Rev Bras Anestesiol.* 2011;61(2):255-9, 260-5, 137-42. [Article in English, Portuguese, Spanish]
- Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev.* 2003;8(3):223-46.
- Hogeweg P. The roots of bioinformatics in theoretical biology. *PLoS Comput Biol.* 2011 Mar;7(3):e1002021.
- Mathworks. Disponível em: <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>. Acesso em: 18 de janeiro de 2018.

20. Faria NR, Azevedo ROS, Kraemer MU, Souza R, Cunha MS, Hill SC, et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science*. 352(6283):345-9, 2016.
21. Galvani E, Luchiari A. Critérios para classificação de anos com regime pluviométrico normal, seco e úmido. Aracajú. VI Simpósio Brasileiro de Climatologia Geográfica, p. 20-29, 2004.
22. European Centre For Disease Prevention And Control, ECDC. Interim guidance for healthcare providers and Zika virus laboratory diagnosis. Stockholm: ECDC, 2016.
23. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Kuivanen S, Jääskeläinen AJ, Smura T, et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med*. 2016 Jun 2;374(22):2142-51.
24. Mansuy JM, Mengelle C, Pasquier C, Chapuy-Regaud S, Delobel P, Martin-Blondel G, et al. Zika virus infection and prolonged viremia in whole-blood specimens. *Emerg Infect Dis*. 2017 May;23(5):863-5.
25. Varella PPV, Forte WCN. Citocinas: revisão. *Rev. bras. alerg. imunopatol*. 2001;24(4):146-154.
26. Shaikh PZ. Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review. *Int J of Pharm & Life Sci (IJPLS)*, Vol. 2, Issue 11: Nov.: 2011, 1247-1263
27. Tappe D, Pérez-Girón JV, Zammarchi L, Rissland J, Ferreira DF, Jaenisch T, et al. Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to convalescent phase. *Med Microbiol Immunol*. 2016 Jun;205(3):269-73.
28. Pandey N, Jain A, Garg RK, Kumar R, Agrawal OP, Lakshmana Rao PV. Serum levels of IL-8, IFN γ , IL-10, and TGF β and their gene expression levels in severe and non-severe cases of dengue virus infection. *Arch Virol*. 2015;160(6):1463-75.
29. de-Oliveira-Pinto LM, Marinho CF, Povoá TF, de Azeredo EL, de Souza LA, Barbosa LD, et al. Regulation of inflammatory chemokine receptors on blood T cells associated to the circulating versus liver chemokines in dengue fever. *PLoS One*. 2012;7(7):e38527.
30. Rathakrishnan A, Wang SM, Hu Y, Khan AM, Ponnampalavanar S, Lum LC, et al. Cytokine expression profile of dengue patients at different phases of illness. *PLoS One*. 2012;7(12):e52215.
31. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007;45(2):27-37.
32. Cianciarullo MA, Ceccon MEJ, Yamamoto L, Del Negro GMB, Okay TS. Mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios na sepse neonatal: associação entre homeostase e evolução clínica. *Rev. bras. crescimento desenvolv. hum*. [online]. 2008, vol.18, n.2 pp. 135-147. Disponível em: <http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12822008000200004&lng=pt&nrm=iso>
33. Barros VED, Ferreira BR, Livonesi M, Figueiredo LTM. Cytokine and nitric oxide production by mouse macrophages infected with Brazilian flaviviruses. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* [online]. 2009; 51(3): 141-147. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652009000300004&lng=en.

Correspondência

Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer
Praça Universitária, 1440 – Setor Universitário
74605-010 – Goiânia-GO, Brasil

Soroprevalência para dengue em estudantes universitários da cidade de Caruaru-PE

Dengue seroprevalence in students of Caruaru City-PE

Andresa Almeida de Souza¹

Antônio Victor de Oliveira¹

Ana Cecília Cavalcanti de Albuquerque²

Resumo

Objetivo: Determinar a soroprevalência para dengue em estudantes da Faculdade Asces, no município de Caruaru-PE. **Métodos:** O estudo proposto foi do tipo transversal analítico. O trabalho foi realizado com estudantes da Faculdade Asces, município de Caruaru-PE. A pesquisa dos anticorpos IgG contra o vírus da dengue foi realizada por meio do Ensaio Imunoenzimático (ELISA). Um questionário com perguntas relacionadas à história de infecção por dengue, habitação e saneamento foi aplicado e os resultados foram armazenados e analisados no Excel. **Resultados:** Das 179 amostras coletadas a soropositividade para IgG anti-dengue foi de 87,1% (156/179), com a média de idade de 21,5 anos e o sexo prevalente foi o feminino (76,5%). Cerca de 33,5% (60/130) responderam já ter tido dengue alguma vez, porém dos que alegaram não ter tido dengue, 92,1% (58/63) tiveram anticorpos para o vírus. **Conclusão:** Tendo em vista a grande soroprevalência da dengue na região ações de controle e vigilância da dengue devem ser cada vez mais realizadas, bem como melhorias estruturais que interfiram nas condições de vida e saúde da população.

Palavras-chave

Dengue; prevalência; anticorpos

INTRODUÇÃO

A dengue é um grave problema de saúde pública em países de clima tropical, devido às condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e proliferação do principal vetor dessa enfermidade, o *aedes aegypti*, nessas regiões.⁽¹⁾

Existem quatro sorotipos conhecidos do vírus da dengue: Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4. E os quatro circulam atualmente por todo o Brasil.⁽²⁾ Os pacientes que adquirem a doença pela primeira vez, infecção primária, desenvolvem imunidade homóloga ao sorotipo viral, sendo geralmente assintomáticos ou oligossintomáticos. Contudo, uma segunda infecção por outro sorotipo diferente é um fator predisponente para o desenvolvimento da forma grave da doença.^(2,3)

Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai são países localizados na sub-região do Cone-Sul da Organização Panamericana de Saúde. No período de 2001 a 2007, 64,6% (2.798.601) dos casos de dengue nas Américas fo-

ram notificados nesta área, dos quais 6.733 tiveram febre hemorrágica da dengue (FHD), com um total de 500 mortes. O Brasil foi responsável por 98,5% dos casos notificados e ainda obteve a maior taxa de mortalidade na sub-região.⁽⁴⁾

Existe uma falta de dados em relação à soroprevalência para dengue em alunos de graduação, todavia um estudo realizado por Malheiros⁽⁵⁾ determinou uma prevalência de anticorpos contra o vírus da dengue em 51,3% (586/1.142) de estudantes universitários da Faculdade Senac Rio, no Rio de Janeiro.

Em virtude de a dengue hemorrágica ser mais condizente após infecções sequenciais,^(2,3) é importante que o indivíduo tenha esse conhecimento para se atentar quanto à possibilidade de agravamento da doença, assim como ter a informação do seu *status* imunológico, indicando que o mesmo já entrou em contato com o vírus. Portanto, o objetivo do trabalho foi determinar a soroprevalência da dengue em estudantes universitários da área da saúde, no Município de Caruaru-PE.

¹Bacharel em Biomedicina pela Faculdade Asces – Caruaru-PE, Brasil.

²Doutora em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)- Recife-PE, Brasil.

Instituição: Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico – Caruaru-PE, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflito de interesses

Suporte financeiro: Bolsa do programa de iniciação científica da Faculdade Asces – Caruaru-PE, Brasil.

Recebido em 24/07/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900762

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo do tipo transversal analítico, que investiga a relação exposição-doença em uma determinada população, em um dado momento do tempo. O trabalho foi realizado na Faculdade Asces, situada no Município de Caruaru-PE, no período de fevereiro a agosto de 2015, tendo como população alvo os estudantes do curso de Biomedicina e Farmácia. A população foi escolhida por conveniência, obtendo um total de 179 participantes.

Inicialmente os discentes foram esclarecidos sobre a pesquisa, e os que se propuseram a participar assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e responderam a um questionário que continha variáveis sociodemográficas, história de infecção por dengue, habitação e saneamento.

Os participantes passaram por uma coleta de sangue venoso, realizada no Laboratório Escola da Faculdade Asces, onde foram colhidos 3 mL de sangue. As amostras foram centrifugadas para obtenção do soro e ficaram armazenadas em microtubos a -20°C, até o momento de realização do ensaio imunoenzimático (Elisa).

A pesquisa dos anticorpos IgG contra o vírus da dengue foi realizada por meio de "kit" comercial de Elisa do fabricante *In vitro diagnóstica*, seguindo as instruções e critérios de validação do fabricante.

Os dados foram armazenados e analisados no Excel. Os cálculos estatísticos foram realizados pelo statcalc no Epi info. O corte transversal permitiu estimar a prevalência dos anticorpos para dengue e uma associação entre algumas variáveis e a soropositividade para dengue.

Foram incluídos estudantes de ambos os sexos, que estavam devidamente matriculados nos cursos de Biomedicina e Farmácia da Faculdade Asces e excluídos os alunos licenciados.

Ética

O projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Asces, sob o n. 835.870. Todos os participantes desta pesquisa concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

RESULTADOS

A média de idade dos estudantes foi de 21,5 anos, com uma idade mínima de 17 anos e máxima de 42 anos. Foram coletados 179 soros de alunos matriculados nos cursos de Biomedicina e Farmácia da Faculdade Asces, todavia somente foram considerados para a análise aqueles indivíduos reagentes e não reagentes na sorologia. Os resultados indeterminados foram excluídos da análise estatística.

A Tabela 1 abaixo expressa as características dos 179 participantes da pesquisa de acordo com as respostas preenchidas pelo questionário.

A maioria dos alunos apresentou anticorpos IgG para dengue, sendo 87,10% reagentes, 4,50% não reagentes e 8,40% indeterminados.

Tabela 1 - Distribuição dos estudantes de graduação na área de Saúde da Faculdade Asces, segundo as variáveis biológicas, sociodemográficas e relacionadas à infecção pelo vírus da dengue, no período de fevereiro a agosto de 2015, no município de Caruaru-PE

Características	Números de Indivíduos	%
Faixa etária		
< 20	45	25,13
≥ 20	134	74,87
Sexo		
Masculino	42	137
Feminino	23,46	76,53
Raça		
Parda	78	43,57
Branca	76	42,45
Preta	12	6,70
Amarela	12	6,70
Indígena	1	0,55
Teve Dengue		
Sim	60	33,5
Não	70	39,1
Não sabe	49	27,4
Sinais e sintomas		
Dor no corpo	47	100
Febre	47	100
Dor de cabeça	42	89,36
Pintas no corpo	33	70,21
Dor nas juntas	29	61,70
Dor no olho	28	59,57
Náuseas	20	42,55
Vômito	14	29,78
Pressão baixa	13	27,65
Diarreia	11	23,40
Dor de barriga	9	19,14
Sangramento espontâneo	1	2,12
Não teve sintomas	1	2,12
Não responderam	132	73,74

Tabela 2 - Distribuição dos estudantes de graduação na área de Saúde da Faculdade Asces, no período de fevereiro a agosto de 2015, segundo o sexo e a soropositividade para Dengue

Sexo	Anticorpos IgG para Dengue					
	Reagente		Não reagente		Total	
	n	%	n	%	n	%
Masculino	39	95,1	2	4,9	41	25
Feminino	117	95,1	6	7,5	123	75
Total	156	95,1	8	4,9	164	100

RR = 1,00 (0,92 - 1,08) $\chi^2 = 0,18$ p = 0,675

Tabela 3 - Distribuição dos estudantes de graduação na área de Saúde da Faculdade Asces, no período de fevereiro a agosto de 2015, segundo a faixa etária e a soropositividade para Dengue

Faixa etária (em anos)	Anticorpos IgG para Dengue					
	Reagente		Não reagente		Total	
	n	%	n	%	n	%
Menor de 20	37	92,5	3	7,5	40	24,4
20 e mais	119	96,0	5	4,0	124	75,6
Total	156	95,1	8	4,9	164	100

RR = 0,96 (0,88 - 1,06) $\chi^2 = 0,21$ p = 0,6435

Tabela 4 - Distribuição dos estudantes de graduação na área de Saúde da Faculdade Asces, no período de fevereiro a agosto de 2015, segundo ter tido Dengue e a soropositividade para Dengue

Teve Dengue	Anticorpos IgG para Dengue					
	Reagente		Não reagente		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sim	53	96,4	2	3,6	55	46,6
Não	58	92,1	5	7,9	63	53,4
Total	111	94,1	7	5,9	118	100

RR = 1,05 (0,96 - 1,14) $\chi^2 = 0,36$ p = 0,551

Tabela 5 - Distribuição dos estudantes de graduação na área de Saúde da Faculdade Asces, no período de fevereiro a agosto de 2015, segundo armazenamento de água e a soropositividade para Dengue

Armazenamento de água	Anticorpos IgG para Dengue					
	Reagente		Não reagente		Total	
	n	%	n	%	n	%
Sim	90	95,7	4	4,3	94	58,4
Não	63	94,0	4	6,0	67	41,6
Total	153	95,0	8	5,0	161	100

RR = 1,02 (0,95 - 1,10) $\chi^2 = 0,02$ p = 0,899

DISCUSSÃO

Caruaru, agreste pernambucano, está localizado a 140 KM de Recife, capital de Pernambuco. Apresenta uma Latitude de 8,17S e longitude de 35,58W.⁽⁶⁾ Caruaru é uma região endêmica para a dengue, ou seja, todos os anos casos de dengue são notificados e confirmados, todavia alguns anos extrapolam os valores esperados quando então se caracteriza uma epidemia.⁽⁷⁾

O presente estudo observou uma prevalência alta de alunos com soroconversão para dengue. Esses dados foram maiores quando comparados aos encontrados no estudo de Malheiros,⁽⁵⁾ onde se detectaram 51,3% (586/1.142) de soropositividade para IgG em alunos com colegial completo e curso superior incompleto. Todavia, quando se observa a prevalência relacionada a outras populações e localidades encontram-se números maiores, como a observada por Tavares,⁽⁸⁾ que, ao avaliar 2.323 pessoas de uma

comunidade urbana em Salvador, encontrou um porcentual de 87,6% de soropositividade para dengue. De acordo com estudos realizados em todo o Brasil, o quadro epidemiológico tem aumentado nas mais diversas regiões do país, sendo o Norte-Nordeste uma das principais regiões mais afetadas por surtos desta doença.⁽⁸⁾ Um outro estudo realizado em Salvador, nas principais áreas de surtos de dengue verificou uma soroprevalência de 69% e 43% para os sorotipos DEN1 e DEN2, respectivamente, em uma população de 1.515 indivíduos, sendo o sexo feminino o mais prevalente.⁽⁹⁾ Observou também que nas áreas onde as condições de vida eram precárias, a soroprevalência mostrou-se maior, cerca de 74%.⁽⁹⁾ Um estudo realizado em Fortaleza demonstrou um dos maiores quadros de epidemia de dengue na região. Das 1.341 amostras colhidas em nove distritos sanitários, a prevalência variou de 21% a 71%. Dentre o total de amostras, 588 (41%) reagiram para mais de um sorotipo viral, enquanto que 753 (56%) não apresentaram soropositividade para nenhum sorotipo do vírus. A variação da prevalência nos nove distritos avaliados pode ter sido devido à condição de vida e poder aquisitivo dos participantes.⁽¹⁰⁾

Em contrapartida, em um estudo realizado em três distritos de Belo Horizonte foi observada uma soroprevalência menor quando comparada com outros estudos no país. Entre os 709 indivíduos, a soroprevalência foi de 11,9%, o que demonstra estratégias eficazes de controle em comparação com inquéritos realizados em outras cidades brasileiras de grande e médio porte.⁽¹¹⁾ De acordo com dados do Sinan (Sistema de informação de agravos de notificação), os anos de 2002, 2003, 2007 e 2010 foram os mais comprometidos em casos de dengue no período de 2001 a 2010, no município de Caruaru-PE.⁽¹²⁾ Em relação a estes quatro anos, o número de casos notificados excedeu em 34,4%, 28,7%, 73% e 81,5% os casos confirmados. A maioria dos casos não é confirmada e assim há uma subnotificação dos casos soropositivos. A confirmação muitas vezes não é realizada devido à falta de informação do paciente, pois não é solicitado o seu retorno após dez dias do início dos sinais e sintomas para averiguação dos anticorpos IgM e IgG.⁽⁵⁾ Um outro motivo da subnotificação é que alguns indivíduos apresentam dengue assintomática.⁽¹⁰⁾

O estudo mostra uma maior participação de estudantes do sexo feminino e uma maior frequência dos anticorpos IgG para dengue nessa população, todavia não houve associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Esses dados foram semelhantes aos de outros estudos realizados no Brasil.^(5,13) Em relação à idade, o trabalho encontrou uma maior participação e soroprevalência para dengue em alunos com idade acima de 20 anos; todavia, não foi encontrada associação estatística com a soropositividade ($p < 0,05$), corroborando com os achados de Malheiros,⁽⁵⁾ que, ao avaliar 1.261 indivíduos de 20 a 39 anos, verificou

uma frequência de 51% de soropositividade para IgG para dengue. Há uma estimativa de aumento da soropositividade para esta doença com o aumento da idade.^(5,13,14) A maioria dos alunos alegou não ter tido dengue, todavia 53,4% destes apresentaram reatividade para os anticorpos. Esse dado foi semelhante ao relatado por Malheiros,⁽⁵⁾ que, ao selecionar as pessoas que declararam não ter tido dengue em nenhuma das epidemias, 46,2% foram positivas na sorologia. Este achado pode estar relacionado à detecção de anticorpos IgG no soro de indivíduos que tiveram infecção oligo ou assintomática. Estima-se que, em uma epidemia de dengue, ocorra um caso assintomático para cada cinco casos sintomáticos.⁽¹⁵⁾ Os sintomas referidos pelos alunos avaliados foram febre, cefaleia, mialgias, náusea, vômito, tontura, artralguas, sangramento espontâneo, dor retro-orbitária, exantema, sendo semelhantes aos dados encontrados no estudo de Vasconcelos.⁽¹⁰⁾

A falta de saneamento básico, o acúmulo de lixo, armazenamento de água são fatores que contribuem para a proliferação do mosquito transmissor do vírus da dengue.⁽²⁾ O estudo observou que embora a maioria tivesse o hábito de armazenar água em recipiente fechado, não houve associação estatisticamente significativa. Esses dados foram semelhantes aos encontrados em outros estudos.^(5,9,10,13)

CONCLUSÃO

A soroprevalência para dengue nos alunos avaliados foi alta. Esse resultado era esperado, pois Caruaru é uma região endêmica. No campo das doenças infecciosas, embora existam outras arboviroses, a dengue ainda é a que compromete mais a saúde pública. Ações de controle e vigilância da dengue devem ser cada vez mais realizadas, bem como melhorias estruturais que interfiram nas condições de vida e saúde da população.

