

ISSN 2448-3877



# RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas  
*Brazilian Journal of Clinical Analyses*

Volume 51 - Nº 04 | Ano 2019



# RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas  
Brazilian Journal of Clinical Analyses

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

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

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

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

**Volume 51 - Número 4 - 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

- 264** Personagem da História da Saúde VIII: Rudolf Virchow  
*Personalities of History of Health VIII: Rudolf Virchow*  
Neufeld PM

## ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 268** Noninvasive methods for diagnosis of liver fibrosis: a systematic approach  
*Métodos não invasivos para o diagnóstico de fibrose hepática: uma abordagem sistemática*  
Santos GG, Pyrrho AS
- 277** Uso de biomarcadores sanguíneos no diagnóstico da doença de Alzheimer: um futuro próximo?  
*Use of blood biomarkers in the diagnosis of Alzheimer's disease: a near future?*  
Cereja MP, Carvalho NM, Amparado SSR, Rodrigues-Antunes S, Feio DCA
- 286** Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura  
*Mycotoxins and their effects on human health: literature review*  
Arruda AD, Beretta ALRZ

## ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO/UPDATE

- 290** Atualização em coccidioses intestinais: uma abordagem crítica  
*Intestinal coccidia: a critical review*  
Santos RP, Faria AR
- 296** Aspectos epidemiológicos e clínicos de pacientes infectados por HIV  
*Epidemiological and clinical aspects of HIV infected patients*  
Lopes AOL, Nunes IPB, Leão MR, Nogueira MFBB, Teixeira AB

## ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

- 300** Avaliação da presença de anemia e de deficiência de ferritina em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário do Estado do Pará  
*Evaluation of the anemia presence and ferritin deficiency in patients attended at the Clinical Analyses Laboratory of the University Center of the State of Pará*  
Gonçalves CES, Silva AR, Baltaza LAC, Nunes E
- 306** Análise comparativa dos resultados de exames colpocitológicos realizados em Governador Valadares-MG com aqueles realizados no país, região sudeste e Minas Gerais  
*Comparative analysis of the cervical cytopathological examination results carried out in Governador Valadares-MG with those conducted in the country, southeast region and Minas Gerais state*  
Almeida LMR, Moreira MR

## Sumário/Contents

- 315** Leishmaniose Tegumentar Americana: uma análise histopatológica e molecular em lesões de dermatites no estado de Pernambuco, Brasil  
*American Cutaneous Leishmaniasis: a histopathological and molecular analysis of dermatitis lesions in the State of Pernambuco, Brazil*  
 Anastácio e Silva MA, Soares CRP, Melo FL, Rocha FJS
- 322** Prevalência de bactérias Gram-positivas em infecção do trato urinário  
*Prevalence of Gram-positive bacteria in urinary tract infection*  
 Castro BG, Pinto LS, Souto RCF
- 328** Incidência de dermatofitoses em cães no período de janeiro de 2016 a janeiro de 2018 em um laboratório veterinário de análises clínicas na cidade de Chapecó - SC  
*Incidence of dermatophytes in dogs in the period from January 2016 to January 2018 in a veterinary laboratory of clinical analysis in the city of Chapecó - SC*  
 Smaniotto MD, Botelho TKR
- 335** Frequência de protozoários e helmintos entéricos em hortaliças produzidas e comercializadas em Bauru, no centro-oeste paulista  
*Frequency of enteric protozoa and helminths in vegetables in Bauru, midwest region of the São Paulo State*  
 Léllis JR, Rosa NCE, Castello Branco Jr. A

## COMUNICAÇÃO BREVE/SHORT COMMUNICATION

- 342** Ocorrência de *Staphylococcus* spp. resistente à metilina em otite externa canina  
*Occurrence of methicillin-resistant Staphylococcus spp. in canine external otitis*  
 Carvalho LCA, Cidral TA, Melo MCN, Porto WJN, Motta Neto R

## RELATO DE CASO/CASE REPORT

- 348** Inclusões semelhantes aos corpúsculos de Russell em blastos mieloides  
*Inclusions similar to Russell bodies in myeloblasts*  
 Mello JTS, Barbosa MCD, Poeta J, Ghem C

## CARTAO EDITOR/LETTER TO EDITOR

- 351** Avaliação da concordância da dispensação de antimicrobianos em relação aos microrganismos isolados em culturas de um hospital no meio-oeste catarinense  
*Evaluation of the concordance of the antimicrobial dispensation in relation to the microorganisms isolated in cultures of a hospital in the middle-west of Santa Catarina State*  
 Souza A, Alves BP, Bellaver EH, Zancanaro V

**359 INSTRUÇÕES AOS AUTORES/INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

## Personagem da História da Saúde VIII: Rudolf Virchow

### *Personalities of History of Health VIII: Rudolf Virchow*

Rudolf Ludwig Karl Virchow nasceu na cidade alemã de Schivelbein, ao sul de Köslin, numa área rural da Pomerânia Oriental, em 1821. Ele foi o único filho de Carl Christian Siegfried Virchow e Johanna Maria Hesse. De família modesta, o pai trabalhava como fazendeiro, comerciante e tesoureiro. Virchow realizou seus estudos elementares na escola paroquial de sua cidade natal. Posteriormente, em 1838, em Köslin, concluiu sua formação básica aos 17 anos. No ginásio, seguiu o programa clássico de estudos, mas tinha grande interesse pelas ciências naturais, história e geografia. Virchow também teve uma sólida formação humanística e era versado em grego, latim e francês.

Ao término dos estudos ginasiais, em Köslin, Virchow seguiu para o "Real Instituto de Medicina e Cirurgia Militar Friedrich-Wilhelms", em Berlim, formando-se, em 1843, como médico militar, tendo defendido a tese intitulada "Alteração da Córnea na Doença Reumática" (*De Rheumate Praesertim Corneae*). No período em que ainda era estudante universitário, teve a oportunidade de trabalhar com Johannes Peter Müller (1801-1858)



e Johann Lukas Schönlein (1793-1864), entrando em contato com diferentes métodos de diagnósticos tanto clínicos quanto laboratoriais e experimentais, além de estudar epidemiologia.

Em 1844, tornou-se assistente de anatomia patológica de Robert Friedrich von Froriep (1804-1861), famoso anatomista e curador do Museu de Patologia do Hospital Charité de Berlim. Em 1845, publicou um tratado sobre trombose e embolia, descrevendo um dos primeiros casos de leucemia. Na verdade, os termos trombose e embolia foram introduzidos na literatura médica por ele. No ano de 1846, foi nomeado como anatomista no mesmo Hospital. Nesse mesmo ano, sob os auspícios do Alto Comissariado Civil e Militar Prussiano, foi enviado a Praga e a Viena para avaliar os programas de patologia lá desenvolvidos. Uma das consequências dessas viagens foi o fortalecimento do seu posicionamento contrário ao dogmatismo médico e científico e à crença na teoria dos humores, que vigiam ainda nessas regiões e na própria Alemanha.

Em 1846, descontente com os editores dos jornais médicos, Virchow decidiu fundar, com seu amigo Brenno Ernst Heinrich Reinhardt (1819-1852), o *Archiv für Pathologische, Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin*, que se tornou um dos mais importantes jornais científicos da Europa. Com o falecimento de Reinhardt, em 1852, ele continuou editando o jornal como único responsável. Posteriormente, esse jornal passou a ser denominado de *Virchows Archiv*, como ainda é conhecido atualmente.

Em 1847, recebeu um convite para substituir Froriep, que havia sido indicado para o cargo de diretor do Serviço Estatal para a Industrialização Alemã, bem como foi também indicado para assumir como professor (*Privatdozent*) na Universidade de Berlim

sob a chefia de Johannes Peter Müller. Ao assumir como docente, Virchow abriu aos estudantes de medicina a possibilidade de autopsiar os pacientes que iam a óbito, ensinando-lhes os protocolos desenvolvidos por ele.

Em 1848, o Governo da Prússia o enviou para investigar um surto de tifo na Silésia Superior. Ao visitar a região por três semanas, Virchow entrou em contato com a precariedade, abandono e pobreza da população, composta primariamente por poloneses. Essa dura realidade produziu nele um forte impacto, levando ao recrudescimento de suas crenças liberais acerca das questões sociais e políticas. Em seu relatório para o Governo Prussiano, propôs, além das recomendações humanitárias, médicas e higiênico-sanitárias, liberdade política, justiça social e reformas econômicas e educacionais para a região, a fim de melhorar as condições de vida daqueles que lá viviam.

Nesse mesmo ano de 1848, com o irrompimento da chamada Revolução de Março, um movimento civil liberal, cuja origem foi o grande descontentamento popular com a ordem política e social da Confederação Germânica, capitaneada na época pelo Império Austríaco, Virchow foi desligado da Universidade de Berlim. Esse afastamento compulsório se deu, claramente, por sua posição liberal vigorosa, sua participação direta no movimento com armas e barricadas, por sua adesão à proposta de criação de um ministério da saúde e pela fundação do jornal *Medizinische Reform* (1848-1849), que tratava de temas médicos e políticos de maneira realista e contundente.

Em 1849, com a ajuda de proeminentes personalidades da ciência, como, por exemplo, o médico obstetra Friedrich Wilhelm Scanzoni von Lichtenfels (1821-1891), Virchow foi nomeado professor de anatomia patológica na Universidade de Würzburg, na Baviera. No período em que ficou em Würzburg (1849-1856), manteve-se temporariamente afastado da política, o que foi extremamente benéfico para sua carreira médica e docente e vida privada. Nos sete anos em que esteve na Baviera, viu sua reputação como professor e pesquisador crescer enormemente. Além disso, em 1850, casou com Rose Mayer, tendo tido seis filhos (Karl, Hans, Adele, Ernst, Marie e Hanna Elisabeth).

O período na Baviera foi marcado por um alto nível de realizações científicas. Na Universidade de Würzburg, publicou inúmeros artigos e deu início à sua monumental obra de seis volumes intitulada *Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie*. Ele também editou, entre 1851 a 1901, o *Jahresbericht über die Leistungen und Fortschritte in der gesamten Medizin*, um jornal anual em língua alemã sobre os avanços da medicina. Nos anos de 1850 a 1862, Virchow coordenou, com outros colegas, uma sociedade médica em Würzburg denominada *Verhandlungen der physikalisch-medizinischen Gesellschaft*.

Em Würzburg, começou também a formular sua teoria sobre a patologia celular e iniciou seus estudos de antropologia, pesquisando diferentes tipos de crânios. Junto com Robert Remak (1815-1865), postulou que uma célula sempre era derivada de uma outra célula ou de uma célula pré-existente (*Omnis Cellula e Cellula*) e que uma célula anormal era também derivada de outra célula anormal (ou patológica). Interessante notar que, apesar de seu espírito científico e vanguardismo, Virchow não deu muito crédito à Teoria de Evolução da Espécie de Darwin, às ideias de Ignaz Semmelweis sobre a necessidade de higienização das mãos no ambiente hospitalar e à Teoria Microbiana das Doenças de Pasteur e Koch, quando essas foram propostas.

Importa ainda mencionar que diversos estudantes de diferentes regiões da Alemanha e da Europa vinham receber formação especializada em seu laboratório na Baviera. Muitos deles, inclusive, posteriormente, vieram a dar valiosas contribuições no campo da medicina e do diagnóstico. Edwin Klebs (1834-1913), Ernst Haeckel (1834-1919) e Adolf Kussmaul (1822-1902) foram alguns dos ilustres estudantes de Virchow.

Em 1856, Virchow retornou à Universidade de Berlim, após aceitar um convite para assumir as cátedras de anatomia, patologia geral e terapêutica, bem como dirigir o recém-criado Instituto de Patologia. Apesar de uma forte concorrência com outros médicos e pesquisadores pela posição na Universidade de Berlim, Virchow foi convidado, principalmente, pelo apoio que o Rei da Prússia Guilherme II deu ao seu nome. Esse instituto, sob

seu comando, se tornaria uma das mais importantes instituições de treinamento e formação médica da Alemanha e da Europa, tendo passado por ele, entre outros, Ernst Hoppe-Seyler (1825-1895), que desenvolveu estudos sobre a hemoglobina, Friedrich Recklinghausen (1833-1910), que descreveu a neurofibromatose, e Julius Cohnheim (1839-1884), que estudou a patogênese da trombose e da embolia. Nessa época, ao mesmo tempo em que trabalhava como professor universitário, passou também a chefiar uma seção clínica no Hospital Charité. Alguns anos depois, em 1860, foi convidado a assumir o cargo de Conselheiro de Saúde no Governo da Prússia.

No ano de 1858, Virchow apresentou uma série de vinte trabalhos científicos que abrangiam de maneira ampla a fisiopatologia das doenças e que fizeram parte, posteriormente, de seu seminal livro *Cellular-Pathologie*, publicado nesse mesmo ano. Em 1863, a edição de uma obra sobre patologia das neoplasias, composta por três volumes, e um pequeno livro sobre triquinose, foi iniciada. Em 1867, foi publicado, finalmente, seu volumoso livro sobre a patologia dos tumores (*Die Krankhaften Geschwülste*), que continha uma classificação sistemática das neoplasias baseada em suas características microscópicas.

Durante toda a sua carreira, sempre com uma mente investigativa e empreendedora, Virchow publicou uma grande quantidade de trabalhos científicos, facilitando o entendimento sobre as doenças e as alterações celulares e teciduais por elas causadas. As suas contribuições incluem, por exemplo, o relato dos corpos amiláceos, da amiloidose renal e ovariana, do melanoma de meninges, da encefalite congênita, da espinha bífida e da leontíase óssea, a descrição química da mielina, leucina e tirosina, além de publicações sobre osteomalácia, tuberculose, sífilis, riquetsiose e parasitoses em geral. Ele também cunhou os termos cromatina, agenesia, parênquima, heterotropia, amiloide, degeneração, mielina, leucocitose, leucemia, endarterite, ocronose e osteoide. A introdução do microscópio óptico no estudo da patologia, por Virchow, foi fundamental para o progresso dessa ciência.

Outro interesse científico de Virchow foi a antropologia. Enquanto exercia o magistério em Würzburg, publicou dois estudos iniciais sobre o cretinismo e a má-formação cranial, entre 1851 e 1852. As investigações antropológicas e as publicações nessa área começaram a ganhar força em seu trabalho quando retornou, em 1856, para Berlim. A partir desse período, teve início uma ampla série de pesquisas em craniologia, craniometria, antropometria e etnologia dos povos germânicos e não germânicos da Europa, Ásia e América. Estudos sobre a pré-história do homem também foram levados a cabo. Ele participou de diversas expedições dentro e fora da Europa. Nos anos de 1865 a 1867, participou de escavações e estudou palafitas encontradas em sítios arqueológicos no norte da Alemanha e, em 1870, escavou áreas da região da Pomerânia. Em 1879, com o arqueólogo Heinrich Schliemann, fez escavações em Hissarlik, na Turquia, supostamente um sítio arqueológico associado à cidade de Troia. Entre 1881 e 1894, Virchow fez ainda inúmeras expedições ao Cáucaso. Em 1888, participou de escavações na região do Egito, Núbia e Peloponeso. Tomando como base seus estudos etnográficos e arqueológicos, concluiu que não havia diferenças entre as etnias humanas e que era anedótica a ideia de uma raça superior.

Preocupado com o progresso científico da antropologia e da arqueologia, Virchow colaborou com a fundação de sociedades e jornais científicos nessas áreas. Em 1869, duas sociedades, a *Deutsche Anthropologische Gesellschaft* e a *Berliner Gesellschaft für Anthropologie, Ethnologie und Urgeschichte*, foram criadas por ele. Foi também editor de jornais científicos como o *Zeitschrift für Ethnologie*, *Correspondenzblatt da Anthropologische Gesellschaft* e *Archiv für Anthropologie*.

Uma importante faceta da personalidade de Virchow foi seu engajamento político que, interessadamente, corria ao lado das atividades de médico, professor e pesquisador. Profundamente comprometido com a política de seu tempo e de seu país e seus ideais liberais e antirracistas acabaram por obrigá-lo a tomar parte nas propostas de melhoria social, propugnando uma nova constituição, uma reforma fiscal e mais democracia. Ele também enunciou a necessidade dos médicos terem uma relação de maior

proximidade com a população mais humilde e necessitada. Virchow concorreu e foi eleito para o Conselho da Cidade de Berlim, em 1859, para a Câmara Baixa da Assembléia Prussiana, em 1861, e para o *Reichstag*, em 1880. Como conselheiro da cidade de Berlim, melhorou as condições de higiene, redefiniu o sistema de esgotamento sanitário e construiu e reformou vários hospitais. No período em que esteve como parlamentar do Partido Progressista Alemão (1880-1893), no *Reichstag*, usou sua posição para advogar em favor da saúde pública e criticar a política excessivamente militarista do chanceler alemão Otto von Bismark.

Virchow faleceu aos 81 anos, na cidade de Berlim, em 05 de setembro de 1902, por insuficiência cardíaca, após um acidente com fratura de fêmur, o que o manteve sob longa hospitalização. Em seu funeral, estava presente uma grande quantidade de populares e admiradores. Virchow escreveu mais de 2 mil artigos e livros sobre patologia, antropologia e história geral e da medicina, bem como proferiu inúmeras aulas, palestras e conferências dentro e fora da Alemanha. Em 1892, foi agraciado pela Real Sociedade Britânica com a Medalha Copley, por seus estudos sobre patologia, anatomia patológica e arqueologia e pré-história. Em tributo à sua memória, a Universidade de Humbolt, em Berlim, criou a Cátedra Virchow de Patologia.

## BIBLIOGRAFIA

- Boak ERA. Rudolf Virchow: Anthropologist and archeologist. *The Scientific Monthly*. 13(1):40-45, 1921. Acessível em: <https://www.jstor.org/stable/6581>
- Hajdu SI. A Note from history: Rudolf Virchow, pathologist, armed revolucionist, politian, and anthropologist. *Ann Clin Lab Sci*. 2005 Spring;35(2):203-5.
- Mazana JS. Rudolf Virchow en el I centenario de su muerte. *An. Med. Interna (Madrid)* [online]. 2002, vol.19, n.12, pp.53-54. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992002001200011&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992002001200011&lng=es).
- Oberman HA. Rudolf Virchow: Pathologist, anthropologist, and statesman. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 14(8): 975-980, 1961. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(61\)90014-7](https://doi.org/10.1016/0030-4220(61)90014-7)
- Saracci R. Virchow, a model for epidemiologists. *J Epidemiol Community Health*. 2009 Mar; 63(3):185. <http://dx.doi.org/10.1136/jech.2008.083204>
- Taylor R, Rieger A. Medicine as social science: Rudolf Virchow on the typhus epidemic in Upper Silesia. *Int J Health Serv*. 1985;15(4):547-59. DOI: 10.2190/XX9V-ACD4-KUXD-C0E5
- Wagner RP. Rudolf Virchow and the genetic basic of somatic ecology. *Genetics*. 151: 917-920, 1999.
- Weller CV. Rudolf Virchow: Pathologist. *The Scientific Monthly*. 13(1): 33-39, 1921.

**Paulo Murillo Neufeld, PhD**

Editor-Chefe da Revista Brasileira de Análises Clínicas

# Noninvasive methods for diagnosis of liver fibrosis: a systematic approach

## Métodos não invasivos para o diagnóstico de fibrose hepática: uma abordagem sistemática

Graciele Gonçalves Santos<sup>1</sup>  
Alexandre dos Santos Pyrrho<sup>1</sup>

### Abstract

**Introduction:** Liver fibrosis is one of the most hazardous consequences of chronic liver diseases. Its early diagnosis is important for a quick decision making in the treatment and prognosis. Also, diagnosis and monitoring are usually performed by liver biopsies, a laborious method with high chances of complications and a subjective interpretation of results. **Objectives:** The research for the development of non-invasive methods are wide. The objective of this study is disclosing and evaluating some of said methods. **Materials and methods:** Validation articles were analyzed in four databases (Medline, Cochrane, LILACS and SciELO). Using the following terms: (liver fibrosis) AND (non-invasive diagnosis). All articles succeeded to inclusion and exclusion methods. **Results:** A couple of methods have pointed out promising results, in summary being much better used in the later diagnosis of liver fibrosis. **Discussion:** Many methods have been or are still in process of validation, some of which are promising, although they require future refinements in their evaluations, such as the diversification of the study population and evaluation of several chronic liver diseases. **Conclusions:** There are still various difficulties over the creation and standardization of analytical methods. However, existence and validation are important for a favorable future in the diagnosis of fibrosis.

### Keywords

Liver cirrhosis; liver diseases; biopsy

## INTRODUCTION

Liver fibrosis is a common consequence of several chronic liver diseases. In a first instant, through hepatic injury, an inflammatory process occurs. However, the initial damage is not responsible for causing the injuries themselves. From the moment the injury begins, an activation of cells of the immune system happens and then the release of pro-inflammatory cytokines, which culminate in the injury of liver tissue. Inflammatory mediators and other potentially toxic components accumulate leading to the generation of reactive oxygen species, which expose hepatocytes to oxidative stress, causing lipid peroxidation and DNA damage. While these events occur, several hepatic cells enter an "activated" state, resulting in increased synthesis and deposition of extracellular matrix components. The deposition is characteristic of liver fibrosis, which, in a large scale, could lead to a progression for cirrhosis, considered

an irreversible condition wherein the liver architecture is altered and impaired.

One of the main cells in the activation process are the hepatic stellate cells (HSC), whereby their role as vitamin A storage cells change to become like myofibroblasts - contractile, proliferative and pro-fibrogenic, according to Taibi et al.<sup>(1)</sup> After HSCs activation, cytokines are secreted in an autocrine manner, generating signals that maintain their activation, survival and consequent extracellular matrix deposition. According to Ichikawa et al.,<sup>(2)</sup> a cycle is established in which the inflammatory and pro-fibrogenic stimulus contributes to maintain the fibrotic state of the liver.

## MATERIAL AND METHODS

Validation articles have been searched in four databases (Medline, Cochrane, LILACS and SciELO). The terms used were: (liver fibrosis) AND (non-invasive

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro-RJ, Brasil.  
Conflito de interesses: não há conflito de interesses

Recebido em 24/05/2019  
Artigo aprovado em 08/08/2019  
DOI: 10.21877/2448-3877.201900852

diagnosis). All the articles were recovered and succeed to the inclusion and exclusion methods. For this, titles, summaries and materials and methods were read.

#### Inclusion methods

- Validation articles for diagnostic methods;
- Validation of laboratory methods compared to standard gold diagnosis (liver biopsy);
- Reading of histopathological laminas performed by at least two pathologists who did not have information on the clinical status of the patients and chronic liver diseases present;
- Time interval between biopsy and blood tests of a maximum of six months, regardless of which was performed first.

#### Exclusion methods

- Works wherein non-invasive diagnostic methods are imaging tests, instead of the gold standard (liver biopsy);
- Languages other than English, Spanish or Portuguese;
- Articles that avoided the theme and/or focused on the treatment.

Therefore, the articles that matched all methods of inclusion and none of the methods of exclusion were completely read for further classification.

## RESULTS

The result of the search in the databases led us to a first screening of 139 articles. The subsequent selection and sorting stages are represented in Figure 1.

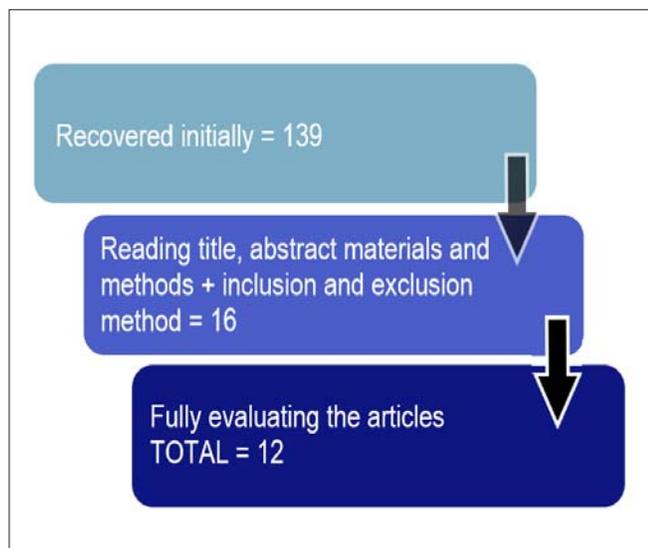


Figura 1. Fluxograma das etapas da triagem realizada para obtenção dos trabalhos.

About 10% of the retrieved articles could be used after screening by applying the inclusion and exclusion methods. It might have happened due to the repetition of several papers in the referred databases and many articles out of the topic and out of the kind of study of interest to this review. Selection of articles included studies ranging from 2005 to 2017.

Subsequently to the complete reading of the articles, some were excluded because they showed only biochemical markers associated with histopathological parameters, case of which would require a biopsy for the method, diverging to the proposal of this work (using non-invasive techniques). In other hand, some studies combined biochemical markers with imaging tests, not being comprised in the focus of this work, despite the non-invasive nature.

To complement the understanding of the techniques, its groundings, and pathophysiology of liver fibrosis, review articles have been searched in MedLine database, prioritizing the most recent works that did not diverge from the purpose of the present theme.

#### Literature data

Several laboratory methods for the diagnosis and staging of liver fibrosis are presented below.

#### Serum homocysteine

Homocysteine is an essential amino acid derived from the metabolism of methionine. The reasoning for evaluation of this analyte during non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) course is that mild hyperhomocysteinemia is an important predictor of cardiovascular disease along with insulin resistance. It is known that insulin resistance plays an important role in the progression of NAFLD to non-alcoholic steatohepatitis (NASH), hence it has been questioned if homocysteine levels would also be altered in transition from NASH to fibrosis.

A study correlating their serum levels with the progression of fibrosis has been performed by Polyzos et al.<sup>(3)</sup> Here, the validation of the test was done in patients with NAFLD. It is known that NAFLD is composed of a spectrum ranging from simple hepatic steatosis to NASH, wherein inflammation and maybe progression to fibrosis, cirrhosis and even hepatocellular carcinoma might happen.

The tests were performed in 31 patients, 15 with NAFLD and 16 with NASH. For the control group, 31 people participated, with similar parameters (sex, age and body mass index). Serum homocysteine levels were lower in patients with NASH ( $\mu\text{mol/L } 12.3 \pm 2.5$ ) compared to individuals who had NAFLD ( $\mu\text{mol/L } 14.7 \pm 2.1$ ). Furthermore, comparisons between homocysteine levels

were shown to be related to hepatic fibrosis stages, in an inverse manner. Table 1 lists levels of fibrosis correlated with serum homocysteine levels.

Table 1 - Comparison of homocysteine levels in different stages of liver fibrosis. Source: Polyzos et al.<sup>(3)</sup>

Liver fibrosis stage	Homocysteine ( $\mu\text{mol/L}$ )
None	14.9 $\pm$ 2,6
Perisinusoidal OR periportal	13,7 $\pm$ 1,9
Perisinusoidal AND portal/periportal OR bridging fibrosis	11,0 $\pm$ 2,1

In addition to fibrosis, other parameters correlated with homocysteine levels (decreasing their levels according to disease progression), such as portal inflammation and steatosis location.

Homocysteine is an intermediate component in methionine metabolism and can follow two pathways: remethylated (a process requiring folate and vitamin B12), returning to the methionine state or irreversibly degraded to cysteine via the process of transsulfuration (a process requiring vitamin B6).

Two reasons may explain why low homocysteine levels contribute to progression of NAFLD to NASH, and, consequently, fibrosis. The first one is the modulation of methyl balance: the reduction of homocysteine levels culminate in the decrease of S-adenosylmethionine, which in turn is necessary for exporting of VLDL from the liver. With the reduction of methionine (and consequent decrease in homocysteine), this process of exporting VLDL is decreased, increasing the hepatic accumulation of lipids. The second reason involves the enzyme cystathionine beta synthase, which catalyzes the condensation of homocysteine with serine to cystathionine, which in turn is hydrolyzed to cysteine, that could be used for the synthesis of glutathione. Low levels of glutathione promote the progression of liver fibrosis, because it protects liver cells from damage caused by oxidative stress. Therefore, measurement of serum homocysteine levels may be a good ally for the diagnosis of liver fibrosis in NAFLD cases.

### **Hyaluronic acid (HA) and vascular endothelial growth factor (VEGF)**

Before understanding the reason for choosing these markers, it is necessary to emphasize some processes that occur in liver fibrosis. Its development is characterized by excessive deposition of extracellular matrix components, including various types of collagens, proteoglycans, structural glycoproteins and hyaluronic acid (HA). Such excess of extracellular matrix in the space of Disse causes a reduction in blood flow, affecting adjacent hepatocytes and

influencing the clearance ability of these and other hepatic cells. Over time, a distortion of liver architecture comes up, forming fibrotic scars and regeneration nodules, which leads to hepatocellular dysfunction and increases intrahepatic resistance to blood flow. Additionally, during fibrosis, liver sinusoidal endothelial cells undergo transformations - they lose fenestrations. Thus, hypoxia ends up being one of the consequences. This mechanism requires the participation of proinflammatory cytokines and growth factors, including vascular endothelial growth factor (VEGF). Furthermore, the increase of HA levels reflects in the capillary levels of liver endothelial sinusoidal cells, since it acts to promote the formation of endothelial cells and induce the expression of angiogenic factors, such as intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1) and matrix metalloproteinase 2 (MMP-2). Therefore, HA and VEGF may act as fibrogenic and angiogenic factors.

It is known that angiogenesis is essential for organ growth and repair after liver disease. The disturbance of balance between liver fibrogenesis and angiogenesis can lead to several diseases, including the onset of cancer. It is known that chronic hepatitis C is one of the main causes of the development of hepatic angiogenesis.

The study by Toson et al.<sup>(4)</sup> was validated in patients with chronic hepatitis C. The area under the curve (AUC) of HA to differentiate patients with significant fibrosis from those with non-significant fibrosis was 0.941 and of VEGF was 0.911. HA showed specificity of 94% and sensitivity of 85%, positive predictive value of 92% and negative predictive value of 89%. Moreover, for VEGF, the values were 91% of specificity, 78% of sensitivity, positive predictive value of 88% and negative predictive value of 83%.

### **AST to platelet ratio index (APRI)**

This method uses two simple laboratory parameters, aspartate aminotransferase (AST) and platelet count. This rate is calculated as follows:  $\text{APRI} = (\text{AST}/\text{upper limit} \times 100) / \text{platelet count}$ . As fibrosis progresses, portal hypertension, splenic sequestration and increased injury of platelets occurs, conferring a decrease in their levels. In addition, liver fibrosis is associated with decreased production of thrombopoietin, performed by hepatocytes. Furthermore, AST increases in liver fibrosis, since its clearance becomes reduced and its release by mitochondria increases due to hepatic injury, as reported by Shin et al.<sup>(5)</sup>

A differential of the study by Kruger et al.<sup>(6)</sup> in the year 2011 consists in the fact that the referred study was validated in patients whose liver disease is NAFLD, including its progress, such as NASH, which can evolve to fibrosis. It is usually validated in patients with chronic hepatitis C. As liver fibrosis progressed, APRI increased. In the group without fibrosis and with mild fibrosis, APRI presented a value of

0.7, whereas in the advanced fibrosis group the value increased to 1.54.

This method was also validated by Chang et al.<sup>(7)</sup> In this study, APRI was compared with another non-invasive method, the transient elastography (imaging method, which is not the focus of this review), that measures liver rigidity, attributing higher rigidity to fibrosis progression. Although the elastography proved being better than the blood test, the values found for APRI were promising.

In this study, patients with diverse chronic liver diseases were selected, such as: carriers of viral hepatitis; NASH; autoimmune hepatitis; primary biliary cirrhosis and elevated transaminases. It also included a group with unknown liver disease and undergoing liver surgery and one group of patients with cirrhosis waiting for resection of the carcinoma. APRI >1.50 was able to identify the presence/absence of significant fibrosis in 59.1% of the patients. This was the cut point chosen as optimal. Similarly, APRI >2.00 was able to identify the presence of cirrhosis in 80.9% of the patients.

It should be noticed that the accuracy of APRI can be affected by conditions such as hemolysis, cholestasis, and elevated transaminase levels.

#### AST to platelet ratio index (APRI)

This method uses two simple laboratory parameters, aspartate aminotransferase (AST) and platelet count. This rate is calculated as follows:  $APRI = (AST / \text{upper limit} \times 100) / \text{platelet count}$ . As fibrosis progresses, portal hypertension, splenic sequestration and increased injury of platelets occurs, conferring a decrease in their levels. In addition, liver fibrosis is associated with decreased production of thrombopoietin, performed by hepatocytes. Furthermore, AST increases in liver fibrosis, since its clearance becomes reduced and its release by mitochondria increases due to hepatic injury, as reported by Shin et al.<sup>(5)</sup>

A differential of the study by Kruger et al.<sup>(6)</sup> in the year 2011 consists in the fact that the referred study was validated in patients whose liver disease is NAFLD, including its progress, such as NASH, which can evolve to fibrosis. It is usually validated in patients with chronic hepatitis C. As liver fibrosis progressed, APRI increased. In the group without fibrosis and with mild fibrosis, APRI presented a value of 0.7, whereas in the advanced fibrosis group the value increased to 1.54.

This method was also validated by Chang et al.<sup>(7)</sup> In this study, APRI was compared with another non-invasive method, the transient elastography (imaging method, which is not the focus of this review), that measures liver rigidity, attributing higher rigidity to fibrosis progression. Although the elastography proved being better than the blood test, the values found for APRI were promising.

In this study, patients with diverse chronic liver diseases were selected, such as: carriers of viral hepatitis; NASH; autoimmune hepatitis; primary biliary cirrhosis and elevated transaminases. It also included a group with unknown liver disease and undergoing liver surgery and one group of patients with cirrhosis waiting for resection of the carcinoma. APRI >1.50 was able to identify the presence/absence of significant fibrosis in 59.1% of the patients. This was the cut point chosen as optimal. Similarly, APRI >2.00 was able to identify the presence of cirrhosis in 80.9% of the patients.

It should be noticed that the accuracy of APRI can be affected by conditions such as hemolysis, cholestasis, and elevated transaminase levels.

#### FIB-4

The study of Lin et al.<sup>(8)</sup> evaluated APRI and FIB-4 separately and compared their accuracies. APRI has been already describe in this article. FIB-4 is an easily calculated index and includes AST, platelet count, age, and alanine aminotransferase (ALT). The method for calculating FIB-4 is shown below:  $FIB-4 = \text{age (in years)} \times \text{AST (U/L)} / (\text{platelet count (109/L)} \times [\text{ALT (U/L)}]^{1/2})$ . This parameter has been validated in patients with chronic hepatitis B. The evaluation of said markers in patients carrying this disease is very important, because at least prior to the year of its publication, there were little data on the applicability of APRI and FIB-4 on these patients. For APRI an area under the receiver operating characteristics (AUROC) of 0.704 (in significant fibrosis) were shown. For FIB-4, the AUROC was 0.769. Comparing the accuracy of these two methods for cirrhosis, better results were found in the detection of cirrhosis than in significant fibrosis (AUROC of 0.706 in APRI and 0.869 in FIB-4). FIB-4 may have shown better results than APRI in both significant fibrosis and cirrhosis because it involves additional parameters related to liver fibrosis, such as age and ALT levels.

#### Coopscore

In the study by Taibi et al.,<sup>(1)</sup> this method has been validated in patients with chronic hepatitis C, comprising five parameters: alpha-2-macroglobulin, apolipoprotein-A1, AST, collagen IV and osteoprotegerin (OPG). The calculation model of the score is as follows:  $Coopscore = 1 / (1 + \exp(-1.856 + 1.216 \times \ln A2M (\mu\text{g/L}) + 0.007 \times C-IV (\mu\text{g/L}) - 1.047 \times \text{ApoA1/L} + 0.451 \times \ln OPG (\mu\text{g/L}) + 0.005 \times \text{AST (IU/L)} + 0.005 \times \text{age} + 0.231 \times \text{sex (M = 1, F = 0)}))$ .

Alpha-2-macroglobulin is capable of inactivating various proteinases, inhibiting fibrolytic activity. In fibrotic liver, the increase of alpha-2-macroglobulin, with consequent inhibition of MMP and decrease of fibrosis degradation, favors the maintenance of this process, according to Ho et

al.<sup>(9)</sup> In the case of apolipoprotein A1, Naveau et al.<sup>(10)</sup> describes that this analyte is present at lower levels in liver fibrosis. It is explained by the fact that apolipoprotein A1 attaches to extracellular matrix, in addition to decreasing the transcription of its RNA. Collagen IV has high levels in fibrosis, as well as OPG, a protein that regulates bone mass (altered during liver disease). Through an algorithm that combines the parameters presented previously, Coopscore was created.

The differential of the study by Taibi et al.<sup>(11)</sup> was the validation of Coopscore in patients coinfecting with HBV and HIV. It is estimated that 5% to 10% of patients infected with HIV are also infected with HBV. Since HIV accelerates the consequences caused by HBV (progression from fibrosis to cirrhosis and increased incidence of HCC), the prognosis is poor.