Agradecimentos

Agradecemos à Faculdade Asces por nos proporcionar todo o suporte físico para realização da pesquisa.

Abstract

Objective: Aim to determine the seroprevalence of dengue in students of the Faculty ASCES in the city of Caruaru-PE. **Methods:** The study was analytical cross-sectional. The research was carried out with students of the courses of Biomedicine and Pharmacy, Faculty ASCES, Municipality of Caruaru-PE. The survey of IgG antibodies to dengue virus was performed by the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). A questionnaire containing questions related to the history of dengue infection, habitation and sanitation was applied and the results were stored and analyzed in Excel. **Results:** Data and a sample of 179 students were collected. The seropositivity for IgG anti-dengue was 87.1% (156/179). The mean age was 21.5 years and the prevailing gender was female (76.5%). About 33.5% (60/130) confirmed to have had dengue once in lifetime and those who claimed not to have had dengue, 92.1% (58/63) had antibodies to the virus. **Conclusion:** In view of the great seroprevalence of dengue in the region, dengue control and surveillance

actions should be increasingly carried out as well as structural improvements that interfere in the living conditions and health of the population.

Keywords

Dengue; prevalence; antibodies

REFERÊNCIAS

- Freitas RM, Rodrigues CS, Almeida MCM. Estratégia Intersetorial para o Controle da Dengue em Belo Horizonte (Minas Gerais), Brasil. *Saude e Soc.* 2011;20(3):773-85. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12902011000300020&Ing=en.
- Diaz-Quijano FA. Definições de caso e classificação de gravidade do dengue e suas implicações no aprimoramento de vigilância e de intervenções em saúde pública. 2011. Tese. [Doutorado em Epidemiologia] - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- Vilas Boas VA, Rocha KC, Oliveira CGB, Sant'anna AVL, Azzalis LA, et al. Triagem sorológica e influência do conhecimento sobre a dengue em pacientes do ambulatório de especialidades do SUS. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [Internet]. 2011;47(2):129-136. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-2442011000200006&Ing=en.
- Câmara FP, Theophilo RLG, Santos GT, Pereira SRFG, Câmara DCP, Matos RRC. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2007;40(2):192-196. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822007000200009&Ing=en.
- Malheiros MT. Análise da soroprevalência de anticorpos contra a dengue em funcionários e alunos do SESC/SENAC-RIO. 2011. 72 folhas. Dissertação (Mestrado) - UFRJ. Rio de Janeiro, 2011.
- DB-City. 2016. Disponível em <http://pt.db-city.com/Brasil-Pernambuco-Recife>. Acessado em 10 de Maio de 2016.
- Edgard Matsuki. Surto, epidemia, pandemia e endemia: entenda qual é a diferença entre eles, 2015. Disponível em <http://educacao.uol.com.br/disciplinas/geografia/surto-epidemia-pandemia-endemia-entenda-qual-e-a-diferenca-entre-eles.htm>. Acessado em 10 de Maio de 2016.
- Tavares AS. Prevalência e Incidência de Infecção pelo vírus da Dengue em uma comunidade urbana: um Estudo de Coorte. 2014. 64 folhas. Dissertação (Mestrado) - Centro De Pesquisas Gonçalo Moniz, Fiocruz. Salvador, 2011.
- Teixeira MG, Barreto MI, Costa MCN, Ferreira LDA, Vasconcelos P. Dinâmica de circulação do vírus da dengue em uma área metropolitana do Brasil. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2003;12(2):87-97.
- Vasconcelos PFC, Lima JWO, Travassos da Rosa APA, Timbó MJ, Travassos da Rosa ES, Lima HR, Rodrigues SG, et al. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Rev. Saúde Pública* 1998;32(5):447-54. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101998000500007&Ing=en
- Pessanha JEM, Caiaffa WT, Kroon EG, Proietti FA. Dengue em três distritos sanitários de Belo Horizonte, Brasil: inquérito soro-epidemiológico de base populacional, 2006 a 2007. *Rev Panam Salud Publica.* 2010;27(4):252-8.
- Brasil. Sistema de informação de agravos de notificação (SINAN). Disponível em <http://portalsinan.saude.gov.br>. Acessado em Maio de 2012.
- Vasconcelos PFC, Mota K, Straatmann A, Santos-Torres S, Travassos da Rosa APA, Neto JT. Epidemia de dengue em Ipujiara e Prado, Bahia. *Inquérito soro-epidemiológico. Rev Soc Bras Med Trop.* 2000, 33(1):61-67. Available from <<http://dx.doi.org/10.1590/S0037-8682200000100009>

14. Lima VLC, Osias Rangel O, Andrade VR, Silveira NYJ, Oliveira SS, Figueiredo LTM. Dengue: inquérito populacional para pesquisa de anticorpos e vigilância virológica no Município de Campinas, São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2007;23(3):669-80.
15. Serufo JC, Nobre V, Rayes A, Marcial TM, Lambertucci JR. Dengue: uma nova abordagem. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2000;33(5): 405-76.

Correspondência

Andresa Almeida de Souza
Av. Portugal, 584 – Bairro Universitário
Caruaru-PE, Brasil

Resistência de bactérias Gram-positivas isoladas de infecção do trato urinário no LAC/PUC - Goiás

Resistance of Gram-positive bacteria isolated of urinary tract infection in Clinical analysis laboratory of PUC - Goiás

Lara Serrano dos Santos¹

Nathália de Sousa Damasceno¹

Renata Carneiro Ferreira Souto²

Resumo

Objetivo: Determinar a prevalência de ITU por bactérias Gram-positivas e avaliar as resistências mais frequentes nesses micro-organismos. **Métodos:** Estudo analítico, retrospectivo, realizado a partir dos dados de pacientes atendidos pelo Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no período de novembro de 2016 a novembro de 2017. A partir das amostras de urina, foram selecionados os resultados de cultura positivos para bactérias Gram-positivas. Os dados foram analisados utilizando-se o programa Excel Microsoft (2013). **Resultados:** Das 3.381 amostras de urina avaliadas, 384 (11,4%) apresentaram positividade para ITU, onde 10,9% estavam associadas à presença de cocos Gram-positivos como agente patogênico. Destes, os mais prevalentes foram: *Staphylococcus aureus* (23,8%) e *S. haemolyticus* (23,8%), que apresentaram resistência de 80% tanto para ampicilina quanto para penicilina, tendo sido identificados como produtores de beta-lactamase. **Conclusão e Considerações:** O *Staphylococcus aureus* foi o micro-organismo mais prevalente, e a resistência, nesta população, foi maior na classe de antimicrobianos dos beta-lactâmicos. Apesar da menor frequência de ITU estar relacionada com bactérias Gram-positivas, este grupo representa um importante papel como agente patogênico desta infecção pela capacidade de apresentar resistência a antimicrobianos de amplo espectro.

Palavras-chave

Infecções urinárias; *Staphylococcus aureus*; resistência

INTRODUÇÃO

A infecção no trato urinário (ITU) é caracterizada pela presença de bactéria na urina,⁽¹⁾ no entanto, quando ocorre a invasão e multiplicação de micro-organismos nos tecidos do sistema urinário fica caracterizada uma ITU.⁽²⁾ Laboratorialmente, o diagnóstico dessa infecção tem como base a contagem de colônias no exame microbiológico, sendo necessárias 100.000 unidades formadoras de colônias bacterianas por mililitro de urina ($\geq 10^5$ UFC/mL) para ser considerada essa patologia.⁽¹⁾

A ITU pode acometer apenas a uretra ou ascender, chegando até os rins, havendo assim a possibilidade de ocorrer colonização de todo o sistema urinário. Clinicamente, esta infecção pode apresentar de forma assintomática ou sintomática, sendo que os principais sintomas são aumento da frequência urinária, urgência miccional, disúria, mudança na cor e aspecto da urina, presença de hematúria e piúria (>10.000 /mL).⁽¹⁾

As altas taxas de indivíduos com ITU recorrente e o aumento da etiologia por linhagens resistentes fazem com que essa infecção se torne um problema de saúde pública, podendo ainda afetar substancialmente a qualidade de vida das pessoas acometidas.⁽³⁾

As ITUs incidem tanto em homens quanto em mulheres, podendo acometer todas as faixas etárias. Porém, é observada uma maior frequência da infecção em mulheres, principalmente aquelas com vida sexual ativa e gestantes.⁽⁴⁾ Além disso, este índice mais elevado pode ser também observado em idosos de ambos os sexos e crianças com até 6 anos de idade.^(1,5) O motivo pelo qual as mulheres são mais infectadas está relacionado às características anatômicas desta população, devido à menor extensão da uretra, proximidade da mesma com a região perianal⁽⁶⁾ e o tamanho da bexiga.⁽⁷⁾

Nas infecções comunitárias os micro-organismos patogênicos mais frequentes são os bacilos Gram-negativos, no entanto podemos encontrar também bactérias

¹Acadêmica do curso de Biomedicina da PUC Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

²Professora Horista Dra. do curso de Biomedicina da PUC Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Goiás – Goiânia-GO, Brasil.

Recebido em 06/06/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900741

Gram-positivas também associadas à ITU.⁽⁸⁾ Embora a frequência deste último grupo mostrar-se menor, é importante realizar a correta identificação dos agentes patogênicos, como no caso do *Streptococcus agalactiae*, uma espécie que integra o grupo B de Lancefield e está relacionada ao desenvolvimento de infecções graves em neonatos, como sepse e meningite, ou mesmo a ocorrência de parto prematuro, sendo necessária a pesquisa deste patógeno tanto na urina quanto no trato genital de gestantes.^(9,10)

O uso dos antimicrobianos melhora significativamente a qualidade de vida da população, pois permite o controle das doenças infecciosas. No entanto, o uso indiscriminado e abusivo destas drogas tem influenciado o aumento da resistência bacteriana nos últimos anos. Outro fator que pode estar associado é o tratamento empírico, realizado antes da análise do perfil de resistência das bactérias envolvidas em ITU, podendo favorecer o surgimento de patógenos resistentes, diminuindo assim a possibilidade de tratamento.⁽⁸⁾

Há diversos mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos. Dentre esses, a degradação da droga a partir da produção de enzimas é o mais importante e frequente. Essa ocorre a partir da hidrólise da ligação amida do anel beta-lactâmico pelas beta-lactamases; com isso, o sítio onde os medicamentos beta-lactâmicos se ligam às proteínas de ligação da penicilina (PBPs) é destruído e o antimicrobiano perde sua ação. Quando a cepa bacteriana é capaz de produzir a β -lactamase, denominamos como mecanismo de resistência BLAC, ou seja, beta-lactamase positiva. Essa informação genética para a produção enzimática tem característica plasmidial em cepas de *Staphylococcus aureus*, representando uma importante forma de resistência frente à penicilina. A associação dessa droga a outros compostos, como ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam, tem sido uma alternativa para reparar a ação do antimicrobiano nas PBPs, principalmente em estafilococos e hemófilos.⁽⁹⁾

Bactérias Gram-positivas, particularmente cocos, como *S. aureus*, estafilococos coagulase-negativo e *Enterococcus spp.*, são patógenos extremamente importantes no ambiente hospitalar. Apesar de as bactérias Gram-negativas terem dominado a atenção nos últimos anos, por causa de suas características complexas de resistência aos antimicrobianos, novos padrões de resistência em Gram-positivo têm ocorrido, principalmente em amostras clínicas provenientes da comunidade, onde tem sido possível identificar resistência à vancomicina por *Enterococcus spp.* e à oxacilina, por *S. aureus*.⁽⁹⁾

Contudo, é importante salientar o aumento da incidência de casos de resistência antimicrobiana por Gram-positivos, tanto no ambiente hospitalar quanto na comunidade. Além disso, reconhecer o perfil de resistência a

essas drogas pode determinar o futuro das infecções e a eficácia do tratamento do paciente.

Assim, o presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de ITU por bactérias Gram-positivas e avaliar as resistências mais frequentes aos antimicrobianos na população atendida no Laboratório de Análises Clínicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (LAC-PUC/GO), no período de novembro de 2016 e novembro de 2017.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi feito um estudo analítico retrospectivo, realizado a partir de coleta de dados no período de novembro de 2016 a novembro de 2017. Foram coletadas 3.381 amostras para urocultura, provenientes dos pacientes atendidos no Laboratório Clínico e posto de coleta da região noroeste da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Destas, 384 foram analisadas por apresentarem contagem satisfatória para ITU ($\geq 10^5$ UFC/mL).

As amostras de urina de jato médio foram colhidas pelo próprio paciente e encaminhadas para a seção de microbiologia. As uroculturas foram processadas de acordo com o procedimento operacional padrão (POP) da seção, sendo realizada a análise quantitativa das colônias. A amostra foi inoculada em biplaca contendo os ágaros CLED e MacConkey (MK), utilizando-se alça de 100 μ L. Após a semeadura por varredura e esgotamento de alça, respectivamente, as mesmas foram incubadas em estufa a 36°C por 24 horas. Foram consideradas positivas as amostras com crescimento bacteriano $\geq 10^5$ UFC/mL em ágar CLED e que não apresentaram crescimento em ágar MK. Em seguida, foi realizada a bacterioscopia pós-cultura e a semeadura em ágar Manitol, quando da formação de macrocolônias, e em ágar sangue, quando presentes as microcolônias. A identificação dos micro-organismos foi realizada por método automático utilizando Painel Combo PC41 (MicroScan®, Beckman Coulter) e a leitura utilizando o AutoScan4®. Os dados coletados e resultados foram analisados a partir do programa Excel Microsoft, 2013.

Constituíram o estudo dados das amostras de urocultura positivas, com contagem de colônias $\geq 10^5$ UFC/mL daqueles micro-organismos identificados como Gram-positivos e que apresentavam resultados para o antibiograma. Foram excluídos do estudo os dados referentes às amostras positivas para ITU por bactérias Gram-negativas, ou ainda aqueles com dados incompletos ou ausência dos mesmos.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP-PUC Goiás), sob o protocolo 08254212.5.0000.0037, número do parecer 235.276 e data da relatoria em 20 de março de 2013.

RESULTADOS

Foram analisados os dados de 3.381 uroculturas realizadas, sendo 11,4% (384 amostras) positivas para ITU. Dentre essas, em 10,9% (N=42) foi possível isolar e identificar micro-organismos Gram-positivos e verificar que a frequência de infecção, por esses agentes foi maior em mulheres (90,5%; 38/42). Quanto à idade desse último grupo, variou de 0 a 90 anos, com média de 40 anos.

Em relação aos micro-organismos encontrados, foi observada uma maior frequência tanto para o *Staphylococcus aureus* quanto para o *Staphylococcus haemolyticus* (23,8%; IC 95%: 12,6-39,8) como agentes causadores de ITU, seguidos por *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* (Figura 1).

Com base nos dados obtidos, o *S. aureus* demonstrou um importante perfil de resistência em relação aos antimicrobianos ampicilina e penicilina, com 80% de cepas positivas para beta-lactamase (BLAC) e 30% apresentaram resistência a oxacilina (MRSA), ceftriaxona e ampicilina/sulbactam.

Já para o *S. haemolyticus*, observamos o mecanismo de resistência BLAC tanto para penicilina quanto para ampicilina, com 80% e 70%, respectivamente, seguido por eritromicina (40%) e oxacilina (40%), entre outras drogas, demonstradas na Tabela 1.

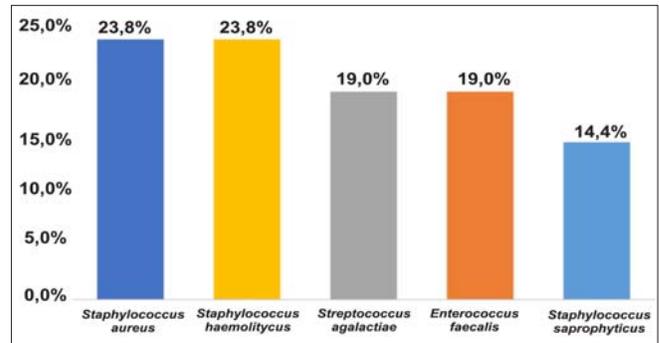


Figura 1. Frequência dos micro-organismos Gram positivos, isolados a partir da amostra de urina dos pacientes atendidos no LAC/PUC Goiás, no período de novembro de 2016 a novembro de 2017.

Em relação ao *S. saprophyticus*, um total de 67% das cepas apresentou resistência à eritromicina; já a resistência do tipo BLAC foi observada nos antimicrobianos ampicilina e penicilina, ambas as drogas com 50% de frequência. Também com a realização do antibiograma, as cepas de *S. agalactiae* demonstraram uma resistência de 80% para a tetraciclina, e de 10% tanto para sinercid quanto para ciprofloxacina, ceftriaxona e ampicilina. Quanto ao *E. faecalis*, foi observada uma prevalência maior tanto para tetraciclina quanto para o sinercid (88%), acompanhada pela estreptomomicina HL e rifampicina com 50% cada.