The results showed that Coopscore increases as fibrosis levels increase. Furthermore, Obuchowski's calculation revealed that the diagnostic performance of Coopscore was higher (0.774), compared to other patented tests, such as Fibrometer (0.668), Hepascore (0.690) and Zeng score (0.704,  $P < 0.05$ ), although they did not show differences between Coopscore and Fibrotest (0.734,  $P = 0.17$ ). Despite this method has been shown promissory, it should be clarified that in certain cases, OPG levels may be altered, as in HIV infections associated with atherosclerosis and during bone remodeling, which could modify the results of Coopscore. In addition, the use of some antiretrovirals, so-called d-drugs (dideoxynucleotide analogues) and selective protease inhibitors are some other factors that may affect the levels of OPG and collagen IV.

### Hepascore

This method consists of an algorithm that combines alpha-2 macroglobulin, hyaluronic acid, TIMP-1 and MMP-2. All these molecules are closely involved in the pathophysiology of liver fibrosis (their involvement in the pathophysiology of liver fibrosis has been reported in previous paragraphs). In addition to analytes, this method includes the age and sex of the patient as variables.

In this study, performed by Adams et al.,<sup>(11)</sup> an AUC of 0.820 was obtained for detection of significant fibrosis. For advanced fibrosis, the value was 0.903 and for cirrhosis 0.891 in the test validation group. Also, the raise in Hepascore values were proportional to increased fibrosis levels.

### Various tests

Lackner et al.<sup>(12)</sup> analyzed the accuracy of AST/ALT, cirrhosis discriminant score (CDS), age/platelet index (AP), Pohl score, APRI and platelet counts. The methods for obtaining some of these parameters are described below. The others were further explained previously.

CDS is obtained as follows: platelet count ( $\times 10^9/L$ ), AST/ALT rate, and international normalized rate (INR). From the individual obtained values, the sum is made to obtain the final scores of CDS (Table 2).

The AP is the sum of the scores obtained in age and platelet counts (Table 3).

Table 2 - How CDS is calculated. Source: Lackner et al.<sup>(12)</sup>

Platelet (109/L)	AST/ALT	INR
> 340 = 0	> 1,7 = 0	< 1,1 = 0
280-339 = 1	1,2 - 1,7 = 1	1,1 - 1,4 = 1
220 - 279 = 2	0,6 - 1,19 = 2	> 1,4 = 2
160 - 219 = 3	< 0,6 = 3	
100 - 159 = 4		
40 - 99 = 5		
< 40 = 6		

Table 3 - How AP is obtained. Source: Lackner et al.<sup>(12)</sup>

Age (years)	Platelets (109/L)
< 30 = 0	$\geq 225 = 0$
30 - 39 = 1	200 - 224 = 1
40 - 49 = 2	175 - 199 = 2
50 - 59 = 3	150 - 174 = 3
60 - 69 = 4	125 - 149 = 4
$\geq 70 = 5$	< 125 = 5

In Pohl score: it is positive when AST / ALT ratio  $\geq 1$  and platelet count  $< 150 \times 10^9 / L$ .

Liver fibrosis showed weak correlation values with ALT (M = 0.58), INR (M = 0.58), AST / ALT (M = 0.25) and CDS (M 0.46), while it was moderately related with AST (M 0.52), platelet count (M 0.48), AP index (M 0.52) and APRI (M 0.61). Subsequently, AUROC of platelet count, AP index and APRI were created. Among these, APRI presented the best prediction for fibrosis in the F3-F6 stages, of significant fibrosis (AUROC of 0.80) (according to the Ishak score). In the F5-F6 stages of cirrhosis, the best diagnostic power was given by the AP index (AUROC of 0.91).

The methods below are more related to experimental diagnosis.

### Plasma free choline

The study by Imajo et al.<sup>(13)</sup> validated this method in patients with NASH. In animal models of NASH, researchers use mice with methionine and choline deficiency. Mice maintained on this diet are characterized by macrovesicular steatosis, hepatocellular death, inflammation, oxidative stress and fibrosis. These findings are similar to those seen in humans with NASH.

Choline deficiency appears to be associated with the mechanism responsible for the development of the pathogenesis, but this has not yet been fully elucidated. What is known is that choline is essential for the functioning of cells. Most of it is absorbed by small intestine and metabolized in liver. In addition, it is a precursor of phosphatidylcholine - the major component of very low density lipoprotein (VLDL). However, in this study, the finding was different from the animal models. In it, plasma choline levels have been shown to increase in NASH cases, compared with simple steatosis. One hypothesis that attempts to explain this controversial fact is that microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) has reduced activity in NASH, and in fact this has been shown in previous studies. Therefore, free choline levels are increased in plasma.

Choline deficiency appears to be associated with the mechanism responsible for the development of the pathogenesis, but this has not been fully elucidated yet. It is known that choline is essential for the functioning of cells. Most of it is absorbed by the small intestine and metabolized in the liver. In addition, it is a precursor of phosphatidylcholine - the major component of very low density lipoprotein (VLDL). However, in this study, the finding was different from the animal models, because plasma choline levels appeared to increase in NASH cases, compared to simple steatosis. One hypothesis that attempts to explain this controversial fact is that microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) has reduced activity in NASH, and in fact this has been elucidated in previous studies. As consequence, an increase in plasma free choline levels occurs.

Plasma free choline levels in NASH patients demonstrated to be significantly higher when compared to healthy patients (mean, 0.16 mg/dL, ranging from 0.10 to 0.25 mg/dL and a mean of 0.09 mg/dL, ranging from 0.07 to 0.12 mg/dL, respectively). Plasma free choline levels were also positively correlated with the degree of steatosis and fibrosis, but not with lobular inflammation and ballooning of hepatocytes (histological features present in NASH). Moreover, this variable does not change between different ages, genders, body mass indexes, levels of cholesterol, triacylglycerols, hyaluronic acid or presence/absence of obesity, diabetes, dyslipidemia or hypertension - which ends up being advantageous. On the other hand, its disadvantage is the specificity for patients with NAFLD and its progression (including NASH), since it has been shown that said analyte does not increase in other chronic liver diseases.

### Serum N-glycomic markers

Along with plasma cells, hepatocytes are major sources of serum glycoproteins, since the liver is involved in clearance of proteins with aberrant glycosylation. Therefore, it is assumed that hepatic disorders may cause alterations

in serum glycoprotein profile. Based on this idea, a study by Qu et al.,<sup>(14)</sup> has been conducted. Participants with HBV were divided in two groups: one with mild fibrosis and another with advanced fibrosis. Through DNA sequencer-aided fluorophore assisted carbohydrate electrophoresis technique (DSA-FACE), serum glycoproteins of these patients were separated and characterized by different peak patterns.

This technique is used to diagnose cirrhosis and hepatocellular carcinoma through the emerging of specific peak patterns. In cirrhosis, peak 7 is elevated while 8 is decreased, compared with healthy patients. Thus, the log derived from these peaks  $\log(\text{peak 7}/\text{peak 8})$  can distinguish cirrhotic patients. The intention was to discover some specific pattern to differentiate levels of fibrosis.

Results showed that peaks 1, 2, 3, 4 and 10 were significantly elevated, whereas 5, 8 and 11 decreased in advanced fibrosis when compared with the mild fibrosis group. Several peaks were obtained, so it was necessary to identify those that would be the best to fit fibrosis levels. Then, various receiver operating characteristic (ROC) curves were used to determine the role of different peaks. In this study, the best result was  $\log(\text{peak 2}/\text{peak 8})$ . From this result, specificities, sensitivities, positive and negative predictive values and accuracy of different liver fibrosis stages were compared. Using  $\log(\text{peak 2}/\text{peak 8})$ , good predictors were obtained for advanced fibrosis, but not for early and moderate stages.

Combinations of  $\log(\text{peak 2}/\text{peak 8})$  with biochemical methods already known were made, such as pro-collagen type III propeptide (PIIINP), collagen IV, HA, laminin, collagenases and inhibitors of collagenases. Among these, HA showed best correlation with different stages of fibrosis, although it did not improve AUROC with  $\log(\text{peak 2}/\text{peak 8})$  for diagnosis of significant, advanced fibrosis and cirrhosis.

Therefore, serum glycomic profile, although isolated, can predict well the presence of liver fibrosis, being more discriminant in significant fibrosis.

### Serum connective tissue growth factor (CTGF)

CTGF is a member of the CYR61-CTGF-NOV 2 glycoprotein superfamily, a family of cysteine-rich glycoproteins, which is related to the pathogenesis of liver fibrosis. It is suggested that the referred protein is an amplifier of TGF- $\beta$ , a pro-fibrogenic cytokine. Although its mechanism of action is not fully elucidated, it probably strengthens the binding of TGF- $\beta$ 1 to its receptor.

The study of Gressner et al.<sup>(15)</sup> showed that serum concentrations of CTGF were significantly elevated in HBV infected patients at the advanced fibrosis stage (stages 3 and 4,  $36.9 \pm 19.7$  ng/mL), cirrhosis ( $43.6 \pm 48.5$  ng/mL) and hepatocellular carcinoma ( $38.5$  ng/mL) than in control

( $17.7 \pm 10.7$  ng/mL). However, this method was not able to discriminate well between healthy and fibrosis patients in the most early to moderate stages (stages 1 and 2,  $20.3 \pm 8.8$  ng/mL).

### **Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein (WFA+ - M2BP)**

WFA + - M2BP protein has already been reported as a glycomarker for liver fibrosis. It is secreted primarily by hepatocytes. WFA + - M2BP mediates cell proliferation, angiogenesis, and is also involved in the increase of cell adhesion to extracellular matrix. Their serum levels increase as fibrosis progresses. In the study by Ura et al.,<sup>(16)</sup> hepatitis C was evaluated, wherein the identification of significant fibrosis is crucial, since patients with fibrosis at this stage have a higher chance of rapidly progressing to hepatocellular carcinoma. Thus, if this stage of significant fibrosis is reached, these individuals should be promptly medicated, in order to suppress the progression of the disease. The advantages of using this method are its liver specificity, high diagnostic accuracy and good reproducibility. For  $\leq$  F2 (Metavir score), WFA + - M2BP quantification revealed sensitivity of 83.6, specificity of 73.6, positive predictive value of 65.7 and negative predictive value of 88.2. For  $\geq$  F3, sensitivity was 78.4, specificity 64.2, positive predictive value 42.6 and negative predictive value 89.7.

## **DISCUSSION**

More than 50% of patients with cirrhosis die within the first 17 years after diagnosis, mostly with hepatocellular carcinoma. Therefore, attenuation of the fibrogenic process is important to decrease morbidity. Due to its invasive nature and serious analytical limitations, histological evaluation is not recommended for the purpose of diagnosis and monitoring, according to Taibi et al.<sup>(1)</sup> Additionally, the prognosis is also important because, in hepatitis C cases, e.g., the infection depends on the current fibrosis stage and the progression rate of the disease (fibrogenic rate). Therefore, the sooner the diagnosis is made, the better for the clinician, being able to propose the treatment, and even better for the patient, that would return to its activities without great harm to its health. However, the course of chronic liver disease can take decades to generate symptoms that enable proper investigation and diagnosis. Thus, the patient often receives diagnosis when in terminal phase and may require liver transplantation. At a terminal stage, treatment may not be effective.

Ideally, hepatic monitoring should be performed, especially when the patient is exposed to risk factors, such as excessive alcohol consumption, presence of hepatic steatosis, etc. However, it is not feasible to perform biopsies

at short intervals, since this method presents risks to the patient because it is highly invasive, expensive, depends on trained professionals to obtain a significant sample and the method itself has disagreements, because the reading is done by human beings, undergoing individual subjectivity. In this sense, the development of non-invasive diagnostic methods is of great importance. In addition, benefits of these methods would also be seen during the monitoring of chronic liver diseases, since they could dispense repeated biopsies and consequent discomfort for the patient.

From the analyzed studies, it is noted that hepatitis C is the chronic liver disease widely chosen for study of diagnostic methods. However, it is important to note that fibrosis is a common consequence of dozens of liver diseases. Privileging a disease in the study ends up impairing the analysis of quality of these markers, after all, not necessarily all analytes will present similar behaviors in all situations.

Unlike other methods, which appeared only once in the present study, APRI appeared three times. Probably, due to platelets and AST being analytes commonly evaluated in laboratory routine. Some of these studies validated the method in NAFLD and hepatitis B. These are promising ways to evaluate fibrosis arising from other liver diseases besides hepatitis C. However, this method is more reliable in cases where liver fibrosis is in advanced level (cirrhosis), it may be useful in cases where advanced fibrosis is confirmed, so a non-invasive method can be applied for monitoring, since fibrotic patients are usually evaluated with constancy.

FIB-4 is another very simple method to use. It takes in account age, AST, ALT and platelet count. In addition, the study by Lin et al.<sup>(8)</sup> showed that, in comparison with APRI, FIB-4 can be more accurate, because it considers other parameters than those in APRI. Homocysteine and VEGF are analytes that also have their levels checked regularly in clinical analysis laboratories, but not as often as AST, ALT, and platelets. In the study by Polyzos et al.<sup>(3)</sup> it has been seen that homocysteine levels are inversely related to fibrosis progression. The disadvantage is that it is closely related to the metabolic syndrome, so its use is only seen in cases where fibrosis is related to NAFLD. The right decision would be analyze it in other hepatic diseases, allowing possible discoveries of correlation with other illness.

Other tests are more related to scientific research field. We can cite N-glycomic markers, serum CTGF, free plasma choline, and WFA + - M2BP. However, this represents a start for the discovery of new and promising diagnoses of liver fibrosis. It is worth noticing that none of the four prior said tests proved to be precise for diagnosis of fibrosis at earlier stages. Among them, choline has the advantages of being stable in several secondary pathologies, although it is only useful in cases where fibrosis comes from NAFLD.

HA is a direct marker of liver fibrosis, that reflects its metabolism. In the research conducted by Toson et al.<sup>(4)</sup> it has been shown that HA is a good predictor of liver fibrosis. In addition to direct markers, there are algorithms that can use combinations of direct and indirect markers (indirect ones reflect changes in liver function as a result of fibrosis) and can be combined with patient variables such as sex and age. This group includes Coopscore and Hepascore. Both have their values directly related to progression of fibrosis. In addition, Coopscore study had the differential of being analyzed in patients HBV-HIV coinfecting, opening doors to works that could compare the accuracy of diagnostic methods in mono and coinfecting patients.

It is possible to note that there is a variety of markers studied in different liver diseases, which use several scales for their classification. In addition, the groups of patients analyzed were heterogeneous. This means that we must always keep in mind that studies conducted in sites with diverse incidence and prevalence of a particular chronic liver disease may present changes in test sensitivity and specificity.

The ideal marker should be able to accurately assess fibrosis severity with reliability, reproducibility and monitoring of fibrosis. Also, it should be available in most, if not all, hospitals.

## CONCLUSION

The fact of a marker being validated in a specific disease does not exclude the possibility of using it in other chronic hepatic etiologies. In order to know which markers can be used and in which diseases, studies that contemplate a greater number of diseases (including concomitants) using the same analyte or a set of them are necessary. With more advanced research, summed to molecular biology, new markers can be discovered, studied and, therefore, its reference values applied to a range of chronic liver diseases.

The research on non-invasive diagnostic and monitoring methods for liver fibrosis that are cheaper and easier to access in different regions of the world is notable. Despite the efforts, there are many barriers to be faced, such as the difficulty of standardization in different groups studied and variations of the analytes in various chronic liver diseases. However, the existence of the methods discussed in this study is a path for a promising future in the non-invasive diagnosis of fibrosis.

### Resumo

**Introdução:** A fibrose hepática é uma das consequências graves de doenças hepáticas crônicas. Seu diagnóstico precoce é de suma importância para uma tomada rápida de decisão para tratamento e prognóstico. Seu diagnóstico e monitoramento costuma ser realizado por biópsias hepáticas, método custoso, com grandes chances de

complicações e interpretação de resultados de forma subjetiva. **Objetivos:** A pesquisa para o desenvolvimento de métodos não invasivos é grande. O objetivo deste estudo é mostrar e avaliar alguns desses métodos. **Materiais e métodos:** Foram analisados artigos de validação em quatro bases de dados (Medline, Cochrane, LILACS e SciELO). Os termos empregados foram: (liver fibrosis) AND (non invasive diagnosis). Todos os trabalhos sucederam aos métodos inclusão e exclusão. **Resultados:** Alguns métodos se mostraram promissores, sendo grande parte utilizados no diagnóstico mais tardio da fibrose hepática. **Discussão:** Muitos métodos foram e estão sendo validados, alguns se mostrando promissores, embora necessitem de futuros refinamentos em suas avaliações, como diversificação da população estudada e avaliação em diversas doenças hepáticas crônicas. **Conclusões:** Ainda existem muitas dificuldades para criação e padronização dos métodos analíticos. Todavia, a existência e a validação são passos importantes para um futuro favorável no diagnóstico de fibrose.

**Palavras-chave:** Cirrose hepática; hepatopatias; biópsia

## REFERÊNCIAS

1. Taibi L, Boyd A, Bosselut N, Bottero J, Guechot J, Lacombe K, et al. Diagnostic accuracy of the Coopscore((c)) to predict liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis B virus co-infection. *Ann Clin Biochem.* 2018;55(2):236-43. doi: 10.1177/0004563217707979.
2. Ichikawa Y, Joshita S, Umemura T, Shobugawa Y, Usami Y, Shibata S, et al. Serum Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein may predict liver fibrosis and progression to hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res.* 2017;47(2):226-33. doi: 10.1111/hepr.12712.
3. Polyzos SA, Kountouras J, Patsiaoura K, Katsiki E, Zafeiriadou E, Deretzi G, et al. Serum homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol.* 2012;11(1):68-76.
4. Toson EA, Shiha GE, Abdelgaleel AE. Fibrogenic/Angiogenic Linker for Non-Invasive Assessment of Hepatic Fibrosis Staging in Chronic Hepatitis C Among Egyptian Patients. *Ann Hepatol.* 2017; 16(6): 862-73. doi: 10.5604/01.3001.0010.5276.
5. Shin WG, Park SH, Jang MK, Hahn TH, Kim JB, Lee MS, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis.* 2008;40(4):267-74.
6. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, van Rensburg C, et al. APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. *S Afr Med J.* 2011;101(7):477-80.
7. Chang PE, Lui HF, Chau YP, Lim KH, Yap WM, Tan CK, et al. Prospective evaluation of transient elastography for the diagnosis of hepatic fibrosis in Asians: comparison with liver biopsy and aspartate transaminase platelet ratio index. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28(1):51-61. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03711.x.
8. Lin CL, Liu CH, Wang CC, Liang CC, Su TH, Liu CJ, et al. Serum Biomarkers Predictive of Significant Fibrosis and Cirrhosis in Chronic Hepatitis B. *J Clin Gastroenterol.* 2015;49(8):705-13. doi: 10.1097/MCG.0000000000000250.
9. Ho AS, Cheng CC, Lee SC, Liu ML, Lee JY, Wang WM, et al. Novel biomarkers predict liver fibrosis in hepatitis C patients: alpha 2 macroglobulin, vitamin D binding protein and apolipoprotein AI. *J Biomed Sci.* 2010 Jul 15;17:58. doi: 10.1186/1423-0127-17-58.
10. Naveau S, Raynard B, Ratziu V, Abella A, Imbert-Bismut F, Messous D, et al. Biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005 Feb;3(2):167-74.
11. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem.* 2005;51(10):1867-73.

12. Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, et al. Comparison and validation of simple non-invasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41(6):1376-82.
13. Imajo K, Fujita K, Yoneda M, Shinohara Y, Suzuki K, Mawatari H, et al. Plasma free choline is a novel non-invasive biomarker for early-stage non-alcoholic steatohepatitis: A multi-center validation study. *Hepatology Res*. 2012;42(8):757-66. doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.00976.x.
14. Qu Y, Gao CF, Zhou K, Zhao YP, Xu MY, Lu LG. Serum N-glycomic markers in combination with panels improves the diagnosis of chronic hepatitis B. *Ann Hepatol*. 2012;11(2):202-12.
15. Gressner OA, Fang M, Li H, Lu LG, Gressner AM, Gao CF. Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in serum is an indicator of fibrogenic progression and malignant transformation in patients with chronic hepatitis B infection. *Clin Chim Acta*. 2013; 421:126-31. doi: 10.1016/j.cca.2013.02.029.
16. Ura K, Furusyo N, Ogawa E, Hayashi T, Mukae H, Shimizu M, et al. Serum WFA(+)-M2BP is a non-invasive liver fibrosis marker that can predict the efficacy of direct-acting anti-viral-based triple therapy for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43(1):114-24. doi: 10.1111/apt.13431.

---

Correspondência

**Graciele Gonçalves Santos**

*Avenida Carlos Chagas Filho, 373, Cidade Universitária  
Laboratório de Imunoparasitologia e Análises Toxicológicas (LIPAT)  
Bloco A, 2º Andar, sala 017  
Rio de Janeiro-RJ, Brasil*

# Uso de biomarcadores sanguíneos no diagnóstico da doença de Alzheimer: um futuro próximo?

## *Use of blood biomarkers in the diagnosis of Alzheimer's disease: a near future?*

Moacir Palheta Cereja<sup>1</sup>  
Nágila Martins Carvalho<sup>1</sup>  
Simone Suelen Rodrigues Amparado<sup>2</sup>  
Symara Rodrigues-Antunes<sup>3</sup>  
Danielle Cristinne Azevedo Feio<sup>3</sup>

### Resumo

A doença de Alzheimer (DA) é uma das formas mais comuns de demência, sendo ela uma patologia neurodegenerativa que acomete pessoas idosas de maneira irreversível. O diagnóstico precoce possibilitaria a realização de tratamentos que apresentassem melhores resultados sobre a redução da severidade dos sintomas. Entretanto, isto é um grande problema, pois os métodos já consolidados de diagnóstico são invasivos, como a análise do líquido cefalorraquidiano e a biópsia do cérebro. Este estudo buscou analisar biomarcadores sanguíneos capazes de identificar a DA ainda em seu estágio inicial. Realizou-se uma revisão integrativa da literatura mediante busca de artigos indexados nas plataformas eletrônicas de dados PubMed e SciELO com o descritor em inglês e português "Biomarker, blood, alzheimer": Foram analisados artigos de 2013 a 2019, onde os principais tipos de biomarcadores foram os que realizaram a análise de proteínas específicas, microRNAs e autoanticorpos, proporcionando assim bons resultados não só no diagnóstico como também no custo benefício, pois a eles confere a diferenciação das demais patologias para o estado inicial da doença de Alzheimer. Conclui-se que apesar dos resultados obtidos terem sido positivos, ainda são necessários mais estudos a fim de aumentar a sensibilidade e especificidade na diferenciação da DA de outros tipos de demência.

### Palavras-chave

Doença de Alzheimer; biomarcadores; sangue

## INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é considerada uma demência neurodegenerativa, e sua principal característica é o acúmulo de placas amiloides extraneurais, além de emaranhados neurofibrilares intraneurais localizados em regiões do cérebro como o lobo temporal; os acúmulos dessas placas já estão descritos por cooperarem para um declínio cognitivo progressivo.<sup>(1,2)</sup> No início da patologia, o paciente apresenta um comprometimento da memória episódica, e com a evolução da mesma ocorre uma irregularidade da memória semântica, seguida de prejuízos em habilidades visuoespaciais e funções executivas.<sup>(3)</sup>

O declínio cognitivo da memória em pacientes portadores da doença de Alzheimer pode ser apontado como um elemento de extrema importância para o diagnóstico diferencial entre o envelhecimento normal e o patológico.<sup>(4)</sup> A DA é a forma mais comum de demência, sendo uma das

quatro primeiras causas mais frequentes de morte em países desenvolvidos. A doença de Alzheimer é tida como tardia e identificada pelos seus sintomas, que iniciam a partir dos 65 anos de idade ou mais, tendo uma correspondência de 95% dos casos já registrados.<sup>(5)</sup>

O envelhecimento da população em decorrência do aumento da expectativa de vida é um fenômeno mundial, que apresenta consequência direta no sistema de saúde pública, tendo como uma das principais consequências do aumento desta parcela da população o crescimento da prevalência de demências, especialmente da DA.<sup>(6)</sup> Dessa maneira, é de extrema importância a identificação de indivíduos que apresentem potenciais riscos de desenvolver demência. Apesar de gerar discussões, o diagnóstico precoce das demências possibilita uma possível intervenção terapêutica, melhorando dessa forma não só a vida do portador como também dos familiares, por meio, por exemplo, da redução de riscos de acidente, prolongando auto-

<sup>1</sup>Biomédico. Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ). Belém-PA, Brasil.

<sup>2</sup>Enfermeira. Universidade Estadual de Minas Gerais – Belo Horizonte-MG, Brasil.

<sup>3</sup>Biomédica. Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela Universidade Federal do Pará. Professora - Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ). Belém-PA, Brasil.

Instituição: Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ). Belém-PA, Brasil.

Conflitos de interesse: não há conflito de interesses

Recebido em 20/07/2019

Artigo aprovado em 12/12/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900880

nomia e, em alguns casos, retardando o início do processo demencial.<sup>(7)</sup>

Desta forma, o presente estudo reconhece a necessidade de uma revisão sobre o tema para avaliar e identificar diferentes técnicas que utilizem biomarcadores sanguíneos para o diagnóstico da doença de Alzheimer, com a finalidade de estabelecer precocemente o diagnóstico utilizando-se de métodos menos invasivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica do tipo integrativa, norteada pela seguinte questão: "existem biomarcadores sanguíneos viáveis para diagnóstico da doença de Alzheimer?" O estudo tem um caráter retrospectivo e temporal, devido ao levantamento de dados ter sido realizado no mês de agosto de 2019 e ser referente aos anos de 2013 a 2019. A pesquisa foi efetivada a partir das bases de dados PubMed e SciELO, utilizando os descritores: "Biomarcadores, Sangue, Diagnóstico e Alzheimer", em português e em inglês combinados da seguinte forma: "*blood-based biomarkers, alzheimer's, disease*". A busca e a seleção dos artigos incluídos nesta revisão foram realizadas por três revisores de forma independente, com a participação do quarto e quinto revisor quando não houve consenso.

Os critérios de inclusão adotados incluíram os seguintes parâmetros: artigos que avaliaram os biomarcadores sanguíneos na doença de Alzheimer e/ou em estudos comparativos de declínio cognitivo com Alzheimer, artigos

publicados nos anos de 2013 a 2019, artigos do tipo estudo clínico e escritos em português ou inglês. Já os critérios de exclusão incluíram: artigos que utilizaram os biomarcadores sanguíneos somente em pacientes com declínio cognitivo; artigos publicados há mais de sete anos; artigos em outras línguas; artigos que abordavam biomarcadores em outros fluidos corporais, material obtido através de autópsia dos pacientes; artigos que avaliaram biomarcadores somente com técnicas de diagnóstico por imagem, artigos com número amostral de pacientes com DA menor que dez e artigos do tipo revisão, relato de caso e carta ao editor.

## RESULTADOS

A pesquisa resultou em um total de 186 artigos utilizando os descritores "*Blood-based biomarker's Alzheimer's disease*", com uso do filtro para ensaio clínico e artigos dos últimos sete anos, na base de dados PubMed. Contudo, na base de dados SciELO, utilizando-se dos mesmos descritores, não resultou em nenhum artigo encontrado.

Dos 186 artigos, 161 foram excluídos por não se enquadrarem nos critérios pré-estabelecidos. Desta forma, foram selecionados 25 que se encontravam dentro dos critérios de inclusão estabelecidos. Os artigos foram então classificados com base no método dos testes nas seguintes categorias: imunoenaios, com 13 artigos (52%); diagnóstico molecular, com oito artigos (32%), diagnóstico molecular e imunoenaios associados com um artigo (4%); e outros métodos com apenas três artigos (12%). No Quadro 1 os dados encontram-se resumidos para melhor visualização.

Quadro 1 - Relação dos artigos utilizados no estudo com base nos critérios de inclusão (1ª Parte)					
Categoria	Autor (ano)	Biomarcador	Métodos	Número de pacientes com DA	Principais Resultados
1. Imunoensaio	Burnham et al. 2016 <sup>(9)</sup>	Beta amiloide neocortical (NAB)	Imunoenaios - Luminex	74	Indivíduos com NAB elevado tiveram taxas mais rápidas de declínio da memória
	Williams et al. 2017 <sup>(10)</sup>	Formas oligoméricas de $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ), tau e TDP-43	ELISA ultrasensível	11	Correlação negativa com os níveis de TDP-43 e positivas com os níveis oligoméricos de A $\beta$ , indicando um aumento nos processos neurodegenerativos com o tempo na DA
	Neergaard et al. 2018 <sup>(11)</sup>	Tau-A e Tau-C	ELISA	232	Altos níveis de Tau-A e Tau-C (acima da mediana) no sangue foram associados a menor risco de demência e DA.
	Nakamura et al. 2018 <sup>(12)</sup>	APP 669-711 / amiloide- $\beta$ (A $\beta$ ) 1-42 e A $\beta$ 1-40 / A $\beta$ 1-42	Imunoprecipitação	29	Os biomarcadores em conjunto mostraram sensibilidade de 96,7%, especificidade de 81,0% e precisão de 90,2%.
	Palmqvist et al. 2019 <sup>(13)</sup>	A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, NFL, neurofilamento de cadeia pesada (NFH) e apoE	Imunoenaios Elecsys	64	A $\beta$ 42 e A $\beta$ 40 tiveram um AUC de 0,80 (IC 95%, 0,77-0,83). Ao adicionar APOE, a AUC aumentou significativamente para 0,85 (IC 95%, 0,82-0,88).
	Wang et al. 2017 <sup>(14)</sup>	Oligômeros da proteína beta amiloides (A $\beta$ )	ELISA - MDS (Sistema de Detecção múltiplo)	24	A sensibilidade e especificidade da detecção de oligômeros A $\beta$ plasmáticos pela MDS da DA em relação aos controles normais foram de 78,3% e 86,5%, respectivamente.

Quadro 1 - Relação dos artigos utilizados no estudo com base nos critérios de inclusão (2ª Parte)					
Categoria	Autor (ano)	Biomarcador	Métodos	Número de pacientes com DA	Principais Resultados
1. Imunoensaio	Tatebe et al. 2017 <sup>(15)</sup>	p-tau181	Imunoensaio	20	Os níveis plasmáticos de p-tau181 foram significativamente maiores nos pacientes com DA do que naqueles nos controles.
	Mohd Hasni et al. 2017 <sup>(16)</sup>	CXCL -1, IFN- $\gamma$ , IL -1 $\beta$ , IL -6, IL -10, IL -12, IL -13, IL -8, CXCL -10, MCP-1 e MIP -1 $\alpha$	Imunoensaio - multiplex/ Masterlex	39	CXCL-10 e IL-13 mostraram um alto nível de precisão diagnóstica, sensibilidade e especificidade de 100%
	Uchida et al. 2015 <sup>(17)</sup>	C3, C4, TTR, apoE, apoA1 e MIP-4.	Imunoensaios - multiplex	48	TTR e apoA1 diminuíram gradualmente durante a progressão do declínio cognitivo CCL e DA. C3 diminuiu durante os estágios iniciais do declínio cognitivo.
	Villarreal et al. 2016 <sup>(18)</sup>	FABP, B2M, PPY, CA-125, PCR, sVCAM, THPO, A2M, TNF- $\gamma$ , TN-C, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL- 18, I309, FVII, TARC, SAA, sICAM, eotaxina 3, adinoponectina, IL-1 e MIP-1	Biomarcador multiplex - Meso Scale Discovery	28	Níveis mais baixos de IL-18 e níveis mais elevados de I309 foram encontrados em pacientes com DA.
	Wiest et al. 2019 <sup>(19)</sup>	acetilcolina $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$ ) e caveolin-1 (CAV-1)	Western blot	40	A expressão relativa de nAChR $\alpha 7$ e CAV-1 foi significativamente maior nas plaquetas DA do que no controle saudável.
	Perrotte et al. 2019 <sup>(20)</sup>	ApoD e ApoJ	Immunoblot	74	Os níveis de ApoJ (clusterina) foram mais altos significativamente em DA em comparação ao grupo saudável com AUC de 0,8804. Já ApoD não apresentou diferença entre os grupos.
	Corlier et al. 2015 <sup>(21)</sup>	Endossomas aumentados em células mononucleares	Imunocitoquímica e microscopia confocal.	48	A porcentagem de células contendo endossomas aumentados foi significativamente maior no grupo DA em comparação com os controles.
	Mattsson et al. 2017 <sup>(22)</sup>	NFL	ELISA ultrassensível	180	NFL plasmático elevado correlacionou-se com a cognição deficiente, atrofia relacionada à DA e com hipometabolismo cerebral.
2. Diagnóstico molecular	Yilmaz et al. 2016 <sup>(6)</sup>	hsa-miR-9-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-106b-5p, hsa-miR-107, hsa-miR-125a-3p e hsa-miR-125b-5p	PCR em tempo real	172	Redução na expressão de hsa-miR-106a-5p com especificidade de 93% e sensibilidade de 68% em relação à suscetibilidade à DA
	DeMarshall et al. 2016 <sup>(23)</sup>	Painel de autoanticorpos	Microarrays	50	50 autoanticorpos com sensibilidade e especificidade de 100,0%.
	Fotuhi et al. 2019 <sup>(24)</sup>	lncRNA do BACE1-AS	PCR em tempo real	45	Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de BACE1-AS nos pacientes com DA e nos controles.
	Sim et al. 2019 <sup>(25)</sup>	Isotipos IgM e IgG	Microarrays	19	A combinação de cinco isotipos principais peptídeos mostrou altos valores de AUC para IgM regulada (0,945), IgG regulada (0,892), IgG regulada (0,862) e IgM regulada (0,961).
	Wang et al. 2019 <sup>(27)</sup>	miR-103 e miR-107	PCR em tempo real	120	O miR-103 foi menor nos pacientes com DA em comparação aos controles saudáveis (P<0,001) com sensibilidade de 80% e a especificidade de 84,2%, já o miR-107 apresentou sensibilidade de 77,5% e a especificidade de 59,2%.
	Keller et al. 2016 <sup>(28)</sup>	508 miRNAs	NGS	103	146 miRNAs desregulados a um nível de significância de 0,05. Com 68 miRNAs, a sobreposição foi significativa (P=0,0003).

Quadro 1 - Relação dos artigos utilizados no estudo com base nos critérios de inclusão (3ª parte)					
Categoria	Autor (ano)	Biomarcador	Métodos	Número de pacientes com DA	Principais Resultados
2. Diagnóstico molecular	Guo et al. 2017 <sup>(29)</sup>	hsa-miR-26a-5p, hsa-miR-181c-3p, hsa-miR-126-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-148b-5p, hsa-miR-106b-3p, hsa-miR-6119-5p, hsa-miR-1246 e hsa-miR-660-5p	NSG	19	Entre os 9 miRNAs, o hsa-miR-22-3p apresenta a melhor sensibilidade (81,8%) e especificidade (70,9%).
	Wiest et al. 2019 <sup>(19)</sup>	miR-26b, miR-199a, miR-335	PCR em tempo real	40	Não foram observadas diferenças para a expressão de miR-26b, miR-199a e miR-335 em relação aos controles saudáveis.
	Yang et al. 2019 <sup>(30)</sup>	miR-135a, -193b e -384	PCR em tempo real	107	Expressão de miR-135a, -193b e -384 exossômicos no soro apresentaram diferença significativa entre os pacientes com DA e controles saudáveis.
	Long et al. 2016 <sup>(31)</sup>	ECH1, NHLRC2, HOXB7, FN1, ERBB2 e SLC6A13	Support Vector Machine Forward Selection (SVMFS)	173	Sensibilidade promissora (> 87%), especificidade (> 91%) e precisão (> 89%)
	Várady et al. 2015 <sup>(32)</sup>	GLUT1 (SLC2A1), ABCA1, ABCB6, ABCG2, INSR e PMCA4b	Citometria de fluxo	40	Expressão significativamente maior do transportador de GLUT1 e do receptor de insulina (INSR).
	Zuliani et al. 2018 <sup>(33)</sup>	Hidroperóxidos, ácido úrico, RAP, TH, homocisteína, FeOx total, AOPP, paraoxonase e arilesterase.	Espectrofotometria	90	O modelo multivariado produziu uma área sob a curva (AUC) de 0,808 para a discriminação entre pacientes controles e DA tardia, com especificidade e sensibilidade de 64% e 79%, respectivamente.

Siglas: Doença de Alzheimer (DA); transactive response (TAR) *DNA binding protein* (TDP-43); *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA); neurofilamentos I leves (NFL) proteína Tau (p-tau); interleucina (IL); Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ); proteína quimiotática de monócitos (MCP-1); macrófagos-1alfa (MIP-1 $\alpha$ ); complemento C3 (C3); complemento C4 (C4); apolipoproteína E (apoE), apolipoproteína A1 (apoA1); transtirretina (TTR); proteína inflamatória de macrófagos - 4 (MIP-4); Comprometimento cognitivo leve (CCL); MicroRNAs (miRNAs); transportador de glicose 1 (ou GLUT1); Sequenciamento de Nova Geração (NGS), determinação de produtos de proteínas de oxidação avançadas (AOPP), tióis (TH), poder antioxidante residual (RAP), atividade total de ferroxidase (FeOx total)

Todos os artigos selecionados são do tipo estudo clínico, sendo, destes, 12% publicados em 2015, 24% em 2016, 24% em 2017, 12% em 2018 e 28% em 2019. A maioria dos estudos utilizou proteínas como biomarcadores sanguíneos, já os demais utilizaram o ácido ribonucleico – RNA, endossoma, marcadores relacionados ao estresse oxidativo e anticorpos.