Tabela 1 - Resistências mais frequentes aos antimicrobianos testados no Laboratório de Análises Clínicas da PUC Goiás nos patógenos Gram positivos nos isolados

Mecanismo de resistência	Micro-organismo	Antimicrobiano	N	%
BLAC	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina	10	80
		Penicilina		80
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Penicilina	10	80
		Ampicilina		70
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Penicilina	6	50
		Ampicilina		50
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i>	Oxacilina	10	30
		Eritromicina		40
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Oxacilina	10	40
		Amoxicilina		30
		Ampicilina/Sulbactam		30
		Ceftriaxona		30
Intrinseco	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Eritromicina	6	67
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Tetraciclina	8	80
		Sinercid		10
		Ciprofloxacina		10
		Ceftriaxona		10
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ceftriaxona	10	30
		Ampicilina/Sulbactam		30
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Tetraciclina	8	88
		Sinercid		88
Estreptomomicina HL		50		
Rifampicina		50		

DISCUSSÃO

Do total das amostras analisadas, 90,5% (IC 95%: 76,4-97,0; 38/42) eram de mulheres e a média de idade dos pacientes foi de 40 anos. Comparando os dados citados anteriormente com o estudo feito por Nunes et al.⁽¹¹⁾ em Porto Alegre, no ano de 2016, onde a positividade das amostras para ITU em mulheres foi de 86,9% (IC 95%: 83,3-89,2), pudemos corroborar que indivíduos do sexo feminino apresentam maior susceptibilidade a esse tipo de infecção, devido a questões fisiológicas, como o menor fluxo urinário, e anatômicas, como um menor comprimento da uretra.⁽¹¹⁾

Inicialmente, 384 (11,4%) amostras de urocultura, daquelas realizadas no período do estudo, foram positivas para ITU. Dessas, em 42 (10,9%; IC 95%: 8,0-14,6) foi possível isolar e identificar micro-organismos Gram-positivos, sendo que aqueles com maior prevalência foram *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus haemolyticus*, ambos com 23,8% (IC 95%: 12,6-39,8). Estudos de Nunes et al.⁽¹¹⁾ encontraram uma porcentagem de 9,5% (IC 95%: 4,7-17,7) de *S. aureus*, sendo estatisticamente semelhante ao presente estudo. Já em relação ao *S. haemolyticus*, Andrade et al.⁽¹²⁾ obtiveram 4,16% (IC 95%: 1,3-78,1) de frequência para esse patógeno, uma porcentagem semelhante à encontrada na atual pesquisa.

Os uropatógenos *Streptococcus agalactiae* e *Enterococcus faecalis*, evidenciaram 19,0% (IC 95%: 9,1-34,6) dos isolados Gram-positivos. Esses achados estão de acordo com os estudos de Oliveira et al.⁽¹³⁾ que encontraram uma prevalência para o *S. agalactiae* de 25,2% (IC 95%: 20,6-30,5) e *Enterococcus* spp. com 36,4% (IC 95%: 31,1-42,0). No entanto, no estudo de Nunes et al.⁽¹¹⁾ houve discrepância em relação ao *Enterococcus*, evidenciando uma porcentagem maior (62,1%; IC 95%: 51,5 -71,7).

Quanto ao *Staphylococcus saprophyticus*, esse estudo evidenciou um percentual de 14,4% (IC 95%: 5,9-29,2) de frequência, corroborando com os achados de Oliveira et al.⁽¹³⁾ e Nunes et al.⁽¹¹⁾, que encontraram 28,1% (IC 95%: 23,3-33,5) e 28,4% (IC 95%: 19,9-38,7) respectivamente.

Sabe-se que o uso indiscriminado de antimicrobianos tem tido uma frequência elevada, tanto em ambiente hospitalar quanto na comunidade. O aumento da resistência bacteriana relatado nos últimos anos tem limitado as opções terapêuticas; com isso, existe a necessidade e responsabilização ética e técnica dos profissionais da área sobre o uso racional de antimicrobianos.⁽⁵⁾

Neste estudo, o *Staphylococcus aureus* apresentou perfil de resistência em 80% (IC: 44,2-96,4) para ampicilina e penicilina (BLAC). Houve populações MRSA, em 30% (IC: 8,1-64,6) das cepas isoladas, seguido por ceftriaxona e ampicilina/sulbactam. No estudo de Braoios et al.⁽⁵⁾ realizado em Presidente Prudente no ano de 2009 e em pacientes não hospitalizados, *S. aureus* conferiu 41,6% (IC: 22,8-63,0)

de resistência a penicilina; 12,5% (IC: 10,6-47,0) das cepas não foram susceptíveis à oxacilina, coincidindo estatisticamente com o presente trabalho. A importância desses achados se deve ao fato de que os micro-organismos MRSA também apresentam resistência às drogas da classe dos beta-lactâmicos, como as penicilinas, cefalosporinas e os carbapenêmicos, e se estende a várias outras classes de antimicrobianos, tornando-se assim escassas as opções terapêuticas.⁽¹⁴⁾

O mecanismo de resistência para cepas de MRSA está relacionado à alteração de proteínas ligadoras de penicilina (PBP), codificado pelo gene *mecA* no qual a metilina e os compostos penicilinase-resistentes tenham baixa afinidade pelo local de ligação à bactéria, parede celular e, como consequência, deixam de ser efetivos.⁽⁹⁾

Já o *S. haemolyticus* apresentou um perfil de resistência do tipo BLAC, sendo 80% (IC: 44,2-96,4) para penicilina e 70% (IC: 35,3-91,9) para ampicilina, acompanhado por eritromicina, oxacilina (40% IC: 13,6-72,6), e amoxicilina, ampicilina/sulbactam e ceftriaxona (30% IC: 8,0-64,6). No estudo de Andrade et al.⁽¹²⁾ cepas de *Staphylococcus* spp. em ITU hospitalar demonstram resistência para oxacilina de 16,7% (IC: 1,3-78,6); ainda no estudo de Andrade et al.⁽¹²⁾ foi notada resistência para ampicilina/sulbactam com 33,3% (IC: 9,1-90,8) de prevalência, assemelhando-se aos resultados do atual trabalho.

Outro micro-organismo que também apresentou a resistência do tipo BLAC, foi o *S. saprophyticus*. Essa foi verificada tanto para penicilina quanto para ampicilina, com 50% (IC: 13,9-86,0) de frequência para ambas. Embora a resistência anterior seja importante, foi evidenciado que 67% (IC: 24,1-94,0) das cepas também se mostravam resistentes para eritromicina. Esses resultados foram, em parte, compatíveis com o estudo de Braoios et al.⁽⁵⁾ no qual houve 34,3% (IC: 19,6-52,2) de resistência para a penicilina. Já para a eritromicina, houve 5,7% (IC: 1,0-20,5) de não susceptibilidade, sendo um percentual menor ao do presente estudo.

Quanto ao *Streptococcus agalactiae*, 80% (IC: 35,5-95,5) de cepas foram resistentes a tetraciclina, e 10% aos antimicrobianos sinerid, ciprofloxacina, ceftriaxona e ampicilina. Nakamura et al.⁽¹⁵⁾ no Rio de Janeiro, encontraram 83% (IC: 73,8-89,5) de resistência a tetraciclina, corroborando assim com outros trabalhos.

O *Enterococcus faecalis*, um dos principais patógenos associados a infecções hospitalares e atualmente às infecções urinárias, de sítios cirúrgicos e bacteremias, apresenta uma resistência intrínseca a vários antimicrobianos, principalmente à vancomicina.⁽¹⁶⁾ Porém, em nosso estudo, 80% (IC: 35,5-95,5) das cepas isoladas apresentaram resistência para a tetraciclina e para o sinerid, seguido por 50% (IC: 17,4-82,5) para estreptomina HL e rifampicina, sendo estas amostras ambulatoriais. Ao contrário dos nossos re-

sultados, no estudo realizado por Nunes et al.,⁽¹¹⁾ no Rio Grande do Sul, este micro-organismo apresentou resistência para norfloxacin, ampicilina e nitrofurantoina. Já em um estudo em Santa Maria, Rio Grande do Sul, por Santos et al.,⁽¹⁷⁾ foi encontrado apenas 1% de ocorrência para esse patógeno.

As discrepâncias observadas na literatura, ou até mesmo a falta de resultados e informações para alguns micro-organismos em diferentes regiões do Brasil, ressaltam a importância de estudos regionais. Assim, com o reconhecimento dos principais agentes etiológicos da infecção urinária e o perfil de resistência da população local, sendo importante a observação de possíveis evoluções no decorrer dos anos, tornaram as decisões de tratamento bem mais seguras e eficazes.⁽⁵⁾

Dentro do grupo das bactérias Gram-positivas na população estudada, foi encontrada uma maior prevalência de resistência aos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, especificamente ao grupo das penicilinas, sendo representada pelas drogas penicilina e ampicilina, e ao grupo das cefalosporinas, com a droga ceftriaxona. Ambas as classes de drogas são de amplo espectro, o que poderia justificar um maior índice de resistência para essas drogas.

Corriqueiramente, utiliza-se o tratamento empírico para ITU, especialmente em mulheres jovens não gestantes. Segundo a diretriz da Sociedade Brasileira de Infectologia e Sociedade Brasileira de Urologia (2004), após ser realizado o diagnóstico clínico, a terapia para a cistite não complicada pode ser aplicada sem a necessidade de realizar cultura de urina e o antibiograma;⁽¹⁸⁾ com isso, é comum a prescrição para o uso de antimicrobianos de amplo espectro, o que pode estimular o desenvolvimento de mecanismos de resistência pela cepa bacteriana.

Outro ponto a ser analisado é a dificuldade de adesão do paciente à terapia completa, ou seja, a fazer o uso correto do medicamento. Constantemente observa-se desistência do tratamento após o desaparecimento dos sintomas, o que acaba favorecendo o desenvolvimento de resistência pela bactéria. Programas de educação e conscientização da população sobre a importância do uso correto do antimicrobiano, é algo importante para que haja diminuição das incidências dos casos de resistência aos antimicrobianos.

CONSIDERAÇÕES

Analisando-se os resultados deste estudo, o *Staphylococcus aureus* foi o micro-organismo mais prevalente, coincidindo com outros estudos, e foi possível considerar que a resistência, nesta população, foi maior na classe de antimicrobianos dos beta-lactâmicos. Sabe-se que a ITU é uma das infecções mais prevalentes de origem comunitária.

Embora a frequência de ITU por micro-organismos Gram-positivos seja menor, esse é um importante grupo de uropatógenos, desenvolvendo resistência a antimicrobianos de amplo espectro e de escolha para o tratamento. Em razão disso, ressaltamos a importância de se realizar o antibiograma para identificação e correlação dos antimicrobianos adequados para cada cepa de bactérias encontradas.

Entretanto, fica evidente a responsabilidade dos profissionais de saúde ao prescrever os medicamentos de acordo com o perfil de susceptibilidade do micro-organismo, evitando o uso indiscriminado destes, no qual a resistência está cada vez mais recorrente, visando a saúde, bem-estar e melhora de cada paciente, orientando-os para que não haja recorrência destas infecções.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os envolvidos neste trabalho, a toda a equipe do Laboratório de Análises Clínicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em especial a seção de microbiologia. Aos professores, família e amigos pelo apoio e compreensão.

Abstract

Objective: To determine the prevalence of UTI by Gram-positive bacteria and to evaluate the most frequent resistance in these microorganisms.

Methods: It was a retrospective analytical study, performed from the data of patients attended by the Clinical Laboratory of the Pontifical Catholic University of Goiás, from November 2016 to November 2017. From the urine samples, the results were selected cultures for Gram-positive bacteria. The data were analyzed using the Microsoft Excel program (2013). **Results:** Of the 3.381 urine samples evaluated, 384 (11,4%) presented positivity for UTI, where 10,9% were associated with the presence of Gram-positive cocci as a pathogen. Of these, the most prevalent were: *Staphylococcus aureus* (23,8%) and *S. haemolyticus* (23,8%), both of which presented resistance of 80% for both ampicillin and penicillin and were identified as beta-lactamase producers.

Conclusion: Considerations: *S. aureus* was the most prevalent microorganism, and resistance in this population was higher in the antimicrobial class of beta-lactams. Although the lower frequency of UTI is related to Gram-positive bacteria, this group plays an important role as a pathogenic agent of this infection, due to the ability to present resistance to broad-spectrum antimicrobials.

Keywords

Urinary tract infections; *Staphylococcus aureus*; resistance

REFERÊNCIAS

- Roriz-Filho JS, Vilar FC, Mota LM, Leal CL, Pisi PCB. Infecção do trato urinário. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2010;43(2): 118-25.
- Elias DBD, Ribeiro ACS. Antimicrobial sensitivity profile in urino-cultures of a university hospital of the State of Ceará - in the period of January to June 2015. *Rev. Bras. Anal. Clin.* 2017;49(4):381-9.
- Resende JA, Freitas RB, Mendonça BG, Antonio T, Fortunato RS, Oliveira MACA. Infecções do trato urinário de origem hospitalar e comunitária: revisão dos principais micro-organismos causadores e perfil de susceptibilidade. *Revista Científica Fagoc Saúde.* 2016; 1:55-62.
- Duarte G, Marcolin AC, Quintana SM, Cavalli RC. Urinary tract infection in pregnancy. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30(2):93-100. [Article in Portuguese]

5. Braoios A, Turatti TF, Meredija LCS, Campos TRS, Denadai FHM. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. *J Bras Nefrol*. 2009; 45(6):449-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442009000600003>
6. Paula MLA de, Negri MM, Paula CLA de, Xavier AR, Kanaan S, Weide L de CC. Infecção do trato urinário em mulheres com vida sexual ativa. *JBM*. 2015;103(2):37-41.
7. D'addazio LB, Moraes SR. Microrganismos isolados de infecção do trato urinário da comunidade. *Rev Saúde*. 2015;6(1):11-3.
8. Sato AF de, Svidzinski AE, Consolaro MEL, Boer CG. Nitrito urinário e infecção do trato urinário por cocos gram-positivos. *J Bras Patol e Med Lab*. 2005;41(6):397-404.
9. Agência de Vigilância Sanitária. Guia do Estudante: Boas práticas em microbiologia clínica. 2008. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/guia_estudante/apresentacao.htm[citado 17 de abril de 2018].
10. Costa AL, Lamy Filho F, Chein MB da, Brito LM, Lamy ZC, Andrade KL. Prevalence of colonization by group B Streptococcus in pregnant women from a public maternity of Northwest region of Brazil. *Rev Bras Ginecol Obs*. 2008;30(6):274-80. [Article in Portuguese]
11. Nunes PR, Fonini LS, Oliveira MS de, Katagiri SK. Prevalência e perfil de resistência bacteriana em infecções do trato urinário de pacientes ambulatoriais da Grande Porto Alegre, RS. *Rev. Bras. Anal. Clin*. 2016;48(3supl.1):92-7. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/09/RBAC_-2016-supl.-01-completa-corrigida.pdf
12. Andrade RHS, Araújo JG de. Infecção urinária nosocomial no Hospital Universitário de Sergipe. *Rev. Bras. Anal. Clin*. 2016;48(3 supl. 1):41-7. Disponível em: http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/09/RBAC_-2016-supl.-01-completa-corrigida.pdf
13. Oliveira TG CX de, Lacerda LHG. Perfil de resistência dos antimicrobianos mais prevalentes em uroculturas no laboratório de análises clínicas. Laboranálise em Sete Lagoas, Minas Gerais. 2016;(Agosto 2015):1-17. Disponível em: <http://jornal.faculdade.cienciasdavid.com.br/index.php/RBCV/article/view/159/126>
14. Souza LBG, Figueiredo BB. Prevalência de infecções nosocomiais provocadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (M.R.S.A.), no Hospital Universitário Regional de Maringá. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, v.40, n.1, p.31-34, 2008.
15. Nakamura PA, Schuab RB, Neves FP, Pereira CF, Paula GR, Barros RR. Antimicrobial resistance profiles and genetic characterisation of macrolide resistant isolates of *Streptococcus agalactiae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(2):119-22.
16. Furtado GH, Martins ST, Coutinho AP, Soares GM, Wey SB, Medeiros EA. Incidence of vancomycin-resistant *Enterococcus* at a university hospital in Brazil. *Rev Saúde Publica*. 2005;39(1):41-6. [Article in Portuguese]
17. Santos RCV, Klein DR, Duarte M. Prevalência e perfil de resistência de microorganismos em infecções do trato urinário diagnosticados em pacientes ambulatoriais em Santa Maria, Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, 2009;41(4):311-4.
18. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia, Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Brasileira de Medicina de Família e Comunidade, Sociedade Brasileira de Nefrologia. Infecção Urinária Não complicada na Mulher: Tratamento. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. *AMB/ANS 2004*: 1-11

Correspondência

Lara Serrano dos Santos

Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Praça Universitária, 1440 – Setor Universitário
74605-010 – Goiânia-GO, Brasil

Avaliação da qualidade microbiológica da água em bebedouros de uma instituição de ensino superior de Caxias do Sul - RS

Microbiological quality evaluation of drinking water fountains in a higher education institution of Caxias do Sul - RS

Daiane Soares Glowacki¹

Liziane Bertotti Crippa²

Resumo

Objetivo: Avaliar a qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano de uma instituição de ensino superior em Caxias do Sul-RS. **Métodos:** O método utilizado para bactérias heterotróficas foi o *spread plate*, e, para coliformes totais, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* sendo que o método é a ausência ou presença com substrato enzimático. Foram coletadas oito amostras, cada uma com aproximadamente 150 mL de água em frascos esterilizados após desinfecção dos bicos dos bebedouros com álcool 70%. **Resultados:** Na primeira coleta, o bebedouro 4 foi o único que apresentou alterações, com presença de $4,5 \times 10^1$ de bactérias heterotróficas, no entanto, este nível estava de acordo com a quantidade permitida. Na segunda coleta, todas as amostras apresentaram positividade para bactérias heterotróficas, porém a amostra de número 3 estava no limite aceito pela legislação, e as demais mostraram resultados superiores a 500 UFC/mL. Todas as amostras foram negativas para as análises de *Pseudomonas aeruginosa*, coliformes totais e *Escherichia coli*. **Conclusão:** Apesar de os resultados terem sido negativos para *Pseudomonas aeruginosa*, coliformes totais e *Escherichia coli*, três amostras apresentaram valores superiores ao aceito pela portaria para bactérias heterotróficas, expondo números superiores a 500 UFC/mL. Conclui-se que esta água é considerada inadequada para consumo humano, baseando-se nos padrões de potabilidade estabelecidos pela portaria vigente.

Palavras-chave

Pseudomonas aeruginosa; *Escherichia coli*; bactérias heterotróficas; água potável

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS),⁽¹⁾ pelo menos dois bilhões de pessoas no mundo usufruem de uma fonte de água contaminada com fezes. Estima-se que a água potável contaminada ocasione 502 mil mortes diarreicas por ano. Para padronizar e regulamentar a qualidade da água, a OMS aponta diretrizes internacionais para serem usadas como base em todo o mundo, com a intenção de proporcionar a proteção da saúde pública.

A partir do século XIX, com os conhecimentos de Pasteur e Koch que deram origem à microbiologia, foi possível compreender como a transmissão de doenças infecciosas se processa e hoje é viável a identificação de microrganismos para confirmar a ação dos agentes biológicos, de sua presença na água e de seu papel na transmissão de

doenças. Há dois mecanismos principais de transmissão de doenças por via hídrica: através de agentes biológicos patogênicos, como ingestão da água contaminada, e por meio da transmissão que ocorre pela insuficiência da quantidade de água, ocasionando uma higiene deficiente.⁽²⁾

Desta forma, é realizada análise de bactérias do grupo coliforme, que se localizam no trato intestinal dos animais de sangue quente e servem como parâmetro de contaminação da água por fezes. Além disso, estão presentes em baixa ocorrência no solo e na vegetação. A principal bactéria deste grupo é a *E. coli*, que apresenta tempos variáveis de sobrevivência no meio ambiente e pode causar graves problemas intestinais (*E. coli* 0157:H7).⁽³⁾

A portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde⁽⁴⁾ determina que seja analisada na água disponível para consumo humano a ausência de coliformes totais e

¹Acadêmica - Centro Universitário da Serra Gaúcha – Caxias do Sul-RS, Brasil.

²Professora - Centro Universitário da Serra Gaúcha – Caxias do Sul-RS, Brasil.

Instituição: Centro Universitário da Serra Gaúcha Brasil – Caxias do Sul-RS, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflito de interesses

Suporte financeiro: financiamento próprio + Empresa Engequímica, Assessoria, Projetos e Engenharia Química LTDA, Caxias do Sul-RS.

Recebido em 07/07/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900752

Escherichia coli em 100mL de amostra e que seja determinada a contagem de bactérias heterotróficas. Esta portaria define que a contagem de bactérias heterotróficas deve ser realizada como um parâmetro para avaliar a integridade do sistema de distribuição (reservatório e rede), e recomenda não exceder a 500 unidades formadoras de colônia por 1 mL de amostra (500 UFC/mL).

A *Pseudomonas aeruginosa* é caracterizada pelo formato de bacilo, Gram-negativa, produtora de catalase e oxidase. São bactérias patogênicas oportunistas, ou seja, causam doenças em pessoas que estão com o sistema imune debilitado, podendo resultar em uma sepse fatal.⁽⁵⁾ Para isso, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária⁽⁶⁾ divulgou a resolução RDC nº 275/2005, que, ao analisar cinco unidades de amostras individualmente, determinou que só poderia haver um resultado positivo, não devendo exceder duas unidades formadora de colônia.

Sem a análise destes parâmetros microbiológicos, a verossimilhança de transmissão de doenças por via hídrica, como gastroenterites, se torna sobressalente, uma vez que a água constitui um elemento fundamental para a manutenção da vida.⁽⁷⁾ Compreende-se a importância da água potável para o consumo humano, a qual, se não tratada, tem capacidade de propagar diversos contaminantes microbiológicos. Portanto, é valioso saber se a água consumida está adequada aos padrões de potabilidade mencionados na legislação.⁽⁴⁾

Assim sendo, o propósito do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da água disponível em bebedouros de uma instituição de ensino superior localizada em Caxias do Sul-RS.

MATERIAL E MÉTODOS

A instituição de ensino superior a ser estudada localiza-se na cidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul e compreende um total de seis prédios nos quais estão matriculados alunos para vinte cursos de graduação como: administração, arquitetura e urbanismo, biomedicina, ciências contábeis, design, direito, educação física bacharelado, educação física licenciatura, enfermagem, engenharia de produção, engenharia civil, fisioterapia, nutrição, odontologia, psicologia e terapia ocupacional, engenharia ambiental, engenharia mecânica, engenharia elétrica e engenharia de computação, além de disponibilizar diversas especializações como MBAs, Pós-MBAs, extensões e projetos corporativos nas áreas de negócios, design, engenharia, direito, saúde e educação.

Foram analisadas duas amostras de cada um dos quatro bebedouros escolhidos nos prédios que apresentavam maior circulação de estudantes em períodos diferentes, início das aulas (março/2018) e metade do semestre (maio/2018).

Antes de começar a coleta do material para análise, foi realizada a desinfecção das torneiras dos bebedouros com álcool a 70°. Após a coleta de aproximadamente 150 mL de água, as amostras foram encaminhadas a um laboratório externo com certificado de reconhecimento ISSO/17025. Os frascos estéreis foram identificados de acordo com o número do prédio e a data da coleta. Para todas as amostras, foi adicionado 0,1 mL de um agente redutor, o Na₂S₂O₃ – tiosulfato de sódio. O tiosulfato de sódio neutraliza o cloro residual presente na água e impede a continuação da ação bactericida durante o deslocamento da amostra.

Os métodos usados para bactérias heterotróficas, coliformes totais e *Escherichia coli* visam atender as especificações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, publicação da *American Public Health Association (APHA)*, *American Water Works Association (AWWA)* e *Water Environment Federation (WEF)*,⁽⁸⁾ e para *Pseudomonas aeruginosa* o método utilizado é o Pseudalert da Idexx.⁽⁹⁾

Ao escolher o período de coleta das amostras, considerou-se a época em que as aulas haviam começado recentemente, visando a escassa circulação de estudantes e o período da metade do semestre, quando a circulação encontra-se frequente e intensa.

O método empregado para análise de coliformes totais e *Escherichia coli* denomina-se Presença-Ausência com substrato enzimático e consiste em uma reação enzima-substrato, resultando a liberação de uma substância cromogênica e fluorgênica com presença de cor amarela (coliformes totais) e fluorescência (*Escherichia coli*). A amostra deve ser analisada à temperatura ambiente, e após identificar-se um frasco estéril e transparente com o número da amostra medem-se 100 mL de amostra e vertem-se no frasco, adiciona-se o conteúdo de um flaconete de Colilert e homogeneiza-se o frasco com movimentos circulares até completa dissolução do reagente. Incubar em estufa a 35 ± 0,5°C por 24-28 horas.⁽⁸⁾ A leitura se faz conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Leitura de determinação de crescimento microbiano para Coliformes Totais e *Escherichia coli*.

Parâmetro verificado	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>
Coloração	Incolor	Ausente
	Amarelo	Presente
Luminescência (confirmar com a luz ultravioleta)	Ausente	Constatar coloração amarela
	Presente	Presente

Fonte: (APHA, AWWA, WEF, 2012)

O método utilizado para análise de bactérias heterotróficas é o *spread plate*, por meio do espalhamento uniforme da solução, pois esta técnica facilita a contagem de bactérias na placa. A amostra deve ser analisada à temperatura ambiente. Separar duas placas de petri contendo ágar

padrão para contagem a cada diluição. Na diluição homogênea-se a amostra 25 vezes por inversão e próximo ao bico de Bunsen pipeta-se 1 mL para um tubo estéril contendo 9 mL de água autoclavada. Homogeneizar o tubo em vórtex e continuar a diluição seriada até atingir a solução desejada. Para a inoculação, aproximar-se do bico de Bunsen e pipetar 100 uL da amostra no centro de cada placa. Espalhar a amostra movimentando o bastão (embebido em álcool a 96° e flambado) em círculos de dentro para fora da placa. Para cada análise, faz-se um branco, incubando uma placa sem amostra e um controle negativo. Incubam-se as placas invertidas em estufa monitorada a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 horas. Passado o tempo de incubação, conta-se o número de colônias presentes nas placas. A ausência de crescimento na placa de branco valida as análises.⁽⁸⁾

O método aplicado para análise de *Pseudomonas aeruginosa* nomeia-se Presença-Ausência com substrato enzimático e consiste em uma reação enzima-substrato. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* em crescimento têm uma enzima que cliva o substrato no reagente produzindo fluorescência azul sob luz ultravioleta. A amostra deve ser analisada à temperatura ambiente, e após identificar um frasco estéril e transparente com o número da amostra medem-se 100 mL de amostra e vertem-se no frasco, adiciona-se o conteúdo de um flaconete de Pseudalert e homogênea-se o frasco com movimentos circulares até completa dissolução do reagente. Incubar em estufa a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24-28 horas. Qualquer fluorescência em azul indica que a amostra é positiva para *Pseudomonas aeruginosa*.⁽⁹⁾

Tabela 2 - Primeira análise microbiológica da água em bebedouros de uma instituição de ensino superior de Caxias do Sul-RS

Bebedouro	Bactérias Heterotróficas	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	Não detectado	Ausente	Ausente	Não detectado
2	Não detectado	Ausente	Ausente	Não detectado
3	Não detectado	Ausente	Ausente	Não detectado
4	$4,5 \times 10^1$ UFC/mL	Ausente	Ausente	Não detectado

Fonte: A autora

Tabela 3 - Segunda análise microbiológica da água em bebedouros de uma instituição de ensino superior de Caxias do Sul/RS

Bebedouro	Bactérias Heterotróficas	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	$1,3 \times 10^3$ UFC/mL	Ausente	Ausente	Não detectado
2	$1,4 \times 10^3$ UFC/mL	Ausente	Ausente	Não detectado
3	$4,0 \times 10^2$ UFC/mL	Ausente	Ausente	Não detectado
4	$2,0 \times 10^3$ UFC/mL	Ausente	Ausente	Não detectado

Fonte: A autora

RESULTADOS

Os resultados obtidos neste estudo foram comparados com a legislação brasileira vigente para água potável. As coletas foram efetuadas em duas etapas estruturadas nas Tabelas 2 e 3.

Na primeira coleta não foram identificados resultados fora do limite, porém, mesmo que dentro dos parâmetros permitidos e em pouca quantidade, a amostra número 4 apresentou contagens para bactérias heterotróficas com $4,5 \times 10^1$ UFC/mL. Nas quatro amostras não foram detectadas *Pseudomonas aeruginosa* e não foram constatadas presenças para coliformes totais e *Escherichia coli* (Tabela 2).

Na segunda etapa, a amostra número 3 revelou bactérias heterotróficas, sem exceder o limite ($4,0 \times 10^2$ UFC/mL) e as outras três amostras exibiram contagens de bactérias heterotróficas acima do valor permitido por legislação, sendo a amostra 1 com $1,3 \times 10^3$ UFC/mL, amostra 2 com $1,4 \times 10^3$ UFC/mL e amostra 4 com $2,0 \times 10^3$ UFC/mL; nesta coleta também não foi identificada a presença dos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa*, coliformes totais e *Escherichia coli* (Tabela 3).

Portanto, a análise microbiológica da água dos bebedouros de uma instituição de ensino superior de Caxias do Sul apontou que das oito amostras coletadas, três delas mostraram-se alteradas conforme os padrões de potabilidade estabelecidos pela portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde.

DISCUSSÃO

No estudo de Freitas et al.,⁽¹⁰⁾ 90% das amostras tiveram crescimento de coliformes totais, apresentando um valor médio de 54 UFCs/cm², sendo considerado o valor de referência divulgado pela APHA de no máximo 50 UFC/cm².

O estudo de Rocha et al.⁽¹¹⁾ apresentou grande quantidade de coliformes totais em dois bebedouros destinados ao uso dos alunos, tendo obtido presença em respectivamente 80% e 60% das amostras; já a análise de *Escherichia coli* apresentou resultados idênticos ao deste estudo, os quais mostraram-se negativos para a presença deste microrganismo.

Os resultados obtidos por Mello e Resende,⁽¹²⁾ Castro et al.⁽¹³⁾ e Seco et al.⁽¹⁴⁾ corroboram com os resultados contidos neste estudo, onde 100% das amostras tiveram resultados negativos para coliformes totais e *Escherichia coli*.

Segundo a OMS,⁽¹⁵⁾ o aumento da concentração de bactérias heterotróficas indica uma falha no tratamento da água, contaminação pós-tratamento, presença de depósitos, biofilmes ou corrosão na tubulação. Esses dados fortalecem um estudo que analisou a qualidade da água utilizada na desinfecção do úbere de animais, equipamentos e utensílios de ordenha em propriedades leiteiras, onde, em 51% das amostras, foram encontradas contagens de *Escherichia coli*, sugerindo descuido na manutenção das caixas d'água, considerando-as possíveis veículos de transmissão de doenças para os animais e até irregularidade na qualidade do leite.⁽¹⁶⁾

No estudo de Almeida et al.,⁽¹⁷⁾ os resultados foram análogos a este estudo. Três de seis amostras excederam o máximo permitido para bactérias heterotróficas, ou seja, valores acima de 500 UFC/mL, e os autores explicam ainda que devido à falta de tratamento correto, esse fato conspira com a hipótese da influência inibidora que essas bactérias têm sobre outros organismos e sobre o grupo dos coliformes.

É de conhecimento que todos os bebedouros possuem um filtro de carvão ativado localizado em seu interior. Este tipo de filtro favorece a formação de biofilmes,⁽¹⁸⁾ uma vez que ele retém o cloro presente na água, a proliferação de microrganismos se torna elevada, resultando em acúmulo de matéria orgânica depositada no filtro, correspondendo potencialmente à nutrição das bactérias heterotróficas.

Em um estudo realizado para analisar bactérias heterotróficas na água de um caminhão-pipa, foram coletadas amostras que apresentaram resultados relativamente semelhantes em dois horários de coleta, manhã e tarde, mas em ambas as contagens excederam o limite de 500 UFC/mL. Isso justifica o favorecimento da temperatura na multiplicação destes microrganismos e também a falta de manutenção e higiene; além disso, 90% das amostras apresentaram presença de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* em incompatibilidade com os padrões estabelecidos pela legislação.⁽¹⁹⁾

Quiroz⁽²⁰⁾ diz que a maioria das bactérias heterotróficas geralmente não são patogênicas, mas algumas têm sido responsáveis por infecções oportunistas (como *Legionella* spp., *Micobacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp.) em pacientes hospitalizados, sendo os de maior risco aqueles em uso de antibióticos e em imunodeprimidos.

Uma pesquisa feita por Reis et al.⁽²¹⁾ mostrou quantidades aumentadas de contagens de bactérias heterotróficas

em relação à primeira e segunda coletas realizadas em bebedouros de parques de Curitiba/PR, em conjunto com o estudo presente, atribuindo-se para esta multiplicação de microrganismos fatores como a limpeza inadequada do local e aumento do número de alunos que utilizam estes bebedouros, visto que na metade do semestre a circulação se torna mais frequente e intensa.

De acordo com a portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde,⁽⁴⁾ a qual menciona que a água potável deve ter ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* em 100 mL de amostra, sendo que a presença da última é indicadora de contaminação fecal, é legítimo desconsiderar este tipo de contaminação nas amostras coletadas conforme dados da Tabela 2 e 3.

A resolução RDC nº 275/2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária⁽⁶⁾ menciona que, ao se analisarem cinco unidades de amostras individualmente, só poderá haver um resultado positivo, o qual não deve exceder duas unidades formadora de colônia. Este estudo apresentou ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em todas as amostras, porém, no trabalho realizado por Santos e Colombo,⁽²²⁾ 21 amostras positivaram para *Pseudomonas aeruginosa*. Este resultado é extremamente preocupante, pois entende-se que existe a possibilidade de propagação de infecções atingindo principalmente pessoas imunocomprometidas.⁽⁵⁾

CONCLUSÃO

Esta pesquisa de parâmetros microbiológicos apresentou a presença exclusivamente de bactérias heterotróficas nas águas dos bebedouros. Segundo os resultados obtidos neste estudo e baseado nos padrões de potabilidade estabelecidos pela portaria vigente 2.914/2011 do Ministério da Saúde, das segundas amostras de água coletadas dos quatro bebedouros, $\frac{3}{4}$ apresentaram quantidades de bactérias heterotróficas superiores ao aceitável pela legislação, na qual se adverte que a contagem não exceda o limite de 500 UFC/mL; portanto, é possível compreender que a água destes bebedouros estava imprópria para o consumo humano.

Apesar dos resultados terem sido negativos para *Pseudomonas aeruginosa*, coliformes totais e *Escherichia coli*, que é o principal indicador da qualidade da água, é indispensável a necessidade constante de higienização, assim como a conservação, limpeza e manutenção da água e destes bebedouros para que sejam eliminados os microrganismos presentes.

Logo, as análises microbiológicas foram fundamentais para se averiguar a qualidade da água disponibilizada neste período para alunos, professores e funcionários desta instituição, tendo em mente que é neste ambiente que eles passam o maior tempo do seu dia.

Agradecimentos

À equipe da Empresa Engequímica, Assessoria, Projetos e Engenharia Química Ltda, Caxias do Sul-RS pelo suporte financeiro nesta pesquisa.