Na avaliação dos estudos, observamos que todas as técnicas utilizadas se mostraram relevantes para uso no diagnóstico de DA e na diferenciação de outras patologias neurodegenerativas. Entretanto, nem todos os artigos atribuíram a especificidade e sensibilidade dos biomarcadores utilizados.

## DISCUSSÃO

Os métodos de diagnósticos de DA utilizados atualmente na prática clínica apresentam baixa especificidade ou alto custo financeiro, o que dificulta o diagnóstico precoce e diferencial em relação a outras patologias neurológicas. Desta forma, avaliar e/ou validar possíveis biomarcadores sanguíneos para o diagnóstico da doença de

Alzheimer, utilizando como base proteínas, microRNA ou autoanticorpos, pode proporcionar um excelente custo benefício.<sup>(8)</sup> Neste artigo foram feitas considerações clínico-laboratoriais sobre a viabilidade dos biomarcadores relacionados ao sangue e métodos diagnósticos nas seções seguintes do presente artigo.

### Categoria 1: Imunoensaios

Burnham et al.<sup>(9)</sup> avaliaram o perfil proteico do sangue em indivíduos que já apresentavam identificação para alta ou baixa carga beta-amiloide neocortical, com objetivo de quantificar esses marcadores por um período correspondente a 54 meses para facilitar a identificação de progressão para a DA. Para isso foi necessário gerar o perfil sanguíneo de um total de 585 pessoas saudáveis, para o controle, com a participação de 74 pacientes com comprometimento cognitivo leve. Esse perfil não apenas forneceu uma aproximação do aumento da carga beta-amiloide neocortical (NAB) como se associou a um declínio cognitivo e provável progressão da doença. Além disso, os autores também identificaram indivíduos com riscos de progressão da

DA no período prodromico e estágios pré-clínicos. Tais resultados colaboraram com a possibilidade de NAB ser utilizado como um biomarcador em futuro próximo.

Além da carga de NAB, as formas oligoméricas de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), tau e TDP-43 desempenham papéis importantes na doença de Alzheimer e, portanto, são considerados biomarcadores promissores. Desta forma, verificou-se que todas as amostras apresentaram níveis elevados de proteína variante no plasma em relação ao controle, embora com diferentes perfis de biomarcadores individuais. Em seguida, ao ser analisado um conjunto de amostras longitudinais, foi observado que as amostras pré-CCL foram caracterizadas por altos níveis de TDP-43; já as amostras de pacientes com comprometimento cognitivo leve (CCL) apresentavam altos níveis de  $A\beta$  e amostras de pacientes com DA por altos níveis de  $A\beta$  e tau. Correlações bivariadas mostraram uma correlação negativa com os níveis de TDP-43 e correlações positivas com os níveis cumulativos de  $A\beta$ , indicando um aumento nos processos neurodegenerativos com o tempo na DA. A detecção de variantes proteicas relacionadas à doença não apenas pode selecionar prontamente casos de DA, mas também acompanhar a sua progressão e tornar-se um promissor biomarcador na fase pré-sintomática.<sup>(10)</sup>

A utilidade prognóstica de Tau-A e Tau-C foi avaliada em um grande estudo prospectivo, que demonstrou que ambos os biomarcadores, em particular o Tau-C, foram associados à demência, onde os seus altos níveis apresentavam menor risco incidente de demência e DA.<sup>(11)</sup> Já outro estudo verificou a capacidade da proteína precursora de  $\beta$ -amiloide ( $APP_{669-711}$ ) e suas formas oligoméricas  $\beta$ -amiloide ( $A\beta_{1-42}$ ,  $A\beta_{1-40}$  e  $A\beta_{1-42}$ ) de prever um status positivo individual de cérebro com deposição amiloide, nos quais estes biomarcadores em conjunto mostraram alto desempenho com elevada área sob a curva (AUC) no conjunto de dados (96,7%). Esses resultados demonstram o seu potencial de utilização clínica na previsão do nível de carga cerebral de  $\beta$ -amiloide individual.<sup>(12)</sup>

O estudo de Palmqvist et al.<sup>(13)</sup> também analisou o status  $A\beta$ , especificamente os subtipos  $A\beta_{42}$  e  $A\beta_{40}$ , onde obteve um valor de AUC de 0,80. Entretanto, ao adicionar na análise a apolipoproteína E (apoE), a AUC aumentou significativamente para 0,85. A análise realizada por Wang et al.<sup>(14)</sup> também observou índices maiores dos níveis plasmáticos de oligômeros  $A\beta$  em pacientes com DA do que em indivíduos controle normais, através do sistema de detecção multímero (SDM). A sensibilidade e especificidade da detecção plasmática de oligômeros  $A\beta$  da DA em relação ao controle foi de 78,3% e 86,5%, respectivamente. Já a AUC dos oligômeros  $A\beta$  foi de 0,844, o que não foi significativamente diferente da AUC de outros biomarcadores ( $p=0,250$ ). Desta forma, os níveis plasmáticos de oligômeros  $A\beta$  podem, por meio de diferentes técnicas, ser um

biomarcador simples, não invasivo e acessível para avaliar a deposição amiloide cerebral relacionada à DA.

A quantificação da tau plasmática fosforilada na treonina 181 (p-tau181) foi investigada para um possível papel no diagnóstico da DA, o qual se verificou, no primeiro coorte composto, que os níveis plasmáticos de p-tau181 foram significativamente maiores nos pacientes com DA ( $0,171 \pm 0,166$  pg/mL) do que aqueles nos controles ( $0,0405 \pm 0,0756$  pg/mL,  $p=0,0039$ ). A porcentagem dos indivíduos cujos níveis de plasma p-tau181 excederam o valor de coorte foi significativamente maior no grupo DA (60%) em comparação com o grupo controle (16,7%). No segundo coorte composto por vinte pacientes com síndrome de Down (SD) e 22 controles pareados por idade, as concentrações plasmáticas de p-tau181 foram significativamente maiores no grupo SD ( $0,767 \pm 1,26$  pg/mL,  $p = 0,0313$ ). No terceiro coorte composto por oito pacientes com DA e três com outras doenças neurológicas, os níveis plasmáticos de p-tau181 correlacionaram-se significativamente com os do p-tau181 no líquido cefalorraquidiano (LCR). Tais dados sugerem que o nível plasmático de p-tau181 é um biomarcador sanguíneo promissor para o diagnóstico da patologia cerebral da DA.<sup>(15)</sup>

Os mediadores inflamatórios têm apresentado grande potencial como biomarcadores em relação à detecção e monitoração da DA, uma vez que, no início da inflamação, as células da glia (microglia e astrócitos) servem como primeira linha de defesa em lesões do cérebro, acumulando-se durante a neuroinflamação, fortemente associada à excessiva agregação de beta-amiloide. Na DA, essa ativação da microglia e astrócitos pode levar à liberação de mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas, fatores de complemento, espécies reativas de oxigênio e produtos neurotóxicos, que podem potencialmente aumentar os danos neuronais e acelerar a progressão da patologia.<sup>(16)</sup>

Por esse motivo, tem-se a hipótese de que proteínas sequestradoras possuem potencial clínico para a avaliação de riscos do CCL e para o diagnóstico precoce de DA. Sendo assim, foram analisados biomarcadores através de proteínas envolvidas no sequestro de  $\beta$ -amiloide, sendo estas Apo A1, C3 e TTR, onde se verificou, através de um coorte longitudinal e transversal, uma combinação da Apo A1, C3 e TTR, alcançando uma AUC de 0,89, com sensibilidade de 91% e especificidade de 80% na CCL em relação a controles saudáveis. Nos resultados obtidos na comparação da DA *versus* controle foi revelado que a apo A1 teve a AUC de 0,76, com sensibilidade de 74%, especificidade de 71% ( $p < 0,0001$ ) e TTR com um AUC de 0,76, com sensibilidade 74%, especificidade de 69% ( $p < 0,0001$ ), demonstrando-se como uma importante ferramenta para a avaliação dos estágios precoces do comprometimento cognitivo e DA.<sup>(17)</sup>

Além do exposto, pesquisadores da Malásia avaliaram, a partir das características dos mediadores associados à neuroinflamação, um perfil de 12 citocinas classificadas como clássicas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10) e não clássicas (Cxcl-1, IL-8, CXCL-10, MCP-1, MIP-1 $\alpha$  e IL-13). Foi constatado um aumento significativo nas concentrações de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 e IFN- $\gamma$  nos pacientes com DA em relação ao controle, assim como das citocinas pró-inflamatórias CXCL-10, MCP-1 e MIP-1 $\alpha$ . Além disso, foi demonstrado uma correlação significativa entre a pontuação do mini exame do estado mental (MMSE), com o aumento da CXCL-10 e diminuição da IL-13, associados com a progressão da DA, com 100% de sensibilidade e especificidade para DA, o que demonstra sua capacidade como um promissor biomarcador sanguíneo da doença de Alzheimer.<sup>(16)</sup>

A interleucina 18 (IL18) vem sendo descrita como provável mediador de processos patogênicos cerebrais e ativador da micróglia envolvida em funções neuroendócrinas e neuroimunes. A I309, por sua vez, apresenta um aumento de tauopatia em modelos experimentais, além de esta glicoproteína ser encontrada elevada no LCR de indivíduos portadores de DA. Um estudo propôs examinar tais substâncias como prováveis marcadores individuais no sangue, sendo revelado que as proteínas IL-18, no grupo com DA, apresentaram níveis baixos ( $p=0,001$ ), quando comparados aos controles ( $p=0,009$ ) e ao CCL ( $p=0,014$ ); entretanto, a I309 apresentou níveis mais elevados em pacientes com DA e no CCL do que os apresentados no grupo controle.<sup>(18)</sup>

Desta maneira observa-se que muitos marcadores plasmáticos de inflamação foram identificados para apoiar o diagnóstico de DA. Com base nessa característica, Wiest et al.<sup>(19)</sup> resolveram avaliar as particularidades das plaquetas como modelo de biomarcador. Os pesquisadores observaram que os níveis de expressão proteica de nAChR $\alpha 7$  e CAV-1, em relação ao controle saudável, foram significativamente maiores nas plaquetas de pacientes com DA. Tal resultado apresenta destaque pois ambas as proteínas são expressas em células neuronais e nas plaquetas. A análise morfométrica, por sua vez, revelou que, no grupo de pacientes com DA, as plaquetas eram maiores e tinham um contorno mais uniforme do que em controles saudáveis.

Do ponto de vista metabólico, o estresse oxidativo desempenha um papel fundamental na fisiopatologia da doença de Alzheimer (DA). Neste aspecto surge então a necessidade de se observarem alguns marcadores redox periféricos e suas relações com os escores de testes cognitivos complementares. Os resultados observados, em um estudo com esse objetivo, demonstraram que a proteína plasmática carbonila e os níveis de ApoJ foram negativamente associados aos escores clínicos de pacientes com

DA, apesar de não terem sido observadas alterações nos níveis de ApoD entre os grupos estudados.<sup>(20)</sup>

Estudos *post-mortem* de cérebros com a DA revelaram o aumento de endossomos. A partir desse fato, investigadores resolveram analisar o aumento dessa organela nas células mononucleares do sangue periférico, como um possível biomarcador. No estudo foram verificados 71 indivíduos, sendo 48 com DA e 23 controles saudáveis. Constataram-se variações morfológicas no compartimento endossomal de fibroblastos, um aumento importante no percentual celular de indivíduos com DA em relação aos controles, ainda que no estágio inicial da patologia. Entretanto, mais estudos são necessários para relacionar as quantidades de placas amiloides, com curso de tempo da doença e as alterações endossomais, para poder verificar sua possibilidade de utilização como um biomarcador sanguíneo.<sup>(21)</sup>

Os neurofilamentos leves (NFL) plasmáticos estão associados ao diagnóstico de DA e às características cognitivas, bioquímicas e de imagem da doença. Este achado pode implicar uma potencial utilidade para o NFL plasmático como um biomarcador não invasivo na DA. Uma pesquisa em 193 controles cognitivamente saudáveis, 197 pacientes com comprometimento cognitivo leve e 180 pacientes com DA obteve o NFL plasmático aumentado em pacientes com CCL (média de 42,8 ng/L), DA (média de 51,0 ng/L) e em comparação com o controle (média de 34,7 ng/L), ( $p<0,001$ ), soma-se a este fato a alta acurácia diagnóstica observada para pacientes com DA *versus* controles (área sob a curva de 0,87). O NFL plasmático elevado correlacionou-se também com a baixa cognição e atrofia relacionada à DA (no início e longitudinalmente) e com hipometabolismo cerebral (longitudinalmente).<sup>(22)</sup>

## Categoria 2: Diagnóstico molecular

DeMarshall et al.<sup>(23)</sup> afirmam que é necessário urgentemente definir biomarcadores com capacidade de identificar de maneira precisa, e a partir daí realizar o diagnóstico da doença de Alzheimer. Os autoanticorpos estão presentes em abundância no soro humano, tendo sido anteriormente demonstrado que são biomarcadores da doença de maneira específica, com capacidade em diagnosticar com precisão estágios leve a moderado da DA e também da doença de Parkinson.

Nos resultados obtidos através de *microarrays*, na utilização de um pequeno painel de biomarcadores de autoanticorpos (Ab42, tau e tau fosforilado), verificou-se que este pode ser usado para distinguir portadores de CCL associado a DA, de controles por idade e com correspondência de gênero com precisão de 100%. Tal perfil de autoanticorpos individuais foi resultante para o *training set*, pois os pacientes com CCL foram comparados com os controles

usando-se *software* de análise prospector e reverificados com preditores significativos usando-se *random forest*. Além disso os indivíduos com CCL foram diferenciados daqueles com DA moderada com alta exatidão.<sup>(23)</sup>

Os peptídeos A $\beta$  são produzidos via clivagem proteolítica da proteína precursora de A $\beta$  (APP) pela enzima de clivagem beta-amiloide 1 (BACE1). Com base nessa característica, pesquisadores resolveram analisar os níveis de circulação de RNAs não codificadores longos (lncRNAs) do BACE1-AS como possíveis biomarcadores para DA. Os resultados demonstraram que o nível de BACE1-AS era mais baixo no subgrupo pré-DA (sensibilidade de 75% e 100% de especificidade), mas era alto em pessoas com DA em comparação com os controles saudáveis (sensibilidade de 68% e especificidade de 100%), destacando seu potencial como biomarcador para o desenvolvimento de DA.<sup>(24)</sup>

Embora os autoanticorpos tenham sido estudados como potenciais novos marcadores plasmáticos da DA, a maioria dos estudos se concentrou em anticorpos específicos como marcadores A $\beta$  e proteína tau. Entretanto, um estudo resolveu avaliar por *microarray* 29.240 peptídeos aleatórios para identificar epítopos de ligação associados aos anticorpos isotípicos IgG e IgM. Os achados mais satisfatórios deram-se pela combinação de cinco principais peptídeos que demonstraram altos valores de AUC para IgM regulada (0,945), IgG regulada (0,892), IgG regulada (0,862) e IgM regulada (0,961). Além disso, análises posteriores revelaram que apenas dez peptídeos estavam regulados positivamente à DA ( $p \leq 0,001$ ). Estes resultados sugerem que os peptídeos selecionados podem ser utilizados como biomarcadores da progressão da DA.<sup>(25)</sup>

Os micros RNA's são moléculas abundantes no sangue, por isso são fortes candidatos como biomarcadores não só para DA, mas também para outras patologias.<sup>(26)</sup> Yilmaz et al.<sup>(8)</sup> avaliaram a expressão de microRNA em sangue total por uma reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), com amostras de 281 pessoas, sendo, destas, 172 portadores de DA e 109 controles saudáveis. Descobriram que houve uma diminuição na expressão de sangue: hsa-miR-9-5p, hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-106b-5p e hsa-miR-107 foram significativamente relacionados a um aumento do risco de DA ( $p < 0,05$ ). Já Wang et al.<sup>(27)</sup> observaram que o miR-103 foi mais adequado que o miR-107 para servir como um biomarcador para a susceptibilidade diminuída à DA, assim como foram correlacionados negativamente com comprometimento cognitivo em pacientes com DA.

Em contrapartida, a expressão de Hsa-miR-125b-5p não obteve diferença significativa entre pacientes e controles ( $P > 0,05$ ). Dos sete miRNAs cuja expressão foi analisada em sangue total, quatro foram significativamente associados com a DA. A Hsa-miR-106a-5p apresentou uma

variável preditora de 93% especificidade e 68% de sensibilidade.<sup>(8)</sup>

Keller et al.<sup>(28)</sup> realizaram a validação de 49 casos de DA e 55 controles, além de vinte pacientes com comprometimento cognitivo leve (CCL) e noventa com esclerose múltipla (EM) incluídos como controle, e foram utilizados para os perfis de miRNA associados à bioestatística, através de ensaio de coorte por reação em RT-qPCR, nos quais ocorreu a detecção de 580 miRNA's no sangue; na validação desses miRNA's, 146 encontraram-se desregulados em auto nível, com 0,05 de significância em comparação com os controles. Os autores acreditam que os miRNA's descobertos são específicos para DA.

Foi relatado uma nova assinatura de 9-miRNA (hsa-miR-26a-5p, hsa-miR-181c-3p, hsa-miR-126-5p, hsa-miR-22-3p, hsa-miR-148b-5p, hsa-miR-106b-3p, hsa-miR-6119-5p, hsa-miR-1246 e hsa-miR-660-5p) que podem ser utilizados como biomarcadores para a detecção de DA, usando o sequenciamento de nova geração (NGS) e sendo validados por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qRT-PCR). Todos os pacientes com DA foram divididos em três grupos (leve, moderado e severo) baseados no Mini Exame do Estado Mental (MEEM). Essa pesquisa indica que a expressão anormal de miRNAs séricos ocorre em diferentes estágios da DA. Entre os 9-miRNAs analisados, o hsa-miR-22-3p apresentou a melhor sensibilidade (81,8%) e especificidade (70,9%).<sup>(29)</sup> Em contrapartida, Wiest et al.<sup>(19)</sup> ao analisarem a expressão dos miRNA (miR-26b, miR-199a e miR-335) em plaquetas, não observaram diferenças na expressão em relação a pacientes controle saudáveis.

Yang et al.<sup>(30)</sup> avaliaram os níveis de expressão dos miR-135a, -193b e -384 exossômicos usando RT-qPCR. Os resultados indicaram que o nível exossômico de miR-135a aumentou significativamente no grupo DA em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ). Além disso, a expressão do miR-193b foi reduzida no grupo DA (DA *versus* controle,  $p < 0,01$ ). Esses resultados demonstraram que os níveis de expressão de miR-135a e -193b exossômicos apresentaram diferença significativa entre os pacientes com DA e controles saudáveis.

Os estudos anteriormente citados apresentaram boa especificidade e sensibilidade e são de fácil reprodução. Os dados sugerem que os miRNAs séricos poderiam ser usados como biomarcadores para melhorar o diagnóstico da DA, particularmente no estágio inicial, e para classificar seus estágios clínicos.

### Categoria 3: Outros métodos

A identificação do perfil de 18 proteínas plasmáticas demonstrou uma grande possibilidade na sua utilização para classificar pacientes com DA com alta especificidade

em relação a indivíduos saudáveis. Através da utilização da bioinformática foi descoberto que a maioria dessas 18 proteínas era relevante para os níveis de proteína tau e LCR. Para estabelecer uma linearidade entre as amostras, o painel utilizado incluiu as proteínas ECH1, NHLRC2, HOXB7, FN1, ERBB2, e SLC6A13, sendo utilizado o método SVM (*Support Vector Machine*). Os resultados encontraram uma promissora sensibilidade (>87%), especificidade (>91%) e acurácia (>89%) para tais proteínas.<sup>(31)</sup>

Várady et al.<sup>(32)</sup> desenvolveram um método rápido e confiável – baseado em análise por citometria de fluxo – de anticorpos para medição de várias proteínas de membrana de eritrócitos (RBC) a partir de uma gota de sangue. Foi documentada que a expressão em proteínas de membrana de RBC, especialmente as transportadoras de GLUT 1 e o receptor de insulina (INSR), são significativamente mais elevados em pessoas doentes, como gota e diabetes, em idades emparelhadas com indivíduos saudáveis. As diferenças observadas podem refletir alterações metabólicas a longo prazo, relevantes para o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Apesar dos biomarcadores baseados no sangue serem uma boa opção para o diagnóstico precoce e mais acessíveis, este, em específico, ainda necessita de estudos para geração de protocolos de maior sensibilidade e especificidade.

Zuliani et al.<sup>(33)</sup> buscaram identificar uma combinação de marcadores de *status redox* que pudessem auxiliar no diagnóstico da DA. Para alcançar tal objetivo, utilizaram um painel que incluiu índices de danos oxidativos (hidroperóxidos) e de defesa antioxidante, não enzimáticos (ácido úrico, tióis e aqueles que contribuem para o poder antioxidante residual-RAP) e enzimáticos (arilesterase). Os resultados demonstraram que RAP e arilesterase foram menores em DA em comparação aos controles, os tióis também mostraram uma tendência semelhante ( $p < 0,05$ ), enquanto que os níveis de ácido úrico e homocisteína aumentaram na DA em comparação aos controles ( $p < 0,01$ ). O modelo de painel produziu uma área de 0,808 para a discriminação entre pacientes controles e DA, com especificidade e sensibilidade de 64% e 79%, respectivamente.

## CONCLUSÃO

Os estudos aqui compilados demonstram que, muito em breve, biomarcadores sanguíneos poderão ser utilizados no diagnóstico diferencial da doença de Alzheimer, uma vez que os resultados obtidos têm sido de grande relevância quando se trata de diferenciação entre a DA de outros tipos de doenças neurodegenerativas. Todavia, apesar dos resultados positivos encontrados nos artigos analisados, são necessários novos estudos que busquem elevar ainda mais o grau de sensibilidade e especificidade para fornecer de maneira precoce um diagnóstico diferenciado e mais preci-

so, para posteriormente estabelecer o tratamento mais adequado visando uma melhor qualidade de vida ao paciente.

### Abstract

*Alzheimer's disease (AD) is one of the most common forms of dementia, being a neurodegenerative disorder that irreversibly affects older people. Early diagnosis would enable the realization of treatments presenting better results on reducing the severity of symptoms. However, this is a major problem, since the already consolidated methods of diagnosis are invasive, such as CSF analysis and brain biopsy. This study aimed to analyze blood biomarkers capable of identifying AD even in its initial stage. An integrative review of the literature was carried out by searching indexed articles in electronic data platforms PubMed and SciELO with the descriptor in English and Portuguese "Biomarker, blood, alzheimer": Articles from 2013 to 2019 were analyzed, where the main types of biomarkers were the ones that carried out the analysis of specific proteins, microRNAs and autoantibodies. Thus providing good results not only in the diagnosis, but also in the cost benefit, since they confer the differentiation of the other pathologies to the initial state of Alzheimer's disease. It has concluded that although the results obtained were positive, further studies are needed in order to increase sensitivity and specificity in the differentiation of AD from other types of dementia.*

### Keywords

*Alzheimer disease; biomarkers; blood*

## REFERÊNCIAS

- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011 Sep;1(1):a006189. doi: 10.1101/cshperspect.a006189.
- Singh SK, Srivastav S, Yadav AK, Srikrishna S, Perry G. Overview of Alzheimer's Disease and Some Therapeutic Approaches Targeting A $\beta$  by Using Several Synthetic and Herbal Compounds. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:7361613. doi: 10.1155/2016/7361613.
- Defina PA, Moser RS, Glenn M, Lichtenstein JD, Fellus J. Alzheimer's disease clinical and research update for health care practitioners. *J Aging Res*. 2013;2013:207178. doi: 10.1155/2013/207178.
- Spaan PEJ, Walla P. Cognitive decline in normal aging and early Alzheimer's disease: A continuous or discontinuous transition? A historical review and future research proposal. *Cogent Psychology*. 2016; 3:1. doi: 10.1080/23311908.2016.1185226
- Apostolova LG. Alzheimer Disease Continuum (Minneapolis Minn). 2016 Apr;22(2 Dementia): 419-434. doi: 10.1212/CON.00000000000000307
- Prince M, Ali GC, Guerchet M, Prina AM, Albanese E, Wu YT. Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia. *Alzheimers Res Ther*. 2016 Jul 30;8(1):23. doi: 10.1186/s13195-016-0188-8.
- Dubois B, Padovani A, Scheltens P, Rossi A, Dell'Agnello G. Timely Diagnosis for Alzheimer's Disease: A Literature Review on Benefits and Challenges. *J Alzheimers Dis*. 2016;49(3):617-31. doi: 10.3233/JAD-150692.
- Yilmaz SG, Erdal ME, Özge AA, Sungur MA. Can Peripheral MicroRNA Expression Data Serve as Epigenomic (Upstream) Biomarkers of Alzheimer's Disease? *OMICS*. 2016 Aug;20(8):456-61. doi: 10.1089/omi.2016.0099.
- Burnham SC, Rowe CC, Baker D, Bush AI, Doeckie JD, Faux NG, et al. Predicting Alzheimer disease from a blood-based biomarker profile: A 54-month follow-up. *Neurology*. 2016 Sep 13;87(11):1093-101. doi: 10.1212/WNL.0000000000003094.
- Williams SM, Schulz P, Rosenberry TL, Caselli RJ, Sierks MR. Blood-Based Oligomeric and Other Protein Variant Biomarkers to Facilitate Pre-Symptomatic Diagnosis and Staging of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;58(1):23-35. doi: 10.3233/JAD-161116.

11. Neergaard JS, Dragsbaek K, Christiansen C, Karsdal MA, Brix S, Henriksen K. Two novel blood-based biomarker candidates measuring degradation of tau are associated with dementia: A prospective study. *PLoS One*. 2018 Apr 11;13(4):e0194802. doi: 10.1371/journal.pone.0194802.
12. Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, Kato T, Doecke J, Doré V, et al. High performance plasma amyloid- $\beta$  biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature*. 2018 Feb 8;554(7691):249-254. doi: 10.1038/nature25456.
13. Palmqvist S, Janelidze S, Stomrud E, Zetterberg H, Karl J, Zink K, et al. Performance of Fully Automated Plasma Assays as Screening Tests for Alzheimer Disease-Related  $\beta$ -Amyloid Status. *JAMA Neurol*. 2019 Jun 24. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.1632.
14. Wang MJ, Yi S, Han JY, Park SY, Jang JW, Chun IK, et al. Oligomeric forms of amyloid- $\beta$  protein in plasma as a potential blood-based biomarker for Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2017 Dec 15;9(1):98. doi: 10.1186/s13195-017-0324-0.
15. Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, Kishi Y, Kakeya T, Waragai M, et al. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Mol Neurodegener*. 2017 Sep 4;12(1):63. doi: 10.1186/s13024-017-0206-8.
16. Mohd Hasni DS, Lim SM, Chin AV, Tan MP, Poi PJH, Kamaruzzaman SB, et al. Peripheral cytokines, C-X-C motif ligand10 and interleukin-13, are associated with Malaysian Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2017 May;17(5):839-846. doi: 10.1111/ggi.12783.
17. Uchida K, Shan L, Suzuki H, Tabuse Y, Nishimura Y, Hirokawa Y, et al. Amyloid- $\beta$  sequester proteins as blood-based biomarkers of cognitive decline. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2015 Jun 15;1(2):270-80. doi: 10.1016/j.dadm.2015.04.003.
18. Villarreal AE, O'Bryant SE, Edwards M, Grajales S, Britton GB; Panama Aging Research Initiative. Serum-based protein profiles of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in elderly Hispanics. *Neurodegener Dis Manag*. 2016 Jun;6(3):203-13. doi: 10.2217/nmt-2015-0009.
19. Wiest I, Wiemers T, Kraus MJ, Neeb H, Strasser EF, Hausner L, et al. Multivariate Platelet Analysis Differentiates Between Patients with Alzheimer's Disease and Healthy Controls at First Clinical Diagnosis. *J Alzheimers Dis*. 2019 Aug 23. doi: 10.3233/JAD-190574.
20. Perrotte M, Le Page A, Fournet M, Le Sayec M, Rassart É, Fulop T, et al. Blood-based redox-signature and their association to the cognitive scores in MCI and Alzheimer's disease patients. *Free Radic Biol Med*. 2019;130:499-511. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.452.
21. Corlier F, Rivals I, Lagarde J, Hamelin L, Corne H, Dauphinot L, et al. Modifications of the endosomal compartment in peripheral blood mononuclear cells and fibroblasts from Alzheimer's disease patients. *Transl Psychiatry*. 2015 Jul 7;5:e595. doi: 10.1038/tp.2015.87.
22. Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Association of Plasma Neurofilament Light With Neurodegeneration in Patients With Alzheimer Disease. *JAMA Neurol*. 2017 May 1;74(5):557-566. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.6117.
23. DeMarshall CA, Nagele EP, Sarkar A, Acharya NK, Godsey G, Goldwaser EL, et al. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Detection of Alzheimer's disease at mild cognitive impairment and disease progression using autoantibodies as blood-based biomarkers. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2016 Apr 12;3:51-62. doi: 10.1016/j.dadm.2016.03.002.
24. Fotuhi SN, Khalaj-Kondori M, Hoseinpour Feizi MA, Talebi M. Long Non-coding RNA BACE1-AS May Serve as an Alzheimer's Disease Blood-Based Biomarker. *J Mol Neurosci*. 2019 Jul 1. doi: 10.1007/s12031-019-01364-2.
25. Sim KY, Park SH, Choi KY, Park JE, Lee JS, Kim BC, Gwak J, Song WK, Lee KH, Park SG. High-throughput epitope profiling of antibodies in the plasma of Alzheimer's disease patients using random peptide microarrays. *Sci Rep*. 2019 Mar 14;9(1):4587. doi: 10.1038/s41598-019-40976-x.
26. Leidinger P, Backes C, Deutscher S, Schmitt K, Mueller SC, Frese K, et al. A blood based 12-miRNA signature of Alzheimer disease patients. *Genome Biol*. 2013 Jul 29;14(7):R78. doi: 10.1186/gb-2013-14-7-r78.
27. Wang J, Chen C, Zhang Y. An investigation of microRNA-103 and microRNA-107 as potential blood-based biomarkers for disease risk and progression of Alzheimer's disease. *J Clin Lab Anal*. 2019 Aug 16:e23006. doi: 10.1002/jcla.23006.
28. Keller A, Backes C, Haas J, Leidinger P, Maetzler W, Deuschle C, et al. Validating Alzheimer's disease micro RNAs using next-generation sequencing. *Alzheimers Dement*. 2016 May;12(5):565-76. doi: 10.1016/j.jalz.2015.12.012.
29. Guo R, Fan G, Zhang J, Wu C, Du Y, Ye H, et al. A 9-microRNA Signature in Serum Serves as a Noninvasive Biomarker in Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;60(4):1365-1377. doi: 10.3233/JAD-170343.
30. Yang TT, Liu CG, Gao SC, Zhang Y, Wang PC. The Serum Exosome Derived MicroRNA-135a, -193b, and -384 Were Potential Alzheimer's Disease Biomarkers. *Biomed Environ Sci*. 2018 Feb;31(2):87-96. doi: 10.3967/bes2018.011.
31. Long J, Pan G, Ifeachor E, Belshaw R, Li X. Discovery of Novel Biomarkers for Alzheimer's Disease from Blood. *Dis Markers*. 2016;2016:4250480. doi: 10.1155/2016/4250480.
32. Várady G, Szabó E, Fehér Á, Németh A, Zámbo B, Pákási M, et al. Alterations of membrane protein expression in red blood cells of Alzheimer's disease patients. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2015 Jul 21;1(3):334-8. doi: 10.1016/j.dadm.2015.06.007.
33. Zuliani G, Passaro A, Bosi C, Sanz JM, Trentini A, Bergamini CM, et al. Testing a Combination of Markers of Systemic Redox Status as a Possible Tool for the Diagnosis of Late Onset Alzheimer's Disease. *Dis Markers*. 2018 Sep 9;2018:2576026. doi: 10.1155/2018/2576026.

Correspondência

**Danielle Cristinne Azevedo Feio**  
Avenida Visconde de Sousa Franco, N° 660  
66053-000 – Belém-PA, Brasil

# Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura

## *Mycotoxins and their effects on human health: literature review*

Adriana Dias Arruda<sup>1</sup>

Ana Laura Remédio Zeni Beretta<sup>2</sup>

### Resumo

Fungos são microrganismos que se desenvolvem em ambientes úmidos, produzindo, como metabólito secundário, micotoxinas, que contaminam alimentos e trazem danos à saúde. As micotoxinas são metabólicas produzidas por determinados gêneros de fungos filamentosos que acometem os produtos alimentícios e que, quando ingeridos, podem causar distúrbios ao organismo humano. Fungos se desenvolvem nos alimentos em qualquer fase do processo tendo condições favoráveis a eles, e uma vez que o alimento seja acometido pelo fungo as micotoxinas podem permanecer no alimento após a morte do fungo que as produz. Logo se faz pensar nos produtos ofertados. Este estudo constitui-se de uma revisão da literatura especializada, enfatizando os danos que os alimentos com micotoxinas podem causar ao organismo do ser humano. Para a coleta utilizaram-se o banco de dados Medline e os sites *National Library of Medicine* (PubMed) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), por meio das palavras-chave: fungos filamentosos; micotoxinas; produtos alimentícios. Sabe-se que há um vasto número de micotoxinas, mas visando não só a perda econômica, mas também a saúde, pesquisas vêm se concentrando em algumas micotoxinas por apresentarem danos significativos já comprovados à saúde humana e animal, sem se descartar a possibilidade de outras apresentarem risco à saúde humana.

### Palavras-chave

Fungos; micotoxinas; histopatologia

## INTRODUÇÃO

Biodegradadores naturais, os fungos são de suma importância para a humanidade já que eles também contribuem com a indústria alimentícia e farmacêutica há muitos anos, mas, em contrapartida, os fungos estão ligados à perda econômica, uma vez que podem acometer alimentos e também causar doenças tanto no ser humano como nos animais.<sup>(1,2)</sup>

Além dos fungos serem indesejáveis nos alimentos por sua capacidade de deterioração, alguns também podem, através de seu metabolismo secundário, produzir micotoxinas nocivas ao homem.<sup>(3)</sup> Estima-se que haja duzentas espécies fúngicas produtoras de micotoxinas, sendo que trinta delas são micotoxicológicas. Vale ressaltar que algumas mesmas espécies podem produzir variados tipos de micotoxinas simultaneamente.<sup>(4)</sup> Entre os principais gêneros de fungos de maior interesse em relação a micotoxinas estão o *Aspergillus*, o *Penicillium* e o *Fusarium*.<sup>(5)</sup> Os *Aspergillus* spp. pertencem a um

gênero de fungos filamentosos, são saprófitos ubíquos e secretam grande quantidade de metabólitos, podendo colonizar diversos lugares e materiais como solo e alimentos.<sup>(6)</sup>

Embora seja possível encontrar fungos produtores de micotoxinas em vários substratos, aqueles com alto teor de carboidratos são mais susceptíveis à contaminação.<sup>(5)</sup> A ocorrência de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas são dependentes de alguns fatores como: tipo de substrato, temperatura e umidade.<sup>(7)</sup> Grande parte dos fungos que se desenvolvem em alimentos produz micotoxinas se o ambiente for favorável, porém, algumas delas são mais estudadas em decorrência de sua capacidade de gerar doenças nos homens e animais.<sup>(8)</sup> Estudos mostram que as micotoxinas, já no passado, vinham levantando questões quanto a seu efeito tóxico em humanos e animais, e nos dias atuais já se sabe que o efeito crônico de algumas delas é carcinogênico, podendo também interferir na replicação do DNA: as aflatoxinas B1, B2, G1, G2, patulina, ocratoxina A, citrina, esterigmatocistina,

<sup>1</sup>Discente do curso de especialização em Análises Clínicas do Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto – Araras-SP, Brasil.

<sup>2</sup>Coordenadora de curso de Pós-Graduação do Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto – Araras-SP, Brasil.

Instituição: Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto – Araras-SP, Brasil.

Recebido em 18/09/2018

Artigo aprovado em 08/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900779

zearalenonas, tricotecenos, fumonisinas, entre outras.<sup>(9)</sup> Estimado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), anualmente, 25% da produção mundial de grãos é acometida por micotoxinas.<sup>(10)</sup> Organismos como fungos estão sempre presentes nos grãos, e, juntamente com os insetos, são os principais causadores de perda de produtos armazenados, uma vez que os insetos são disseminadores dos esporos dos fungos.<sup>(11)</sup> De acordo com Toros,<sup>(12)</sup> estudos mostram que a contaminação não acontece somente com a ingestão do produto contaminado, mas também com a inalação do ar contendo tal substância, como, por exemplo, ambientes fechados.