Abstract

Objective: To evaluate the microbiological quality of drinking water from drinking fountains intended for human consumption at a higher education institution in Caxias do Sul-RS. **Methods:** The method used for heterotrophic bacteria was spread plate and for total coliforms, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa the method is absence or presence with enzyme-substrate. Eight samples were collected, each with approximately 150mL of water in sterilized bottles, after disinfection of the drinking nozzles with 70%. **Results:** In the first collection, the drinker 4 was the only one that presented alterations, with a presence of $4,5 \times 10^1$ of heterotrophic bacteria, however this level was in agreement with the quantity allowed. In the second sample, all samples were positive for heterotrophic bacteria, but the number 3 sample was within the limit accepted by the legislation, the others showed results higher than 500 CFU/mL. All Samples were negative for the analyzes of Pseudomonas aeruginosa, total coliforms and Escherichia coli. **Conclusion:** Although the results were negative for Pseudomonas aeruginosa, total coliforms and for Escherichia coli, three samples presented higher values than those accepted by Ministry of Health Ordinance 2914/2011 for heterotrophic bacteria. It is concluded that this water is considered inadequate for human consumption, based on the potability standards established by the aforementioned ordinance.

Keywords

Pseudomonas aeruginosa; Escherichia coli; heterotrophic bacteria; drinking water

REFERÊNCIAS

- World Health Organization (WHO). Drinking water. Geneva (SWI); 2018.
- Heller L, Pádua VL. Abastecimento de água para consumo humano. 2ª ed. Belo Horizonte: Editora UFGM, 2010.
- Libânio M. Fundamentos de qualidade e tratamento de água. 3ª ed. São Paulo: Editora Átomo, 2010.
- Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União 16 dez 2011; seção 1.
- Saranghi PP. Biochemical characterization and antibiotic resistance of some medically important bacterial isolates. Rourkela. Dissertação [mestrado em Life Science] - National Institute of Technology; 2011.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 275, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural [resolução RDC na internet]. Diário Oficial da União 23 set 2005; seção 1.
- Matos, BA. Avaliação da ocorrência e do transporte de microrganismos no aquífero freático do cemitério de Vila Nova Cachoeirinha, município de São Paulo. São Paulo. Tese [Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia] - Universidade de São Paulo, Instituto de Geociências; 2001.
- APHA, AWWA, WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22. ed. Washington: American Public Health Association, 2012.
- Idexx. Pseudalert. Idexx Laboratories [Internet]. 2016 [acesso em: 12 jun 2018];33(05):7. Disponível em: https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/e2/ff/e2ffda2-7443-4613-b8d2-fd0e48420b42/pseudalert-procedure-rev-en.pdf
- Freitas LL, Silva KC, Souza TM, Demarque ILD, Agostinho L, Fernandes F. Quantificação microbiológica de bebedouros de escolas públicas em Muriaé - MG. Revista Científica de Faminas. 2013 Fev; 9(1): 85-6.
- Rocha FAG, Bezerra JRG, Souza JAB, Bezerra LKMR, Pontes EDM, Araújo MFF. Padrão microbiológico de potabilidade da água destinada ao uso humano no IFRN, Câmpus Currais Novos. In: 7º Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação [evento na internet]. 2012 19-21out; Palmas, Tocantins [acesso em 11 jun 2018]. Disponível em: <http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/1570/1601>.
- Mello CN, Resende JCP. Análise microbiológica da água dos bebedouros da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais campus Betim. Sinapse Múltipla. 2015 Jul; 4(1): 16-28.
- Fabri RL, Castro Ade S, Silva BM da. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da água dos bebedouros de uma instituição de ensino superior de Juiz de Fora, Minas Gerais. Nutrir Gerais. 2013 Jul;7(12):984-98.
- Seco BMS, Burgos TN, Palayo JS. Avaliação bacteriológica das águas de bebedouros do campus da Universidade Estadual de Londrina - PR. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. 2012 Jul; 33(2): 193-200. doi: 10.5433/1679-0367.
- WHO. Safe piped water, managing microbial water quality in piped distribution systems. World Health Organization [Internet]. 2004 [acesso em: 12 jun 2018]; 6. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42785/924156251X.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Piana SC, Piana SC, Fariña LO, Falconi FA, Busarello JJ. Avaliação da qualidade microbiológica da água de propriedades leiteiras dos municípios de Campo Bonito, Cascavel e Guaraniaçú - PR. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde. 2014 Jan;35(1):25-34.doi: 10.5433/1679-0367.
- Almeida TM, Barros RO, Minâm DC, Viterbo DP, Conceição FPS, Silva CS, et al. Avaliação de conformidade dos parâmetros microbiológicos da água utilizada para irrigação, no Riacho do Cascão, Salvador - BA. Candombá. 2011 Jan;7(1): 01-9.
- Daschner FD, Rüdten H, Simon R, Clotten J. Microbiological contamination of drinking water in a commercial household water filter system. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996 Mar;15(3):233-7.
- Mendonça MHM, Roseno SAM, Cachoeira TRL, Silva AFS, Jácome PRLA, Júnior ATJ. Análise bacteriológica da água de consume comercializada por caminhões-pipa. Rev. Ambient. Água [Internet]. 2017 May;12(3):468-475. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2017000300468&lng=en. doi.org/10.4136/ambi-agua.1934.
- Quiroz CC. Água embotellada y su calidad bacteriológica. Água Latinoamérica [Internet]. 2002 [acesso em: 12 jun 2018]; 38-9. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd56/agua.pdf>.
- Reis F, Dias CR, Abrahão WM, Murakami FS. Avaliação da qualidade microbiológica de águas e superfícies de bebedouros de parques de Curitiba - PR. Visão Acadêmica. 2012 Jan;13(1): 64-7.
- Santos G, Colombo TE. Prevalência de Pseudomonas aeruginosa em águas e superfície. J Health Sci Inst. 2015;33(4):314-8.

Correspondência

Daiane Soares Glowacki
Rua Os Dezoito do Forte, 2366,
95020-472 - Caxias do Sul-RS, Brasil

Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de sucos de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) sobre cepas de *Escherichia coli* responsáveis por infecção urinária

Evaluation of the antibacterial activity of cranberry juices (Vaccinium macrocarpon) on Escherichia coli strains responsible for urinary infection

Ludmila Pini Simões¹

Louremi Bianchi Gualda de Souza²

Resumo

Objetivo: Analisar o efeito antimicrobiano de sucos de cranberry concentrados, sobre cepas de *Escherichia coli*. **Métodos:** Difusão em disco, difusão em poços e microplaca, utilizando a cepa ATCC 25922 da bactéria *E. coli*. **Resultados:** Os resultados foram comparados com o controle positivo e negativo e dados encontrados na literatura para melhor compreensão da sua possível atividade antibacteriana. O resultado final encontrado foi que o suco de cranberry não tem nenhuma atividade contra o crescimento da cepa de *Escherichia coli* diante dos métodos realizados. **Conclusão:** Não houve atividade antimicrobiana do suco de cranberry sobre cepas de *Escherichia coli*.

Palavras-chave

Vaccinium macrocarpon; *Escherichia coli*; infecções urinárias

INTRODUÇÃO

O presente estudo é de caráter experimental, visando descrever a eficiência da *Vaccinium macrocarpon* sobre o crescimento de cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*), analisando a possibilidade de sua característica bactericida.

A infecção do trato urinário é uma patologia que consiste na colonização da urina por bactérias e consequente invasão dos tecidos da estrutura do trato urinário. É uma patologia que tem prevalência em todas as populações, porém atinge principalmente o sexo feminino.⁽¹⁾ Aproximadamente 50% a 70% das mulheres apresentam pelo menos um episódio de ITU em suas vidas, sendo que 20% a 30% destas apresentam episódios recorrentes. No entanto, a real incidência de ITU é provavelmente subestimada, porque pelo menos metade de todas as infecções urinárias se resolve sem atenção médica.⁽²⁾

Do ponto de vista clínico, as infecções do trato urinário (ITUs) são divididas em inferiores, quando atingem somente a bexiga, e superiores, que chegam ao parênquima renal, sendo que a contaminação pode ocorrer por três vias: a via ascendente, que seria a partir da flora fecal e uretral; a via hematogênica, em que a bactéria contamina o sangue e

infecta secundariamente o trato urinário, e, por último, a via linfática.⁽³⁾

O agente etiológico mais comum nas ITUs é a *Escherichia coli*, mas também existem outras bactérias frequentemente isoladas, como *Klebsiella* spp., e outras, como *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus saprofiticus*.⁽³⁾ Segundo Blatt e Miranda (2005),⁽⁴⁾ em pacientes hospitalizados a *E. coli* se apresentou como agente etiológico em 40% dos casos de infecções do trato urinário.

A *E. coli* provoca infecções do trato urinário consideradas mais simples, e sua virulência está ligada a forte adesão de suas fimbrias ao epitélio urinário.⁽⁵⁾ Mulheres se contaminam com maior frequência por apresentarem uretra mais curta e assim ascendência de bactérias à bexiga.⁽⁶⁾

A *E. coli* adquiriu com o passar do tempo grande resistência à maioria dos antibióticos, como as ampicilinas, tetraciclina, estreptomycin, sulfametoxazoles e carbenicilinas. Ainda que a resistência a antimicrobianos como nitrofurantoína e fluoroquinolonas tenha permanecido baixa, já se tem observado um visível aumento, o que pode ser explicado pelo uso indiscriminado desses antibióticos.⁽⁷⁾

A *Vaccinium macrocarpon*, conhecida popularmente como cranberry, arado-vermelho ou oxicoço, é um fruto

¹Farmacêutica / UniCesumar. Mestranda em Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual de Maringá (URM) – Maringá-PR, Brasil.

²Farmacêutica/UEM e mestre em Ciências de Alimento – Universidade Estadual de Londrina (UEL) - Londrina-PR, Brasil.

Instituição: Centro Universitário de Maringá – UniCesumar – Maringá-PR, Brasil.

Recebido em 12/06/2018

Artigo aprovado em 27/06/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900745

pequeno, globoso e vermelho.⁽⁷⁾ É composto por água, alguns ácidos orgânicos, glicose, ácido ascórbico, frutose e proantocianidinas.⁽⁸⁾ Vem sendo utilizado comumente na profilaxia das ITUs, e seu uso está relacionado principalmente a duas atividades dos compostos do fruto: a inibição da aderência das fímbrias da *E. coli* a um dissacarídeo específico da galactose presente nas células uroepiteliais e a acidificação da urina, inibindo o crescimento de patógenos.⁽⁹⁾ Seu uso é profilático e principalmente usado no caso de reinfecções sucessivas, com falhas na antibioticoterapia.⁽⁷⁾

O presente trabalho tem como objetivo analisar o efeito antimicrobiano do suco de cranberry contra *E. coli*. O estudo do efeito antimicrobiano possibilita fundamentar a terapia profilática com cranberry, possibilitando assim uma alternativa ao uso de antimicrobianos, por meio de experimentos microbiológicos testando a cepa *E. coli* com o suco.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o processo de padronização da suspensão bacteriana, utilizou-se como microrganismo de referência a cepa de *Escherichia coli*, ATCC 25922, pura. Em salina estéril, padronizou-se a suspensão bacteriana até atingir uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala MacFarland, que corresponde aproximadamente a 10^8 Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL). Para o teste de microdiluição, essa suspensão foi diluída em salina estéril a 1/10, correspondendo assim a 10^7 UFC/mL.

Sequencialmente utilizou-se o processo de preparo da solução para controle positivo das técnicas, preparando-se uma suspensão de ciprofloxacina 2 mg/mL, sendo diluída 1/100 duas vezes, logo após tendo uma diluição 1/50 em soro fisiológico estéril obtendo-se a concentração de 0,004 µg/mL.

As amostras foram obtidas em uma rede atacadista de alimentos na cidade de Maringá, PR.

Para os testes antibacterianos, utilizaram-se os métodos de difusão Agar I e II, sendo que, para o primeiro, durante a avaliação do suco, foram inseridos 10 µL do mesmo em cada disco, sem realizar diluições. Inoculou-se assepticamente e uniformemente, com o auxílio de *swab*, cepa de *E. coli* (10^8 UFC/mL) em placas com Ágar Muller-Hinton (AMH), sendo inoculados três discos por placa. Para controle também foram submetidos discos dos antimicrobianos ciprofloxacina e sulfametoxazol + trimetopim disponíveis no mercado, em todas as placas, totalizando nove placas de testes. Incubaram-se as placas a 36°C por 24 horas. Após incubação foram realizadas as interpretações dos halos de inibição de crescimento ao redor do disco, medidos em mm, e para o segundo (difusão Ágar II) utilizaram-se nove placas de Ágar Muller-Hinton, inoculan-

do-se cepa de *E. coli* (10 UFC/mL) pela mesma técnica anteriormente descrita. Em seguida, foram perfurados três poços para as placas de avaliação do suco, de aproximadamente 6,0 mm, permitindo um espaço de 30 mm entre cada poço. Volumes fixos do suco (0,1 mL) foram então introduzidos nos orifícios da placa. Em cada placa utilizou-se um poço com ciprofloxacina 0,004 mg/mL como controle positivo, e como controle negativo usou-se salina.

Em seguida, as placas foram deixadas na bancada do laboratório por 40 minutos, para pré-difusão das diluições do suco e do antimicrobiano. Posteriormente foram incubadas a 36°C por 24 horas. A obtenção dos resultados foi realizada através da determinação do halo de inibição de crescimento ao redor do poço, medidos em mm.

O método em microplaca, onde aos orifícios da coluna 1 da linha A ao H foram adicionados 100 mL da solução de ciprofloxacina 0,004 mg/mL + meio de cultura Muller-Hinton, apresentou controle positivo. Para o controle negativo foi usado somente meio de cultura Muller-Hinton + salina estéril. Para o teste com o suco pronto para o consumo, adicionaram-se 100 mL em todos os orifícios nas colunas 3 a 11, da linha A à H, sem realizar diluições, sendo que nas colunas 3, 4 e 5 foi utilizado o suco 1; nas colunas 6, 7 e 8 o suco 2; e nas colunas 9, 10 e 11 o suco 3.

RESULTADOS

Para os métodos testados, pode-se observar que na difusão em Ágar I, nenhuma das três amostras de suco testadas apresentou efeito significativo sobre o crescimento bacteriano, visto que não houve formação de halo inibitório, demonstrando inatividade sobre a bactéria testada. O teste foi validado, uma vez que os controles positivos apresentaram efeito satisfatório sobre a cepa utilizada; da mesma forma, o controle negativo não demonstrou atividade alguma.

Em mesma análise, considerando a metodologia utilizada na difusão Ágar II, sua interpretação foi de que o crescimento bacteriano sem formação de halo inibitório em torno dos poços contendo as amostras testadas indica ausência de atividade antimicrobiana, dado que o controle positivo apresentou halo de inibição sobre o crescimento bacteriano.

Por fim, o método em microplaca indicou que o suco da fruta cranberry não tem nenhuma atividade antibacteriana, pois nos poços onde foram colocadas as três amostras de suco houve turvação e precipitação indicando crescimento bacteriano. O teste foi validado visto que o controle positivo não turvou e o branco também não indicou ausência de contaminação.

Os resultados obtidos nesse experimento mostraram que, através dos métodos de difusão em Ágar e diluição em microplaca, foi possível observar ausência de atividade

de antibacteriana do suco do fruto *Vaccinium macrocarpon* (cranberry), sobre a cepa de *E. coli* ATCC 25922, pois não houve a formação de halo de inibição em nenhum dos três sucos testados, e também houve turvação nos sucos na diluição da microplaca indicando crescimento bacteriano.

DISCUSSÃO

Outro estudo em andamento na Universidade da Califórnia apresentou dados preliminares que sugerem que o suco de cranberry tem alguma atividade antibacteriana, através de uma preparação cinco vezes mais concentrada que o suco comercialmente disponível, mostrando que o cranberry pode ter, sim, ação inibitória além da profilática já demonstrada.⁽⁶⁾

Em outro estudo observa-se a atividade da cranberry frente a *E. coli* e outras bactérias, porém, observa-se que o método utilizado *in vitro*, diferencia-se a fim de observar a diminuição dos fatores de virulência da bactéria, assim como a execução de um método *in vivo*. Além destas diferenças, observa-se a dose-dependência do efeito do cranberry, a qual foi testada em mais de uma concentração e forma comercial.⁽¹⁰⁾

Fundamenta-se a utilização do cranberry como medida profilática ao aumento da incidência de infecções do trato urinário, principalmente em indivíduos do sexo feminino, através de estudos que comprovam a atividade de seus metabólitos inibindo a adesão da *E. coli* uropatogênica ao tecido uroepitelial, atividade esta relacionada principalmente as proantocianidinas presentes no cranberry.^(10,11)

CONCLUSÃO

Com base nos resultados observados neste e em outros estudos podemos considerar que o cranberry apresenta ação sobre a virulência da *E. coli*, porém, neste estudo não apresentou atividade bacteriostática e bactericida frente à bactéria cultivada em meio de cultura. Entretanto, usando-se concentrações, metodologias e formas comercializadas diferentes em outros estudos, observou-se que o cranberry inibe a adesão da *E. coli* às células uroepiteliais. Para isso a metodologia deveria envolver o fator de adesão às células e considerar a variabilidade biológica.

Abstract

Objective: Within this context the aim of this study was to analyze the antimicrobial effect of concentrated cranberry juice, on *Escherichia coli*.

Methods: Testing as disk diffusion, diffusion in microplate wells and using the ATCC 25922 strain of *E. coli* bacteria. **Results:** The results were compared with the positive and negative control, and data in the literature, for better understanding of their potential antibacterial activity. The end result was found that cranberry juice has no activity against the

growth of *Escherichia coli* strain before realized methods. **Conclusion:** There was not antimicrobial activity of cranberry juice on strains of *Escherichia coli*.