Anteriormente, a qualidade dos alimentos era avaliada de forma individual, mas com o passar do tempo, com ajuda da tecnologia, foram-se criando normas para se padronizar e garantir a qualidade dos alimentos desde a produção até a mesa do consumidor final.<sup>(13)</sup> Órgãos de diversos países têm estabelecido limites para micotoxinas bem como medidas para colaborar com a prevenção, redução ou eliminação dessas substâncias na alimentação da população.<sup>(14)</sup> Com o avanço em pesquisas sobre o assunto, os órgãos responsáveis vão atualizando novos parâmetros. No que diz respeito à legislação para micotoxinas no Brasil, a resolução RDC nº 274 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece os limites máximos de micotoxinas em alimentos, fez uma nova atualização em 2011.<sup>(15)</sup> Divulgar o assunto de forma clara a fim que a população em geral compreenda, dará ao consumidor final o direito de escolha com critérios se deve ou não adquirir o produto ofertado e logo saber cobrar dos órgãos responsáveis cada vez mais rigor no que pode ou não ser comercializado.

Portanto, o objetivo deste estudo foi descrever uma visão geral sobre as micotoxinas enfatizando os danos que os alimentos com micotoxinas podem causar ao organismo do ser humano.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### MICOTOXINAS

A aflatoxina é um metabólico tóxico derivado da difuranocumarina e normalmente se refere aos quatro compostos do grupo bifuranocumarina, metabólico produzido por *Aspergillus flavus* e *parasiticus*.<sup>(6)</sup> De acordo com Oliveira et al.,<sup>(16)</sup> as aflatoxinas causam danos financeiros significativos, além de acometer a saúde humana devido às suas propriedades carcinogênicas, teratogênicas e mutagênicas.

Segundo Moreau et al.,<sup>(10)</sup> essa micotoxina é facilmente absorvida, após a ingestão, pelo intestino delgado, principalmente no duodeno, por difusão passiva devido às suas

moléculas serem relativamente de baixo peso molecular e lipofílicas. As aflatoxinas seguem para o fígado por meio do suprimento sanguíneo do sistema portal hepático, acumulam-se no fígado devido à permeabilidade da membrana do hepatócito. A eliminação da aflatoxina do organismo se dá primeiramente pela bile, seguida pela urina, e também, em menor quantidade, pelo leite no caso de lactante.<sup>(17)</sup>

Trabalho realizado com amostras de granola de estação, comercializadas a granel e também em embalagem fechada, demonstra crescimento de alguns fungos e, entre eles, o *Aspergillus flavus*. Segundo o autor, pequenas quantidades desse fungo no alimento já são o suficiente para causar prejuízo a saúde humana.<sup>(5)</sup>

De acordo com Souza D et al.,<sup>(18)</sup> o arroz, produto popular nas mesas brasileiras, é um substrato susceptível à contaminação por aflatoxinas entre outras micotoxinas, porém cada vez mais medidas vêm sendo aplicadas para se diminuir esse tóxico no produto. O amendoim é uma leguminosa alvo do ataque fúngico, porém, medidas como evitar infestação de insetos nas plantas, controlar a umidade no armazenamento e selecionar os grãos excluindo aqueles com defeito são importantes para que se evite ou diminua a contaminação.<sup>(19)</sup>

### Ocratoxina

A ocratoxina (OT) se divide em três tipos: A, B e C, sendo de composições químicas distintas. A OTA possui uma molécula de cloro em sua composição, o que lhe dá o potencial tóxico diferente da OTB, que não apresenta este potencial, e da OTC, que é composta com um etil éter da OTA, sendo assim tóxica, porém com menos intensidade.<sup>(20)</sup> Apresenta efeitos nefrotóxicos, sendo vinculada à nefropatia. A ocratoxina A é a mais frequente e a mais tóxica, apresentando efeitos nefrotóxicos, imunossupressores, carcinogênicos e teratogênicos.<sup>(22,23)</sup>

As ocratoxinas são produzidas por cepas de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Essas micotoxinas geralmente estão presentes em cereais, café e pão,<sup>(17)</sup> descrita em 1965 como composto secundário do *Aspergillus ochraceus*.<sup>(21)</sup>

### Citrina

A produção de citrina está associada ao gênero *Penicillium citrinum*. Esta micotoxina tem grande afinidade por grãos de aveia (mofados), de centeio, de cevada, de milho e de trigo, pão mofado, arroz polido, entre outros insumos. Experimentos usando animais de laboratório mostraram que a citrina afeta os rins.<sup>(24)</sup>

Até o momento, estudos mostram que a citrina não acomete a saúde humana levando-se em conta o processamento industrial dos cereais. O risco efetivo são os animais domésticos, em especial os suínos, se assim ingerirem cereais contaminados.<sup>(25)</sup>

### Esterigmatocistina

Produzida por fungos do gênero *A. versicolor*, *A. nidulans* e *A. rugulosus*, assim como outras já citadas, a esterigmatocistina é também hepatocarcinogênica e pode produzir pelo menos oito compostos diferentes capazes de inibir a síntese de DNA. Esse microrganismo tem como preferência produtos como aveia, café e trigo.<sup>(24)</sup>

### Patulina

Trata-se de uma micotoxina termo resistente produzida por numerosos fungos do gênero *Penicillium* spp., como *P. claviforme*, *P. expansum* e *P. patulum*.<sup>(26)</sup> Este gênero de fungo geralmente é encontrado em produtos armazenados.<sup>(5)</sup> Segundo Oga et al.,<sup>(08)</sup> a *Penicillium expansum* já vem sendo estudada desde 1941 por sua ação como antibiótico, e atualmente também por sua capacidade fitotóxica e carcinogênica. Produzida principalmente em frutos em deterioração, a patulina se mantém estável em condição ácida e tem sido encontrada em suco de maçã. Estudos utilizando camundongos mostra que esta micotoxina possui poder cancerígeno, teratogênico e imunotóxico.<sup>(21)</sup> De acordo com Imanaka et al.,<sup>(26)</sup> estudos realizados mostraram que a patulina tem afinidade por vários frutos, como também por tubérculos, o que tornam-se necessárias medidas de avaliação para se determinarem valores seguros ao consumo humano.

### Tricotecenos

São mais de cem as micotoxinas pertencentes a esse grupo e sua nomenclatura se deve à sua estrutura química, composta de um anel com esqueleto tetracíclico 12,13-epoxitricotecenos.<sup>(22)</sup> Produzidas por diversos gêneros de fungos, entre eles o *Fusarium* e o *Trichoderma*, e, embora haja um vasto número desse composto na natureza, não chega a dez o número de interesse em relação à contaminação de alimentos. A toxicidade dos tricotecenos está localizada principalmente no anel epóxido, e essas micotoxinas têm o poder de inibir a síntese de proteínas de DNA e RNA e acarretam efeitos imunossupressores e hemorrágicos.<sup>(20,27)</sup>

### Zearalenonas

Tendo como principal produtor o gênero *Fusarium*, têm afinidade com o milho e seus derivados, e seus efeitos têm sido descritos em animais de criação, principalmente em suínos.<sup>(16)</sup>

Relatam Franco et al.,<sup>(3)</sup> que a zearalenona se favorece de grão armazenado, onde há excesso de umidade, e também de temperaturas alternadas, como dias quentes e noites frias. De acordo com Gonçalves et al.,<sup>(21)</sup> entre as principais micotoxinas relacionadas à saúde humana, a zearalenona não apresenta danos à saúde humana, já que

seus efeitos patogênicos têm se apresentado exclusivamente em suínos na forma de impotência reprodutora. A ZEN é uma micotoxina estrogênica não esteroide, é conhecida por provocar efeitos estrogênicos, incluindo infertilidade, redução dos níveis de testosterona do soro, redução da incidência e gravidez, desenvolvimento precoce das mamas, prolapso vaginal, atrofia testicular, edema vulvar.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o que foi mencionado anteriormente, micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos, tendo como maior preocupação os gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp., por trazer danos à saúde humana de maneira direta e indiretamente.

As micotoxinas nos alimentos, desde tempos remotos, vêm trazendo transtornos à economia como também à saúde humana e animal, porém, com o avanço tecnológico e a criação e aplicação de normas quanto às quantidades máximas de micotoxinas em cada alimento, pode-se ter um maior controle destes agentes biológicos nos insumos alimentícios. Sabe-se que há um vasto número de micotoxinas, porém, visando não só a perda econômica, mas também a saúde, pesquisas vêm se concentrando em algumas micotoxinas que apresentam danos significativos já comprovados à saúde humana e animal, sem se descartar a possibilidade de outras apresentarem também riscos à saúde humana. É de extrema importância o cuidado com a alimentação e, principalmente, a avaliação constante e minuciosa quanto à presença de micotoxinas.

### Abstract

*Fungi are microorganisms that grow in humid environments, producing, as a secondary metabolite, mycotoxins that contaminate food and bring harm to health. Metabolic mycotoxins are produced by certain genera of filamentous fungi that affect food products and which when ingested can cause disturbances to the human organism. Fungi develop in foods at any stage of the process having favorable conditions for them, and once the food is affected by the fungus the mycotoxins may remain in the food after the death of the fungus that produces them. One soon thinks about the products offered. This study is a review of the specialized literature, emphasizing the damage that foods with mycotoxins can cause to the human body. For collection it was used the Medline database and the National Library of Medicine (Pubmed) and Scientific Electronic Library Online (SciELO) websites, through the keywords: filamentous fungi; mycotoxins; food products. It is known that there is a large number of mycotoxins, but aiming not only economic loss, but also health, research has focused on some mycotoxins due to already proven significant damage to human and animal health, without ruling out the possibility of others presenting risk to human health.*

### Keywords

*Fungi, mycotoxins, histopathology*

## REFERÊNCIAS

1. Sidrim JJC, Rocha MFG. *Micologia Médica à luz de autores contemporâneos*. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2004.
2. Putzke J, Putzek MTL. *Os Reinos dos Fungos*. 2ª edição. Ed. Edunisc. Santa Cruz do Sul. 2002.
3. Franco BDGM, Landgranf M. *Microbiologia dos Alimentos*. Ed. Atheneu. São Paulo. 2008.
4. Trabulsi LR, Alterthum F. *Microbiologia*. 4ª edição. Atheneu. São Paulo. 2004.
5. Vecchia AD, Fortes RC. Contaminação fúngica em granola comercial. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. abr./jun.2007, vol.27, n.2, pp.324-327. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000200020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200020&lng=en&nrm=iso)>.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*. 8ª edição. Ed. Elsevier Ltda. Rio De Janeiro. 2017.
7. Filho AA, Campolina D, Dias MB. *Toxicologia clínica*. 2ª edição. Ed. Folium. Belo Horizonte 2013.
8. Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JAO. *Fundamentos de Toxicologia*. 3ª edição. Ed. Atheneu. São Paulo. 2008.
9. Trabulsi LR, Alterthum F. *Microbiologia*. 6ª edição. Ed. Atheneu. São Paulo. 2015.
10. Moreau RLM, Siqueira MEPB. *Toxicologia Analítica*. 2ª edição. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2016.
11. Cruz JC, Karam D, Monteiro MAR, Magalhães PC. *A cultura do Milho*. Sete Lagoas. Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 517p.
12. Gwendolyn RW Burton/Paul G. Engelkirk. *Microbiologia para as Ciências da Saúde*. 7ª edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2005.
13. Moreau RLM, Siqueira MEPB. *Ciências Farmacêuticas. Toxicologia Analítica*. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2011.
14. Ferreira SMR. *Controle da Qualidade em Sistema de Alimentação Coletiva*. Ed. Varela. São Paulo 2002.
15. Anvisa. Ministério da Saúde. Disponível em: [envirologix.com.br/rdc7/](http://envirologix.com.br/rdc7/). Acesso em: mar. 2017.
16. Oliveira FA, Oliveira FC. *Toxicologia Experimental de Alimentos*. Ed. Sulina. Porto Alegre. 2010.
17. Katsurayam AM, Taniwaki MH. Fungos e aflatoxinas no arroz: ocorrência e significado na saúde do consumidor. *Braz. J. Food Technol.* vol. 20. Campinas 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.0617>. Acesso em abril 2018.
18. Souza DR, Souza GA, Araujo IFB, Pereira LM, Bezerra VS, Marques RB. Efeitos tóxicos dos fungos nos alimentos. *Revinter*, v. 10, n. 02, p. 73-84, jun. 2017. DOI: <https://doi.org/10.22280/revintervol10ed2.281>
19. Silva CB, Martins JDC. Aflatoxina em Amendoim. *Revista Engenharia*, vol. 9 - Junho de 2014.
20. Pereira KC, Santos CF. Micotoxinas e seu efeito carcinogênico. *Ensaio e Ciências. Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*. Vol.15, nº04, ano 2011, pag.147-155. Citado em jul.2017. Disponível em: <https://docplayer.com.br/29266758-Micotoxinas-e-seu-potencial-carcinogenico.html>.
21. Gonçalves B, Santana L, Pelegrini P. Micotoxinas: uma revisão sobre as principais doenças desencadeadas no organismo humano e animal. *Revista de Saúde da Faciplac*. V. 4, n.1, janeiro-julho 2017. Brasília. DF. Disponível em: [revista.faciplac.edu.br/index.php/RSF/article/download/226/154](http://revista.faciplac.edu.br/index.php/RSF/article/download/226/154).
22. Maziero MT, Bersot LS. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. *Revista Brasileira de produtos agroindustriais*. Campina Grande. V. 12. Nº1, p.89-99. 2010. Disponível em: [www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev121/Art12112.pdf](http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev121/Art12112.pdf).
23. Hoeltz M, Monezzi LP, Manfroi V, Noll IB, Dottori HA. Ocratoxina A: análise da qualidade de vinhos brasileiros e importados. *Braz. J. Food Technol.*, Campinas, v. 15, n. spe, p. 58-63, maio 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1981-67232012005000039>
24. Freire FCO, Vieira IGP, Guedes MIF, Mendes FNP. *Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal*. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, CE. 2007. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/427374>.
25. Jay JM. *Microbiologia de Alimentos*. 6ª edição. Ed. Artmed. Porto Alegre. 2009.
26. Iamanaka BT, Oliveira IS, Taniwaki MH. Micotoxinas em alimentos. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica*, Recife, vol. 7, p.138-161, 2010. Citado em: mar. 2017. Disponível em: [www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/download/128/117](http://www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/download/128/117).
27. Garda J, Macedo RM, Badiale-Furlong E. Determinação de Tricotecenos em Cerveja e Avaliação de Incidência no Produto Comercializado no Rio Grande do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 24, n. 4, p. 657-663, Dec. 2004. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612004000400030&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000400030&lng=en&nrm=iso)>

Correspondência

**Adriana Dias Arruda**

Centro Universitário Hermínio Ometto - FHO

Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500

3607-3391 – Araras-SP, Brasil

# Atualização em coccidioses intestinais: uma abordagem crítica

## Intestinal coccidia: a critical review

Raphael Pereira dos Santos<sup>1</sup>

Angélica Rosa Faria<sup>2</sup>

### Resumo

Os coccídios intestinais compreendem um grupo de protozoários emergentes e oportunistas. As manifestações clínicas causadas podem variar desde diarreia autolimitada até quadros crônicos associados a distúrbios eletrolíticos. Com a pandemia do HIV/AIDS, essas infecções ganharam notoriedade devido ao quadro agressivo nesses pacientes. Segundo dados da literatura, em pacientes HIV positivos foram encontradas taxas de infecção média de 24%. Dentre os coccídios intestinais, *Cryptosporidium* sp. possui maior destaque devido ao seu caráter zoonótico. Há registros da recuperação frequente de oocistos em cães e gatos, tendo sido encontrados em 100% dos animais analisados em um hospital veterinário. Além disso, bovinos também podem atuar como reservatórios, com prevalências no Brasil variando de 0,6% a 72,13%. Atualmente, há variadas técnicas para diagnóstico desses coccídios, desde métodos microscópicos que apresentam limitações técnicas até moleculares com elevado custo associado. Além da importância médica, a prevalência de coccidioses intestinais é relevante como um indicador do *status* socioeconômico de determinada população e da intensidade de transmissão seja ela antroponótica ou zoonótica. Entretanto, ainda são necessárias melhorias no sentido de tornar mais acessíveis novas técnicas diagnósticas, para se detectarem com mais facilidade e confiabilidade os coccídios intestinais.

### Palavras-chave

Diagnóstico; HIV; parasitos; interações hospedeiro-parasita

## INTRODUÇÃO

Os coccídios intestinais são importantes patógenos por serem considerados protozoários emergentes e oportunistas, tendo sido descritos em sua maioria na década de 80. Apesar de sua distribuição cosmopolita, sendo importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, as coccidioses intestinais ganham maior notoriedade em países em desenvolvimento, onde comumente são consideradas um grave problema de saúde pública. A importância que elas assumem nesses países está relacionada à deficiência de saneamento, falta de acesso à água potável e sistemas de saúde ineficientes.<sup>(1)</sup>

As crianças comumente são bastante atingidas por enteroparasitoses em geral, seja por ainda apresentarem um sistema imunológico em desenvolvimento ou pela maior facilidade de entrar em contato com as vias de transmiss-

ão. Além disso, outro importante grupo de risco engloba os indivíduos imunocomprometidos, tais como os pacientes com HIV/AIDS, transplantados, leucêmicos ou em tratamento quimioterápico. Nesses indivíduos, os sintomas das coccidioses intestinais são mais severos e a mortalidade torna-se mais elevada.<sup>(2)</sup>

Mesmo com o aumento da frequência dessas doenças, o número de estudos acerca do problema é pequeno e, em algumas regiões do Brasil, inexistente. Consequentemente, as análises comparativo-epidemiológicas são prejudicadas, interferindo significativamente na adoção de políticas públicas.<sup>(1)</sup> Desse modo, o objetivo deste trabalho foi realizar uma atualização bibliográfica a fim de se ter um panorama sobre as coccidioses intestinais, com destaque para sua ocorrência no Brasil, os métodos empregados e a análise crítica do caráter oportunista e zoonótico das infecções.

<sup>1</sup>Bacharel. Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)– Belo Horizonte-MG, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora. Doutora. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Alfenas-MG, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – Belo Horizonte-MG, Brasil.

Recebido em 14/06/2019

Artigo aprovado em 08/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900865

## DESENVOLVIMENTO

Os coccídios intestinais compreendem um grupo de protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa, possuindo estruturas apicais que auxiliam na invasão da célula hospedeira. Esses parasitos podem ser encontrados em várias espécies de aves e outros animais como bovinos, suínos, equinos, etc. Entretanto, algumas espécies são capazes de parasitar o organismo humano, especificamente células epiteliais do intestino.<sup>(3)</sup>

As manifestações clínicas causadas por esses protozoários variam desde diarreia autolimitada, dor abdominal, dor de cabeça e febre em indivíduos imunocompetentes a morbidades decorrentes dessas parasitoses, dentre as quais podem ser citadas alterações intestinais que geralmente culminam na síndrome da má absorção e, conseqüentemente, podem causar desnutrição, perda de peso, anemia, diminuição no crescimento e retardo cognitivo na população afetada. Entretanto, em imunocomprometidos, pode ocorrer diarreia crônica associada a distúrbios eletrolíticos, podendo levar à morte do hospedeiro.<sup>(4)</sup>

Além da importância médica, a prevalência de infecções por parasitos intestinais também se traduz como um relevante indicador do *status* socioeconômico de uma determinada população e, na maioria das vezes, está associada a diversos fatores como condições sanitárias inadequadas, consumo de água e de alimentos contaminados por material fecal, fatores socioculturais, contato com animais, idade do hospedeiro e do tipo de parasito infectante.<sup>(5)</sup>

O *Cryptosporidium parvum*, coccídeo descrito inicialmente em camundongos, ganhou notoriedade nas décadas de 1970 e 1980 por ser considerado causa de doenças diarreicas em animais e humanos. Posteriormente, a criptosporidiose surgiu em todo o mundo como uma causa comum de infecção grave e potencialmente fatal em imunocomprometidos.<sup>(4)</sup>

Até recentemente, acreditava-se que as infecções humanas eram causadas apenas pela espécie *Cryptosporidium parvum*, porém, com o avanço de métodos de genotipagem, um número crescente de espécies e genótipos foi reconhecido como patógenos humanos, embora com baixa prevalência. A classificação taxonômica do *Cryptosporidium parvum* tem sido modificada a partir da análise filogenética do gene codificador do RNA ribossômico 18S em diferentes isolados. Atualmente, 29 espécies de *Cryptosporidium* foram reconhecidas e mais de 17 já foram relatadas em humanos. Destas, o *Cryptosporidium hominis* e o *C. parvum* são as espécies mais comuns, seguidas pelo *C. meleagridis*, *C. suis* e *C. felis*. O encontro de tais espécies em humanos geralmente está associado ao contato com animais ou contaminação hídrica/alimentar, evidenciando o risco de transmissão zoonótica destes patógenos.<sup>(6)</sup>

O ciclo de vida dos coccídios intestinais completa-se dentro de um único hospedeiro (monoxênico). Ele envolve seis estágios de desenvolvimento (excistação, merogonia, gametogonia, fertilização, formação da parede do cisto e esporogonia), o que caracteriza o ciclo dos coccídios intestinais. Os oocistos de parede delgada de *Cryptosporidium* sp. acabam por se romper ainda no organismo do hospedeiro, liberando esporozoítos que invadem novas células. Esse processo possibilita a autoinfecção nesse tipo de parasitismo.<sup>(7)</sup>

Apesar de apresentarem as mesmas vias de transmissão se comparados a *Cryptosporidium* sp. (alimentos ou fonte de água contaminados), *Cyclospora cayetanensis* e *Cystoisospora belli* possuem o homem como único hospedeiro e reservatório. Isso faz com que as taxas de transmissão desses parasitos sejam menores, se comparadas às do *Cryptosporidium*, uma vez que este último é capaz de infectar diversas espécies de animais como bovinos, cães e gatos, tornando-os disseminadores do parasito no ambiente.<sup>(8)</sup>

O *Cyclospora cayetanensis* foi descrito pela primeira vez em 1979 como um agente causador de infecção em humanos.<sup>(9)</sup> Outra grande diferença entre o *Cryptosporidium* e as demais espécies aqui relatadas (*Cyclospora cayetanensis* e *Cystoisospora belli*) é que os oocistos destes últimos, ao serem eliminados nas fezes, se encontram em estado não esporulado. Considerando que o tempo de permanência do oocisto no ambiente é de fundamental importância para a esporulação do mesmo, autoinfecções ou transmissão direta (pessoa a pessoa) raramente ocorrem, tornando a ingestão de água e/ou alimentos contaminados a principal forma de transmissão dessas infecções.<sup>(7)</sup>

Embora no gênero *Cystoisospora* haja centenas de espécies descritas como causadoras de infecções em mamíferos, a espécie *Cystoisospora belli* é a mais importante clinicamente para o ser humano.<sup>(10)</sup>

### Caráter oportunista

Infecções oportunistas são consideradas comuns em pacientes com HIV/AIDS e estão relacionadas à alta morbidade nessa população. O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) induz um estado imunodeficiente tornando o indivíduo vulnerável e favorecendo a infecção por enteroparasitas. Vale ressaltar que esses parasitos não são considerados oportunistas apenas nesses indivíduos, mas também em imunocomprometidos em geral, como transplantados, leucêmicos e em pacientes em tratamento quimioterápico.

A coinfeção do HIV com infecções parasitárias possui grande importância, uma vez que, nestas circunstâncias, ocorre o recrudescimento da deterioração do sistema imunológico do indivíduo. Segundo Barcelos et al.,<sup>(1)</sup> em um

estudo que avaliou a prevalência de parasitoses intestinais em pacientes portadores do HIV/AIDS atendidos no Serviço de Atendimento Especializado de Jataí, Goiás, pacientes com HIV/AIDS têm 11,42 vezes mais chances de desenvolver infecções parasitárias do que indivíduos saudáveis.

Com a pandemia do HIV/AIDS, muitos parasitas intestinais, antes considerados infecções esporádicas ou zoonóticas, benignas ou assintomáticas em indivíduos imunocompetentes, de forma oportunista tornaram-se agressivos, causando doenças debilitantes nesses pacientes. Dentre os sintomas apresentados, os quadros de diarreia crônica são os mais significativos. Desta forma, percebe-se que a infecção pelo HIV predispõe o indivíduo a infecção/doença por vários parasitas intestinais, sendo *Cryptosporidium parvum*, *Cystoisospora belli*, *Cyclospora cayentanensis* e microsporídios intestinais os mais relatados como oportunistas e causadores de diarreia crônica nesses pacientes.<sup>(11)</sup>

Em sua revisão de literatura, Collinet-Adler e Ward<sup>(12)</sup> confirmaram que o *Cryptosporidium* sp. é prevalente em todo o mundo, apresentando taxas diferentes de acordo com o desenvolvimento socioeconômico de cada país. A infecção varia de 0,26%-22% (média de 2,2%) em indivíduos imunocompetentes sintomáticos e de 6%-70% (média de 14%) em imunocomprometidos em países desenvolvidos. Já em países em desenvolvimento, as taxas variam de 1,4% a 40,9% (média de 6,1%) em imunocompetentes sintomáticos e de 8,7% a 48% (média de 24%) em imunocomprometidos. Em pacientes HIV positivos, taxas entre 6%-70% (média de 14%) foram encontradas em países desenvolvidos *versus* 8,7%-48% (média de 24%) em países em desenvolvimento.

### Caráter zoonótico

Os sinais clínicos da criptosporidiose em cães e gatos podem variar desde a ausência de sintomas até a ocorrência de gastroenterites; esses últimos geralmente são pouco frequentes e estão associados a condições de estresse e imunossupressão.<sup>(13)</sup> Lallo e Bondan,<sup>(14)</sup> ao analisarem amostras fecais de cães de um Hospital Veterinário de São Paulo, entre 2003 e 2004, observaram uma prevalência de *Cryptosporidium parvum* de 9,5% na população canina estudada. Na cidade de Lages, Santa Catarina, Marques et al.<sup>(15)</sup> encontraram 10% dos cães avaliados eliminando oocistos de *Cryptosporidium* spp. Esses trabalhos utilizaram técnicas específicas para detecção de cocídeos (como coloração de esfregaços), além de métodos imunológicos e moleculares, atribuindo confiabilidade aos resultados encontrados. Esse resultado tem grande importância em termos de saúde pública, pois evidencia a circulação de tais espécies nessa cidade e o seu potencial zoonótico, uma vez que

essas espécies já foram descritas em amostras fecais de adultos, crianças e em pacientes HIV positivos.<sup>(3)</sup>

O *Cryptosporidium* sp. é considerado uma das causas mais comuns de diarreia em bezerros de 4 a 30 dias, tornando o gado um importante reservatório e possibilitando a contaminação do ambiente com oocistos de espécies zoonóticas. Santín et al.<sup>(16)</sup> relataram que a maior prevalência de infecção (45,8%) ocorre em bezerros com até 2 semanas de idade e que a infecção se deve à contaminação de pastos, estábulos, reservatórios de água ou pelos próprios animais.

### Diagnóstico

O diagnóstico dos coccídios intestinais se baseia na identificação de oocistos desses protozoários presentes nas fezes do indivíduo. Devido à eliminação diária irregular dessas formas evolutivas, é altamente recomendado que a amostra fecal passe por processos de concentração (centrífugo-concentração ou flutuação) antes da realização dos esfregaços fecais. Além disso, recomenda-se a combinação entre as técnicas de concentração e coloração. Assim, colorações como de Ziehl-Neelsen<sup>(17)</sup> e suas variações também são frequentemente utilizadas e se baseiam na propriedade álcool-ácido resistência desses protozoários.

Os métodos de concentração e coloração utilizados na identificação de coccídios apresentam variações na capacidade de detecção. Foi o que Pacheco et al.<sup>(2)</sup> demonstraram em seu estudo quando foram comparadas três técnicas de coloração (Ziehl-Nelsen modificado, safranina e auramina) e dois métodos de concentração (sedimentação por centrifugação e formalina-acetato de etila). No estudo em questão, concluiu-se que a coloração de auramina mostrou a melhor qualidade para detecção microscópica de *Cryptosporidium* spp., no entanto, esta mesma coloração apresentou qualidade inferior na detecção de *Cystoisospora belli*, se comparada com Ziehl-Nelsen modificado e safranina. Segundo os autores, isso ocorreu devido à irregularidade da captação de fluorocromo pela população de oocistos de *Cystoisospora belli*, o que aumentou a dificuldade da visualização microscópica do parasita e sugeriu que os coccídios intestinais mais frequentes em humanos requerem o uso de variadas técnicas para a detecção adequada de todos eles.

Embora seja frequente o uso da técnica microscópica na rotina laboratorial, a mesma apresenta diversas limitações por requerer a execução de procedimentos de concentração; requerer um microscopista experiente na detecção de parasitas; demandar maior tempo para realização da análise; conter artefatos na amostra. Além disso, avaliando-se os dados supracitados da literatura, foi possível observar uma grande variação na performance dessas técnicas, o que evidencia a necessidade de uma maior padro-

nização das mesmas no intuito de aumentar a reprodutibilidade dos resultados.

Diversos testes baseados em princípios imunológicos foram desenvolvidos para análise em amostras fecais. O ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) oferece uma alternativa diagnóstica em substituição à microscopia, pois independe da identificação morfológica de oocistos por detectarem antígenos do parasito em questão. A Imunofluorescência Direta utiliza um anticorpo monoclonal contra proteínas específicas presentes na parede do oocisto do parasito. Esses testes apresentam vantagens, pois são bastante sensíveis e específicos, de fácil execução e podem permitir o processamento de mais de uma amostra em curto período de tempo.<sup>(18)</sup>

O diagnóstico rápido pode ser realizado por testes imunocromatográficos, que são considerados fáceis de executar e interpretar. Segundo Van den Bossche et al.,<sup>(19)</sup> eles podem se tornar uma importante ferramenta diagnóstica quando o laboratório não dispõe de profissionais qualificados. Entretanto, apesar da maior eficiência diagnóstica, no Brasil essas técnicas ainda não são rotineiras por serem mais onerosas.

Os métodos moleculares constituem um grupo de novas técnicas baseadas no reconhecimento molecular de um alvo específico do patógeno. Esses métodos contribuem com informações além das oferecidas pela microscopia, pois são capazes de distinguir espécies e/ou genótipos. Assim, técnicas como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e suas variantes possuem grande importância para investigação de surtos, epidemiologia, taxonomia, avaliação da carga parasitária e estudos de fatores de risco.<sup>(3)</sup> Entretanto, sua aplicação requer o uso de equipamentos modernos e necessita de alta competência técnica, tornando o custo mais elevado. Consequentemente, o seu uso no diagnóstico de rotina ainda é limitado, ficando restrito apenas no âmbito das pesquisas científicas.<sup>(20)</sup>

### Ocorrência no Brasil

O primeiro trabalho registrando a ocorrência de criptosporidiose no Brasil, em humanos, foi realizado em 1985 e estava relacionado com pacientes com sintomatologia diarreica que não necessariamente apresentavam imunodeficiência.<sup>(21)</sup> Posteriormente, o parasito tornou-se foco de pesquisas como ameaça aos indivíduos com HIV/AIDS, reconhecendo-se sua importância para a saúde pública.

Com o objetivo de estudar a ocorrência de infecções parasitárias intestinais em pacientes portadores do HIV, Silva et al.<sup>(22)</sup> submeteram dois grupos de indivíduos (100 pacientes com HIV/AIDS e 85 indivíduos clinicamente saudáveis) a exame coproparasitológico, onde se verificou que parasitas intestinais foram detectados em 27% dos paci-

entes com HIV/AIDS e em 17,6% dos indivíduos clinicamente saudáveis. Dentre os parasitas mais frequentes no grupo de portadores do HIV/AIDS, se encontravam *Cystoisospora belli* (7%) e *Cryptosporidium* sp. (4%).

Em várias regiões do mundo tem se observado um pico de incidência de criptosporidiose em crianças imunocompetentes, particularmente na faixa etária de 0-5 anos<sup>(2)</sup> e, no Brasil, as prevalências encontradas justificam esses relatos. Em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, um estudo retrospectivo revelou 20,0% de infecção por *Cryptosporidium* sp. em lactentes de 0 a 24 meses que apresentavam diarreia persistente.<sup>(23)</sup> Já em Maringá, no Paraná, Moitinho et al.<sup>(24)</sup> verificaram que o *Cryptosporidium* sp. foi o segundo agente parasitário mais frequente em amostras de fezes diarreicas de crianças, com idade entre 12 a 24 meses. Até o momento, a maior prevalência de infecção por *Cryptosporidium* sp. já registrada no Brasil foi observada na cidade de Criciúma, Santa Catarina, quando esse parasito foi o mais frequente (85,1%) dentre outros isolados a partir de amostras fecais de crianças com idade entre 0 e 5 anos.<sup>(25)</sup>

Apesar da infecção por *Cryptosporidium* estar associada a episódios diarreicos persistentes, Carneiro et al.,<sup>(26)</sup> ao analisarem amostras de fezes não diarreicas de crianças entre 0 a 5 anos, encontraram 2,73% (5/183) de positividade para oocistos de *Cryptosporidium parvum*. Esses achados permitem supor que a eliminação de oocistos não se encerra com o fim do quadro diarreico e, além disso, as crianças assintomáticas passam a atuar como importantes disseminadoras da doença.

Ao se analisarem os trabalhos na literatura, é possível observar a existência de diferenças significativas entre as frequências de *Cryptosporidium* sp. encontradas. Isso pode ocorrer por vários fatores, como grau de desenvolvimento em cada região, características das diferentes populações e metodologias empregadas no processamento das amostras. Gomes et al.,<sup>(27)</sup> ao compararem técnicas moleculares com os métodos imunológicos e parasitológicos para a detecção de oocistos de *Cryptosporidium*, observaram que o método molecular possibilitou o encontro de amostras positivas que haviam sido classificadas como negativas pelas outras técnicas. Isto corrobora a sugestão de alguns estudos de que a prevalência é subestimada e que essas taxas provavelmente serão maiores caso técnicas moleculares sejam utilizadas para a detecção.

Se comparado com o *Cryptosporidium*, poucos estudos abordam a infecção causada por *Cystoisospora belli* e *Cyclospora cayetanensis*. Esses protozoários raramente causam infecção em indivíduos imunocompetentes, no entanto, são considerados como uma das principais causas de diarreia em indivíduos portadores do HIV/AIDS. No Brasil, a prevalência de cistoisporose entre pacientes infectados pelo HIV varia de 4,4% a 18%.<sup>(22)</sup>

O caráter oportunista dessa infecção foi demonstrado no estudo de Assis et al.<sup>(28)</sup> quando oocistos de *Cystoisospora belli* foram encontrados em 6,7% (5/59) das amostras fecais de pacientes HIV positivos, apresentando frequência maior entre pacientes com síndrome diarreica e contagem de linfócitos T CD4+ < 200 células/mm<sup>3</sup>.

O primeiro surto de diarreia associado à *Cyclospora* notificado e investigado no Brasil ocorreu no ano 2000, na cidade de General Salgado, São Paulo.<sup>(29)</sup> Entretanto, devido aos poucos casos e surtos relatados, a prevalência da ciclosporíase no Brasil ainda é indeterminada.

## CONCLUSÕES

As coccidioses intestinais ainda constituem um grave problema de saúde pública nos dias atuais. Tal situação é observada, principalmente, em países em desenvolvimento onde os baixos níveis socioeconômicos e a falta de saneamento contribuem para o desenvolvimento e propagação dos parasitas.

Apesar de os coccídios intestinais acometerem indivíduos de qualquer faixa etária, pôde-se observar que, no Brasil, há uma alta prevalência dessas parasitoses em crianças saudáveis de 0 a 5 anos e em indivíduos imunocomprometidos. Por evoluir para formas mais graves da doença, percebe-se que as coccidioses devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de crianças com doença diarreica, especialmente para as que frequentam creches, assim como faz-se necessária uma vigilância ativa em pacientes portadores de HIV que envolva práticas de segurança alimentar.

Neste trabalho, observou-se uma maior riqueza de dados referentes à criptosporidiose. Isso pode ser justificado pelo caráter zoonótico dessa parasitose e pela maior prevalência. Além disso, ficou evidente que os estudos de prevalência no Brasil são pontuais e se restringem à população infantil e portadores do HIV, não existindo inquéritos mais amplos que forneceriam a real amplitude das infecções.

No Brasil, apesar de poucos estudos abordarem o tema, espécies de *Cryptosporidium* com potencial zoonótico já foram identificadas em diversos animais. Apesar do *Cryptosporidium* sp. ser um agente causador de diarreia em cães e gatos, já foi demonstrado que esses animais podem não apresentar sintomas, dificultando o diagnóstico da doença. Isso reforça a necessidade de se adotar uma abordagem específica para coccídios na rotina veterinária.

Apesar do advento de diversas técnicas que aumentaram significativamente a sensibilidade e especificidade dos métodos, o custo elevado impede a aplicação dessas novas abordagens diagnósticas na rotina laboratorial. Assim, maiores investimentos poderiam ser realizados nesse setor, além de ações conjuntas de políticas governamen-

tais com o auxílio da população, uma vez que o controle e diagnóstico precoce dessas parasitoses reduzem os impactos econômicos e os custos decorrentes de internação/tratamento de pacientes afetados.