Keywords

Vaccinium macrocarpon; *Escherichia coli*; urinary infections

REFERÊNCIAS

1. Rangel M, Tressa Y, Zago SS. Infecção urinária do diagnóstico ao tratamento. *Colloquium Vitae*. 2013;5(1):59-67. DOI: 10.5747/cv.2013.v005.n1.v075
2. Azevedo CP, Silva JO. Avaliação do perfil de resistência da *Escherichia coli* isolada de uroculturas e correlação com antibioticoterapias empíricas atualmente propostas. *Revista Multidisciplinar de Saúde*, ano IV, n. 7, p. 2-17, 2012.
3. Correia CM, Costa E, Peres AM, Alves M. Etiologia das infecções do trato urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. (2007).
4. Blatt JM, Miranda MC. Perfil dos microrganismos causadores de infecções do trato urinário em pacientes internados. *Rev Panam Infectol*. 2005;7(4):10-4.
5. Jesus TFP. O mirtilo e suas propriedades terapêuticas. Projeto de Pós-Graduação/Dissertação apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. 2013. Artigo disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/3970>.
6. Hisano M, Bruschini H, Nicodemo AC, Srougi M. Cranberries and lower urinary tract infection prevention. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012; 67(6):661-8.
7. Korb A, Nazareno ER, Mendonça FA, Dalsenter PR. Perfil de resistência da bactéria *Escherichia coli* em infecções do trato urinário em pacientes ambulatoriais. *Rev Biol Ciênc Terra*. 2013;13(1):72-9.
8. Pina A, Figueiredo AR, Campos A, Ferreira CP, Lopes I, Alves NF, et al. Arando na profilaxia das infecções urinárias recorrentes: revisão baseada na evidência. *Rev Port Clin Geral*. 2011;27(5):452-457.
9. Raz R, Chazan B, Dan M. Cranberry juice and urinary tract infection. *Clin Infect Dis*. 2004 May 15;38(10):1413-9.
10. Lavigne JP, Bourg G, Combescure C, Botto H, Sotto A. In-vitro and in-vivo evidence of dose-dependent decrease of uropathogenic *Escherichia coli* virulence after consumption of commercial *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) capsules. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Apr;14(4):350-5. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01917.x
11. De Llano DG, Esteban-Fernández A, Sánchez-Patán F, Martín Ivarez PJ, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B. Anti-Adhesive Activity of Cranberry Phenolic Compounds and Their Microbial-Derived Metabolites against Uropathogenic *Escherichia coli* in Bladder Epithelial Cell Cultures. *Int J Mol Sci*. 2015 May 27;16(6):12119-30. doi: 10.3390/ijms160612119.

Correspondência

Ludmila Pini Simões

Av. Guedner, nº 1610 - Jardim Aclimação
Maringá - PR, Brasil

Compêndio de métodos e de boas práticas em coleção de cultura de leveduras do Instituto de Biologia do Exército

Compendium of methods and good practices in yeast culture collection of the Brazilian Army Biology Institute

Marcos Dornelas Ribeiro¹

Eliane Olmo Pinheiro²

Alberto Magno Lobo Colares³

Andre Luis Meriano Figueiredo³

Vanusa Guimarães Dutra¹

Caleb Guedes Miranda dos Santos⁴

Paulo Murillo Neufeld⁵

Resumo

Objetivo: O Compêndio de Métodos e de Boas Práticas em Coleção de Cultura de Leveduras do Instituto de Biologia do Exército (IBEx) foi elaborado com o propósito de operacionalizar as atividades de pesquisa, garantindo o desempenho seguro e confiável dos seus objetivos regimentais. **Métodos:** A Coleção de Cultura de Leveduras do IBEx foi criada a partir de cepas isoladas de quadros de candidíase sistêmica, através da utilização de metodologias manuais e automatizadas para autenticação das mesmas, com o propósito de garantir a pesquisa científica e atividades de ensino. **Resultados:** O Instituto adequou e modernizou seus laboratórios de pesquisa criando o Centro de Estudos em Biodefesa, com Nível de Biossegurança NB-3. Com base na necessidade de organização para atender às demandas da defesa biológica, o IBEx vem aprimorando sua estrutura para dominar e garantir novas tecnologias de identificação e manejo dos microrganismos envolvidos em Bioterrorismo. **Conclusão:** A compilação de metodologias na forma de um Compêndio proporcionou a operacionalização da Coleção de Cultura do IBEx.

Palavras-chave

Leveduras; técnicas de laboratório clínico; hemocultura; pesquisa científica e desenvolvimento tecnológico

MEMORIAL DA INSTITUIÇÃO

Ao final do século XIX, Ismael da Rocha e Oswaldo Cruz concretizaram o sonho de ver instalado no Brasil um laboratório de pesquisa aos moldes do Instituto Pasteur, da França. Em 19 de dezembro de 1894 foi assinado pelo Presidente Prudente de Moraes o decreto de nº 1.915 criando o Laboratório Militar de Microscopia Clínica e Bacteriologia aos moldes do Instituto francês. As atividades iniciaram em 2 de julho de 1896, na rua atualmente conhecida como Senador Furtado, no bairro do Maracanã, na cidade do Rio de Janeiro. Na transição do ano de 1898 para 1899, suas instalações foram transferidas para a Rua General Canabarro 40, também no bairro do Maracanã, permanecendo nesse local até 1907. A partir dessa data, o laboratório passou a funcionar no Pavilhão Rodrigues Alves do Hospital Central do Exército (HCE), na rua Francisco Manuel, no bairro de Triagem. Posteriormente teve nova

nomenclatura: Laboratório Militar de Bacteriologia. Assim permaneceu até o período provisório do governo de Getúlio Vargas, que em 13 de janeiro de 1932, por meio do Decreto de nº 20.943, deu-lhe nova denominação: Instituto Militar de Biologia, momento no qual adquiriu, em definitivo, seu atual endereço no bairro de Triagem, no Rio de Janeiro. Por fim, em 12 de abril de 1943, recebeu a denominação Instituto de Biologia do Exército.

Hoje ocupa três regiões distintas: a sede, em Triagem, a sua área de produção veterinária, no Campo de Instrução de Gericinó (CIG), e parte do prédio anexo do Hospital Geral do Rio de Janeiro (HGeRJ) com o posto avançado de captação de sangue e coleta de sangue para exames laboratoriais.

A estrutura organizacional do IBEx é composta pelas Divisões Técnica, Veterinária, Banco de Sangue e Soros e Vacinas, Ensino e Pesquisa, Administrativa, além das assessorias de Gestão da Qualidade e de Vigilância em Saúde.

¹Doutor (a) em microbiologia Instituto de Biologia do Exército – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

²Bacharel em Farmácia Bioquímica/UERJ - Estudante de Mestrado. Brasil.

³Farmacêutico-Bioquímico – Instituto de Biologia do Exército – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

⁴Doutor em Ciências Biológicas - Biofísica – Instituto de Biologia do Exército – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

⁵Prof. Doutor em Vigilância Sanitária - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) / Univ. do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Rio de Janeiro-RJ, Brasil. Instituição: Instituto de Biologia do Exército – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

Recebido em 28/02/2019

Artigo aprovado em 05/04/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900828

A Divisão de Ensino e Pesquisa (DEP) do IBEx, desde a origem do Instituto até os dias atuais, vem se sobressaindo no campo de formação técnica e investigação científica na área da Saúde. No ensino, contribui realizando cooperações de instrução com diversos cursos militares operacionais, além de abrigar três cursos do Programa de Capacitação de Militares de Saúde (Procap/SAU) da Diretoria de Saúde, promovendo a atualização dos militares desse Serviço. Na pesquisa, o resultado de seus experimentos e produção científica tem sido divulgado em publicações internacionais em áreas como Microbiologia, Defesa Biológica, Genética Humana e Genética Forense, possibilitando a criação do Mestrado em Defesa Biológica, reconhecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Somado a isso, o IBEx adequou e modernizou seus laboratórios de pesquisa, criando o Centro de Estudos em Biodefesa, que dispõe de um laboratório com nível de contenção biológica superior e que gerencia o laboratório de Biossegurança NB-3, componente importante do Sistema de Defesa Química, Biológica, Radiológica e Nuclear do Exército (SisDQBRNEx).

Tendo em vista a necessidade de organização para atender às demandas da defesa biológica, o IBEx vem buscando sua capacitação, adequação e estruturação para dominar a tecnologia de identificação e manejo dos microrganismos envolvidos em bioterrorismo, tanto no que tange às metodologias quanto no que se refere a equipamentos e estrutura física. Nesse contexto, o Exército Brasileiro tem feito aquisições de equipamentos e executado projetos como a construção de um Laboratório de Defesa Biológica (LDB), com nível 3 de Biossegurança (NB3), no IBEx, como mencionado anteriormente, para a caracterização de agentes envolvidos em guerra biológica e bioterrorismo. O LDB deverá servir de base técnico-científica em âmbito nacional para estudos e apoio a outras instituições (públicas e privadas) comprometidas direta ou indiretamente com a segurança nacional e desenvolvimento de pesquisas.

O IBEx mantém hoje estreito relacionamento com instituições renomadas de pesquisas no cenário nacional, a partir do convênio com a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), através do Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes e Vetores (Laficave), dos Programas de Incentivo à Pesquisa em Defesa Nacional (Pró-Defesa III) com projetos entre o IBEx e a Universidade Federal do Rio de Janeiro e a Universidade do Estado do Rio de Janeiro e das parcerias com a Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, entre outros. O IBEx faz parte, em conjunto com a Fiocruz, UFRJ, UENF e outras Instituições de pesquisa, da Rede de Monitoramento de Dengue, Zika e Chikungunya no estado do Rio de Janeiro. Além dessas parcerias, o IBEx apoia tecnicamente o curso de Mestrado

Profissional em Saúde, Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense (MPSMLTF) da UERJ.

INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas, a incidência de infecções sistêmicas apresentou aumento significativo devido a fatores como Aids, transplantes de órgãos e medula óssea, uso de citostáticos e quimioterápicos, corticoterapia, antibioticoterapia, técnicas cirúrgicas invasivas e acesso vascular. Dentre os agentes fúngicos, *Candida* spp. é, indubitavelmente, o microrganismo mais envolvido em casos de infecção em pacientes imunocomprometidos. Além disso, essas leveduras têm se mostrado mais resistentes às drogas antifúngicas de uso clínico, principalmente quando espécies de *Candida* não *albicans* estão presentes. Importa mencionar que, de fato, qualquer organismo fúngico que apresente algum fator de patogenicidade poderá causar potencialmente infecção, a princípio, em indivíduos que pertençam a populações vulneráveis.^(1,2)

As infecções fúngicas são a maior causa de morbimortalidade, principalmente em pacientes com malignidades hematológicas, sendo candidíases e aspergiloses os processos mais prevalentes (cerca de 90%).⁽³⁾ Há consenso na literatura sobre o aumento na incidência das infecções fúngicas invasivas e alteração no espectro dos agentes etiológicos.⁽⁴⁾

CANDIDÍASE SISTÊMICA

Candidíases invasivas continuam liderando as causas de intercorrências fúngicas em pacientes imunocomprometidos em Unidades de Terapia Intensiva. A instituição de rápida e adequada terapia tem mostrado uma redução significativa nas taxas de morbidade e mortalidade e permitido a redução geral de custos hospitalares. Embora a *Candida albicans* permaneça sendo o principal agente responsável por infecções relacionadas à assistência à saúde, espécies de *Candida* não *albicans*, como o complexo *C. glabrata*, complexo *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, complexo *C. guilliermondii*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae* e *C. krusei* têm emergido como significantes patógenos oportunistas. Dada a inerente variabilidade nos perfis de susceptibilidade antifúngica de diferentes espécies de *Candida* e a emergência de infecções por mais de uma espécie, a identificação correta da espécie é necessária para a melhor decisão terapêutica do clínico e conhecimento do comportamento epidemiológico.⁽⁵⁾

A candidíase sistêmica é a uma das formas micóticas mais polimórficas e, em muitos casos, se configura como um achado terminal. Comumente apresenta-se com sinais e sintomas inespecíficos, provas sorológicas inconclusivas e com a necessidade de equipamentos

específicos para o isolamento e identificação do microrganismo.^(6,7) Além disso, estão presentes altos percentuais de mortalidade e o custo de tratamento com frequência é elevado.⁽⁸⁾

Vários fatores são atribuídos ao risco de desenvolvimento de candidíase invasiva. A candidemia é observada, particularmente, entre pacientes hospitalizados por longos períodos de tempo, tendo como fatores predisponentes para fungemias, tratamentos com antibióticos de amplo espectro, quimioterapia, transplantes, uso de cateteres, nutrição parenteral, procedimentos invasivos múltiplos, neutropenia, pacientes imunossuprimidos e formação de biofilmes.^(9,10)

O complexo *Candida albicans* ainda é considerado a espécie mais comum em candidemias, porém, o aumento das taxas de candidemia por *Candida tropicalis*, complexo *Candida parapsilosis*, complexo *Candida glabrata* e *Candida krusei* tem sido relatado em todo o mundo. A razão para emergência de espécies não *albicans* não está ainda completamente elucidada, mas algumas condições médicas podem produzir impacto no risco de desenvolvimento de candidemia por essas espécies. O complexo *Candida parapsilosis* é responsável por candidemias a partir do uso de cateteres e nutrição parenteral, *Candida tropicalis* está mais associada a neoplasias e neutropenias, e *Candida krusei* e complexo *Candida glabrata* estão mais associadas a candidemias de correntes de prévia exposição a azólicos.⁽⁸⁾

Diversas espécies de *Candida* isoladas em hemocultura demonstram sensibilidade à anfotericina B e ao fluconazol, porém, existem algumas exceções, como os isolados de *Candida krusei*, que são intrinsecamente resistentes ao fluconazol, e algumas do complexo *Candida glabrata*, que possuem sensibilidade reduzida a azólicos. A correta identificação da espécie e o teste de susceptibilidade são dados fundamentais para o adequado manejo das candidemias.⁽¹¹⁾

IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS

Recentemente, as tecnologias para a identificação de leveduras têm avançado significativamente com métodos que incluem desde ensaios bioquímicos manuais e automatizados até ensaios baseados em análises de ácidos nucleicos e proteômica. Com o uso de métodos micrológicos convencionais (tubo germinativo, produção de clamidósporos e meio cromogênico), a identificação de espécie de leveduras pode requerer de alguns dias a várias semanas. Alguns desses métodos, inclusive, não apresentam eficácia na identificação de espécies menos comuns. Embora as técnicas moleculares tenham aumentado consideravelmente a capacidade de identificação de leveduras, muitas delas estão associadas com custos elevados, complexida-

de de execução e necessidade de um conhecimento técnico específico. Diante desse quadro, a Espectrometria de Massas por Tempo de Voo (MALDI-TOF MS) se apresenta como uma alternativa promissora para a identificação rotineira de espécies de leveduras clínicas.⁽⁵⁾

Produção de Tubo Germinativo

O complexo *Candida albicans* tem a capacidade de produzir tubos germinativos na presença de soro (humano) ou meio hiperproteico, incubados à temperatura de 35°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), por um período de 2-3 horas.⁽¹²⁾ O teste é simples, eficiente e econômico para triagem e identificação de *C. albicans*. Aproximadamente, 95,97% dessas leveduras produzem tubo germinativo, contudo *Candida dubliniensis* e *Candida tropicalis* também são capazes de induzir crescimento de hifas nas mesmas condições que o complexo *Candida albicans*.⁽¹³⁾

Procedimento técnico:

- Inocular fragmentos de culturas de leveduras (após crescimento em ágar batata dextrosado - BDA, por 24-48 h) em 0,4 mL de soro humano, utilizando agulha ou alça bacteriológica;
- Incubar os tubos por um período de 2-3 h, a $35^\circ \pm 2$;
- Colocar uma alíquota da suspensão entre lâmina e lamínula e examinar em microscópio com objetiva de 40x, procurando observar a produção de tubos germinativos.

Produção de Clamidósporos

Sob condições não ótimas de crescimento, *Candida albicans* pode desencadear a formação de clamidósporos, que são estruturas arredondadas e refringentes com uma parede celular espessa.⁽¹⁴⁾

Diversos meios de cultura são propostos para a indução de clamidósporos, sendo que os mais comuns possuem um baixo valor nutricional e altas taxas de carbono/nitrogênio. Para que haja a diminuição da tensão superficial, agentes como o Tween 80 são adicionados. O meio de ágar milho é o meio de eleição para a produção de clamidósporos.⁽¹²⁾

Procedimento técnico:

- Semear as colônias de leveduras através de estrias paralelas em ágar milho com Tween-80 (1%);
- Cobrir a superfície do meio com lamínulas estéreis, ficando estas sobre as estrias;
- Incubar à temperatura de 30° C, por 48-96 horas;
- Retirar as lamínulas, montá-las em lâminas e examinar em microscópio com objetiva de 40x, procurando observar a formação de clamidósporos.

Identificação Cromogênica

Essa identificação é procedida em um meio de cultura diferencial, que facilita o isolamento e a identificação presuntiva de algumas espécies de leveduras clinicamente importantes, a partir da coloração de suas colônias.⁽¹⁵⁾

Substratos cromogênicos são adicionados como constituintes no meio, o que, com o desenvolvimento das leveduras, determina o surgimento de colônias de cores características para cada espécie (Figura 1).

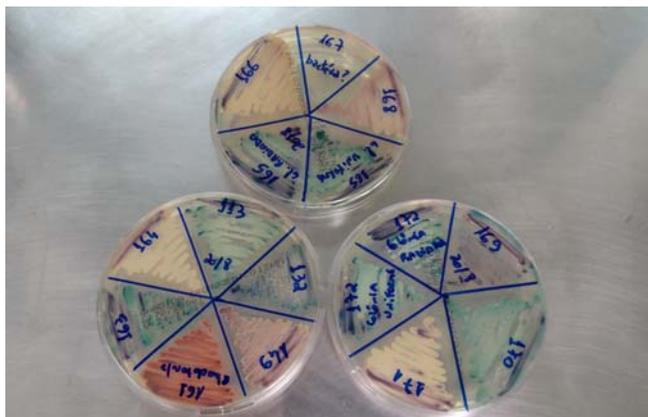


Figura 1. Meio cromogênico CHROMágar® - *Candida*.

A utilidade do meio cromogênico, contudo, é limitada, pois esses meios são capazes de discriminar um número restrito de leveduras (complexo *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*) e também porque múltiplas espécies de leveduras podem desenvolver cores semelhantes, afetando assim, a especificidade.⁽¹⁶⁾

O meio permite a identificação do complexo *Candida albicans* pela coloração verde produzida, *Candida tropicalis* pela coloração azul petróleo e *Candida krusei* pela coloração rosa e textura seca.⁽¹⁷⁾ Outras espécies de *Candida* desenvolvem coloração entre branca e malva.

Procedimento técnico:

- Semear os isolados de leveduras em meio cromogênico;
- Incubar a 35°C ±2, por 24 horas;
- Observar a cor exibida pelas colônias e identificar segundo orientações do fabricante.

Análise por Bioquímica Automatizada: Vitek 2

O Vitek 2 é um sistema automatizado correntemente utilizado em rotinas de laboratórios de microbiologia clínica. O equipamento realiza automaticamente os processos necessários para a identificação bioquímica de microrganismos e determinação da susceptibilidade a antimicrobianos, utilizando um inóculo primário isolado de culturas positivas. Embora os métodos de identificação clássicos, manuais e morfológicos ainda sejam considerados padrão ouro, esses métodos são lentos, laboriosos e são propensos a interpretações subjetivas. Por outro lado, o sistema Vitek 2 reduz o tempo necessário para identificação e permite a padronização dos resultados inter e intra laboratórios, armazenamento de resultados, emissão de relatórios epidemiológicos rápidos e testes simultâneos de susceptibilidade a antimicrobianos.⁽¹⁸⁾

Esse sistema utiliza cartões com substratos bioquímicos liofilizados para a identificação taxonômica, a partir da assimilação de carboidratos e nitratos, e também permite a determinação do perfil de susceptibilidade de leveduras.⁽¹⁹⁾

O equipamento apresenta um banco de dados que tem sido progressivamente atualizado, para abranger leveduras comuns e infrequentes de espécies clínicas.⁽²⁰⁾

Procedimento Técnico:

- Utilizar cartões para identificação de leveduras (YST);
- Inocular os cartões segundo instruções do fabricante;
- Inserir no módulo leitor para leitura automatizada dos substratos;
- Considerar as identificações com percentuais de probabilidade \geq a 85%.
- Realizar testes complementares, quando necessário.

Análise Proteômica: Espectrometria de Massas por Tempo de Voo - [Maldi ToF Ms]

A espectrometria de massas em sua configuração MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight*) é um método analítico desenvolvido em meados de 1988, que evoluiu rapidamente para espectros de impressão digital para vários microrganismos, incluindo bactérias e fungos, através da análise de perfis de proteínas.

Bancos de dados foram posteriormente desenvolvidos e adotados em laboratórios de microbiologia clínica. Esses bancos de dados empregam o conceito de reconhecimento de padrões ou de impressão digital, onde o espectro de massa obtido de uma bactéria ou levedura é comparado com espectros existentes para encontrar a correspondência mais próxima.⁽²¹⁾

Nesse sistema, os agentes microbianos são colocados em uma placa com uma matriz constituída de ácido α -Ciano-4-hidroxi-cinâmico (HCCA). A placa é irradiada com um laser que vaporiza a amostra (dessorção), ionizando

as moléculas, que serão conduzidas por uma diferença de potencial elétrico, a uma região livre de campos elétricos, no tubo de voo. Nessa região, ocorre a distinção dos íons de acordo com as suas velocidades, que são inversamente proporcionais às respectivas relações massa/carga. Os íons são detectados, após sua chegada ao final do tubo, com registro do seu tempo de voo, associando-se esse parâmetro indiretamente com a massa molecular da proteína.^(22,23,24)

A abordagem do biomarcador para a identificação de microrganismos emprega proteínas específicas encontradas dentro da célula. Proteínas ribossomais tornaram-se um dos biomarcadores ideais porque são abundantes, altamente conservadas e codificadas por genes cromossômicos. Essas proteínas têm massas moleculares que se enquadram de 4 KDa a 30 KDa.⁽²¹⁾

Um obstáculo para a identificação de isolados de leveduras, usando MALDI-TOF MS, é a presença de uma robusta parede celular que inibe a análise direta de leveduras. Pesquisadores têm superado essa dificuldade usando uma variedade de abordagens de pré-processamentos destinados a liberar as proteínas intracelulares, que são a base para a identificação por MALDI-TOF MS.⁽¹⁶⁾

O MALDI-TOF MS se apresenta como uma alternativa real para a identificação rotineira de espécies de leveduras. É um sistema que providencia a correta identificação de espécies, levando apenas alguns minutos para executar todo o processo, sendo relativamente barato para conduzir a identificação específica.⁽⁵⁾

Procedimento Técnico:

- Aplicar as colônias de leveduras isoladas diretamente na placa do equipamento;
- Tratar com 1 μ L de ácido fórmico a 85%. Após a secagem em temperatura ambiente, aplicar 1 μ L da matriz HCCA e submeter à secagem também à temperatura ambiente.^(25,26)
- Inserir a placa, posteriormente, no equipamento que irá irradiar com laser, que vaporizará a amostra, ionizando as moléculas que serão então aspiradas e elevadas ao detector (Figura 2);
- Os dados obtidos através do perfil do espectro serão comparados com o banco de dados do equipamento, utilizando o *software* do fabricante para a identificação dos microrganismos;
- Analisar as amostras em duplicata no Microflex LT MALDI-TOF MS da Bruker Daltonik, Biotyper (Fremont, CA), no modo linear positivo, em uma frequência 60 Hz, com um intervalo de massa entre 2 KDa e 20 KDa (Figura 3);
- As informações obtidas serão analisadas automaticamente, usando o *software* Bruker Biotyper 3.1. Cada espectro será obtido a partir de 240 tiros, em passos de 40 tiros de diferentes posições da placa alvo, e o log dos scores serão calculados;
- A identificação do ponto de corte dos scores será interpretada do seguinte modo: scores $\geq 1,7$ indicarão identificação confiável a nível de espécie, enquanto que scores $< 1,7$ indicarão identificação não confiável, requerendo a repetição da análise.⁽²⁶⁾

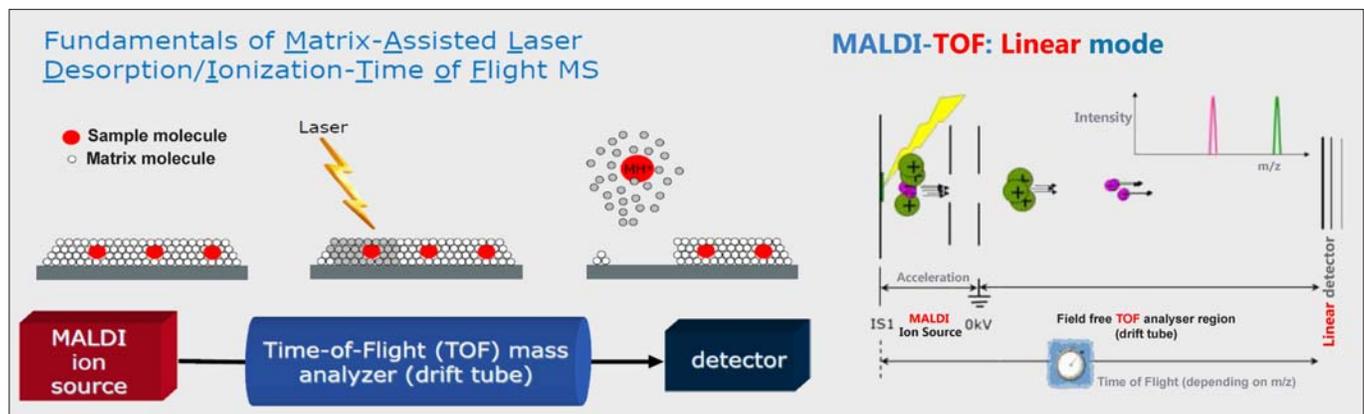


Figura 2. Fundamento da metodologia de Espectrometria de Massas por Tempo de Voo - Microflex LT Maldi-Tof MS da Bruker Daltonik, Biotyper (Fremont, CA). Fonte: Manual da Bruker.

Análise Molecular: PCR em Tempo Real

O PCR em Tempo Real combina a química com uma sonda fluorescente, para detecção do produto amplificado, na mesma reação.

A avaliação da fluorescência é obtida pela plataforma do equipamento em cada ciclo de amplificação. Em geral, a reação ocorre em menos de uma hora, sendo consideravelmente mais rápida que as técnicas de PCR convencionais.⁽²⁷⁾

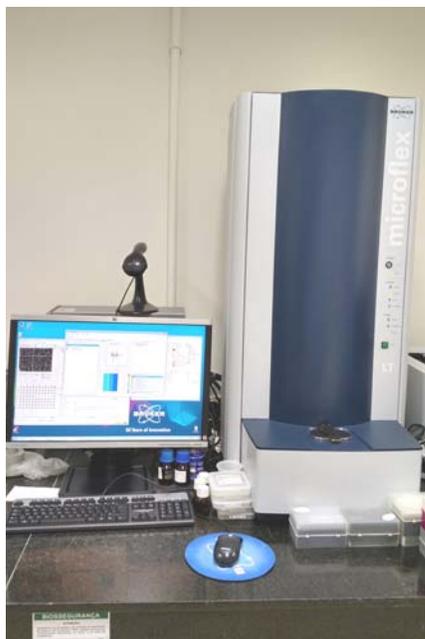


Figura 3. Equipamento de Espectrometria de Massas por Tempo de Voo, Microflex LT MALDI-ToF MS da Bruker Daltonik, Biotyper (Fremont, CA) - IBEx. Fonte: IBEx.

Este tipo de detecção do *amplicon* constitui um avanço significativo na química dos ácidos nucleicos, por ser mais rápido que os métodos tradicionais de detecção de *amplicons*. Além disso, há uma redução significativa na chance de contaminação do *amplicon* no laboratório, pois não há abertura do tubo de reação para a análise do *amplicon*. Existem diferentes plataformas disponíveis para a amplificação de ácidos nucleicos em tempo real.⁽²⁸⁾

Várias são as moléculas fluorogênicas que podem ser usadas para a detecção dos ácidos nucleicos amplificados, numa reação homogênea ou em tempo real. Essas

moléculas podem ser inespecíficas e detectar qualquer tipo de ácido nucleico amplificado (SYBR Green) ou específicas, o que significa que elas são oligonucleotídeos e se hibridizam a uma sequência específica, presente no *amplicon* (sondas).⁽²⁹⁾

O SYBR Green é um corante que se liga ao sulco menor do DNA de dupla hélice. Emite muito pouca fluorescência, quando no estado não ligado, mas gera uma fluorescência consideravelmente maior quando ligado ao DNA, essa propriedade o torna útil para a determinação da presença de um produto de DNA amplificado.⁽²⁹⁾

Procedimento técnico:

- Semear todas as amostras em BDA e incubar a 35°C±2°C, por 18-24 h
- Para extração do DNA, preparar suspensões em 20 mL de solução de lise (SDS 10% 125µL; NaOH 0,05N 100µL; H2O qsp 5000µL). Estas suspensões deverão ser aquecidas a 94°C, por 5 min e, posteriormente, adicionadas de 180 µL de água Mili-Q estéril e centrifugadas a 16.000 g, por 5 min. Uma alíquota de 3 mL do DNA extraído em suspensão deverá ser adicionada juntamente com 1mL (10pmol) de cada um dos dois iniciadores específicos e 5mL de PCR Luminaris Hi-Green qPCR Master Mix (Thermo Scientific, MA, USA), em um volume total de 10 mL para a reação de PCR em Tempo Real O desenho dos *Primers* para o PCR é sumarizado no Quadro 1.
- Toda a mistura deverá ser submetida a 1 ciclo de 95°C, por 5 min, para a desnaturação do DNA, 30 ciclos de 95°C, por 30s, 60°C, por 30s, e 72°C, por 30s, 1 ciclo de 72°C, por 7 min e, posteriormente, manter a 4°C em termociclador em tempo real (StepOnePlus, Applied Biosystems - Thermo Fisher).

Quadro 1 - Sequência dos *Primers*

Fungo	Inicial	Sequências	Referência
<i>C. albicans</i>	FW	ATG TGG CAC GGC TTC TGC TG	Ogata 2015
	RV	TAG GCT GGC AGT ATC GTC AGA GG	Ogata 2015
<i>C. glabrata</i>	FW	TTC GTG TAC TGG AAT GCA CC	Ogata 2015
	RV	ATA GAA CCA AAC GTC CTA TTC C	Ogata 2015
<i>C. krusei</i>	FW	CTG CAG GAG AAG GGG TTC TGG AAC G	Ogata 2015
	RV	CGG TGT TGC GCC GTT CTG C	Ogata 2015
<i>C. tropicalis</i>	FW	ATT TTG TAT GTT ACT TCT TCG	Ogata 2015
	RV	TAG GCT GGC AGT ATC GAC GAA GG	Ogata 2015
<i>C. parapsilosis</i>	FW	ATT TTG TAT GTT ACT CTC TCG	Ogata 2015
	RV	TGC CAA CAT CCT AGG CCG AAG C	Ogata 2015

OBS: Todos os procedimentos técnicos serão realizados em Laboratório com Nível de Biossegurança 2 (NB2), fazendo uso de Equipamentos de Proteção Individual e Coletiva (EPI e EPC)

COLEÇÃO DE CULTURA DE MICRORGANISMOS

Representando desde pequenos centros privados a grandes centros de serviços e possuindo diferentes objetivos, políticas e acervos, as coleções de cultura são importantes instituições de preservação de recursos biológicos. Essas coleções estão frequentemente associadas às atividades de uma organização parental, como instituições acadêmicas ou de pesquisa científica, e mantêm organismos que podem ser utilizados de formas distintas.⁽³⁰⁾

Coleções de cultura de microrganismos são centros de conservação da biodiversidade, sendo encarregadas de coletar e disponibilizar organismos relevantes para a pesquisa científica, bem como estão ligadas ao desenvolvimento tecnológico e ao ensino. A preservação e a manutenção de culturas devem ser realizadas de forma a garantir a sobrevivência do microrganismo, a estabilidade das propriedades morfológicas e fisiológicas, características genéticas e a pureza dos isolados durante períodos prolongados.⁽³¹⁾

Existem diversos tipos de coleções microbiológicas *ex-situ* que são classificadas de acordo com o atendimento prestado. As coleções de trabalho são aquelas mantidas nos laboratórios e utilizadas em linhas específicas de pesquisa (podendo ser extintas quando os pesquisadores mudam de linha); coleção institucional, que abastece diversas linhas de pesquisa de uma única instituição; coleções de serviço, que possuem acervo abrangente, curadoria profissional e têm papel fundamental na aquisição, caracterização taxonômica e tecnológica, manutenção e distribuição de microrganismos para toda a comunidade para fins industriais ou de pesquisa.⁽³²⁾

Subcultivos periódicos e sucessivos de isolados fúngicos podem acarretar o aparecimento de alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, além do elevado risco de contaminação. Desse modo, diversas coleções de cultura têm utilizado metodologias de preservação de longo prazo, mas não há um método universal para todos os tipos de fungos.⁽³³⁻³⁶⁾

MÉTODO DE PRESERVAÇÃO: CONSERVAÇÃO E ESTOCAGEM DE LEVEDURAS EM ÁGUA DESTILADA ESTÉRIL

A importância da manutenção e preservação de microrganismos, caracteriza-se como reflexo da necessidade de utilização desses recursos a qualquer momento, quer para fins experimentais, didáticos, industriais ou estudos comparativos.⁽³⁷⁾ Dessa forma, definir a técnica de preservação de culturas mais adequada e dispor de procedimentos simples e eficientes, reveste-se de grande valia aos laboratórios de microbiologia.⁽³⁸⁾

Diversos métodos vêm sendo empregados para preservação de fungos, porém, em virtude da diversidade bi-

ológica desses microrganismos, não existe uma técnica padrão que seja capaz de preservá-los de forma única ou generalizada.⁽³⁹⁾

A escolha do método de manutenção mais adequado deve ser baseada nas características do agente em estudo, assim como nas vantagens e desvantagens de cada técnica.^(38,39) O alvo de qualquer método de manutenção é preservar a viabilidade e, principalmente, proporcionar estabilidade genética ao microrganismo isolado pelo maior tempo possível, evitando assim a formação excessiva de mutações que alterem suas características.^(40,41)

Diferentes métodos têm sido propostos para a manutenção de fungos em coleções cultura, como preservação em óleo mineral estéril, congelamento, congelamento em temperatura ultra baixa, água destilada estéril (Método de Castellani) e liofilização.⁽³⁴⁾ O método de Castellani é um método simples e economicamente viável.⁽⁴²⁻⁴⁵⁾

O método de Castellani (Figura 4) consiste no armazenamento de microrganismos em água esterilizada ou solução salina, sendo indicado na preservação de microrganismos sensíveis a baixas pressões osmóticas de soluções hipotônicas.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ O método se baseia na transferência de culturas para frascos contendo uma solução de água destilada esterilizada, com posterior armazenamento sob temperatura ambiente. As suspensões de células deverão ser bem concentradas, a partir de um crescimento em meio sólido, ou poderão ser introduzidos blocos de ágar contendo os microrganismos. Um pequeno espaço físico deverá ser disponibilizado para o acondicionamento dos frascos.⁽³⁸⁾

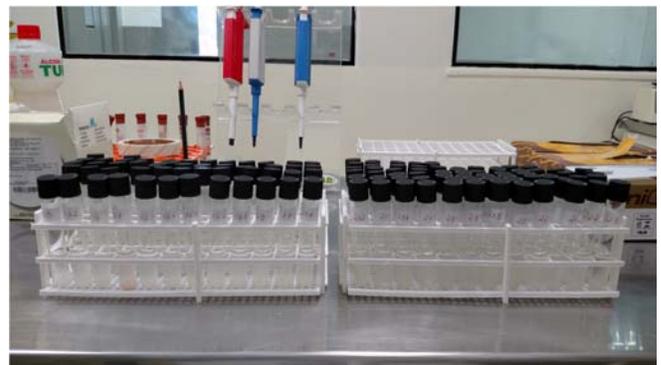


Figura 4. Cepas de leveduras mantidas pelo método de Castellani. Fonte: IBEx.