### Abstract

*Intestinal coccidia comprise a group of emerging and opportunistic protozoa. The manifestations caused may range from diarrhea to chronic variables associated with electrolytic disturbances. With an HIV / AIDS pandemic, these infections can be reported because of the aggressive picture in patients. The data of the literature, in HIV positive patients were 24 mm of average of 24%. Among the intestinal coccidia, Cryptosporidium sp. is more prominent due to its zoonotic nature. Recovery records of dogs and cats were found in 100% of treated animals in a veterinary hospital. In addition, cattle may also act as reservoirs, with prevalences in Brazil varying from 0.6% to 72.13%. Currently, there are several methodologies for the diagnosis of these coccidians, from the microscopic methods that present the main techniques for the diagnosis of these coccidians. In addition to the medical importance, the prevalence of intestinal coccidiosis is relevant as an indicator of the socioeconomic status of a given population and the intensity of energy is an anthroponotic or zoonotic. However, improvements are still needed to make new diagnostic techniques more accessible, in order to detect intestinal coccidia more easily and reliably.*

### Keywords

Diagnosis; HIV; parasites; host-parasite interactions

## REFERÊNCIAS

1. Barcelos NB, Silva LFE, Dias RFG, Menezes Filho HR, Rodrigues RM. Opportunistic and non-opportunistic intestinal parasites in HIV/AIDS patients in relation to their clinical and epidemiological status in a specialized medical service in Goiás, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2018 Mar 8;60:e13. doi: 10.1590/S1678-9946201860013.
2. Pacheco FT, Silva RK, Martins AS, Oliveira RR, Alcântara-Neves NM, Silva MP, et al. Differences in the detection of *Cryptosporidium* and *Isospora* (*Cystoisospora*) oocysts according to the fecal concentration or staining method used in a clinical laboratory. *J Parasitol*. 2013 Dec;99(6):1002-8. doi: 10.1645/12-33.1.
3. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*. 2004 Jan;17(1):72-97. DOI: 10.1128/cmr.17.1.72-97.2004.
4. Oberhelman RA, Guerrero ES, Fernandez ML, Sillio M, Mercado D, Comiskey Net, al. Correlations between intestinal parasitosis, physical growth, and psychomotor development among infants and children from rural Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg*. 1998 Apr;58(4):470-5. DOI: 10.4269/ajtmh.1998.58.470.
5. Gamboa MI, Basualdo JA, Córdoba MA, Pezzani BC, Minvielle MC, Lahitte HB. Distribution of intestinal parasitoses in relation to environmental and sociocultural parameters in La Plata, Argentina. *J Helminthol*. 2003 Mar;77(1):15-20. DOI: 10.1079/JOH2002142.
6. Zahedi A, Papparini A, Jian F, Robertson I, Ryan U. Public health significance of zoonotic *Cryptosporidium* species in wildlife: Critical insights into better drinking water management. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2015 Dec 12;5(1):88-109. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2015.12.001.
7. Smith JL. *Cryptosporidium* and *Giardia* as agents of foodborne disease. *J Food Prot*. 1993 May;56(5):451-461. doi: 10.4315/0362-028X-56.5.451.
8. Galvão AL, Ortiz EG, Bresciani KDS, Ferreira GS, Vasconcelos AL, Vieira MC. Importância da Criptosporidiose como Zoonose. *Archives of Veterinary Science*. [S.l.], v. 17, n. 2, jul. 2012. DOI: Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/21556>>. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/avs.v17i2.21556>.

9. Gonçalves EM, Uemura IH, Castilho VL, Corbett CEP. Estudo retrospectivo da ocorrência de *Cyclospora cayetanensis* no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba, v. 38, n. 4, p. 326-330, Aug. 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822005000400009>.
10. Lindsay DS, Dubey JP, Blagburn BL. Biology of *Isospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clin Microbiol Rev.* 1997 Jan;10(1):19-34.
11. Wittner M, Tanowitz HB, Weiss LM. Parasitic infections in AIDS patients. Cryptosporidiosis, isosporiasis, microsporidiosis, cyclosporiasis. *Infect Dis Clin North Am.* 1993 Sep;7(3):569-86.
12. Collinet-Adler S, Ward HD. Cryptosporidiosis: environmental, therapeutic, and preventive challenges. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010 Aug;29(8):927-35. doi: 10.1007/s10096-010-0960-9.
13. Robertson ID, Irwin PJ, LyMBERY AJ, Thompson RC. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonosis. *Int J Parasitol.* 2000 Nov;30(12-13):1369-77. DOI: 10.1016/s0020-7519(00)00134-x.
14. Lallo MA, Bondan EF. Prevalência de *Cryptosporidium* sp. em cães de instituições da cidade de São Paulo. *Rev Saude Publica.* 2006 Feb;40(1):120-5.
15. Marques SMT, Quadros RM, Amendoeira C et al. *Cryptosporidium* sp. em quatro espécies domésticas em Lages, Santa Catarina. *Rev. Patologia tropical.* v. 34, Suplemento Especial, 2005.
16. Santín M, Trout JM, Fayer R. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet Parasitol.* 2008 Aug 1;155(1-2):15-23. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.04.018.
17. Henriksen SA, Pohlenz JF. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand.* 1981;22(3-4):594-6.
18. Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay Kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1997 Jun;35(6):1526-9.
19. Van den Bossche D, Cnops L, Verschueren J, Van Esbroeck M. Comparison of four rapid diagnostic tests, ELISA, microscopy and PCR for the detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp. and *Entamoeba histolytica* in feces. *J Microbiol Methods.* 2015 Mar;110:78-84. DOI: 10.1016/j.mimet.2015.01.016.
20. Hove RJ, van Lieshout L, Brienen EA, Perez MA, Verweij JJ. Real-time polymerase chain reaction for detection of *Isospora belli* in stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008 Jul;61(3):280-3. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.03.003.
21. Weikel CS, Johnston LI, De Sousa MA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: Association with Sporadic Diarrhea. *J Infect Dis.* 1985 May;151(5):963-5. DOI: 10.1093/infdis/151.5.963.
22. Silva CV, Ferreira MS, Borges AS, Costa-Cruz JM. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients: experience at a teaching hospital in central Brazil. *Scand J Infect Dis.* 2005;37(3):211-5. DOI: 10.1080/00365540410020875.
23. Cantalice Neto AF, Zim MAA, Machado RS, Fratini FG, Silva APP. Criptosporidiose e diarreia persistente. *J. pediatr. (Rio J.)*. 1998; 74(2):143-148. [www.jped.com.br > conteudo > 98-74-02-143 > port](http://www.jped.com.br/conteudo/98-74-02-143/port).
24. Moitinho MLR, Roberto ACBS, Martins MR. Ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em fezes diarreicas de crianças do Município de Maringá, PR. *Acta bioquím. clín. latinoam;* 33(2): 249-53, jun. 1999.
25. Schnack FJ, Fontana Ld Lde M, Barbosa PR, Silva LS, Baillargeon CM, Barichello T, et al. Enteropathogens associated with diarrheal disease in infants (< 5 years old) in a population sample in Greater Metropolitan Criciúma, Santa Catarina State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2003 Jul-Aug;19(4):1205-8. DOI: 10.1590/s0102-311x2003000400042. [Article in Portuguese].
26. Carneiro J, Rodrigues N, Lima J, Evangelista PL. Prevalência da criptosporidiose em crianças procedentes da região metropolitana de Goiânia-GO. *Rev. Pat Tropi.* 1995;24(2):243-53.
27. Gomes AH, Kanamura HY, Almeida ME, Araújo AJUS. Detecção de *Cryptosporidium* em amostras fecais por técnica de Nested-PCR e comparação com métodos imunológico e parasitológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 2004;63(2):255-61.
28. Assis DC, Resende DV, Cabrine-Santos M, Correia D, Oliveira-Silva MB. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* in HIV-infected patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2013;55(3). DOI: 10.1590/S0036-46652013000300002.
29. Eduardo MBP, Vilela DB, Alvarez GG, Carmo GMI, Reina MCFP, Eid VRT, et al. Primeiro surto de *Cyclospora cayetanensis* investigado no Brasil, ocorrido em 2000, no município de General Salgado (SP), e medidas de controle. *Boletim Epidemiológico Paulista.* v. 5, n. 49, p. 5-11, 2008.

Correspondência

**Angélica Rosa Faria**

Avenida Antônio Carlos, 6627

31270-901 – Belo Horizonte-MG, Brasil

# Aspectos epidemiológicos e clínicos de pacientes infectados por HIV

## Epidemiological and clinical aspects of HIV infected patients

Amanda Oliveira Lima Lopes<sup>1</sup>

Ingrid Pontes Benevides Nunes<sup>2</sup>

Maiani Ribeiro Leão<sup>2</sup>

Maria de Fátima Borges de Brito Nogueira<sup>2</sup>

Andréa Bessa Teixeira<sup>3</sup>

### Resumo

O HIV é o vírus da imunodeficiência adquirida, que leva o paciente a desenvolver a Síndrome da Imunodeficiência adquirida – AIDS, a manifestação clínica avançada do vírus. No período de 2012 a 2016, houve um aumento nos diagnósticos entre as pessoas que são portadoras de HIV, assim como a ampliação do número de pessoas em tratamento. A região nordeste do país evidencia o maior número de novos casos, sendo, atualmente, a quinta causa de morte entre adultos, principalmente entre mulheres de 15 a 49 anos de idade. Esse estudo descritivo-retrospectivo, observacional, qualitativo, com base em levantamento de dados de artigos em Português presentes nas plataformas Medline e SciELO, no período de janeiro de 2016 a abril de 2018, tem como finalidade contribuir com a atualização acerca do tema, abordando sobre agente etiológico, epidemiologia, fisiopatologia da doença, perfil do hemograma do paciente acometido com o vírus e o tratamento.

### Palavras-chave

Epidemiologia; AIDS; imunocomprometimento

## INTRODUÇÃO

O HIV é o vírus da imunodeficiência adquirida, a qual é caracterizada pela replicação viral com redução dos linfócitos T CD4+. Faz parte do gênero *Lentivirus* e família *Retroviridae*. Além disso, acarreta alterações imunológicas e infecções oportunistas, levando o paciente a desenvolver a Síndrome da Imunodeficiência adquirida – AIDS, que é a manifestação clínica avançada do vírus.<sup>(1)</sup>

A infecção pelo vírus HIV é considerada um problema de saúde pública devido ao crescente número de pessoas infectadas por ano. Segundo o Ministério da Saúde, no período de 2012 a 2016 houve um aumento tanto no número de diagnóstico entre as pessoas que são portadoras de HIV como a ampliação do número de pessoas em tratamento.<sup>(2)</sup> Estima-se que, em 2016, aproximadamente 830 mil pessoas viviam com HIV no país, dessas, apenas 694 mil diagnosticadas.<sup>(2)</sup>

O número crescente de novos casos é mais evidenciado na região nordeste do país, sendo menor nas regiões sul e sudeste, sendo, atualmente, a quinta causa de morte entre adultos, principalmente entre mulheres de 15 a 49 anos de idade.<sup>(1)</sup>

A terapia antirretroviral altamente ativa (TARV), assim como os inibidores de protease, foram responsáveis pelo aumento da sobrevida de pacientes soropositivos devido à supressão na replicação viral, melhorando a qualidade de vida dos mesmos.<sup>(3)</sup> O Brasil foi o primeiro país da América Latina a incorporar ao tratamento da AIDS, a partir de janeiro de 2017, o medicamento Dolutegravir, que é considerado atualmente o melhor medicamento para tratamento do HIV. Recentemente, a Organização Mundial de Saúde (OMS) o reconheceu na Conferência Internacional de AIDS.<sup>(2)</sup>

## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo-retrospectivo, com base em levantamento de dados por meio de artigos em Português presentes nas plataformas Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos da América (*National Library of Medicine* – NLM) e SciELO no período de janeiro de 2016 a abril de 2018 com a finalidade de atualizar dados referentes à temática abordada, a partir dos seguintes descritores: AIDS, HIV e síndrome da imunodeficiência adquirida.

<sup>1</sup>Acadêmico. Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

<sup>2</sup>Discentes do curso de Farmácia da Faculdade Metropolitana de Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

<sup>3</sup>Docente do curso de Farmácia da Faculdade Metropolitana de Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

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

Recebido em 29/05/2018

Artigo aprovado em 09/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900721

Foram incluídas publicações referentes à temática que estivessem de acordo com o período descrito, referentes aos descritores supracitados e excluídos os periódicos que não estivessem em concordância com o período e/ou temática abordada: agente etiológico, epidemiologia, fisiopatologia, diagnóstico laboratorial, perfil de Hemograma, tratamento e terapia antirretroviral.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Agente etiológico

O HIV é o vírus da imunodeficiência adquirida, a qual é caracterizada pela replicação viral com redução dos linfócitos T CD4+. Faz parte do gênero *Lentivirus* e família *Retroviridae*. Além disso, acarreta alterações imunológicas e infecções oportunistas, levando o paciente a desenvolver a Síndrome da Imunodeficiência adquirida – AIDS, que é a manifestação clínica avançada do vírus.<sup>(1)</sup>

AIDS foi descrita inicialmente em 1981, nos Estados Unidos, após um grupo de pacientes jovens, homossexuais, apresentarem um conjunto de sinais e sintomas que foram relacionados a uma doença ainda não classificada, porém infecciosa e de caráter transmissível. Em 1982 foram notificados os primeiros casos de AIDS no Brasil, inicialmente relacionados ao eixo Rio-São Paulo. O Maranhão foi o primeiro estado a notificar casos relacionados ao sexo masculino, e desde então observa-se um expressivo número de casos nos homens em relação às mulheres.<sup>(1)</sup>

### Epidemiologia

Estima-se que, em 2016, aproximadamente 830 mil pessoas viviam com HIV no país e, dessas, apenas 694 mil diagnosticadas.<sup>(2)</sup> O número crescente de novos casos é mais evidenciado na região nordeste, sendo menor nas regiões sul e sudeste, sendo, atualmente, a quinta causa de morte entre adultos, principalmente entre mulheres de 15 a 49 anos de idade.<sup>(2)</sup> No Nordeste, a taxa de detecção é de 11,7 casos para 100 mil habitantes, contra a taxa da média nacional de 20,5 casos para 100 mil habitantes.<sup>(3)</sup>

A proporção de pessoas vivendo com HIV diagnosticadas aumentou em 18%, passando de 71% em 2012 para 84% em 2016. Nos primeiros seis meses de 2017, o relatório aponta que quase 35 mil pessoas iniciaram terapia antirretroviral (TARV). E das pessoas em tratamento com antirretroviral, com o mínimo de seis meses, em 2016, 91% atingiram supressão viral (carga viral abaixo de 1.000 cópias/mL), indicando sucesso no tratamento. Essa proporção é 6% acima da observada em 2012 (85%).<sup>(2)</sup>

### Fisiopatologia; sinais e sintomas

A infecção pelo HIV cursa com um amplo espectro de apresentações clínicas, desde a fase aguda até a fase avançada da doença. Em indivíduos não tratados, estima-se que o tempo médio entre o contágio e o aparecimento da doença esteja em torno de dez anos.<sup>(4)</sup>

A infecção aguda pelo HIV ocorre nas primeiras semanas da infecção pelo vírus quando este está sendo replicado intensivamente nos tecidos linfoides. Durante essa fase, tem-se CV-HIV elevada e níveis decrescentes de linfócitos, em especial os LT-CD4+, uma vez que estes são recrutados para a reprodução viral. O indivíduo, nesse período, torna-se altamente infectante.<sup>(4)</sup>

Como em outras infecções virais agudas, a infecção pelo HIV é acompanhada por um conjunto de manifestações clínicas, denominado Síndrome Retroviral Aguda (SRA). Os principais achados clínicos de SRA incluem febre, cefaleia, astenia, adenopatia, faringite, exantema e mialgia. A SRA pode cursar com febre alta, sudorese e linfadenomegalia, comprometendo principalmente as cadeias cervicais anterior e posterior, submandibular, occipital e axilar. Podem ocorrer, ainda, esplenomegalia, letargia, astenia, anorexia e depressão, além dos sintomas digestivos, como náuseas, vômitos, diarreia, perda de peso e úlceras orais podem estar presentes.<sup>(4)</sup>

A SRA é autolimitada, e a maior parte dos sinais e sintomas desaparece em três a quatro semanas. Sendo assim, muitas vezes os sinais e sintomas que a caracterizam, por serem muito semelhantes aos de outras infecções virais, são habitualmente atribuídos a outra etiologia, e a infecção pelo HIV comumente deixa de ser diagnosticada nessa fase inicial ou aguda.<sup>(4)</sup> Na fase de latência clínica, o exame físico costuma ser normal, exceto pela linfadenopatia, que pode persistir após a infecção aguda. À medida que a infecção progride, surgem sintomas constitucionais (febre baixa, perda ponderal, sudorese noturna, fadiga), diarreia crônica, cefaleia, alterações neurológicas, infecções bacterianas.<sup>(4)</sup>

O aparecimento de infecções oportunistas (IO) e neoplasias é definidor da AIDS. Entre as infecções oportunistas, destacam-se: pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovírus. As neoplasias mais comuns são sarcoma de Kaposi (SK), linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino em mulheres jovens. Nessas situações, a contagem de LT-CD4+ situa-se abaixo de 200 cels/mm<sup>3</sup>, na maioria das vezes.<sup>(4)</sup>

### Diagnóstico laboratorial

Após a descoberta do HIV, foram desenvolvidos imunoenaios (IE) para o diagnóstico da infecção. Quatro

gerações de IE foram elaboradas. Essas gerações foram definidas de acordo com a evolução das metodologias empregadas.<sup>(5)</sup>

#### *Primeira geração*

É do tipo indireto, ou seja, a presença de anticorpos específicos é detectada por um conjugado constituído por um anticorpo anti-IgG humano. É um ensaio pouco específico e menos sensível do que os ensaios de gerações seguintes e não é utilizado na rotina diagnóstica dos laboratórios.<sup>(5)</sup>

#### *Segunda geração*

É do tipo indireto, utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados de proteínas do HIV. Transcorre da existência de regiões antigênicas em determinadas proteínas do HIV (epítomos imunodominantes) que são alvos preferenciais da resposta imune humoral. É diretamente proporcional, quanto maior a quantidade de epítomos imunodominantes no ensaio mais sensível esse ensaio se torna.<sup>(5)</sup>

#### *Terceira geração*

Tem o formato "sanduíche" ou imunométrico. Esse ensaio utiliza antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos na fase sólida e na forma de conjugado. Esse formato permite a detecção simultânea de anticorpos anti-HIV IgM e IgG. É um teste de maior especificidade, pois os antígenos ligam-se apenas à valência livre do anticorpo que está no complexo imune (antígenos na fase sólida do ensaio e anticorpos da amostra).<sup>(5)</sup>

#### *Quarta geração*

Anuncia concomitantemente o antígeno p24 e anticorpos específicos anti-HIV. O componente de detecção do anticorpo tem a forma de "sanduíche" e identifica todas as classes de imunoglobulinas contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120/160.<sup>(5)</sup>

### **Perfil do Hemograma**

Em relação ao perfil hematológico dos pacientes com HIV podemos dizer que estão presentes alterações multifatoriais que dependerão da resposta imunológica do paciente naquele momento. Observa-se, nos estudos, que a anemia, com perfil microcítico e hipocrômico, e a leucopenia são as principais alterações hematológicas encontradas em pessoas com infecção pelo HIV, isso é devido à inadequada produção decorrente da supressão medular pelo HIV. Além disso, a plaquetopenia está presente em 40% desses pacientes.<sup>(6)</sup>

A anemia megaloblástica pode estar presente em pacientes fazendo uso do medicamento zidovudina (AZT),

devido à sua alta toxicidade, decorrente da redução na absorção da cobalamina e ácido fólico.<sup>(6)</sup> A anemia está destacada nos achados da literatura em 60% a 80% dos casos, mostrando como frequentemente está associada a pacientes com infecção pelo HIV.<sup>(1)</sup> Alguns fármacos antirretrovirais, como a zidovudina e a lamivudina, podem induzir agranulocitose e anemia nesses pacientes. A interação com a sulfametoxazol-trimetoprim pode acarretar anemia grave.<sup>(6)</sup>

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS.**

O avanço em diagnóstico e tratamento de pacientes infectados pelo HIV no Brasil, nos últimos anos, é consideravelmente positivo. Muito se tem avançado em ferramentas que possibilitem o diagnóstico e o acesso aos tratamentos antirretrovirais oferecidos pelo SUS (Sistema Único de Saúde), que tem como objetivo manter uma boa saúde dos portadores da doença, mesmo que este tratamento não seja propriamente a cura da mesma. A expectativa de vida de um paciente diagnosticado e em tratamento é maior do que foi nas décadas anteriores (antes do supracitado avanço), bem como a qualidade de vida dos mesmos também é melhor.

Ainda observa-se nesta pesquisa a falta do diagnóstico conforme estimativa do Ministério da Saúde, que afirma: "Em 2016, aproximadamente 830 mil pessoas viviam com HIV no país, dessas, apenas 694 mil diagnosticadas". Subentende-se que esse portador do vírus não está em tratamento e também não tem consciência de que pode estar contaminando outras pessoas pelas vias já conhecidas de contaminação (principalmente a sexual), o que pode justificar o aumento dos casos durante todo o período que se acompanha a epidemiologia do HIV no Brasil.

Somente quando todos os portadores tiverem pleno acesso à informação, diagnóstico e tratamento poderemos visualizar um avanço que vai realmente em direção à diminuição dos números de infectados. O não portador do HIV tem meios de se prevenir de uma provável infecção, pela educação em saúde em campanhas que vemos nas escolas e em períodos festivos na mídia, como no carnaval.

#### **Abstract**

*O HIV is the virus of immunodeficient syndrome has the patient in develop the syndrome of Immunodeficiency adquirida - AIDS, advanced clinical manifestation of the virus. From 2012 to 2016, there was an increase in diagnoses among people with HIV, as well as an increase in the number of people being treated. The Northeast region of the country shows the largest number of new cases, and is currently a 5<sup>th</sup> cause of death among adults, among women aged 15 to 49 years. This descriptive, retrospective, observational, and qualitative study, based on data collection with the presence of Portuguese articles on the Medline and SciELO platforms from January 2016 to April 2018 has as contribution to the update of the*

theme, addressing about etiological agent, epidemiology, pathophysiology of the disease, blood cell profile of the patient affected with the virus and treatment.

**Keywords**

Epidemiology; AIDS; immunocompromised

**REFERÊNCIAS**

1. Carvalho RC, Hamer ER. Perfil de alterações no hemograma de pacientes HIV+. Rev. bras. anal. clin. 2017;49(1): 57-64
2. Brasil, Ministério da saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Relatório de monitoramento clínico do HIV. Brasília-DF. Dezembro de 2016 - 1ª edição.
3. Viana PÁdS, Novais CT, Reis RWC, Flor SMC, Rosa PB. Aspectos epidemiológicos clínicos e evolutivos da AIDS em idosos no norte do ceará. Sanare. 2017 jul./Dez.;16(02):31-36. DOI: <https://doi.org/10.36925/sanare.v16i2.1175>
4. Brasil, Ministério da saúde, Departamento de Vigilância, prevenção e controle das infecções sexualmente transmissíveis, do HIV/AIDS e das hepatites virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. Brasília, 2017. Acessível em: [aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos](http://aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos). Última modificação: 24.12.2018
5. Brasil, Ministério da saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo hiv em adultos e crianças, 4ª edição . Brasília, 2017. Acessível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/27/>
6. Daminelli EN, Tritinger A, Spada C. Alterações hematológicas em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana submetidos à terapia antirretroviral com e sem inibidor de protease. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.32 no.1 São Paulo Feb. 2010 Acessível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842010005000007>

Correspondência

**Amanda Oliveira Lima Lopes**  
Faculdade Metropolitana de Fortaleza  
Rua Conselheiro Estelita, 500 - Centro  
60010-260 – Fortaleza - CE, Brasil

# Avaliação da presença de anemia e de deficiência de ferritina em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário do Estado do Pará

*Evaluation of the anemia presence and ferritin deficiency in patients attended at the Clinical Analyses Laboratory of the University Center of the State of Pará*

Carlos Eduardo da Silva Gonçalves<sup>1</sup>

Ajax Reis Silva<sup>1</sup>

Lucélia Almeida Caldas Baltazar<sup>1</sup>

Ediberto Nunes<sup>2</sup>

## Resumo

**Objetivo:** Este estudo buscou analisar a presença de anemia, definida como a redução nos níveis de hemoglobina, e relacioná-la com a deficiência de ferritina sérica entre pacientes com idade igual ou superior a 15 anos, identificando possíveis casos de anemia ferropriva. **Métodos:** Foi realizada a coleta de resultados laboratoriais de pacientes que realizaram o exame de hemograma completo acompanhado da dosagem de ferritina no Laboratório de Análises Clínicas do CESUPA durante o período de agosto de 2018 a junho de 2019. Pacientes que realizaram ambos os exames e revelaram baixos níveis de hemoglobina foram incluídos, obtendo-se assim uma amostra de 177 pacientes anêmicos. **Resultados:** Nos pacientes incluídos no estudo, constatou-se que a faixa etária com maior prevalência de anemia foi a de pacientes com idade entre 61 a 70 anos de idade, representando 27,1% da amostra total. Classificando-se os tipos de anemia presente com base em seus índices hematimétricos, notou-se maior frequência daquelas com perfil de normocitose e normocromia (55,4%), seguida de microcitose e hipocromia (31,6%) e de macrocitose com normocromia (2,3%). Entre os pacientes com perfil de microcitose e hipocromia, 91,1% apresentaram anisocitose. Dos 177 pacientes anêmicos, apenas 19 (10,7%) apresentaram valores baixos de ferritina, enquanto que os pacientes com níveis normais de ferritina foram os mais frequentes (59,9%). **Conclusão:** O perfil hematimétrico compatível com quadros de anemia ferropriva foi o segundo mais frequente neste estudo, sendo o de normocitose e normocromia o mais frequente, assim corroborando com maior parte das faixas etárias identificadas.

## Palavras-chave

Anemia; hemoglobinas; ferritinas

## INTRODUÇÃO

A anemia é definida como uma condição onde há diminuição da massa eritrocitária acompanhada da redução na concentração de hemoglobina. A redução nos níveis de hemoglobina, por si, não define a anemia, pois é um achado que pode ocorrer devido a processos fisiológicos, como é observado a partir do segundo trimestre da gestação, devido à hemodiluição. Apesar disto, devido à praticidade, a concentração de hemoglobina é o parâmetro laboratorial mais utilizado para definir a anemia.<sup>(1)</sup>

Além dos níveis reduzidos de hemoglobina, ocorrem também alterações nos índices hematimétricos, parâmetros

hematológicos que permitem classificar a anemia de acordo com os valores do volume corpuscular médio (VCM) e da hemoglobina corpuscular média (HCM). Através do VCM e HCM, a anemia pode ser classificada como microcítica e hipocrômica quando apresentar redução nos dois índices, normocítica e normocrômica para anemias com VCM e HCM na faixa de normalidade, e macrocíticas e normocrômicas para casos onde há elevação no VCM enquanto que o HCM permanece normal.<sup>(1,2)</sup>

Entre as causas de anemia, a deficiência de ferro é a mais frequente das relacionadas com uma carência nutricional, manifestando-se através da baixa nas reservas de ferro, redução do ferro sérico, pouca saturação de

<sup>1</sup>Acadêmico de Farmácia, Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA). Belém-PA, Brasil.

<sup>2</sup>Mestre em Ciências Morfológicas, Docente no Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA). Belém-PA, Brasil.

Instituição: Centro Universitário do Estado do Pará (CESUPA). Belém-PA, Brasil.

Conflito de interesses: não há conflitos de interesse.

Recebido em 07/09/2019

Artigo aprovado em 11/12/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900907

transferrina e diminuição do hematócrito, que repercutem na forma de microcitose, hipocromia e anisocitose, com consequente complicações na distribuição de oxigênio pelo organismo.<sup>(3)</sup>

O quadro ferroprivo é mais comum em crianças em seus primeiros anos de vida e em mulheres em idade fértil, especialmente aquelas que estão em período gestacional. Para crianças, um dos fatores contribuintes para a deficiência de ferro é o maior consumo do mineral pelo organismo durante o desenvolvimento da estatura física, pela sua baixa ingestão e pelo consumo de leite não materno antes dos primeiros seis meses de vida. Em adultos, a ferropenia é mais comumente associada com uma dieta inadequada ou pelo uso de medicamentos que interfiram na absorção de ferro, como pode ocorrer com usuários de inibidores da bomba de prótons a longo prazo. Outros determinantes para o quadro incluem a questão socioeconômica da população; como exemplo, tem-se a avaliação do saneamento básico para investigação de perdas crônicas de sangue causadas por parasitas como *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*.<sup>(4,5)</sup>

O desenvolvimento da deficiência de ferro ocorre de forma progressiva, podendo ser identificada em três etapas: depleção dos estoques de ferro, redução do ferro de transporte e, por fim, a restrição na produção de hemoglobina. Inicialmente, há redução nos níveis de ferritina sérica, representando o estoque de ferro disponível no organismo, enquanto que na próxima etapa há diminuição do ferro sérico e aumento na capacidade total de ligação do ferro, com consequente redução na saturação de transferrina. A última fase da deficiência de ferro, conhecida como a anemia ferropriva, envolve todos os parâmetros alterados nas etapas anteriores e, desta vez, há também restrição na produção de hemoglobina, revelando em microscopia também células vermelhas com aspecto microcítico e hipocrômico.<sup>(2)</sup>

Entre os impactos causados pela deficiência de ferro, é importante ressaltar que esses se apresentam tanto na forma social quanto econômica, havendo redução na capacidade cognitiva, física, dificuldades no aprendizado, deficiência imunológica, perda da capacidade ocupacional, retardo no desenvolvimento psicomotor, entre outras alterações que causam diretamente o aumento na taxa de mortalidade.<sup>(5)</sup>

A ferritina é uma proteína que representa de forma precisa e confiável as reservas de ferro presentes no organismo humano. Ela torna o ferro disponível para atuar em processos celulares e moleculares, além de também proteger o organismo contra as ações tóxicas do ferro. Por se tratar de uma proteína de fase aguda, alterações nos níveis de ferritina também podem ser vistos em processos inflamatórios, infecciosos e de caráter maligno.<sup>(3)</sup>

Para o diagnóstico precoce de anemia ferropriva, a dosagem de ferritina plasmática é essencial, mostrando-se como o parâmetro mais preciso, sensível e específico para se obter uma representação dos níveis de ferro do organismo, além de sua conveniência para mensuração. Níveis reduzidos de ferritina implicam o desenvolvimento de um quadro de deficiência de ferro, enquanto que níveis elevados sugerem um quadro de sobrecarga do mineral.<sup>(6)</sup>

A partir disso, a dosagem de ferritina sérica é amplamente utilizada como alternativa para outros métodos de quantificação de ferro no organismo que envolvem procedimentos invasivos ou são considerados de custo elevado.<sup>(6)</sup> No Brasil, o diagnóstico de anemia ferropriva é amplamente realizado pelo Sistema Único de Saúde através da dosagem de hemoglobina associada com a dosagem de ferritina. Serve como um importante parâmetro de análise para tratar e prevenir quadros de anemia ferropriva na população, assim evitando as consequências oriundas da deficiência de ferro.<sup>(5-7)</sup>

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo associar os valores de ferritina com a presença de anemia entre os pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário do Estado do Pará (LAC-CESUPA) durante o período de agosto de 2018 a junho de 2019, verificando possíveis quadros de deficiência de ferro com potencial desenvolvimento para uma anemia ferropriva.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a coleta de resultados laboratoriais de pacientes que haviam realizado exames do tipo hemograma e dosagem de ferritina durante o período determinado de agosto de 2018 a junho de 2019. No total, tiveram-se 479 exames laboratoriais coletados.

Para realização da análise, foram inclusos os resultados de exames de pacientes com idade igual ou superior a 15 anos, de ambos os sexos, que realizaram o exame de hemograma completo e a dosagem de ferritina. Foram excluídos da pesquisa os resultados laboratoriais de pacientes com idade inferior a 15 anos, resultados de pacientes que não apresentavam anemia e resultados nos quais não apresentavam a realização do exame de hemograma completo em conjunto com a dosagem de ferritina. Com base nestes critérios, foram inclusos 177 laudos para o presente estudo.

Para definição da presença de anemia, foram adotados como referência os valores de hemoglobina estabelecidos pelo Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Anemia por Deficiência de Ferro (PCDT-ADF), sendo considerado anêmicos pacientes do sexo masculino com idade igual ou superior a 15 anos que apresentassem níveis de hemoglobina inferiores a 13 g/dL e pacientes do sexo

feminino com idade igual ou superior a 15 anos que apresentassem valores de hemoglobina inferiores a 12 g/dL.<sup>(7)</sup>

Os valores de referência para a mensuração dos níveis de ferritina também seguiram o PCDT-ADF, sendo considerados normais valores entre 30 mcg/L a 200 mcg/L. A aplicação deste intervalo confere uma sensibilidade e especificidade de 92% e 98%, respectivamente para a identificação de pacientes com deficiência de ferro.

Dos resultados de exames inclusos nos estudos, foram adotados como variáveis a serem analisadas os seguintes dados: idade, sexo, hemoglobina sérica, VCM, HCM, amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) e concentração de ferritina sérica. Estes dados foram transferidos para uma planilha do *software* Microsoft Excel versão 2013, onde foram organizados em tabelas. A análise das variáveis foi realizada no mesmo *software*, fazendo-se uso da estatística descritiva (percentuais e médias).

Os dados analisados referem-se a exames realizados pelos pacientes de ambos os sexos, independentemente de qualquer diagnóstico prévio. De modo geral, os dados dos pacientes inclusos no estudo revelaram uma média de idades igual a 58,76 anos.

Para os índices hematimétricos (VCM, HCM e RDW), foram utilizados como referência os valores postulados por Bain et al.<sup>(8)</sup>

### Ética

Esta pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, tendo sido aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CESUPA (CEP-CESUPA) sob o CAAE 12274318.0.0000.5169 e número de parecer 3.426.176. Todos os seus participantes, assim como o responsável pelo banco de dados assinaram o Termo de Compromisso para Utilização de Dados e Prontuários. O sigilo dos pacientes participantes foi mantido.

## RESULTADOS

Durante o período de Agosto de 2018 a Junho de 2019, o LAC-CESUPA realizou 293 hemogramas e dosagens de ferritina em pacientes do sexo masculino e feminino com idade superior ou igual a 15 anos. Entre estes, 177 (60,4%) encontravam-se anêmicos. Na Tabela 1, podem-se observar as faixas etárias onde a presença de anemia foi encontrada com maior frequência.

Na Tabela 2, é revelada a classificação laboratorial das anemias observadas nos pacientes atendidos com base em seus índices hematimétricos que apresentassem o mesmo valor de referência para ambos os sexos. Entre os pacientes analisados, a anemia mais frequente foi a do tipo normocítica e normocrômica, correspondendo a 55,4% dos casos. A segunda anemia mais frequente foi caracteri-

zada como microcítica e hipocrômica, representando 31,6% dos pacientes anêmicos. A anemia macrocítica foi a classificação menos frequente, representando apenas 2,3% dos pacientes.

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes com anemia por faixa etária. Belém-PA - Agosto de 2018 a Junho de 2019

Idade (anos)	Quantidade de pacientes (n,%)
15 - 20	9 (5,1)
21 - 30	3 (1,7)
31 - 40	13 (7,3)
41 - 50	27 (15,3)
51 - 60	32 (18,1)
61 - 70	48 (27,1)
71 - 80	26 (14,7)
81 - 90	17 (9,6)
91 - 100	2 (1,1)

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais

Tabela 2 - Perfil de anemias em relação aos seus índices hematimétricos\*. Belém/PA - Agosto de 2018 a Junho de 2019

Variáveis	Quantidade de pacientes (n,%)
Microcitose e hipocromia	56 (31,6)
Normocitose e normocromia	98 (55,4)
Macrocitose e normocromia	4 (2,3)
Microcitose e normocromia	17 (9,6)
Normocitose e hipocromia	2 (1,1)

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais

\* Os valores de referência adotados foram de 83 a 101 fL (fentolitros) para o VCM e 27 a 32 pg (pictogramas) para o HCM.<sup>(8)</sup>

A Figura 1 representa a relação em percentual dos pacientes que apresentaram microcitose e hipocromia conforme os seus valores do RDW, classificando-os conforme a presença ou ausência de anisocitose.

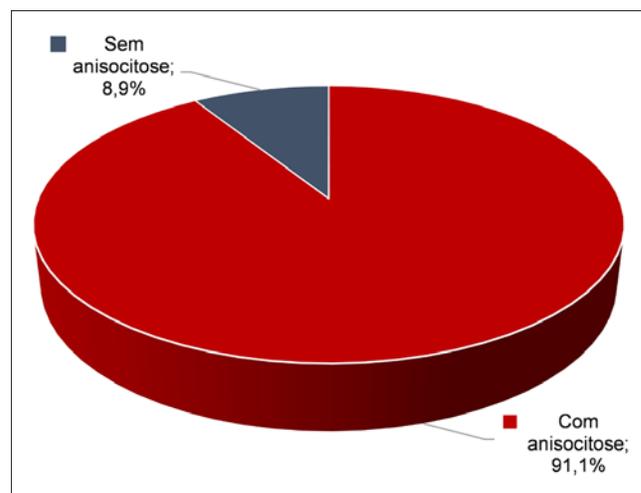


Figura 1. Percentual de alterações no RDW em pacientes com microcitose e hipocromia. O valor de referência adotado para o RDW foi de 11,6 a 14,0. A anisocitose definida como RDW superior a 14,0%.<sup>(8)</sup>

A Tabela 3 dispõe a classificação dos pacientes conforme os valores encontrados em suas dosagens de ferritina, classificando-os como baixos, normais e altos.

Tabela 3 - Distribuição de pacientes conforme seus níveis séricos de ferritina\*. Belém/PA - Agosto de 2018 a Junho de 2019

	Quantidade de pacientes (n,%)
Ferritina baixa	19 (10,7)
Ferritina normal	106 (59,9)
Ferritina elevada	52 (29,4)
Total	177

Fonte: Dados coletados de resultados laboratoriais

\*O valor de referência adotado para a dosagem de ferritina foi de 30 mcg/L a 200 mcg/L.<sup>(7)</sup>

## DISCUSSÃO

Neste trabalho foram avaliados parâmetros hematológicos em conjunto com a dosagem de ferritina sérica para verificar a presença de anemia ferropriva, identificando também outras anemias com base nos índices hematimétricos dos pacientes atendidos no LAC-CESUPA. Foi encontrada uma frequência maior de anemia entre pacientes com idade entre 61 a 70 anos de idade, equivalendo a 27,1% da amostra analisada. A anemia entre pacientes desta faixa etária está associada a piora da qualidade de saúde entre esse grupo populacional, tornando-o mais vulnerável às consequências adversas associadas ao quadro clínico em questão.<sup>(9)</sup>

Em concordância com este relato, Agrawal et al.<sup>(10)</sup> revelaram uma alta taxa de prevalência de anemia entre idosos, estando a deficiência de hemoglobina associada com altas taxas de mortalidade e a um grande número de comorbidades. A diversidade de comorbidades dificulta definir a etiologia por trás das anemias entre pacientes de idade avançada.

Em uma revisão bibliográfica realizada por Milagres et al.<sup>(11)</sup> acerca da prevalência e etiologia de anemias entre idosos, constatou-se que as causas de anemias entre idosos envolvem principalmente deficiências nutricionais, anemias de doenças crônicas e anemias de causas desconhecidas.

A avaliação dos índices hematimétricos daqueles incluídos na pesquisa revelou a presença, em maior frequência, de anemias com valores normais de VCM e HCM, classificando-as como normocíticas e normocrômicas, equivalendo a 55,4% dos resultados laboratoriais estudados. O segundo perfil hematimétrico mais frequente foi o de redução no VCM e HCM, definindo a anemia como microcítica e hipocrômica, apresentando uma frequência de 31,6%. A anemia macrocítica, que apresenta valores elevados de VCM e normais para o HCM, foi o tipo menos frequente nesta pesquisa, representando apenas 2,3% dos pacientes estudados.

A redução no volume de eritrócitos é diretamente relacionada com a redução nos níveis de hemoglobina, prejudicando a formação adequada dos eritrócitos. A deficiência de hemoglobina pode estar relacionada a diversos fatores, tendo como exemplo as anemias carenciais, os distúrbios genéticos da hemoglobina, processos infecciosos como a malária, infestações por helmintos intestinais e infecções crônicas.<sup>(1,3)</sup>

De acordo com a literatura, as anemias normocíticas e normocrômicas apresentam como etiologia as doenças crônicas, sendo esta a anemia mais frequente após a anemia ferropriva. Nas anemias de doenças crônicas, há alteração no metabolismo do ferro em função da retenção do mineral em estoque causada pela ação de interleucinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 ou a interleucina-6, que irão agir em um peptídeo conhecido como hepcidina, impedindo a saída do ferro para o meio extracelular. No âmbito laboratorial, a anemia por doença crônica revela redução nos níveis de ferro sérico e na saturação de transferrina, enquanto que o ferro em depósito estará com concentração aumentada.<sup>(12)</sup>

Infecções por microrganismos, inflamações e neoplasias são associações comuns com a anemia de doenças crônicas. Em um estudo epidemiológico recente, foi revelado que entre 191 pacientes idosos hospitalizados, 70% apresentavam anemia por doença crônica. Setenta e um por cento dos pacientes com esta anemia apresentavam alguma forma de infecção aguda, 16% apresentavam insuficiência renal crônica, 12% tinham câncer e 16% apresentavam alguma infecção crônica, como úlcera de pressão ou alguma doença inflamatória autoimune. Portanto, nota-se uma elevada prevalência de anemia em pacientes com idades avançadas, estando essa anemia principalmente relacionada com outras morbidades presentes.<sup>(13)</sup>

O segundo grupo de anemia com maior frequência no LAC-CESUPA foi o de perfil hematimétrico com microcitose e hipocromia. Entre estas anemias, a causada pela deficiência de ferro é a mais comum, embora também possam ser encontradas nas talassemias menores e na anemia sideroblástica outras anemias que apresentem redução no VCM e HCM. Em virtude disto, torna-se importante a aplicação de testes específicos para a identificação correta da anemia.<sup>(1,14)</sup>

Associando o perfil hematológico de pacientes com a dosagem da ferritina, é possível identificar a anemia ferropriva em sua primeira fase de desenvolvimento, onde apenas os níveis séricos de ferritina encontram-se alterados. A queda nos valores de ferritina representa o eventual esgotamento das reservas de ferro, que tem como consequência a redução na concentração de ferro sérico e na saturação de transferrina, enquanto que há aumento nos níveis de transferrina livre, características da segunda fase

da deficiência de ferro. A ausência de tratamento na segunda etapa garante a instalação da anemia.<sup>(2)</sup>

Além da ferritina, a interpretação de parâmetros contidos no hemograma auxilia na diferenciação da anemia ferropriva de outras anemias microcíticas e hipocrômicas. Idealmente, o discernimento entre estas anemias envolve a aplicação de técnicas padronizadas, como a eletroforese, aplicada no diagnóstico de hemoglobinopatias. Todavia, estes procedimentos são mais caros e, às vezes, inacessíveis para uma parcela da população. Diante disso, um estudo recente buscou investigar a possibilidade de diferenciar a anemia ferropriva das talassemias menores utilizando o RDW contido na análise da série vermelha, revelando resultados favoráveis ao uso desse índice hematimétrico na diferenciação entre essas anemias.<sup>(15)</sup>

Investigando parâmetros hematológicos para diferenciar o traço beta-talassêmico da anemia por deficiência de ferro, Vehapoglu et al.<sup>(16)</sup> demonstraram que a anemia ferropriva apresenta RDW maior quando comparado à doença genética, tendo uma média de  $17.4 \pm 3.48$  na anemia ferropriva, comparado a  $16.76 \pm 1.83$  na talassemia estudada. Este dado corrobora com o postulado por Matos et al.,<sup>(15)</sup> que declaram que, em traços talassêmicos, a distribuição da microcitose é de forma mais homogênea, enquanto que na anemia ferropriva ocorre de maneira mais irregular, justificando assim os valores maiores de RDW encontrados em pacientes com deficiência de ferro.

Com base no perfil dos pacientes estratificados de acordo com os seus níveis de ferritina, foi possível notar que, dos 177 pacientes avaliados, 19 (10,7%) apresentaram valores desse marcador abaixo dos valores de referência, enquanto que mais da metade dos pacientes (59,9%) apresentou valores normais para ferritina. Estes dados estão próximos daqueles encontrados por Boeira e Cunha<sup>(17)</sup> na região de Bento Gonçalves, onde os autores constataram a presença de valores normais de ferritina para maior parte da amostra estudada, equivalendo a 76,9% do sexo feminino e 45,9% do masculino.

As causas da grande quantidade de níveis de ferritina não podem ser determinadas, porém, esse marcador é sujeito a alterações em diversas situações patológicas, sendo encontrado na literatura, como possíveis causas, a síndrome metabólica, distúrbios hepáticos e alterações genéticas no gene da cadeia leve de ferritina.<sup>(17-19)</sup>

Também foi notada, embora em menor frequência, pacientes com anemia macrocítica e normocrômica, características comuns para pacientes que apresentam deficiência de vitamina B12 ou de folato. A determinação precisa da etiologia da anemia naqueles que apresentaram indicadores de anemias megaloblásticas exigiria exames que não foram analisados neste estudo, portanto, não foi possível determinar a causa da macrocitose entre os pacientes com VCM elevado.<sup>(1)</sup>

Embora tenha sido encontrado um baixo número de pacientes com deficiência de ferritina quando comparado à quantidade de pacientes com valores normais ou aumentados, os resultados desse parâmetro podem ter sofrido interferências analíticas, como a elevação nos níveis da proteína de estoque devido a processos inflamatórios ou infecciosos. Estudos revelam que, por este motivo, a dosagem de ferritina não deve ser usada isoladamente para avaliar o metabolismo do ferro, sendo recomendado o uso em conjunto com outros exames, como saturação de ferro, capacidade total de ligação do ferro, receptores de transferrina, entre outros.<sup>(20)</sup> Acredita-se também que a dosagem de hemossiderina na medula óssea possa servir como um potencial marcador de depleção de ferro; todavia, por ser um método invasivo, não é recomendado para triagem.<sup>(2)</sup>

## CONCLUSÃO

Nesta pesquisa foi constatado que o perfil hematimétrico característico de anemia ferropriva foi o segundo mais frequente entre as classificações de anemias estabelecidas no estudo. Contrariamente, poucos pacientes apresentaram deficiência de ferritina, assim mostrando as limitações desse marcador. Logo, é evidenciada a necessidade da realização de outros exames em conjunto com a dosagem de ferritina, como a saturação de ferro, receptores de transferrina e capacidade total de ligação do ferro para melhor avaliar o *status* do metal no organismo. Além do perfil de microcitose e hipocromia, o mais frequente foi o de normocitose e normocromia, compatível com a anemia de doença crônica, uma deficiência de hemoglobina mais comum entre homens e mulheres de idade avançada.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Centro Universitário do Estado do Pará, ao Laboratório de Análises Clínicas no qual foi realizada a pesquisa e ao professor Dr. Allan Malaquias pelo seu auxílio na análise estatística.

## Abstract

**Objective:** This study aimed to analyze the presence of anemia, being evaluated by the reduced hemoglobin levels, and associate it with serum ferritin deficiency among patients at 15 years old or greater, identifying possible cases of iron-deficiency anemia. **Methods:** Exam results from patients who did the complete blood count exam and the dosage of ferritin levels at the Laboratory of Clinical Analyzes from CESUPA during the interval of august 2018 to june 2019 were collected. Patients who performed both tests and revealed low hemoglobin levels were included, creating a sample of 177 anemic patients. **Results:** In the patients included in this study, it was found that anemia was most prevalent among patients with an age within the range of 61 to 70 years old, representing 27,1% of the total sample. Classifying the types of anemia present by use of the hematimetric parameters, it was noted that those with the profile of normocytic and normochromic were the most frequent (55,4%), followed by the profile of microcytic and hypochromic anemia (31,6%) and macrocytosis with normochromia (2,3%). Among the

patients with microcytosis and hypochromia, 91,1% also had the presence of anisocytosis. Of the 177 patients with anemia, only 19 (10,7%) showed low ferritin levels, while those with normal ferritin levels were the most frequent (59,9%). **Conclusion:** The hematinetric profile compatible with iron-deficiency anemia was the second most frequent in this study, while the profile of microcytosis and hypochromia was the most frequent one, thus corroborating with most of the identified age groups.

#### Keywords

Anemia; hemoglobins; ferritins

## REFERÊNCIAS

1. De Santis GC. Anemia. Medicina (Ribeirão Preto). Online. 2019; 52(3):239-51. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v52i3p239-251>.
2. Amarante MK, Otiçosa A, Sueiro AC, Oliveira CEC, Carvalho SRQ. Anemia ferropriva: uma visão atualizada. Biosaúde. 2015;17(1):34-45.
3. Faria ACF, Pereira LGR, Silva PA, Heitor RAS, Júnior WVO, Domingueti CP. Avaliação da presença de anemia e de deficiência de ferritina em crianças. RBAC. 2017;49(4):365-70.
4. Dado DN, Loesch EB, Jaganathan SP. A case of severe iron deficiency anemia associated with long-term proton pump inhibitor use. Curr Ther Res Clin Exp. 2017; 84: 1-3. doi: 10.1016/j.curtheres.2017.01.003.
5. Rodrigues VC, Mendes BD, Gozzi A, Sandrini F, Santana RG, Matioli G. Deficiência de ferro, prevalência de anemia e fatores associados em crianças de creches públicas do oeste do Paraná. Rev Nutri. 2011;24(3):407-20. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732011000300004>.
6. Garcia-Casal MN, Pasricha SR, Martinez RX, Lopez-Perez L, Peña-Rosas J. Serum or plasma ferritin concentration as an index of iron deficiency and overload (Protocol). Cochrane Database Syst Rev. 2015;7:CD011817.
7. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Anemia por Deficiência de Ferro. Portaria SAS/MS, nº 1247, 2014.
8. Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. Dacie and Lewis practical haematology. 12<sup>th</sup> ed. Elsevier; 2017.
9. Silva CL, Lima-Costa MF, Firmo JOA, Peixoto SV. Nível de hemoglobina entre idosos e sua associação com indicadores do estado nutricional e uso de serviços de saúde: Projeto Bambuí. Cad Saúde Pública. 2012;28(11):2085-94.
10. Agrawal S, Deo J, Verma AK, Kotwal A. Geriatric Health: need to make it an essential element of primary health care. Indian J Public Health. 2011;55(1):25-9. doi: 10.4103/0019-557X.82540.
11. Milagres C, Franceschini S, Priore S, Lima L, Ribeiro A. Prevalência e etiologia da anemia em idosos: uma revisão integral. Medicina (Ribeirão Preto). 2015;48(1):99-107. Acessível em: <http://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/97023>.
12. Weiss G. Anemia of chronic disorders: New diagnostic tools and new treatment strategies. Semin Hematol. 2015 Oct;52(4):313-20. doi: 10.1053/j.seminhematol.2015.07.004.
13. Fraenkel PG. Understanding anemia of chronic disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2015;2015:14-8. doi: 10.1182/asheducation-2015.1.14.
14. Kabootarizadeh L, Jamshidnezhad A, Koomareh Z. Differential diagnosis of iron-deficiency anemia from  $\beta$ -thalassemia trait using an intelligent model in comparison with discriminant indexes. Acta Inform Med. 2019 Jun;27(2):78-84. doi: 10.5455/aim.2019.27.78-84.
15. Matos JF, Borges KBG, Fernandes APSM, Faria JR, Carvalho MG. RDW as differential parameter between microcytic anemias in "pure" and concomitant forms. J Bras Patol Med Lab. 2015; 51(1):22-7.
16. Vehapoglu A, Ozgurgan G, Demir AD, Uzuner S, Nursoy MA, Turkmen S, et al. Hematological indices for differential diagnosis of beta thalassemia trait and iron deficiency anemia. Anemia. 2014;10(5):1-7. <https://doi.org/10.1155/2014/576738>.
17. Boeira L, Cunha GF. Estudo exploratório de pacientes com índices elevados de ferritina (hiperferritinemia) atendidos em serviços de saúde no município de Bento Gonçalves - RS. RICA. 2018; 3(6):10-5.
18. Barros RK, Cotrim HP, Daltro CH, Oliveira YA. Hiperferritinemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Rev Assoc Med Bras (1992). 2017 Mar;63(3):284-289. doi: 10.1590/1806-9282.63.03.284.
19. Leão GDR. Análise das mutações C288Y, S65C e H63D e frequência alélica do gene HFE em pacientes com hiperferritinemia, em uma cidade do Nordeste. Natal. Tese [Doutorado em Ciências da Saúde] - Centro de Ciências da Saúde da UFRN; 2013.
20. Silva GB, Parisi MM. Resultados do eritograma em crianças com anemias do município de Tupanciretã, RS, Brasil. RBAC. 2017;49(2):141-5.

Correspondência

**Carlos Eduardo da Silva Gonçalves**  
Centro Universitário do Estado do Pará  
Avenida Governador José Malcher, n. 1963  
Belém-PA, Brasil

# Análise comparativa dos resultados de exames colpocitológicos realizados em Governador Valadares-MG com aqueles realizados no país, região sudeste e Minas Gerais

**Comparative analysis of the cervical cytopathological examination results carried out in Governador Valadares-MG with those conducted in the country, southeast region and Minas Gerais state**

Luciana Maria Rocha de Almeida<sup>1</sup>

Michel Rodrigues Moreira<sup>2</sup>

## Resumo

**Objetivo:** O objetivo desse estudo foi comparar resultados de exames colpocitológicos realizados em âmbito nacional, na região sudeste e em Minas Gerais com aqueles obtidos no município de Governador Valadares (GV). **Métodos:** As informações sobre exames colpocitológicos, realizados nas quatro esferas, de janeiro/2006 a dezembro/2014, foram obtidas na consulta ao Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero – Siscolo. **Resultados:** A taxa de exames alterados foi de 2,8%, 3,3%, 2,2% e 2,7% [Brasil, Sudeste, Minas Gerais (MG) e GV, respectivamente]. Essa taxa foi significativamente mais alta em GV quando comparada com MG e significativamente mais baixa que a da região sudeste e a do Brasil. As principais alterações, em todas as esferas, foram: atipias em células escamosas de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas, lesão intraepitelial escamosa de baixo grau e lesão intraepitelial escamosa de alto grau. As taxas de incidência de câncer do colo do útero foram: 27,03; 28,02; 16,99 e 23,16 casos por 100 mil habitantes no país, região sudeste, MG e GV, respectivamente. Governador Valadares apresentou uma taxa significativamente mais alta apenas quando comparada com dados de Minas Gerais. **Conclusão:** Concluindo, os exames realizados em GV mostram algumas diferenças significativas em relação às outras esferas. É necessário implementar uma política de monitoramento interno da qualidade para aumentar a sensibilidade do exame, além de maior investimento na educação continuada do profissional que faz a leitura das lâminas

## Palavras-chave

Colo do útero; esfregaço vaginal; neoplasias

## INTRODUÇÃO

O câncer do colo uterino (CCU) tornou-se um grave problema de saúde pública mediante as suas elevadas taxas de incidência e mortalidade na população feminina, ocupando a posição de terceira neoplasia mais frequente nesta população, atrás apenas do câncer de mama e do colorretal, sendo a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil.<sup>(1,2)</sup>

A infecção persistente por tipos oncogênicos de Papilomavírus Humano (HPV), o qual é transmitido por via sexual, é a causa da maioria absoluta dos cânceres do colo do útero (CCU). Grande parte desses cânceres é de células escamosas e se origina na zona de transformação da

ectocérvice; os demais são adenocarcinomas que surgem na camada colunar glandular da endocérvice.<sup>(3)</sup>

A prevenção se dá pelo uso de preservativo e vacinas. A cura vem através da detecção precoce por meio do rastreamento e tratamento das lesões.<sup>(3)</sup>

As mulheres que estão na faixa de cobertura do rastreamento (25 a 64 anos) e que já iniciaram a atividade sexual são aconselhadas a fazer o exame preventivo pelo menos uma vez ao ano, ou em período menor conforme orientação médica. Este exame é eficiente para o diagnóstico precoce de câncer uterino, indolor e de baixo custo. O procedimento consiste na coleta de células do colo uterino, por meio do raspado da ectocérvice com espátula de Eyre e escova apropriada para a coleta de material do

<sup>1</sup>Estudante de graduação. Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares (UFJF Campus GV) – Governador Valadares-MG, Brasil.

<sup>2</sup>Doutorado. Professor adjunto. Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares (UFJF Campus GV) – Governador Valadares-MG, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares (UFJF Campus GV) – Governador Valadares-MG, Brasil.

Conflitos de interesse: não há conflitos de interesse.

Recebido em 10/12/2018

Artigo aprovado em 18/09/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900806

canal endocervical. Quanto mais precoce for identificado o câncer de colo do útero estima-se maior índice de cura.<sup>(4)</sup>

Os elevados índices de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero no Brasil justificam a implementação de ações nacionais voltadas para a prevenção e o controle do câncer; assim, em 1998, surgiu o Sistema de Informações e Controle do Câncer do Colo do Útero – Siscolo.<sup>(5)</sup>

A utilização de um sistema informatizado para gerenciamento das informações oriundas das unidades de saúde, o qual deve ser atualizado constantemente, é um dos principais instrumentos que auxiliam a validação das ações de um programa de controle de câncer. Assim, para aprimorar o Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (Siscolo), tanto na sua vertente tecnológica como em decorrência da implantação da "Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais e Condutas Preconizadas", o Departamento de Informática do SUS – DATASUS, em parceria com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), criou um programa de entrada de dados que tem a função de coletar e processar informações sobre pacientes e laudos de exames, sendo capaz de fornecer dados para o monitoramento externo da qualidade dos exames, informar a qualidade dos laboratórios responsáveis pela leitura do exame no município e possibilitar a qualquer cidadão o acesso a informações estatísticas relacionadas aos exames citopatológicos e anatomopatológicos do colo do útero, bem como seu seguimento, a partir do acesso ao site do DATASUS – Ministério da Saúde, disseminando informações para Gestão e Controle Social do SUS, assim como para apoio à pesquisa em saúde.<sup>(5)</sup>

O objetivo do trabalho foi realizar um levantamento dos resultados dos exames colpocitológicos realizados em Governador Valadares a partir de dados obtidos do Siscolo e contextualizar com os resultados obtidos no país, na região sudeste e em Minas Gerais, a fim de determinar as taxas de lesões pré-malignas e malignas do colo uterino encontradas em cada esfera.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, a partir de dados obtidos do Siscolo, que pode ser acessado por meio do endereço eletrônico <http://w3.datasus.gov.br/siscam/index.php?area=0401>. Buscaram-se informações sobre a situação do município de Governador Valadares (GV), que possui uma unidade territorial de 2.342,3 Km<sup>2</sup>, uma população estimada de 279.885 habitantes, sendo 52,2% mulheres, Índice de Desenvolvimento Humano Municipal - 2010 (IDHM 2010) de 0,727 e uma incidência de pobreza de 24,64%, comparando os dados encontrados com aqueles obtidos para o país (população estimada em 210.147.125 habitantes, sendo 51,0% mulheres), região sudeste (população estimada em 88.371.433, sendo 51,9% mulheres) e

Minas Gerais (população estimada em 21.168.791, sendo 52,9% mulheres).<sup>(6)</sup>

Foram verificados o quantitativo de exames colpocitológicos realizados, o percentual de exames considerados insatisfatórios para avaliação oncótica, quantos estavam dentro da normalidade, quantos foram inflamatórios inespecíficos ou específicos e quais os agentes mais relacionados com estes últimos. Verificaram-se também as taxas das diferentes lesões precursoras do câncer do colo uterino e as taxas de neoplasias malignas escamosas e glandulares, bem como o intervalo de tempo entre o último exame e aquele imediatamente anterior em pacientes que tiveram resultados com alterações cervicais e qual a faixa etária mais relacionada com estas alterações no último exame.

Os resultados encontrados no município de GV foram comparados com aqueles obtidos em âmbito nacional, na região sudeste e no estado de Minas Gerais. As análises das taxas de prevalência de câncer e de suas lesões precursoras foram realizadas por meio do programa estatístico Bioestat 5.0 (Belém-PA, Brasil). A significância estatística foi definida por um valor de  $P \leq 0,05$ .

## RESULTADOS

No período avaliado foram realizados 86.184.602 exames em todo o Brasil, sendo 39.160.737 na região sudeste, 10.693.694 em MG e 328.139 em GV. Foram insatisfatórios para avaliação oncótica 1,1%, 0,8%, 0,7% e 0,4% deles, respectivamente, sendo o dessecamento da amostra (mais de 75% do esfregaço) o principal motivo. O número de exames insatisfatórios foi significativamente menor em GV quando comparado com as demais esferas, exceto em relação ao número de exames dessecados quando comparado com a região sudeste. Foram considerados dentro dos limites da normalidade no Brasil, região sudeste, MG e GV, 13.161.562 (15,3%), 5.007.739 (12,8%), 2.887.139 (27,0%) e 182.981 (55,8%) exames, respectivamente, sendo esta taxa significativamente mais alta em GV. Entre as alterações celulares benignas, a inflamação foi a mais frequente nas quatro esferas, correspondendo a 72,3%, 74,9%, 58,4% e 35,6% dos exames no Brasil, Sudeste, MG e GV respectivamente, com taxa significativamente menor em GV. A microbiota mais frequente nas quatro esferas foi representada por lactobacilos, com taxa significativamente mais alta em GV (Tabela 1).

Apresentaram-se alterados, nas esferas nacional, regional, estadual e municipal, 2.390.373 (2,8%), 1.299.110 (3,3%), 237.490 (2,2%) e 8.846 (2,7%) exames, respectivamente. A taxa de exames alterados foi significativamente mais alta em GV quando comparada com a taxa encontrada em MG, entretanto, foi significativamente mais baixa quando comparada com dados nacionais e da região sudeste. As principais alterações nas quatro esferas foram:

Tabela 1 - Exames colpocitológicos realizados no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2014

<b>Exames insatisfatórios</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Dessecamento em mais de 75% do esfregaço	0,331 (1086)	0,456 (48772)*	0,349 (136824)	0,526 (453389)*
Material acelular / hipocelular	0,030 (100)	0,093 (9999)*	0,127 (49693)*	0,168 (144729)*
Sangue > 75% do esfregaço	0,026 (84)	0,062 (6666)*	0,078 (30724)*	0,122 (104984)*
Piócitos > 75% do esfregaço	0,011 (36)	0,050 (5351)*	0,104 (40601)*	0,168 (144883)*
Intensa superposição celular	0,002 (7)	0,016 (1674)*	0,032 (12610)*	0,044 (37897)*
<b>Alterações celulares benignas</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Inflamação	35,613 (116860)	58,419 (6247116)*	74,938 (29346378)*	72,303 (62313901)*
Atrofia com inflamação	6,627 (21747)	8,454 (904064)*	8,457 (3311712)*	7,964 (6863765)*
Metaplasia escamosa imatura	4,007 (13150)	4,812 (514599)*	5,914 (2316110)*	5,401 (4654492)*
Reparação	0,033 (75)	0,434 (46445)*	0,673 (263446)*	0,665 (572893)*
Radiação	0,006 (19)	0,047 (4982)*	0,067 (26218)*	0,071 (60826)*
<b>Microbiota</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Lactobacilos	59,363 (194792)	56,720 (6065465)*	48,272 (18903744)*	44,934 (38726359)*
Cocos	19,732 (64748)	19,071 (2039413)*	22,122 (8663008)*	28,629 (24673426)*
<i>Gardnerella</i> sp. / <i>Mobiluncus</i> sp.	14,131 (46370)	15,408 (1647638)*	14,013 (5487530)	14,952 (12886632)*
Outros bacilos	9,276 (30437)	18,416 (1969386)*	18,605 (7285939)*	24,342 (20978952)*
<i>Candida</i> sp.	X	4,656 (497948)	4,565 (1787707)	6,155 (5304545)
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0,879 (2883)	1,179 (126073)*	1,010 (395724)*	1,417 (1221649)*
Vírus do grupo Herpes	0,017 (56)	0,013 (1369)*	0,755 (295805)*	0,355 (305974)*
<i>Actinomyces</i> sp.	0,007 (23)	0,034 (3658)*	0,221 (86713)*	0,111 (95809)*
<i>Chlamydia</i> sp.	0,005 (16)	0,017 (1772)*	0,064 (25146)*	0,063 (54344)*
<b>Alterações celulares</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
ASC-US	46,586 (4121)	43,204 (102606)*	50,373 (654405)*	45,844 (1095854)
LSIL	32,715 (2894)	35,324 (83892)*	29,157 (378782)*	30,917 (739041)
ASC-H	5,664 (501)	6,123 (14541)*	6,214 (80727)*	6,832 (163304)*
HSIL	11,610 (1027)	9,584 (22762)*	7,787 (101159)*	9,513 (227393)*
HSIL MI	0,995 (88)	0,925 (2196)*	0,707 (9179)	0,907 (21692)
Carcinoma escamoso invasor	0,791 (70)	0,629 (1493)*	0,493 (6399)*	0,714 (17060)
AGC soe	0,882 (78)	3,356 (7970)*	4,676 (60743)*	4,329 (103481)*
AGC neo	0,362 (32)	1,372 (3259)*	0,980 (12738)*	1,127 (26950)*
Adenocarcinoma "in situ"	0,350 (31)	0,215 (511)*	0,133 (1725)*	0,173 (4131)*
Adenocarcinoma invasor	0,068 (6)	0,136 (324)	0,352 (4574)*	0,261 (6237)*
Atípias origem indefinida sem outra especificação	0,102 (9)	0,215 (510)	0,306 (3982)*	0,302 (7227)*
Atípias origem indefinida, possível neoplasia	0,000 (0)	0,199 (472)*	0,189 (2454)*	0,201 (4809)*

GV: Governador Valadares; MG: Minas Gerais; \*  $P \leq 0,05$  em relação a Governador Valadares; X: dado não disponível no Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero; ASC-US: Atípias em células escamosas de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas; LSIL: Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; ASC-H: Atípias em células escamosas de significado indeterminado não podendo excluir lesão intraepitelial escamosa de alto grau; HSIL: Lesão intraepitelial escamosa de alto grau; HSIL MI: Lesão intraepitelial de alto grau não podendo excluir microinvasão; AGC soe: Atípias em células glandulares de significado indeterminado sem outra especificação; AGC neo: Atípias em células glandulares de significado indeterminado, possível neoplasia.

atípias em células escamosas de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas (ASC-US), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) e lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL). O percentual de exames classificados como ASC (células escamosas atípicas), incluindo ASC-US e ASC-H (células escamosas atípicas de significado indeterminado, não se pode afastar lesão de alto grau) foi de 1,4%, 1,1%, 1,9% e 1,5% nas esferas municipal, estadual, regional e nacional, respectivamente, considerando os exames satisfatórios. Este percentual, em GV, foi significativamente mais alto quando comparado com o encontrado em MG e significativamente mais baixo quando comparado com a região sudeste e o Brasil. Já o percentual de ASC em relação

aos exames alterados foi de 52,2%, 49,3%, 56,6% e 52,7%, considerando as esferas anteriores, respectivamente, sendo este percentual significativamente mais alto em relação a MG e significativamente mais baixo em relação à região sudeste. A relação ASC/Lesão intraepitelial escamosa, incluindo as lesões intraepiteliais escamosas de baixo e alto grau, foi de 1,2; 1,1; 1,5 e 1,3, considerando GV, MG, região sudeste e Brasil, respectivamente. O percentual de exames compatíveis com Lesão intraepitelial de alto grau em relação ao total de exames satisfatórios foi de 0,31%, 0,21%, 0,26% e 0,27% em GV, MG, região sudeste e Brasil, respectivamente, sendo significativamente mais alto em GV em relação às demais esferas.

Foram encontrados 17.060 (0,7%), 6.399 (0,5%), 1.493 (0,6%) e 70 (0,8%) casos de carcinoma escamoso invasor, sem diferença significativa apenas entre GV e o total do país, e 6.237 (0,3%), 4.574 (0,3%), 324 (0,1%) e seis (0,07%) casos de adenocarcinoma invasor, sem diferença significativa apenas entre GV e MG, (nacional, região sudeste, estadual e municipal respectivamente), afetando principalmente mulheres acima de 64 anos nas esferas na-

cional, regional e estadual e entre 60 a 64 anos em GV (Tabelas 1 e 2). Quando incluídas as lesões pré-neoplásicas, o percentual de exames alterados foi maior na faixa etária de 12 a 14 anos na região sudeste, MG e GV e de 15 a 19 anos no Brasil (Tabela 2). Entretanto, no total, o número mais alto de exames foi realizado por mulheres na faixa etária de 30 a 34 anos em GV, MG e região sudeste e de 25 a 29 anos quando consideramos todo o país (Tabela 2).

Tabela 2 - Quantidade de exames realizados, total de exames alterados e de neoplasias malignas, por faixa etária, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2014

<b>Quantidade de exames realizados</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Até 11 anos	0,02 (73)	0,07 (7337)*	0,08 (32610)*	0,11 (94346)*
12 a 14 anos	0,19 (627)	0,22 (23319) *	0,34 (132102)*	0,38 (330522)*
15 a 19 anos	4,73 (15517)	4,97 (531524)*	5,82 (2278162)*	6,05 (5216192)*
20 a 24 anos	10,22 (33567)	10,11 (1080934)*	10,33 (4046153)*	11,13 (9591809)*
25 a 29 anos	12,43 (40789)	12,29 (1314040)*	11,83 (4632462)*	12,81 (11037591)*
30 a 34 anos	12,91 (42363)	12,55 (1342246)*	11,88 (4652961)*	12,59 (10849771)*
35 a 39 anos	12,27 (40269)	11,86 (1268826)*	11,15 (4364766)*	11,58 (9984179)*
40 a 44 anos	11,62 (38147)	11,69 (1250570)	10,40 (4073409)*	11,0 (9484863)*
45 a 49 anos	10,46 (34309)	10,86 (1161042)*	10,33 (4045687)*	9,95 (8577475)*
50 a 54 anos	8,63 (28319)	9,20 (984299)*	8,93 (3497906)*	8,26 (7139336)*
55 a 59 anos	6,67 (21891)	6,85 (729963)*	6,75 (2645078)	6,17 (5318218)*
60 a 64 anos	4,41 (14463)	4,38 (468132)	5,12 (2003696)*	4,46 (3840938)
Acima de 64 anos	5,43 (17805)	4,97 (531451)*	6,47 (2534989)*	5,47 (4718155)
<b>Total de exames alterados</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Até 11 anos	2,74 (2)	2,29 (168)	2,46 (802)	1,63 (1540)
12 a 14 anos	5,90 (37)	4,68 (1091)	5,75 (7602)	4,00 (13235)*
15 a 19 anos	4,82 (748)	4,37 (23235)*	5,72 (130398)*	4,31 (225031)*
20 a 24 anos	3,59 (1204)	3,23 (34927)*	4,47 (180984)*	3,43 (328746)*
25 a 29 anos	3,11 (1269)	2,66 (34943)*	3,82 (176830)*	3,04 (335659)
30 a 34 anos	3,02 (1278)	2,33 (31296)*	3,40 (158096)*	2,80 (303793)*
35 a 39 anos	2,66 (1070)	2,09 (26637)*	3,12 (136132)*	2,61 (260952)
40 a 44 anos	2,43 (926)	1,91 (23918)*	3,09 (125882)*	2,51 (238108)
45 a 49 anos	2,39 (820)	1,78 (20645)*	2,77 (102019)	2,41 (206989)
50 a 54 anos	1,78 (505)	1,51 (14832)*	2,36 (82615)*	2,13 (151861)*
55 a 59 anos	1,70 (373)	1,40 (10192)*	2,07 (54655)*	1,94 (103442)*
60 a 64 anos	1,58 (228)	1,38 (6419)*	2,64 (52903)*	2,32 (89255)*
Acima de 64 anos	2,17 (386)	1,73 (9187)*	3,16 (80190)*	2,79 (131755)*
<b>Total de neoplasias malignas</b>	<b>GV (%/n)</b>	<b>MG (%/n)</b>	<b>Sudeste (%/n)</b>	<b>Brasil (%/n)</b>
Até 11 anos	0,000 (0)	0,014 (1)	0,037 (12)	0,021 (20)
12 a 14 anos	0,000 (0)	0,004 (1)	0,014 (19)	0,007 (23)
15 a 19 anos	0,013 (2)	0,0009 (5)	0,015 (337)	0,008 (428)
20 a 24 anos	0,000 (0)	0,001 (16)	0,013 (509)*	0,007 (687)
25 a 29 anos	0,007 (3)	0,004 (51)	0,013 (595)*	0,009 (990)
30 a 34 anos	0,014 (6)	0,006 (83)	0,016 (729)	0,014 (1478)
35 a 39 anos	0,010 (4)	0,010 (131)	0,018 (794)	0,017 (1669)
40 a 44 anos	0,024 (9)	0,013 (158)	0,023 (929)	0,022 (2104)
45 a 49 anos	0,006 (2)	0,015 (171)	0,025 (1021)*	0,027 (2319)*
50 a 54 anos	0,039 (11)	0,021 (212)*	0,029 (1025)	0,034 (2429)
55 a 59 anos	0,028 (6)	0,028 (206)	0,039 (1028)	0,046 (2472)
60 a 64 anos	0,069 (10)	0,049 (231)	0,058 (1156)	0,065 (2507)
Acima de 64 anos	0,000 (0)	0,104 (551)*	0,111 (2819)*	0,131 (6171)*

GV: Governador Valadares; MG: Minas Gerais; \*  $p \leq 0,05$  em relação a Governador Valadares;

As taxas de incidência de câncer do colo do útero foram: 27,03; 28,02; 16,99 e 23,16 casos por 100 mil mulheres no país, região sudeste, MG e GV, respectivamente. O município de GV apresentou uma taxa significativamente mais alta apenas quando comparado com dados de MG.