Segundo McGinnis, Padhye & Ajello,⁽³⁴⁾ o método de manutenção de cultura de fungos em água destilada esterilizada, por longos períodos de tempo, é simples, econômico e confiável. O método oferece muitas vantagens para laboratórios que mantêm pequenas coleções de cultura para referência ou propósitos de ensino. O espaço de armazenamento necessário para os frascos é mínimo, e como os frascos são armazenados à temperatura ambiente a refrigeração não se faz necessária. A técnica de

revitalização é menos laboriosa que as culturas preservadas em óleo mineral estéril.

Procedimento Técnico:

- Inocular fragmentos das colônias, assim como fragmentos do meio de cultura em tubos estéreis, contendo 5 mL de água destilada esterilizada;
- Manter os tubos à temperatura ambiente e sob refrigeração entre 2 a 8°C.

BOAS PRÁTICAS DE COLEÇÃO DE CULTURA DE LEVEDURAS DO IBEx

Essas práticas constituem um conjunto de normas, procedimentos e atitudes de segurança, que visam a minimização dos acidentes que envolvem as atividades laboratoriais dentro da Coleção de Cultura do IBEx.^(19,49)

Equipamentos de Segurança Laboratorial

São considerados barreiras primárias de contenção, que visam a proteção dos profissionais.⁽⁵⁰⁾

- Equipamentos de Proteção Individual (EPI): Dispositivos destinados a proteger a saúde e a integridade física do profissional,⁽⁵¹⁾ representado por:
 - o Jaleco de manga longa;
 - o Luvas descartáveis;
 - o Luva térmica;
 - o Óculos de proteção;
 - o Máscara descartável;
 - o Calçado fechado;
 - o Pro-pé.
- Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC): permitem a execução de operações seguras para o operador e demais profissionais do laboratório.⁽⁵⁰⁾
 - o Cabine de segurança biológica classe II B2;
 - o Cabine de segurança biológica classe III - "Glove Box";
 - o Autoclave;
 - o Chuveiro e lavaolhos;
 - o Pipetador automático;
 - o Extintores de incêndio;
 - o Caixa coletora de pérfuro cortante;
 - o Sistema de controle de acesso com identificação biométrica.

Biossegurança na Coleção de Cultura de Leveduras do IBEx

Conceitos

- *Bioconfiança (biosurety)*: É o conjunto de sistemas e procedimentos para salvaguardar os agentes biológicos e toxinas contra furto, roubo, perda, desvio,

acesso ou uso não autorizado e garantir que todas essas ações sejam conduzidas de maneira segura e confiável, englobando nesse conceito a biossegurança, a bioproteção e os controles de pessoal e material;⁽⁵²⁾

- *Biossegurança (biosafety)*: É o conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam, de forma não intencional, comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o ambiente;⁽⁵²⁾
- *Bioproteção (biosecurity)*: É o conjunto de ações que visam a minimizar o risco do uso indevido, roubo e/ou a liberação intencional de material com potencial risco à saúde humana, animal, vegetal e ambiental.⁽⁵²⁾

Principais normas de biossegurança:

- Utilização adequada de EPIs e EPCs;
- Lavagens das mãos antes e após os procedimentos técnicos;
- Descontaminação das bancadas antes e após as análises;
- Manusear, transportar e armazenar materiais biológicos e microrganismos de forma segura;
- Acondicionar os resíduos biológicos de forma adequada (saco branco leitoso);
- Descontaminar por autoclavagem os resíduos biológicos e demais materiais contaminados;
- Obedecer a sinalização de risco do laboratório;
- Seguir as normas institucionais de treinamentos e segurança laboratorial.

Abstract

Objective: The Compendium of Methods and Good Practices in Yeast Culture Collection of the Brazilian Army Biology Institute (IBEx) was elaborated with the purpose of operationalizing the research activities, guaranteeing the safe and reliable performance of its regimental objectives. **Methods:** The IBEx Yeast Culture Collection was created from isolated strains of systemic candidiasis, through the use of manual and automated methodologies to authenticate them, in order to guarantee scientific research and teaching activities. **Results:** The Institute adapted and modernized its research laboratories by creating the Center for Biodefense Studies, with Biosafety Level NB-3. Based on the need for organization to meet the demands of biological defense, the IBEx has been improving its structure to dominate and guarantee new technologies of identification and management of the microorganisms involved in Bioterrorism. **Conclusion:** The compilation of methodologies in the form of a Compendium provided the operationalization of the IBEx Culture Collection.

Keywords

Yeasts; blood culture; clinical diagnosis; research and new techniques

REFERÊNCIAS

1. Dornelas-Ribeiro M, Pinheiro EO, Guerra C, Braga-Silva LA, Carvalho SMF, Santos ALS, et al. Cellular characterisation of *Candida tropicalis* presenting fluconazole-related trailing growth. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [Internet]. 2012;107(1):31-38. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000100005&lng=en.

2. Neufeld PM, Melhem Mde S, Szeszs MW, Ribeiro MD, Amorim Ede L, da Silva M, Lazera Mdos S. Nosocomial candidiasis in Rio de Janeiro State: distribution and fluconazole susceptibility profile. *Braz J Microbiol.* 2015;46(2):477-84.
3. Ruhnke M, Maschmeyer G. Management of mycosis in patients with hematologic disease and cancer - review of the literature. *Eur J Med Res.* 2002 May 31;7(5):227-35.
4. Neufeld PM. Caracterização taxonômica e susceptibilidade a antifúngicos de leveduras isoladas de infecção hospitalar. Tese de Doutorado. INCQS/Fiocruz. 2009.
5. Chao QT, Lee TF, Teng SH, Peng LY, Chen PH, Teng LJ, Hsueh PR. Comparison of the accuracy of two conventional phenotypic methods and two MALDI-TOF MS systems with that of DNA sequencing analysis for correctly identifying clinically encountered yeasts. *PLoS One.* 2014;9(10):e109376.
6. Londero AT, Wanke B, Lazera MS, Monteiro PCF. *Micologia Médica, Fiocruz, Revisão.* 2004.
7. Figueras C, Díaz de Heredia C, García JJ, Navarro M, Ruiz-Contreras J, Rossich R, et al; Grupo de Estudio de la Infección Fúngica Invasiva de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP). The Spanish Society of Paediatric Infectious Diseases (SEIP) recommendations on the diagnosis and management of invasive candidiasis. *An Pediatr (Barc).* 2011 May;74(5):337.e1-337.e17. doi: 10.1016/j.anpedi.2010.12.012. [Article in Spanish]
8. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, et al.; Brazilian Network Candidemia Study. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(8):2816-23.
9. Tumbarello M, Posteraro B, Trecarichi EM, Fiori B, Rossi M, Porta R, et al. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *J Clin Microbiol.* 2007;45(6):1843-50.
10. Vigouroux S, Morin O, Moreau P, Harousseau JL, Milpied N. Candidemia in patients with hematologic malignancies: analysis of 7 years experience in a single center. *Haematologica*, v. 91, n 5, p. 717-718. 2006.
11. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 73-81.
12. Dornelas-Ribeiro M. Caracterização do efeito "trailing" em cepas de *Candida tropicalis* e sua influência na morfologia, ultraestrutura e expressão de aspartil peptidases. Tese de Doutorado. IMPPG-UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil. 83p. 2011.
13. Campanha NH, Neppelenbroek KH, Spolidorio DM, Spolidorio LC, Pavarina AC. Phenotypic methods and commercial systems for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. *Oral Dis.* 2005 Nov;11(6):392-8.
14. Lee KH, Shin WS, Kim D, Koh CM. The presumptive identification of *Candida albicans* with germ tub induced by high temperature. *Yonsei Med J.* 1999 Oct;40(5):420-4.
15. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 1994;32(8):1923-9.
16. Buchan BW, Ledebor NA. Advances in identification of clinical yeast isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2013;51(5):1359-66. doi: 10.1128/JCM.03105-12.
17. Ribeiro PM, Ito CYC, Junqueira JC, Jorge AOC. Isolamento de *Candida* spp. com utilização de meio de cultura cromogênico CHROMagar *Candida*. *Braz Dent Sci* 2009 out./dez.;12(4):40-45. DOI: <https://doi.org/10.14295/bds.2009.v12i4.641>
18. Monteiro AC, Fortaleza CM, Ferreira AM, Cavalcante Rde S, Mondelli AL, Bagagli E, da Cunha Mde L. Comparison of methods for the identification of microorganisms isolated from blood cultures. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2016;15(1):45. DOI 10.1186/s12941-016-0158-9. 2016.
19. Araujo CR, Miranda KC, Passos XS, Souza LKH, Lemos J A, Abbas Khrais CH, et al. Identificação de Leveduras do Gênero *Candida* por Métodos Manuais convencionais e pelo método Cromogênico CHROMagar™ *Candida*. *Rev. Patol. Trop.* 2005; 34(1):37-42.
20. Posteraro B, Efromov L, Leoncini E, Amore R, Posteraro P, Ricciardi V, Sanguinetti M. Are the conventional commercial yeast identification methods still helpful in the era of new clinical microbiology diagnostics? A meta-analysis of their accuracy. *J Clin Microbiol.* 2015;53(8):2439-50. doi: 10.1128/JCM.00802-15.
21. Kassim A, Pflüger V, Premji Zul, Daubenberger C, Revathi G. Comparison of biomarker based Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and conventional methods in the identification of clinically relevant bacteria and yeast. *BMC Microbiol.* 2017;17(1):128. doi: 10.1186/s12866-017-1037-z.
22. Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal Chem.* 1988 Oct 15;60(20):2299-301.
23. Gross JH. *Mass spectrometry: a textbook.* Springer Science & Business Media. 2006.
24. Denis J, Machouart M, Morio F, Sabou M, Kauffmann-Lacroix C, Contet-Audonnet N, et al. Performance of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identifying Clinical *Malassezia* Isolates. *J Clin Microbiol.* 2016; 28;55(1):90-96. doi: 10.1128/JCM.01763-16.
25. Bulane A, Hoosen A. Use of matrix-assisted laser desorption/ionization - time of flight mass spectrometry analyser in a diagnostic microbiology laboratory in a developing country. *Afr J Lab Med.* 2017; 6(1):598. <https://doi.org/10.4102/ajlm.v6i1.598>. 2017.
26. Lee HS, Shin JH, Choi MJ, Won EJ, Kee SJ, Kim SH, Shin MG, Suh SP. Comparison of the Bruker Biotyper and VITEK MS Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight mass spectrometry systems using a formic acid extraction method to identify common and uncommon yeast isolates. *Ann Lab Med.* 2017 May;37(3):223-230. doi: 10.3343/alm.2017.37.3.223.
27. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, et al. Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(1):165-256. Erratum in *Clin Microbiol Rev.* 2006 Jul;19(3):595.
28. Foy CA, Parkes HC. Emerging homogeneous DNA-based technologies in the clinical laboratory. *Clin Chem.* 2001;47(6):990-1000.
29. Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. *Koneman Diagnóstico Microbiológico, texto e atlas colorido.* Guanabara Koogan. 6ª edição. 2008. 1.565 p
30. Consenso. *Recomendações para operação e gerenciamento de coleções de culturas de microrganismos.* Sociedade Brasileira de Microbiologia. 2006.
31. Cavalcanti SDB. *Aplicação de metodologias de preservação e caracterização de fungos na coleção de culturas do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Dissertação de Mestrado em Ciências da Faculdade de Medicina da USP.* 2010.
32. Andrade TS, Bastos LT, Scola MCG, Felipe JMM. *Seção de coleção de culturas do Instituto Adolfo Lutz - 68 anos de história dedicados à saúde pública.* Bepa 2008;5(59):10-15.
33. Butterfield W, Jong SC, Alexander MT. Preservation of living fungi pathogenic for man and animals. *Can. J. Microbiol.* 1974;20:1665-1673. <https://doi.org/10.1139/m74-258>
34. McGinnis MR, Padhye AA, Ajello L. Storage of stock cultures of filamentous fungi, yeasts, and some aerobic actinomycetes in sterile distilled water. *Appl Microbiol.* 1974 Aug; 28(2): 218-222.
35. Qiangqiang Z, Jiajun W, Li L. Storage of fungi using sterile distilled water or lyophilization: Comparison after 12 years. *Mycoses.* 1998 May-Jun;41(5-6):255-7.

36. Cavalcante SC, Freitas RS, Vidal MS, Dantas DC, Levi JE, Martins JEC. Evaluation of phenotypic and genotypic alterations induced by long periods of subculturing of *Cryptococcus neoformans* strains. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [Internet]. 2007;102(1):41-47. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762007000100006&lng=pt.
37. Guimarães LC. Métodos de preservação de fungos potencialmente toxigênicos. Lavras, MG. Universidade Federal de Lavras - UFLA. 2011.
38. Sola MC, Oliveira AP, Feistel JC, Rezende CSM. Manutenção de microrganismos: conservação e viabilidade. Enciclopédia biosfera. Goiânia. 8(14):1398-1418. 2012.
39. Dellaretti EM. Preservação de fungos em baixas temperaturas. Sete Lagoas, MG. Universidade Federal de São João. UFSJ. 2014.
40. Abreu MMV, Tutunji VL. Implantação e manutenção da coleção de culturas de microorganismos do UniCEUB. Universitas: Ciências da Saúde, Brasília, v.02 n.2, p. 236-25, 2004.
41. Girão MD, Prado MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJC, Rocha MFG. Viabilidade de cepas de *Malassezia pachydermatis* mantidas em diferentes métodos de conservação. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2004;37(3):229-233. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822004000300007&lng=en
42. Rodrigues EG, Lírio VS, Lacaz CS. Preservação de fungos e actinomicetos de interesse médico em água destilada. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo [online]. 1992, vol.34, n.2, pp.159-165. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651992000200012&lng=en.
43. Figueiredo MB. Métodos de preservação de fungos patogênicos. Biológico. v. 63, n. 1/2, p. 73-82. 2001.
44. Canhos VP, Umino CY, Manfio GP. Coleções de culturas de microrganismos. Resumo: Coleções de culturas de microrganismos. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP - Centro de Referência em Informação Ambiental - CRIA, 2004.
45. Nakasone KK, Peterson AW, Jong S. Preservation and distribution of fungal cultures. In: Mueller G M, Bills G F, Foster M S. Biodiversity of fungi, inventory and monitoring methods. 1ª ed. San Diego: Elsevier Academic Press. p. 37-47. 2004.
46. Pimentel CPV, Figueiredo MB. Métodos de preservação de fungos em meio de cultura. Biológico, São Paulo, 55 (1/2): 27-33. 1989.
47. Costa CP, Ferreira MC. Preservação de microrganismos: revisão. Revista de Microbiologia, São Paulo, 22 (3): 263-268. 1991.
48. Neufeld PM, Oliveira PC. Preservação de dermatófitos pela técnica da água destilada estéril. Revista Brasileira de Análises Clínicas, São Paulo, 40 (3):167-169. 2008.
49. Mastroeni MF. Biossegurança Aplicada a Laboratórios e Serviços de Saúde. 2ª ed. Atheneu. 2005, 338 p.
50. Hirata MH, Hirata RDC, Mancini Filho J. Manual de Biossegurança. Editora Manole. 2ª edição. 2012.
51. Portaria GM N.º 3.214, NR 6 - Dispõe sobre Equipamento De Proteção Individual - Epi, De 08 De Junho De 1978. 06/07/78.
52. Portaria Normativa N° 585/MD, Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica do Ministério da Defesa de 7 de março de 2013.

Correspondência

Marcos Dornelas Ribeiro
Rua Francisco Manuel, 102, Benfica
Rio de Janeiro-RJ, Brasil



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. Paracoccidiodomycosis. *Clin Dermatol*. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. *Singapore Med J*. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui

S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. *Intern Med.* 2012;51(20):2967-71.

• **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.

• **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettlenkofer 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/pgr/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: ____/____/____.

PNCQ conquista a Acreditação, segundo os requisitos da norma ABNT NBR ISO 17034:2017 como **Produtor de Material de Referência Certificado.**

Essa Acreditação constitui a expressão formal do reconhecimento da competência do PNCQ para a produção dos Materiais de Referência Certificados, conforme o escopo de Acreditação.



O PNCQ é acreditado pela Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO como Produtor de Material de Referência em conformidade com a ABNT NBR ISO 17034:2017 sob o número 0012

MRC Material de Referência Certificado

O Material de Referência Certificado do PNCQ é acompanhado por um certificado com valores de propriedade e incertezas definidas.



O PNCQ é pioneiro na produção de MRC no segmento da Bioquímica Clínica.

Estão disponíveis os MRC de Bioquímica: **Ácido Úrico, Cálcio, Cloro, Colesterol, Creatinina, Glicose, Magnésio, Potássio, Sódio, Triglicerídeos e Ureia.**



Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



Tel/Fax: 55 (21) 2569 - 6867



e-mail: pncq@pncq.org.br



Rua Vicente Licínio, 191 - Tijuca - Rio de Janeiro/RJ
CEP: 20270-340



www.pncq.org.br

Nossas
Certificações:



O PNCQ é acreditado pelo Órgão do INMETRO como Produtor do Ensaio de Proficiência em conformidade com a ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011 sob o número 0013



O PNCQ é acreditado pelo Órgão do INMETRO como Produtor do Material de Referência em conformidade com a ABNT NBR ISO 17034:2017 sob o número 0012



Empresa certificada pela ABNT em conformidade com a ABNT NBR ISO 9001:2015 sob o número 23.008/04