Apesar de uma grande quantidade de mulheres ter realizado exame prévio há um período maior ou igual a qua-

tro anos, a maioria delas, nas quatro esferas, realizou exame prévio há um ano, inclusive aquelas com exames alterados, os quais tiveram um tempo de realização maior que sessenta dias em 8,4%, 6,9% e 2,1% dos casos (Brasil, Sudeste, Minas Gerais e Governador Valadares, respectivamente), sendo esta taxa significativamente menor em GV. (Tabela 3)

Tabela 3 - Exames colpositológicos com alterações, que tiveram tempo de realização maior que 60 dias, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2014

Alterações	GV (%/n)	MG (%/n)	Sudeste (%/n)	Brasil (%/n)
Exames alterados (total)	2,14 (189)	6,94 (16489)*	8,90 (115.658)*	8,36 (199783)*
Carcinoma escamoso invasor	4,28 (3)	5,83 (87)	6,20 (397)	5,71 (974)
HSIL	3,60 (37)	8,18 (1862)*	9,14 (9242)*	8,40 (19097)*
HSIL MI	2,27 (2)	8,20 (181)	9,17 (842)	8,25 (1790)
Adenocarcinoma invasor	0 (0)	8,33 (27)	3,10 (142)	4,26 (266)
Adenocarcinoma "in situ"	12,90 (4)	8,81 (45)	9,97 (172)	8,08 (334)

GV: Governador Valadares; MG: Minas Gerais; \*  $p \leq 0,05$  em relação a Governador Valadares;

## DISCUSSÃO

A adequabilidade da amostra está, em grande parte, relacionada ao desempenho dos profissionais em realizar a coleta. Portanto, é de suma importância identificar as principais causas relacionadas com as amostras insatisfatórias, a fim de corrigir as falhas evidenciadas e, conseqüentemente, aumentar o número de lâminas satisfatórias e a sensibilidade do exame.<sup>(7)</sup> Em nosso estudo, 1,1% (Brasil), 0,8% (Sudeste), 0,7% (MG) e 0,4% (GV) dos exames foram considerados insatisfatórios para avaliação oncótica e o dessecamento da amostra foi o principal motivo. Entretanto, estes números podem ser melhorados por meio do treinamento dos profissionais responsáveis pela coleta. Sabe-se que a preservação da qualidade das amostras está diretamente relacionada com a fixação adequada do esfregaço na lâmina. Esta deve ser realizada imediatamente após a coleta de forma a preservar as estruturas celulares e conservar os detalhes, evitando distorções, o aparecimento de artefatos e a perda da afinidade tintorial.<sup>(8)</sup> As amostras podem ser fixadas com o álcool absoluto, ou álcool a 96%, por um tempo mínimo de 15 minutos ou um fixador de cobertura, como Carbowax, que, ao secar, promove o aparecimento de um fino filme protetor. Vale ressaltar que cada passo para uma perfeita fixação minimiza quase que 90% das chances de dessecamento.<sup>(8)</sup> Em estudo realizado por Galvão et al.,<sup>(7)</sup> 0,92% dos resultados foram considerados insatisfatórios para avaliação oncótica, sendo a presença de material acelular ou hipocelular (em menos de 10% dos esfregaços) o principal motivo, seguido pelo dessecamento de mais de 75% dos esfregaços na lâmina. No trabalho de Amaral et al.,<sup>(9)</sup> 2,3% dos esfregaços mostra-

ram-se insatisfatórios para avaliação oncótica, sendo a maioria por dessecamento, seguido por piócitos em mais de 75% dos esfregaços. O número de exames insatisfatórios encontrados em GV foi menor que o encontrado nestes trabalhos e significativamente menor que aqueles encontrados nas esferas nacional, regional e estadual, o que sugere que o profissional coletor nesta cidade faz uma coleta adequada.

As alterações celulares benignas são caracterizadas pela presença de alterações celulares epiteliais, ocasionadas pela ação de agentes físicos, os quais podem ser radioativos, mecânicos ou térmicos; químicos, como medicamentos abrasivos ou cáusticos, quimioterápicos e acidez vaginal sobre o epitélio glandular, além dos agentes infecciosos.<sup>(8)</sup> Em nosso estudo, a inflamação foi a alteração celular benigna mais frequente nas quatro esferas, assim como observado no trabalho de Silva et al.,<sup>(10)</sup> onde a inflamação esteve presente em 86,3% dos esfregaços, sendo também a principal alteração celular benigna. Entretanto, as taxas de alterações celulares benignas reativas ou reparativas em GV foram significativamente menores, o que pode ser justificado por uma taxa de exames com resultados dentro da normalidade significativamente mais alta quando comparada com as demais esferas. Contudo, é importante que o laboratório monitore continuamente seus resultados, avaliando tanto o desempenho global quanto individual de seus profissionais. Se houver uma porcentagem alta ou baixa inexplicável de um resultado específico, a avaliação de desempenho e a inclusão do profissional em um programa de educação continuada são obrigatórias.<sup>(8)</sup>

A composição da microbiota do trato genital feminino não é estática, varia ciclicamente e de mulher para

mulher, em resposta a fatores intrínsecos, como ciclo menstrual, alterações hormonais, patologias e fatores extrínsecos, como uso de contraceptivos, antimicrobianos, atividade sexual ou traumatismo.<sup>(11)</sup> Em nosso estudo, a microbiota mais frequente nas quatro esferas foi representada por lactobacilos (bacilos de Döderlein), com taxa significativamente mais alta em GV (59,36%). Os lactobacilos são os micro-organismos mais comuns da microbiota do trato genital feminino na mulher em idade reprodutiva e são importantes para a manutenção do equilíbrio do ecossistema vaginal. Sua presença inibe a proliferação de outros micro-organismos patogênicos devido ao fato de produzirem ácido láctico a partir da degradação do glicogênio presente nas células intermediárias do epitélio escamoso, o que mantém o pH vaginal mais baixo e impede a ocorrência de diversas infecções. Entretanto, o aumento excessivo desta microbiota lactobacilar pode levar à citólise intensa de células epiteliais escamosas, processo denominado vaginose citolítica, o qual resulta em intensa lise celular com corrimento abundante, sem cheiro, e em esfregaço constituído predominantemente por núcleos desnudados, fragmentos de citoplasma e elevado número de lactobacilos, o que, por muitas vezes, torna o esfregaço insatisfatório para avaliação oncótica, sendo necessária nova coleta.<sup>(11,12)</sup> No trabalho de Neves et al.<sup>(12)</sup> foram analisados 11.732 exames citopatológicos do colo uterino e, na avaliação microbiológica, os lactobacilos foram os micro-organismos mais frequentes, sendo encontrados em 56,5% dos esfregaços. Já no trabalho de Silva et al.,<sup>(10)</sup> os micro-organismos mais frequentes no colo uterino foram os bacilos (52,8%), os cocos (45,5%) e os *Lactobacillus* sp. (32,6%). No trabalho de Sousa et al.,<sup>(13)</sup> após análise de 45.110 esfregaços, observou-se um predomínio de cocos (60,7%), lactobacilos (27,4%) e bacilos (6,5%), entre outros micro-organismos. Em nosso estudo, após os lactobacilos, os cocos foram os micro-organismos mais frequentes nos esfregaços, seguidos por *Gardnerella* sp./ *Mobiluncus* sp., os quais são os principais agentes da vaginose bacteriana, distúrbio do ecossistema vaginal de etiologia polimicrobiana, com predomínio de anaeróbios e que se apresenta clinicamente com corrimento bolhoso, banco-acinzentado, com odor de peixe.<sup>(14)</sup>

A vaginose bacteriana, a candidíase e a tricomoníase representam cerca de 90% das desordens de origem infecciosa do trato genital uterino e são consideradas fatores de risco para aquisição de outras infecções, entre elas, o vírus da imunodeficiência humana – HIV.<sup>(15)</sup> Em nosso estudo, não foi possível avaliar a taxa de esfregaços com *Candida* sp. em GV, pois o Siscolo não disponibilizou este dado, entretanto foi o quinto micro-organismo mais encontrado nas demais esferas. Já o protozoário *Trichomonas vaginalis* esteve presente em menos de 1% dos esfregaços em GV, número significativamente menor que o encontra-

do nas demais esferas. No trabalho de Barcelos et al.<sup>(16)</sup> foram encontradas taxas de 21,3%, 9,3% e 2,0% para vaginose bacteriana, *Candida* sp. e *Trichomonas vaginalis*, respectivamente.

O rastreamento do câncer do colo do útero baseia-se na história natural da doença e no reconhecimento de que ela evolui a partir de lesões precursoras, as quais podem ser detectadas e tratadas adequadamente, impedindo a progressão para o câncer.<sup>(8)</sup> Em nosso estudo, considerando apenas os exames satisfatórios, apresentaram-se alterados, nas esferas nacional, regional, estadual e municipal, 2.390.373 (2,8%), 1.299.110 (3,3%), 237.490 (2,2%) e 8.846 (2,7%) exames, respectivamente, sendo que, de acordo com o manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia,<sup>(8)</sup> valores abaixo de 2,0% são considerados muito baixos, de 2,0% e 2,9% são considerados baixos, de 3,0% a 10,0% são considerados dentro do esperado e acima de 10,0% são considerados acima do esperado. Em países onde o rastreamento foi bem-sucedido na diminuição das taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, como Estados Unidos e Reino Unido, o percentual de positividade foi de 6,8%<sup>(17)</sup> e 6,4%,<sup>(18)</sup> respectivamente. A baixa positividade pode indicar que amostras alteradas não estão sendo identificadas pelo laboratório, acarretando exames falso-negativos, sendo necessário avaliar e intensificar o monitoramento interno de qualidade.<sup>(8)</sup>

As principais alterações encontradas nas esferas nacional, regional, estadual e municipal foram, respectivamente: ASC-US, LSIL e HSIL, conforme a Tabela 1. No trabalho de Sousa et al.,<sup>(13)</sup> realizado em Teresina-PI, as principais alterações foram ASC-US (59,4%), LSIL (18,8%) e ASC-H (13,6%). Já no estudo de Araújo et al.,<sup>(19)</sup> realizado em Goiânia-GO, as principais alterações foram LSIL (33,6%), ASC-US (30,8%) e HSIL (19,6%).

O termo ASC (células escamosas atípicas) é empregado para indicar a presença de células escamosas com anormalidades que não preenchem os critérios habitualmente encontrados nos processos reativos, pré-neoplásicos ou neoplásicos e inclui ASC-US e ASC-H.<sup>(20)</sup> Em nosso estudo, 1,4%, 1,1%, 1,9% e 1,5% dos exames satisfatórios, realizados respectivamente nas esferas municipal, estadual, regional e nacional, foram classificados como ASC. Espera-se que, no máximo, 4% a 5% de todos os exames sejam classificados como ASC, pois percentuais elevados sugerem problemas na amostra, no escrutínio ou em ambos, muitas vezes apontando a necessidade de treinamento junto aos profissionais do laboratório.<sup>(8)</sup> Além disso, o aumento desse índice representa ônus para a mulher e para a rede assistencial, pois acarreta a necessidade de repetição do exame para melhor investigação diagnóstica ou o encaminhamento desnecessário à colposcopia das mulheres com resultado de ASC-H.<sup>(8)</sup> Com

relação ao percentual de ASC em relação aos exames alterados, recomenda-se que seja inferior a 60%.<sup>(8)</sup> Em nosso trabalho, as taxas encontradas foram de 52,3%, 49,3%, 56,6% e 52,7% em GV, MG, região sudeste e Brasil, respectivamente. A razão ASC/Lesão intraepitelial escamosa, incluindo lesões intraepiteliais escamosas de baixo e alto grau não deve ser superior a 3.<sup>(20)</sup> Em nosso estudo, encontramos 1,2; 1,1; 1,5 e 1,3, respectivamente, para as esferas municipal, estadual, regional e nacional. Laboratórios com razão ASC/Lesão intraepitelial escamosa muito alta necessitam determinar a causa desse resultado, sendo necessário rever critérios citológicos tanto de ASC quanto de SIL.<sup>(8)</sup>

As lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) representam as lesões verdadeiramente precursoras do câncer do colo do útero, ou seja, aquelas que apresentam, efetivamente, potencial para progressão, tornando sua detecção o objetivo primordial do exame preventivo do câncer do colo do útero.<sup>(8)</sup> Segundo o manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia, do Instituto Nacional do Câncer, em trabalhos realizados nos Estados Unidos, o percentual de HSIL foi de 0,5%, no Reino Unido foi de 1,2% e na Noruega de 1,1%.<sup>(8)</sup> Em nosso estudo foram encontrados percentuais de 0,31%, 0,21%, 0,26% e 0,27% em GV, MG, região sudeste e Brasil, respectivamente. Este indicador mede a capacidade de detecção de lesões precursoras. No Brasil, esse percentual encontra-se abaixo do encontrado em países onde o rastreamento foi bem-sucedido na diminuição das taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, e o Ministério da Saúde estabeleceu o valor  $\geq 0,4\%$  como sendo um valor de referência, visto que alguns laboratórios públicos considerados referência de qualidade para exames citopatológicos apresentaram percentuais de HSIL/total de exames satisfatórios, em 2013, entre 0,4% e 1,4%.<sup>(8)</sup>

Os diagnósticos citopatológicos de carcinoma escamoso invasor e adenocarcinoma invasor são infreqüentes, segundo as diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero,<sup>(4)</sup> ocorrendo em 0,5% e em menos de 0,3% dos exames alterados, respectivamente. Em nosso estudo foram encontrados 17.060 (0,7%), 6.399 (0,5%), 1.493 (0,6%) e 70 (0,8%) casos de carcinoma escamoso invasor e 6.237 (0,3%), 4.574 (0,3%), 324 (0,1%) e 6 (0,07%) casos de adenocarcinoma invasor nas esferas nacional, regional, estadual e municipal respectivamente, afetando principalmente mulheres acima de 64 anos nas três primeiras esferas e entre 60 a 64 anos em GV. No trabalho de Guarisi et al.,<sup>(21)</sup> as lesões malignas foram detectadas com maior freqüência nas faixas etárias de 35 a 49 anos e 50 anos ou mais. Quando incluídas as lesões pré-neoplásicas, o percentual de exames alterados foi maior na faixa etária de 12 a 14 anos na região sudeste, MG e GV, e de 15 a 19 anos no Brasil, o que pode ser explicado

pelo início da atividade sexual precoce e pelo uso de contraceptivos orais, aumentando a exposição ao risco de infecção por HPV. Além disso, um percentual menor de mulheres realiza o exame colpocitológico nestas faixas de idade mais jovens, uma vez que a recomendação do Ministério da Saúde é que os exames sejam realizados em mulheres assintomáticas na faixa etária de 25 a 64 anos, o que pode justificar um aumento nas taxas de lesões pré-malignas encontradas naquelas faixas etárias.<sup>(2)</sup> No trabalho de Guarisi et al.,<sup>(21)</sup> 69% dos diagnósticos de LSIL foram feitos em mulheres de até 35 anos de idade.

No Brasil, segundo a Estimativa de Incidência de Câncer publicada pelo INCA para o biênio 2018-2019,<sup>(22)</sup> a taxa de incidência de câncer do colo do útero é de 15,43/100 mil mulheres. Entretanto, estas taxas variam de acordo com as regiões do país, sendo de 25,62/100 mil na região norte, 20,47/100 mil no Nordeste, 18,32/100 mil no Centro-oeste, 14,07/100 mil no Sul e 9,97/100 mil no Sudeste. Em MG, a taxa foi de 8,37/100 mil mulheres.<sup>(2)</sup> Em nosso estudo, no período avaliado, as taxas foram de 27,03, 28,02, 16,99 e 23,16 casos por 100 mil mulheres no país, região sudeste, MG e GV, respectivamente. Pode-se observar que as taxas publicadas pelo INCA na estimativa para o biênio 2018-2019<sup>(22)</sup> mostraram redução na incidência de câncer quando comparadas com as taxas encontradas durante o período avaliado em nosso estudo, o que pode ser atribuído à implantação e implementação de programas de prevenção e controle efetivos.<sup>(2)</sup>

Segundo as diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero, o exame deve ser realizado anualmente em mulheres com idade entre 25 e 64 anos a partir do início da atividade sexual, entretanto, após dois resultados consecutivos negativos, o exame deve ser realizado a cada três anos.<sup>(4)</sup> Em nosso estudo, uma grande quantidade de mulheres realizou exame prévio em um período maior ou igual a quatro anos, entretanto, a maioria delas, nas quatro esferas, realizou exame prévio há um ano, inclusive aquelas com exames alterados. No trabalho de Andrade et al.,<sup>(23)</sup> em entrevista realizada com mulheres de 25 a 59 anos de Feira de Santana-BA, 71,2% referiram ter feito o último exame há um ano ou menos do período da entrevista.

O tempo de liberação do resultado é um importante componente de qualidade do exame citopatológico do colo do útero, sendo recomendado no máximo trinta dias para liberação, não havendo sentido de urgência para os resultados por se tratar de um exame de rastreamento.<sup>(8)</sup> Em nosso estudo, conforme mostra a Tabela 3, um percentual significativo dos exames alterados teve tempo de realização maior que sessenta dias, sendo que em GV esse percentual foi significativamente menor que nas demais esferas. A demora em qualquer parte da linha de cuidado leva a insatisfação à mulher, comprometendo o seguimen-

to e a qualidade das ações. O atraso na liberação de um resultado deve ser um imprevisto pontual e não um aborrecimento cotidiano e habitual.<sup>(8)</sup>

## CONCLUSÃO

Os exames realizados em Governador Valadares mostram algumas diferenças significativas em relação às outras esferas. Periodicamente, é importante treinar o profissional coletor a fim de diminuir as taxas de exames insatisfatórios para avaliação oncótica, principalmente no que diz respeito à fixação do material na lâmina, mesmo sendo observado que esse profissional trabalha de forma adequada, e implementar uma política de monitoramento interno da qualidade com o objetivo de aumentar a sensibilidade do exame, além de maiores investimentos na educação continuada do profissional que faz a leitura das lâminas. É preciso investir também em trabalhos que promovam a orientação às mulheres quanto às práticas de prevenção e controle do câncer do colo do útero e das infecções sexualmente transmissíveis, principalmente às mais jovens.

### Abstract

**Objective:** Cervical cancer is one of the leading causes of cancer death in women and can be prevented by the early detection of precursor lesions by cytological techniques. The objective of this study was to compare the results of colposcopic exams performed at national, regional and state level with those obtained at Governador Valadares (GV). **Methods:** Information was obtained on colposcopic exams performed in the four spheres, from January / 2006 to December / 2014, from the Cervical Cancer Information System - Siscolo. **Results:** The rate of altered exams was 2.8%, 3.3%, 2.2% and 2.7% [Brazil, Southeast, Minas Gerais (MG) and GV, respectively]. This rate was significantly higher in GV when compared to MG and significantly lower than that in the Southeast and Brazil. The main injuries in all spheres were: atypical squamous cells of undetermined significance, possibly non-neoplastic, low grade squamous intraepithelial lesion and high grade squamous intraepithelial lesion. The incidence rates of cervical cancer were: 27.03; 28.02; 16.99 and 23.16 cases per 100,000 inhabitants in the country, southeast region, MG and GV, respectively. GV showed a significantly higher rate only when compared with MG data. **Conclusion:** Concluding, the exams carried out in GV show some significant differences in relation to the other spheres. It is necessary to implement an internal quality monitoring policy to improve the quality of the exam, besides greater investment in the continuing education of the professional who does the scrutiny of the blades.

### Keywords

Cervix; vaginal smear; neoplasms

## REFERÊNCIAS

1. Azevedo AG, Cavalcante IB, Cavalcante JB, Rolim LADMM. Fatores que influenciam a não realização do exame de papanicolaou e o impacto de ações educativas. Rev Bras An Clin. 2016;48(3): 253-7.
2. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2018: Incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, 2017.
3. OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. Controle integral do câncer do colo do útero. Guia de práticas essenciais. Washington, DC: OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde), 2016. [Acesso em 05 nov 2018]. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/31403/9789275718797-por.pdf?sequence=1&isAllowed=y&ua=1>.
4. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. 2ª ed. rev. atual. Rio de Janeiro, 2016a.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Sistema de Informação do câncer do colo do útero e Sistema de Informação do câncer de mama. Acesso em 27 set 2018 - [www.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=060303](http://www.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=060303)
6. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [Acesso em 02 set 2019]. Disponível em: <https://www.cidades.ibge.gov.br>
7. Galvão EFB, Silva MJM, Esteves FAM, Peres AL. Frequência de amostras insatisfatórias dos exames preventivos do câncer de colo uterino na rede pública de saúde, em município do agreste pernambucano. Rev Para Med. 2015;29(2):51-6. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0101-5907&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=0101-5907&lng=pt&nrm=iso)
8. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação de Prevenção e Vigilância, Divisão de Detecção Precoce e Apoio a Organização de Rede. 2ª ed. rev., ampl. - Rio de Janeiro, 2016.
9. Amaral RG, Manrique EJC, Guimarães JV, Sousa PJ, Mignoli JRQ, Xavier AF, et al. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. [Internet]. 2008 Nov;30(11):556-560. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032008001100005>.
10. Silva DSM, Silva AMN, Brito LMO, Gomes SRL, Nascimento MDDB, Chein MBC. Rastreamento do câncer do colo do útero no Estado do Maranhão, Brasil. Ciênc. saúde coletiva. 2014;19(04):1163-70.
11. Soares R, Vieira-Baptista P, Tavares S. Cytolytic vaginosis: an underdiagnosed pathology that mimics vulvovaginal candidiasis. Acta Obstet Gynecol Port. 2017;11(2):106-12.
12. Neves JJ, Santos KMB, Machado EP. A presença de Lactobacillus em exames citopatológicos e sua correlação com citólise no papanicolaou. In: 15.º CONEX - Encontro Conversando Sobre Extensão na Universidade Estadual de Ponta Grossa - ISSN 2238-9113. 2017. [Acesso em 01 nov 2018]. Disponível em: [http://sites.uepg.br/conex/anais/anais\\_2017/assets/uploads/trabalhos/07182017\\_100739\\_596e0d7feb14.pdf](http://sites.uepg.br/conex/anais/anais_2017/assets/uploads/trabalhos/07182017_100739_596e0d7feb14.pdf).
13. Sousa ACO, Passos FFB, Costa GS, Oliveira FP, Rodrigues TS. Análise das alterações citopatológicas registradas no sistema de informação do câncer de colo do útero em Teresina. Centro Universitário Uninovafapi. Mestrado profissional em Saúde da Família. R Interd. 2017;10(4):21-30.
14. Ashley Jones MS, FNP-BC. Bacterial vaginosis: a review of treatment, recurrence and disparities. The Journal for Nurse Practitioners 2019;15:420-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2019.03.010>
15. Neto PADM, Burgos VO. Monitoramento microbiológico do epitélio cérvico-vaginal em atipias celulares. Rev Bras An Clin. 2016;48(4): 320-4.
16. Barcelos MRB, Vargas PRM, Baroni C, Miranda AE. Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. Rev Bras Ginecol Obstet. 2008; 30(7):349-54.
17. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, Mody DR. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. Arch Pathol Lab Med. 2004 Nov;128(11):1224-9.

18. Heath and Social Care Information Centre. Cervical Screening Program, England: Statistics for 2013-14 [Leeds], 2014. [Acesso em 21 set 2018]. Disponível em: <http://www.hscic.gov.uk/catalogue/PUB15968/cerv-scre-prog-eng-2013-14-rep.pdf>.
19. Araújo ES, Barbosa FM, Ázara CZS, Ferreira TXAM, Tavares SBN, Amaral RG. Avaliação do seguimento de mulheres com exames citopatológicos alterados de acordo com as condutas preconizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil em Goiânia, Goiás. *Rev Bras Canc.* 2014;60(1):7-13.
20. Solomon D, Nayar R. The Bethesda system for reporting cervical cytology definitions, criteria and explanatory notes. 3ª ed. Cham, Switzerland: Springer, 2015.
21. Guarisi R, Hardy E, Derchain SFM, Fonsechi-Carvasan GA, Borges JBR. Rastreamento, diagnóstico e tratamento de das lesões precursoras do câncer invasor do colo uterino no município de Franco da Rocha. *Rev Bras Cancerol.* 2004;50(1):7-15.
22. INCA. Instituto Nacional do Câncer: Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância - Rio de Janeiro: INCA, 2017. [Acesso em 03 set 2019]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil>
23. Andrade MS, Almeida MMG, Araújo TM, Santos KOB. Fatores associados à não adesão ao Papanicolau entre mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família em Feira de Santana, Bahia, 2010. *Epidemiol. Serv. Saúde* [Internet]. 2014 Mar;23(1):111-120.

---

Correspondência

**Luciana Maria Rocha de Almeida**  
*Universidade Federal de Juiz de Fora*  
*Campus Governador Valadares*  
*Rua Manoel Byrro, número 241, laboratório 809*  
*Bairro Vila Bretas*  
*35032-620 – Governador Valadares-MG, Brasil*

# Leishmaniose Tegumentar Americana: uma análise histopatológica e molecular em lesões de dermatites no estado de Pernambuco, Brasil

## American Cutaneous Leishmaniasis: a histopathological and molecular analysis of dermatitis lesions in the State of Pernambuco, Brazil

María Auzenir de Anastácio e Silva<sup>1</sup>

Cynthia Regina Pedrosa Soares<sup>2</sup>

Fábio Lopes de Melo<sup>3</sup>

Francisca Janaína Soares Rocha<sup>4</sup>

### Resumo

**Objetivo:** Realizar uma análise histopatológica e molecular em biópsia de pele entre as lesões de dermatites de pacientes com suspeita de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no hospital de referência do estado de Pernambuco entre o período de 2016 e 2017. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo observacional, no qual todos os pacientes com lesões clinicamente sugestivas para LTA incluídos no estudo foram submetidos à coleta de biópsia de pele das lesões, as quais foram analisadas pela técnica histopatológica e PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). **Resultados:** Foram analisadas 24 amostras de biópsia de pele de pacientes com suspeita clínica de LTA, por testes histopatológicos e confirmação pela PCR. As amostras foram caracterizadas pela busca do DNA de *Leishmania braziliensis* através da PCR. Das 24 amostras estudadas, em nenhuma foi encontrado DNA de *L. braziliensis*. Apenas em um caso foi detectada presença de amastigotas de *Leishmania* pela técnica histopatológica. Outros achados microscópicos observados foram: dermatite granulomatosa (33,33%), úlcera crônica (20,83%), carcinoma basocelular (16,66%), Leishmaniose, dermatite plasmocitária e inflamação granulomatosa (8,33%) e Hanseníase (4,16%). **Conclusão:** O diagnóstico histopatológico detectou um caso de LTA, porém, a PCR não encontrou DNA do parasito. A análise histopatológica mostrou que as lesões dermatotrópicas dos pacientes são oriundas principalmente de úlceras, tumores de pele e hanseníase.

### Palavras-chave

Leishmaniose cutânea; *Leishmania braziliensis*; PCR

## INTRODUÇÃO

Leishmanioses são zoonoses causadas pelo protozoário da família *Trypanosomatidae* do gênero *Leishmania*, o qual possui várias formas clínicas diferentes, dependentes da espécie. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença parasitária, crônica, infecciosa e não contagiosa,<sup>(1)</sup> negligenciada com risco mundial de aproximadamente 350 milhões de indivíduos e uma incidência de dois milhões de novos casos por ano no mundo.

No Brasil, a LTA encontra-se presente em todos os estados da federação, onde 34% dos municípios pernambucanos são endêmicos para a doença.<sup>(2)</sup> Nas Américas, a LTA é causada principalmente por *Leishmania (Viannia)*

*braziliensis*, e *L. (Leishmania) mexicana*.<sup>(3)</sup> A LTA apresenta-se em quatro continentes – Américas, Europa, Ásia e África, totalizando 88 países, com um registro anual de 1 milhão a 1,5 milhões de casos. A prevalência real da LTA nas Américas é difícil de ser mensurada, principalmente por ser uma doença subdiagnosticada, com a ocorrência de diagnósticos incorretos, afecção não aparente, variações de resposta do hospedeiro e multiplicação de agentes etiológicos envolvidos. A distribuição da LTA em todo o território brasileiro é resultado de diferentes condições ecológicas ou geográficas que favorecem de alguma forma a ocorrência dessa doença.<sup>(4)</sup>

No Brasil, a LTA é endêmica em todas as regiões e foram registrados no país, no período de 1998 a 2008,

<sup>1</sup>Farmacêutica, especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

<sup>2</sup>Bióloga. Msc em Medicina Tropical. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

<sup>3</sup>Biólogo, Doutor, Pesquisador em Saúde Pública pelo Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fiocruz Pernambuco – Recife-PE, Brasil.

<sup>4</sup>Farmacêutica, Doutora em Human Biology pela University of Erlangen-Nuremberg, Alemanha e Professora da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife-PE, Brasil.

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

Recebido em 12/09/2018

Artigo aprovado em 09/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900774

aproximadamente 282 mil casos.<sup>(5)</sup> No período de 1995 a 2014, verificou-se uma média anual de 25.763 casos novos registrados e coeficiente de detecção médio de 14,7 casos/100 mil habitantes.<sup>(6)</sup>

O diagnóstico da LTA, desde a Antiguidade, é um grande desafio para equipes de saúde, pois abrange aspectos epidemiológicos clínicos e laboratoriais, imunológicos e parasitológicos.<sup>(7)</sup> O diagnóstico da LTA é rotineiramente baseado em evidências clínicas, epidemiológicas, parasitológicas e imunológicas. No exame histopatológico direto deve-se realizar a aspiração ou escarificação da borda interna da úlcera, e, em forma de esfregaço, colocar a amostra sobre uma lâmina, fixando com metanol a 70% e logo em seguida corado com solução de Wright ou Giemsa leishman.<sup>(3)</sup>

O exame histopatológico direto pode ser confirmado por meio da presença de formas amastigotas no interior do citoplasma de macrófagos na derme e também pelo estudo imunohistoquímico ou por Reação de Polimerase em Cadeia (PCR). Nos exames indiretos pode ser confirmado através da reação sorológica de imunofluorescência indireta (RIFI), reação intradérmica de Montenegro e ensaio imunoenzimático (ELISA).<sup>(3)</sup> O método mais utilizado para fins de pesquisa para diagnosticar a LTA é o método molecular de PCR por apresentar alta sensibilidade e especificidade, porém, no diagnóstico de rotina, é menos utilizado pela equipe de saúde por ser dispendioso e necessitar de profissionais habilitados.<sup>(7)</sup>

Um estudo realizado por Vasconcelos et al,<sup>(8)</sup> no município de Vicência, em Pernambuco, evidenciou que o diagnóstico da LTA foi confirmado através do método clínico e epidemiológico, correspondendo a 207 casos (95,4%), e apenas dez casos (4,6%) foram confirmados com exames laboratoriais apropriados para diagnosticar a LTA. Verificou-se que 59,4% eram do sexo masculino e possuíam idade menor de 12 anos.<sup>(8)</sup>

Esse trabalho teve como objetivo a análise histopatológica e molecular em biópsia de pele entre as lesões de dermatites de pacientes com suspeita de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no hospital de referência do estado de Pernambuco entre o período de 2016 e 2017.

## MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo observacional, realizado no setor de dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco HC/UFPE, Brasil, com o objetivo de descrever as características histopatológicas e detecção molecular de LTA em biópsias de pele de pacientes de um hospital de referência de Pernambuco, Brasil. Pacientes com suspeita de LTA foram atendidos na Dermatologia HC/UFPE. Este estudo foi realizado no período de janeiro de 2016 a dezembro de

2017. Todos os pacientes incluídos no estudo eram adultos e aceitaram participar do estudo por meio da assinatura no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de forma voluntária. Os pacientes foram biopsiados e o diagnóstico histopatológico e molecular de LTA foi realizado.

As amostras de biópsia foram coletadas de 24 pacientes, e seus dados clínicos epidemiológicos foram coletados através de prontuários e amostras de biópsias de pele das lesões com suspeita de infecção por *Leishmania* registrados pelo setor de Dermatologia do HC/UFPE. As biópsias foram processadas e analisadas histopatologicamente no Laboratório do Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas da UFPE e molecularmente no Laboratório de Doenças Transmissíveis do Departamento de Parasitologia do IAM, Fiocruz.

### Coleta de Biópsia da pele

Todas as lesões cutâneas foram biopsiadas a partir da borda da lesão de cada paciente e armazenadas em tubos cheios de formalina hermeticamente fechados. As biópsias cutâneas foram retiradas por profissionais habilitados do setor de Dermatologia, com tamanho de 5 mm, através de *punch* e mantidas em blocos de parafina, onde uma parte foi cortada e corada por hematoxilina-eosina (HE) e Giemsa, e outra parte foi colocada em microtubos Eppendorf de 1,5 mL, acondicionadas em recipiente refrigerado e em seguida levadas ao IAM, Fiocruz, PE, ao Departamento de Parasitologia no Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) para análise molecular.<sup>(9)</sup>

### Teste histopatológico

Cortes histopatológicos dos pacientes foram parafinizados em blocos feitos na espessura de 5 µm, processados e corados pela coloração de hematoxilina-eosina.<sup>(9)</sup> A quantificação microscópica dos patógenos e a análise das características histopatológicas das doenças foi dada por meio da contagem de dez campos aleatórios no aumento de 40x e 100x,<sup>(9)</sup> com o objetivo de avaliar o grau histológico e a presença de grânulos metacromáticos.

Outros corantes também foram utilizados para identificar elementos teciduais específicos nos casos em que a suspeita de Leishmaniose foi descartada pelas provas histopatológica e molecular. Os corantes usados para corar os cortes das lesões dos pacientes quando descartada a possibilidade de Leishmaniose foram Ziel Nilsen (ZN), ácido periódico de Schiff (PAS), *Sirius red* (SR) e formalina.

### Teste molecular

Extração de DNA em material de biópsia parafinada. Amostras de biópsia de pele parafinada foram extraídas com kit de extração da Promega ReliaPrep™ Total Nucleic Acid Purification Kit, (Promega, Brasil), seguindo as recomendações do fabricante com algumas adaptações.

O material de biópsia de pele parafinado de cada paciente do hospital das clínicas foi submetido à extração de DNA seguindo os seguintes passos: as lâminas parafinadas com cortes de biópsia foram aquecidas em bloco de aquecimento para o derretimento da parafina, em seguida o material de biópsia foi removido cuidadosamente para um tubo Eppendorf no qual foram adicionados 200 µL de tampão de lise e 20 µL de proteinase K (*Cell Lysis Buffer - CLD*), agitando-se brevemente em um vórtex por dez segundos e, em seguida, incubados a 55°C por três horas. Após esse tempo foram adicionados 250 µL de Binding Buffer (BBA) e agitados no vórtex por dez segundos. O conteúdo do tubo foi transferido para uma coluna do kit RealiaPrep™ Binding Column e centrifugados por um minuto a 14.000 rpm. Removendo o sobrenadante do tubo de coleta e colocando a coluna em um novo tubo, adicionaram-se 500 µL de tampão de lavagem (Column Wash Solution - CWD) na coluna e centrifugaram-se por três minutos a 14.000 rpm, repetindo esse último passo três vezes. Em seguida, a coluna foi transferida para um tubo de Eppendorf 1,5 mL. Adicionaram-se 50 µL-100 µL de água purificada (Nuclease-free Water) na coluna e centrifugaram-se por um minuto a 14.000 rpm. Descartou-se o ReliaPrep™ Binding Column e guardou-se o eluído a -20°C ou -80°C até o processamento.

#### Amplificação de DNA - PCR

APCR foi realizada com o kit da Qiagen TopTaq Master Mix Kit de acordo com o fabricante. A amplificação do DNA da região espaçador interno transcrito 1 (ITS-1) foi realizada com os *primers* LITSR 5'-CTGGATCATTTCCGATG-3' e L5.8S 5'-TGATACCACTTATCGCCACTT-3'. As condições de ciclagem foram uma desnaturação inicial de 95°C por três minutos e desnaturação de 95°C por quarenta segundos; o anelamento foi de 53°C a 45 segundos, extensão 72°C de um minuto e a extensão final foi de 72°C por seis minutos. Um controle positivo foi usado com cepa de *Leishmania brasiliensis* e, para o controle negativo, foram usados apenas os reagentes da PCR e água, sem adição do DNA.

O produto da amplificação foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2% e visualizado em espectrofotômetro e digitalizado através do *software* L.PIX Locus Biothecology (Thermofisher - USA), usando-se um marcador de peso molecular de 100 bp (Invitrogen). Os dados dos pacientes foram armazenados e analisados no banco de dados de Excel versão 2010, com os respectivos resultados para a comparação dos resultados imunológico e molecular.

#### Comitê de Ética

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos (CEP/CCS/UFPE): CAAE número 51426415.0.0000.5208

## RESULTADOS

As lesões cutâneas de 24 pacientes com suspeita de LTA foram analisadas por métodos histopatológico e molecular. Dos pacientes estudados, 58,33% eram do sexo masculino e 41,66% do sexo feminino. A faixa etária predominante foi de 33 a 78 anos, com média de 50,2 anos.

Do total de amostras de pacientes com suspeita clínica para Leishmaniose, uma foi positiva pelo método histopatológico, evidenciando dermatite granulomatosa sem necrose com infiltrado inflamatório na derme profunda e fibrose cicatricial de úlcera crônica ativa (Figura 1). Porém, nenhuma das amostras estudadas apresentou o DNA *Leishmania brasiliensis* pela técnica de PCR. Todas as amostras tiveram resultados negativos (Figura 2). Os dados obtidos na análise molecular foram correlacionados com o laudo histopatológico realizado nos referidos pacientes.

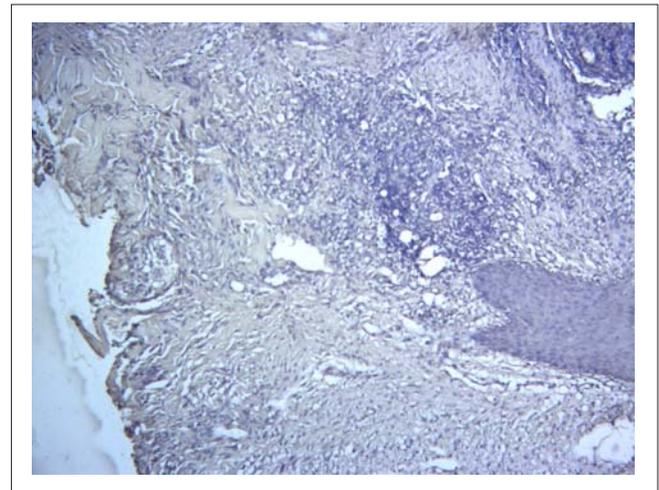


Figura 1. Úlcera crônica ativa.

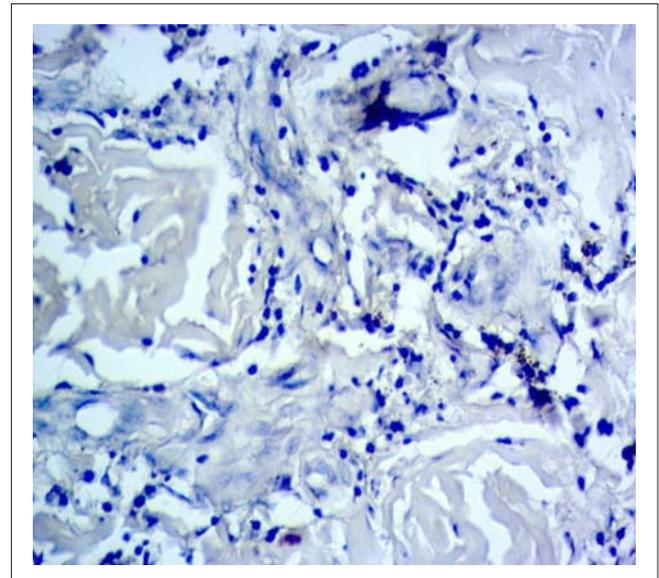


Figura 2. Amostra com resultado negativo.

As características histopatológicas predominantes observadas nas lesões de LTA causadas por *L. (V.) braziliensis* foram; intensa reação inflamatória na derme com combinação de padrões de apresentação linfo-histiocitária, linfoplasmocitária e granulomatosa e presença de úlceras, acantose, excitose e espongiose na epiderme (Tabela 1).

Alguns métodos de coloração não conseguiram evidenciar componentes teciduais pela técnica histológica usada no estudo.

Os cortes das lesões foram caracterizados microscopicamente com base nas alterações histológicas encontradas na epiderme e na derme. Foram avaliadas a intensidade e a distribuição das reações inflamatórias na derme,

Tabela 1 - Resultados da análise histopatológica e molecular dos pacientes estudados do HC-PE em 2016 e 2017 (Parte 1)

Nº ID	Data da coleta	Sexo	Idade	Região biopsiada	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico	Teste realizados	ITS-1 PCR
1	09/03/2016	M	40	Face	Cbc ulcerado   úlcera traumática   Leishmaniose tegumentar   Leishmaniose   paracoco   cec nasal	Carcinoma basocelular nodular ulcerado. Margens cirúrgicas livres	Formalina	Negativo
2	09/03/2016	M	38	Septo nasal	Leishmaniose   paracoco   cec nasal	Dermatite granulomatosa com plasmócitos. Recomenda-se correlacionar com outros métodos de pesquisas microbiológicas	HE/SR	Negativo
3	06/05/2016	M	39	M. Lateral esquerdo	Pioderma gangrenoso   Leishmaniose tegumentar   Insuficiência vascular   cmu	Úlcera crônica ativa associada a proliferação de tecido de granulação. O quadro sugere lesão de origem vascular	HE	Negativo
4	12/07/201	M	-	Pele	Leishmaniose tegumentar	Leishmaniose cutânea	GIEMSA/HE/SR	Negativo
5	19/07/2016	M	78	Antebraço direito	Cbc ulcerado   cec   Pioderma gangrenoso   Leishmaniose   tb cutânea	Úlcera crônica com sinais de hemorragia antiga. Aus. de neoplasia no material enviado. Amostra com artefatos limitam avaliação. Recomenda-se nova biópsia	GIEMSA/HE	Negativo
6	27/07/2016	F	38	Coxa direita	Leishmaniose cutânea   Sífilis terciária   sk	Dermatite plasmocitária superficial e profunda associada a dano vascular. Favorece sífilis	GIEMSA/HE/SR	Negativo
7	08/08/2016	F	41	Mid	Vasculite leucocitoclástica   cmu	Úlcera crônica sem sinais de especificidade	GIEMSA/HE	Negativo
8	20/09/2016	M	70	Tórax ant.	Leishmaniose tegumentar   cec   cbc ulcerado	Carcinoma basocelular com componente esclerodermiforme, acomete até o subcutâneo		Negativo
9	30/09/2016	M	42	Antebraço direito	Leishmaniose   esporotricose	Inflamação granulomatosa supurativa associada a hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Favorece a infecção fúngica (micose profunda c/ pas - negativo)	PAS (-)	Negativo
10	24/10/2016	F	36	Perna direita	Esporotricose   Leishmaniose   micobacteriose atípica   tb cutânea	Úlcera crônica ativa necrosante. O processo se estende até o tec. celular subcutâneo, ausência de processo granulomatoso baar negativo	ZN(-)/PAS/HE/SR	Negativo
11	26/10/2016	F	90	Dorso	Cbc ulcerado   cec   Pioderma gangrenoso   Úlcera	Carcinoma basocelular	HE/SR	Negativo
12	07/11/2016	M	71	Dorso superior	Cec   Úlcera	Carcinoma basocelular ulcerado. Margem profunda e uma das laterais comprometidas	HE/SR	Negativo
13	07/11/2016	M	81	Antebraço direito	Leishmaniose   esporotricose	Dermatite granulomatosa ulcerada com estruturas intracelulares com características de <i>leishmania</i> sp.	HE/PAS/SR	Negativo
14	03/05/2017	F	50	Coxa direita	Leishmaniose cutânea mucosa	Dermatite granulomatosa supurativa com hiperplasia pseudoepiteliomatosa		Negativo

Nº ID - Identificação dos pacientes. HE - hematoxilina-Eosina. PAS - Ácido Periódico de Schiff. ZN - ziehl neelsen e SR- Sirius red.

Tabela 1 - Resultados da análise histopatológica e molecular dos pacientes estudados do HC-PE em 2016 e 2017 (Parte 2)

Nº ID	Data da coleta	Sexo	Idade	Região biopsiada	Diagnóstico clínico	Diagnóstico histopatológico	Teste realizados	ITS-1 PCR
15	26/06/2017	M	48	Braço e.	Cromomicose   esporotricose   Leishmaniose   tb verrucosa	Inflamação granulomatosa purpurativa assoc. a pseudoepiteliomatosa, vistos mo no pas	PAS	Negativo
16	23/08/2017	M	55	Perna e.	Leishmaniose tegumentar	Úlcera inespecífica sobre fibrose cicatricial		Negativo
17	25/08/2017	F	55	Antebraço direito	Esporotricose   Leishmaniose	Dermatite granulomatosa supurativa. O quadro favorece infecção fúngica. pesquisa p/ mo pela coloração de pas negativa	PAS	Negativo
18	15/09/2017	F	46	Braço e.	Esporotricose   Leishmaniose   tb cutânea   micobacteriose at.	Dermatite granulomatosa supurativa. O quadro favorece infecção fúngica. Pesquisa de mo pela coloração de pas negativo	PAS(-)	Negativo
19	15/09/2017	M	35	Perna e.	Esporotricose   Leishmaniose   ectina gangrenoso	Dermatite granulomatosa. Pesquisa de mo pelas colorações de ZN e pas foram negativas	ZN(-)/ PAS(-)	Negativo
20	22/09/2017	F	43	3º QDD E	Esporotricose   Leishmaniose	Dermatite granulomatosa supurativa. O quadro favorece infecção fúngica. Pesquisa de mo pela coloração de pas negativo	PAS(-)	Negativo
21	20/10/2017	F	44	Antebraço direito	Esporotricose   leishmaniose	Dermatite granulomatosa supurativa. O quadro pode corresponder a infecção fúngica		Negativo
22	20/10/2017	F	33	Dorso mão direita	Esporotricose   Leishmaniose	Dermatite granulomatosa supurativa. O quadro pode corresponder a infecção fúngica		Negativo
23	27/10/2017	M	-	Perna E.	Leishmaniose   esporotricose	Hanseníase multibacilar em reação tipo II. ZN mostra inúmeros bacilos	ZN	Negativo
24	15/12/2017	M	33	Perna E.	Leishmaniose	Dermatite granulomatosa ulcerada. O quadro pode estar associado ao da Leishmaniose. Não foram vistos microrganismos recomenda-se relacionar com outros métodos	HE/SR	Negativo

Nº ID - Identificação dos pacientes. HE - hematoxilina-Eosina. PAS - Ácido Periódico de Schiff. ZN - ziehl neelsen e SR- Sirius red.

a presença de diferentes tipos celulares presentes no infiltrado, a formação de granuloma e a carga parasitária, entre outros aspectos morfológicos.

Foram evidenciados nos testes histopatológicos os seguintes achados: Dermatite granulomatosa 33,33%, úlcera crônica 20,83%, carcinoma basocelular 16,66%, Leishmaniose, Dermatite plasmocitária e Inflamação granulomatosa, 8,33% e Hanseníase 4,16%.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, dos 24 participantes com hipótese diagnóstica de LTA, 58,3% eram do sexo masculino e 41,6% do sexo feminino, corroborando com um estudo que teve predominância do sexo masculino.<sup>(5)</sup> A predominância do gênero masculino pode estar relacionada com atividades em locais de risco, como agricultura, pecuária, acampamentos e garimpo,<sup>(5-10)</sup> enquanto que as mulheres estão, em geral, menos expostas a regiões agríco-

las e, na maior parte das vezes, ocupando ambientes domiciliares.<sup>(11)</sup>

A LTA no Brasil vem causando uma incidência significativa, especialmente nas áreas rurais. Isso ocorre por vários fatores como moradias próximas às bordas de florestas, ou até mesmo no seu interior. A sua gravidade aumenta devido muitas vezes à incapacidade diagnóstica, à falta de capacitação dos profissionais de saúde e ao acesso ao cuidado nas áreas rurais.<sup>(10)</sup>

Nesta pesquisa, constatou-se que a predominância da faixa etária estudada foi entre 33 a 78 anos, com mediana de idade de 76 anos, e a média de idade foi de 50,2 anos. Esses resultados diferem de outras pesquisas, nas quais foi verificada uma predominância entre as idades de 24 a 39 anos pelo pesquisador Rocha et al.,<sup>(10)</sup> e de 20 a 59 anos por Batista et al.<sup>(11)</sup>

Em relação à PCR realizada em lesões de 24 pacientes com suspeita diagnóstica de LTA, evidenciou-se que 24 amostras tiveram seus resultados negativos para LTA,

e com o método histopatológico apenas uma amostra teve resultado positivo, assemelhando-se com o estudo de Tirelli et al.,<sup>(12)</sup> no Hospital Universitário, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), onde 437 pacientes atendidos entre 1980 e 2013 com suspeita de LTA participaram da pesquisa. Oitenta e seis (19,7%) casos com hipótese clínica inicial de LTA apresentaram um diagnóstico final diferente, revelando lesões cutâneas e mucosas. Foram solicitadas amostras de 58 (67,4%) casos para serem analisadas através do PCR, mas todas as amostras solicitadas foram negativas, não se identificando *Leishmania* nesses pacientes.<sup>(12)</sup>

Essa controversa entre hipótese diagnóstica e o diagnóstico final de LTA deve-se ao fato de que se trata de uma doença que apresenta lesões na pele e mucosa, podendo ser confundida com vários diagnósticos de doenças, apresentando sinais e sintomas semelhantes, especialmente doenças infecciosas e granulomatosas inflamatórias, bem como cânceres de pele não melanomas.<sup>(12)</sup>

Foram evidenciados nos testes histopatológicos Dermatite granulomatosa 33,33%, úlcera crônica 20,83%, carcinoma basocelular 16,66%, Leishmaniose, Dermatite plasmocitária e Inflamação granulomatosa 8,33% e Hanseníase 4,16%. Algumas dessas evidências estão presentes no estudo realizado por Tirelli e Roselino,<sup>(13)</sup> o qual evidenciou processos inflamatórios inespecíficos nasais (27%), etiologia neoplásica com 20% e, principalmente, carcinoma basocelular e espinocelular. Etiologia variada com 15%, incluindo úlceras.<sup>(12)</sup> Outro estudo realizado por Morgado et al.<sup>(13)</sup> evidenciou que a Hanseníase pode apresentar lesões mucosas nos pacientes com a forma clínica multibacilar da doença.<sup>(13)</sup>

Acredita-se que os números de casos notificados não traduzam a realidade de ocorrências de LTA, pois muitos pacientes demoram a procurar o sistema de saúde, sendo difícil o diagnóstico por parte do próprio sistema. Mesmo com essas falhas é evidente o aumento de casos novos e a sua intensidade ao acometer o homem.<sup>(4)</sup>

## CONCLUSÃO

Leishmaniose Tegumentar Americana é uma doença que acomete o tecido do indivíduo. Diante disso, ela pode ser facilmente confundida com outras lesões de pele, especialmente doenças granulomatosas, inflamatórias e infecciosas, bem como tumores de pele. Portanto, vale salientar a importância de se diagnosticar criteriosamente cada lesão de pele, principalmente em áreas de risco para LTA, como no Nordeste do Brasil.

Apenas um caso foi positivo pelo diagnóstico histopatológico para LTA. Porém, a PCR não detectou DNA do parasito. Esse resultado divergente pode ter ocorrido devido à reação cruzada pelo método histopatológico. No

entanto, a PCR é capaz de confirmar o diagnóstico de Leishmaniose Tegumentar com alto grau de sensibilidade e especificidade nos casos em que a histopatologia é compatível com o diagnóstico de Leishmaniose cutânea, não devendo ser excluído o exame histopatológico para o desfecho do diagnóstico.

## Agradecimentos

Agradeço acima de tudo a Deus, à equipe do setor de Dermatologia do Hospital das Clínicas (HC-UFPE), ao Departamento de Parasitologia do IAM e a todos que contribuíram para a realização deste projeto.

## Abstract

**Objective:** Accomplish a histopathological and molecular analysis in skin biopsy between the dermatitis lesions of patients with suspected American Cutaneous Leishmaniasis (ATL) at the Hospital of Reference of the State of Pernambuco between the period of 2016 and 2017. **Methods:** This is a descriptive, observational study in which all patients with clinically suggestive lesions for ATL included in the study were submitted to skin biopsy of the lesions and analyzed by the histopathological technique and PCR (Polymerase Chain Reaction). **Results:** Were analyzed 24 skin biopsy samples from patients with clinical suspicion of ATL, by histopathological tests and confirmation by PCR. Samples were characterized by the search of *Leishmania braziliensis* DNA through PCR. Of the 24 samples studied, no DNA of *L. braziliensis* was found. Only in one case was detected presence of *Leishmania* amastigotes by histopathological technique. Other microscopic findings were granulomatous dermatitis (33.33%), chronic ulcer (20.83%), basal cell carcinoma (16.66%), *Leishmaniasis*, *plasmacytoma dermatitis* and *granulomatous inflammation* (8.33%) and *leprosy*, 16%. **Conclusion:** The histopathological diagnosis detected a case of ATL, however, the PCR did not find DNA of the parasite. The histopathological analysis showed that the dermatotropic lesions of the patients come mainly from ulcers, skin tumors and leprosy.

## Keywords

Leishmaniasis Cutaneous; *Leishmania braziliensis*; PCR

## REFERÊNCIAS

1. Furusawa GP, Magno E, Borges F. História da Medicina - colaboração para o conhecimento do histórico da leishmaniose tegumentar americana no Brasil: possíveis casos entre escravos na Vila de Vassouras-RJ, nos anos 1820 a 1880. *Rev Patol Trop*, v. 43, n. 1, p. 7-25, 2014.
2. Araújo ARD. Fatores de risco associados à leishmaniose tegumentar americana em área endêmica do estado de Pernambuco, 2014. Dissertação de Mestrado. [acesso em 19 de jun 2018] Disponível em <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/11467>.
3. De Dominicis CN, Ferreira FR, de Oliveira Rabay FM, Mandelbaum SH. Leishmaniose Tegumentar Americana: Uma Doença Polimorfa. *Rev. Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia*, 2018;76(2):177-180. Acessível em: <https://revista.spdv.com.pt/index.php/spdv/article/view/838>.
4. Negrão GN, Ferreira MEMC. Considerações sobre a leishmaniose tegumentar americana e sua expansão no território brasileiro. *Rev. Percurso*, 2014;6(1):147-168.
5. Leatte EP, Braga LDS, Rocha TN, Ciupa L, Skraba CM, Silveira TGV, Silva RCR. Aspectos epidemiológicos e laboratoriais da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do sul do Brasil. *Revista Uningá Review*, 2014;19(1). Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1529>.

6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Ministério da Saúde, 2017.
7. Garbin CAS, de Melo Belila N, Precinoti IB, Miyada S, Garbin AJ, Martins RJ. Abordagem multiprofissional no diagnóstico de leishmaniose: um relato de caso. *Archives of Health Investigation*. 2017;6(8):359-362. DOI: <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v6i8.2090>.
8. Vasconcelos PP, Rocha FJS, De Araújo NJ. 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*, 2017; 38 (1):105-114. DOI: 10.5433/1679-0367.2017v38n1p105.
9. Gontijo B, Carvalho MLR. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2003 Jan;36(1):71-80. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822003000100011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822003000100011&lng=en&nrm=iso).
10. Rocha TJM, Barbosa ACA, Santana EPC, Calheiros CML. Aspectos epidemiológicos de casos humanos confirmados de leishmanioses tegumentares americanas em el Estado de Alagoas, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* v.6 n.4 Ananindeua dez. 2015 [Internet]. 2015 Dez [citado 2018 Jun 20];6(4):49-54. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2176-62232015000400007&lng=pt](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232015000400007&lng=pt).
11. Batista FMA, Machado FFOA, Silva JMO, Mittmann J, Barja PR, Simioni AR. Leishmaniose: perfil epidemiológico dos casos notificados no estado do Piauí entre 2007 e 2011. *Revista Univap*. 2014;20(35):44-55. DOI: <http://dx.doi.org/10.18066/revunivap.v20i35.180>.
12. Tirelli F, Vernal S, Roselino AM. Final diagnosis of 86 cases included in differential diagnosis of American tegumentary leishmaniasis in a Brazilian sample: a retrospective cross-sectional study. *An. Bras. Dermatol.* [online], 2017;92(5):642-648. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20175794>.
13. Morgado de Abreu MA, Roselino AM, Enokihara M, Nonogaki S, Prestes-Carneiro LE, Weckx LL, et al. *Mycobacterium leprae* is identified in the oral mucosa from paucibacillary and multibacillary leprosy patients. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Jan;20(1):59-64. doi: 10.1111/1469-0691.12190.

Correspondência

**Maria Auzenir de Anastácio e Silva**  
Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária  
50670-901 – Recife-PE, Brasil

# Prevalência de bactérias Gram-positivas em infecção do trato urinário

## Prevalence of Gram-positive bacteria in urinary tract infection

Barbara Gomes de Castro<sup>1</sup>

Lourrany Sousa Pinto<sup>1</sup>

Renata Carneiro Ferreira Souto<sup>2</sup>

### Resumo

**Objetivo:** Identificar a prevalência de bactérias patogênicas Gram-positivas causadoras de ITU, analisando a faixa etária e o gênero mais acometido. **Métodos:** Este estudo analisou 24.529 prontuários de pacientes ambulatoriais, realizado no Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica do Goiás (LC/PUC Goiás), no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2017. Foram incluídos neste estudo pacientes de ambos os gêneros e de todas as idades. Os dados foram coletados a partir do livro de registros de amostras específicas para a seção de microbiologia e selecionados os resultados de cultura positivos para bactérias Gram-positivas. **Resultados:** Das 24.529 uroculturas analisadas, 21,2% (804) apresentaram diagnóstico positivo para ITU por bactérias Gram-positivas. Dentre estas, 85,0% eram do gênero feminino, sendo que os estafilococos coagulase negativa foram os agentes patogênicos de maior prevalência (57,8%). **Conclusão:** A infecção do trato urinário foi mais frequente em mulheres na faixa etária de 19 a 40 anos, apresentando os estafilococos coagulase negativa os principais uropatógenos associados à infecção, seguidos do *Staphylococcus aureus*. A identificação de bactérias Gram-positivas tem se mostrado de extrema importância, principalmente para o tratamento correto dos pacientes.

### Palavras-chave

Sistema urinário; *Staphylococcus*; Infecções bacterianas

## INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) constitui umas das patologias bacterianas mais frequentes, ficando atrás somente daquelas que acometem o trato respiratório.<sup>(1)</sup> A ITU é responsável por 80% das consultas na clínica médica, sendo conceituada como a invasão e multiplicação de micro-organismos no tecido de qualquer estrutura do trato urinário, desde a uretra até os rins.<sup>(2)</sup> Quando não diagnosticada e tratada corretamente, na maioria das vezes o patógeno pode ascender da uretra para a bexiga, pelve renal, ureteres, rins ou até mesmo acometer a próstata e epidídimo.<sup>(3)</sup>

Por via ascendente, a infecção é particularmente importante para o gênero feminino, sendo os sítios mais comuns de acometimento a uretra e a bexiga. Isto ocorre principalmente por fatores anatômicos, como a menor extensão da uretra e maior proximidade entre vagina e ânus. Já por via hematogênica, esta se mostra mais associada à infecção renal ocasionada principalmente, pela presença de cocos Gram-positivos.<sup>(4)</sup>

A incidência de ITU é maior em meninas em idade pré-escolar e em mulheres sexualmente ativas, nas quais esse índice se eleva principalmente durante a gestação, pois há um comprometimento imunológico favorecendo a infecção.<sup>(4)</sup> Já em relação ao gênero masculino pode ocorrer uma frequência em torno de 75% durante o primeiro ano de vida.<sup>(5)</sup> Em idoso do sexo masculino ocorre cerca de 10% de incidência de ITU, devido a algumas condições predisponentes como uropatias obstrutivas da próstata.<sup>(6)</sup>

A maioria das ITU é ocasionada pela colonização de bacilos Gram-negativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, principalmente por *Escherichia coli*, que pertence à microbiota do intestino grosso e prepúcio. Por essa razão, as bactérias se deslocam e colonizam primeiramente a genitália externa e região periureteral.<sup>(7)</sup> *E. coli* é o principal micro-organismo associado à ITU, sendo responsável por cerca de 70% a 80% dos casos assintomáticos e sintomáticos. Além desse agente, outras bactérias podem estar associadas à ITU, como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter*

<sup>1</sup>Acadêmica de Biomedicina. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) – Goiânia-GO, Brasil.

<sup>2</sup>Doutora. Professora Horista Assistente I. Universidade Federal de Goiás (UFG) – Goiânia-GO, Brasil.

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

Recebido em 14/11/2018

Artigo aprovado em 09/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900791

sp., *Proteus* sp., *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus aureus*, sendo que estes também apresentam significância relevante para esta patologia.<sup>(8)</sup>

Dentre as bactérias Gram-positivas, aquelas da família *Micrococcaceae*, principalmente os cocos, são patógenos isolados com maior frequência em amostras biológicas humanas. As infecções causadas por este grupo bacteriano podem ocorrer a partir de multiplicação local ou sistêmica, sendo que alguns micro-organismos apresentam multiplicação em sítio localizado, exercendo ações patogênicas por produção de exotoxinas e enzimas.<sup>(6)</sup> O principal gênero pertencente a esta família, o *Staphylococcus*, é constituído por 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Segundo a capacidade de produção da enzima coagulase, estes são classificados em dois grupos: coagulase positiva, cujo agente de grande importância é o *S. aureus*, e o grupo dos não produtores, como o *S. saprophyticus*, o *S. epidermidis*, o *S. haemolyticus* e o *S. lugdunensis*, denominados estafilococos coagulase negativa.<sup>(7)</sup>

Estas bactérias pertencentes à família citada não apresentavam características patogênicas até pouco tempo atrás. No entanto, ao longo dos anos, tem se observado uma maior incidência destes micro-organismos como importantes agentes patogênicos associados a doenças adquiridas em comunidades ou mesmo em ambientes nosocomiais, principalmente em infecções do trato urinário, osteomielite, endocardite e bacteremia.<sup>(6)</sup>

Já o gênero *Streptococcus*, pertencente à família *Streptococcaceae*, são cocos Gram-positivos, dispostos em cadeia, anaeróbios facultativos, produtores de ácido láctico e oxidase negativa. Como método auxiliar de identificação pode ser empregada a prova da catalase, sendo este um não produtor da enzima. A ausência da produção de catalase é uma importante forma de diferenciar este gênero do *Staphylococcus* já que o mesmo se mostra catalase positivo.<sup>(6)</sup>

Um dos principais representantes dos estreptococos, o *S. agalactiae*, é um agente considerado beta-hemolítico que apresenta como característica a colonização do reto e da vagina.<sup>(9)</sup> Este micro-organismo pode estar associado, em gestantes que apresentem a colonização por ele, à ocorrência de parto prematuro ou mesmo óbito, por liberar prostaglandinas, que antecipam o nascimento.<sup>(6)</sup> Sua incidência é observada também em idosos e indivíduos imunocomprometidos associada a alguma irregularidade no trato urinário.<sup>(9)</sup> Sua forma assintomática tem demonstrado o índice de 5% a 35% em mulheres grávidas, chegando até a 70% em indivíduos que apresentam ser um portador intermitente.<sup>(6)</sup>

Além destes agentes Gram-positivos, ainda se destacam os *Enterococcus*, que são cocos que tendem a se desenvolver aos pares ou em cadeias curtas, sendo

anaeróbios facultativos, porém, podem tolerar uma diversidade de condições ambientais por apresentarem a característica de crescer em temperatura de 10°C a 45°C, de se desenvolver em cloreto de sódio a 6,5% e em pH 9,6, além da capacidade de hidrolisar sais biliares de 40%. A maioria das espécies é responsável por infecções complicadas, pois frequentemente estes agentes patogênicos são encontrados em tecidos moles e feridas. De modo geral, têm a capacidade de, a partir da corrente sanguínea, se disseminar atingindo os tratos geniturinário, gastrointestinal ou respiratório.<sup>(6)</sup>

Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo principal analisar a prevalência de infecções do trato urinário e os principais patógenos Gram-positivos associados a esta patologia, tendo sido isolados e identificados a partir de amostras dos pacientes ambulatoriais do Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no período de 2011 a 2017.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este foi um estudo descritivo retrospectivo, realizado a partir da análise dos dados de 24.529 prontuários de pacientes ambulatoriais para a pesquisa de ITU, tendo sido realizado no Laboratório Clínico da Pontifícia Universidade Católica do Goiás (LC/PUC Goiás), no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2017. Os dados foram coletados a partir do livro de registros de amostras específicas para a seção de microbiologia. Foram incluídos neste estudo pacientes de ambos os gêneros, sem delimitação de idade, que apresentaram positividade para infecção do trato urinário associada à presença de micro-organismos identificados como Gram-positivos. Já os prontuários incompletos foram excluídos da pesquisa. Os critérios adotados como positividade para ITU nas amostras analisadas foram: crescimento de colônias de um mesmo tipo, com contagem bacteriana maior que 10<sup>5</sup> UFC/mL de urina e crescimento satisfatório em ágar manitol em temperatura de 37°C, por período de 18 a 24 horas.

As amostras utilizadas foram de primeira urina da manhã, segundo jato, coletadas pelos pacientes e armazenadas em frasco estéril. O material foi encaminhado ao setor de microbiologia onde foram semeadas por varredura em ágar CLED (*cystine lactose electrolyte deficient*). Além disso, foi realizada análise por fita reativa para detecção de leucócitos e nitrito. Aquelas amostras que apresentaram contagem de colônias acima de 100.000 UFC/mL e cujo Gram evidenciou a presença de cocos Gram-positivos foram semeadas em ágar manitol e sangue para investigação das espécies envolvidas. Em seguida foram submetidas à identificação e à análise de susceptibilidade aos antimicrobianos por metodologia automatizada utilizando-se o painel PC 41 (AutoScan, Dade Behring).

### Análise de dados

Os dados obtidos a partir dos prontuários foram analisados utilizando-se o programa Excel, Microsoft Office versão 365®.

### Comitê de Ética

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEP/PUC Goiás), sob o parecer 235.276, data da relatoria em 20 de março de 2013.

## RESULTADOS

Foram analisados 24.529 prontuários dos pacientes atendidos no LC/PUC Goiás que realizaram urocultura no período entre 2011 e 2017. Destes, 3.796 (15,5%) tiveram diagnóstico positivo para ITU, sendo que 2.992 (78,8%) foram ocasionadas por bactérias Gram-negativas e 804 (21,2%) por Gram-positivas. Em relação à idade, esta variou entre 1 e 105 anos, sendo a média de 37,3 anos. Além disso, foi observada uma maior prevalência de ITU em mulheres, sendo que 684 (85%) foram positivas. (Figura 1)

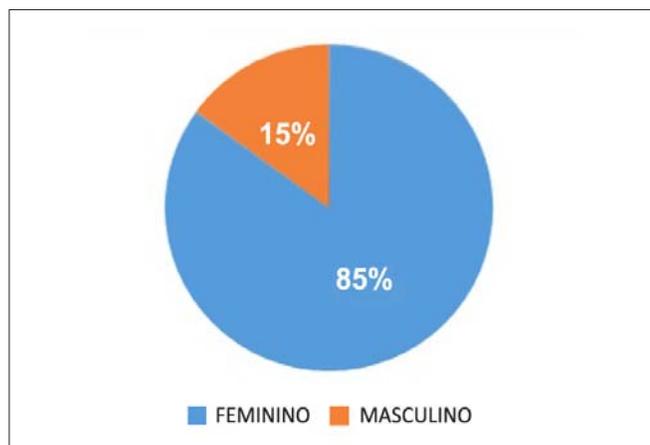


Figura 1. Prevalência de infecção do trato urinário segundo o gênero dos pacientes atendidos no LC/PUC Goiás, no período de 2011 a 2017.

Considerando a distribuição dos casos positivos de ITU por idade e gênero, foi observada uma maior prevalência de infecção em mulheres (311/804; IC 95%: 35,3-42,1) na faixa etária de 19 a 40 anos de idade. Já em homens foi verificado um maior índice de ITU naqueles com idade acima de 60 anos (46/804; IC 95%:4,2-7,6). No entanto, estas frequências foram semelhantes para ambos os gêneros entre indivíduos com idade entre 1 e 5 anos (25/804; IC 95%: 2,1-4,6 versus 19/804; IC 95%: 1,4-3,7). (Figura 2)

A variação da prevalência de ITU por bactérias Gram-positivas mostrou-se variável dentro do período determi-

nado para o estudo, onde a menor frequência observada foi de 5,1% (41/804) no ano de 2016 e a maior, de 27,9% (224/804) no ano de 2013. (Figura 3)

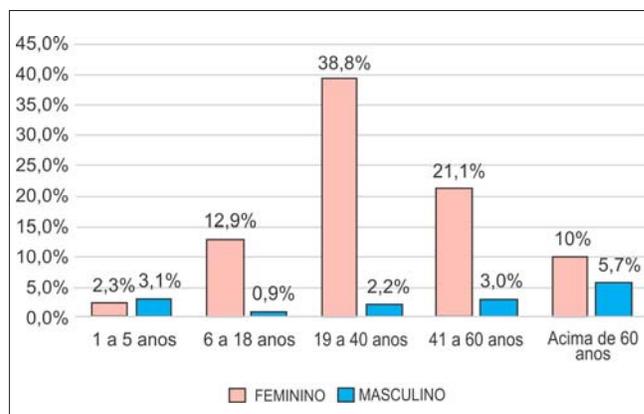


Figura 2. Distribuição dos casos de ITU associados a presença de cocos Gram-positivos, por idade e gênero dos pacientes atendidos no LC/PUC Goiás.

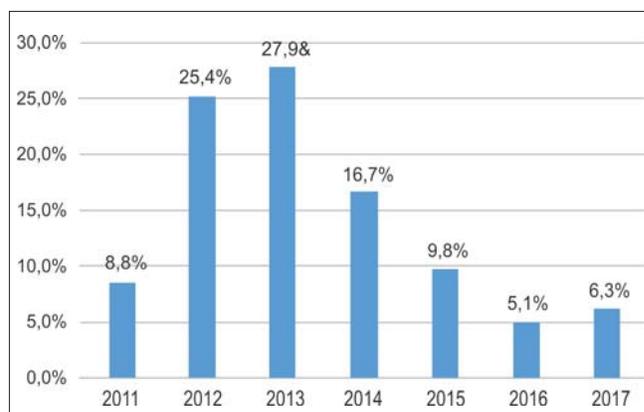


Figura 3. Frequência de ITU ocasionadas por bactérias Gram-positivas em amostras de urina de pacientes atendidos no LC/PUC Goiás, no período entre 2011 e 2017.

Em relação aos micro-organismos isolados e identificados como agentes patogênicos provenientes das amostras analisadas, em 57,8% (IC 95%: 54,3 - 61,2) foi constatada a presença de bactérias pertencentes ao grupo estafilococos coagulase negativa, seguida do *S. aureus* em 21,5% (IC 95%:18,7-24,5) das amostras em estudo. Dentre este grupo de bactérias consideradas estafilococos coagulase negativa foram identificados os seguintes micro-organismos: *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. lugdunensis*.

Segundo a distribuição das prevalências de bactérias Gram-positivas ao longo do período estudado foi observada uma diminuição na frequência daquelas consideradas não produtoras de coagulase, cuja variação foi de 63,3% (IC 95%: 51,0-74,2) em 2011 para 41,1% (IC 95%: 27,8-55,7) em 2017. Já em relação ao *Enterococcus* spp.,

foi verificado um aumento no índice de detecção deste agente bacteriano, onde 3,0% das ITU, em 2011, foram associadas ao micro-organismo e, em 2017, esta taxa foi

de 15,8% (IC 95%: 7,4-29,1). Entretanto, para o *Streptococcus agalactiae*, sua frequência mostrou pouca variação. (Tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência de bactérias Gram-positivas associadas a ITU, considerando o período e ano de estudo em relação ao gênero bacteriano, isoladas a partir de amostras urinárias dos pacientes atendidos no LC/PUC Goiás

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Total
Gênero	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
ECN <sup>1</sup>	45 (63,3)	128 (62,7)	136 (60,7)	70 (52,2)	43 (54,4)	22 (53,6)	21 (41,1)	465 (57,8)
<i>S. aureus</i> <sup>2</sup>	10 (14)	43 (21)	47 (20,9)	30 (22,3)	20 (25,3)	11 (26,8)	12 (23,5)	173 (21,5)
<i>Streptococcus</i> spp.	3 (4,2)	8 (4,2)	3 (1,5)	4 (3,2)	1 (1,5)	1 (2,6)	0 (0)	20 (2,5)
<i>S. agalactiae</i> <sup>3</sup>	11 (15,5)	14 (6,8)	16 (7,1)	9 (6,7)	9 (11,3)	4 (9,7)	10 (19,6)	73 (9,1)
<i>Enterococcus</i> spp.	2 (3)	11 (5,3)	22 (9,8)	21 (15,6)	6 (7,5)	3 (7,3)	8 (15,8)	73 (9,1)
<b>Total</b>	<b>71 (8,8)</b>	<b>204 (25,4)</b>	<b>224 (27,9)</b>	<b>134 (16,7)</b>	<b>79 (9,8)</b>	<b>41 (5,1)</b>	<b>51 (6,3)</b>	<b>804 (100)</b>

<sup>1</sup>ECN: Estafilococos coagulase negativo (*Staphylococcus saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. lugdunensis*); <sup>2</sup>*Staphylococcus*; <sup>3</sup>*Streptococcus*

## DISCUSSÃO

Ao analisarmos os dados dos pacientes diagnosticados laboratorialmente com ITU por bactérias Gram-positivas foi verificado que 85,0% (IC 95%: 82,3-87,4) eram mulheres. Em estudos realizados por Salton e Maciel (2017),<sup>(10)</sup> no estado do Rio Grande do Sul, e por Rodrigues e Barroso,<sup>(11)</sup> na unidade local de Saúde de Guarda, em Portugal, ambos verificaram também uma maior prevalência de ITU em mulheres, com 87,0% (IC 95%: 74,9-94,3) e 84,0% (IC 95%: 78,0-86,6), respectivamente. Estes achados foram estatisticamente semelhantes, o que corrobora com a maior frequência dessa infecção em mulheres, podendo assim este índice elevado estar relacionado às características anatômicas femininas, onde a uretra se apresenta mais curta que a masculina, além da proximidade entre uretra e ânus, favorecendo a migração de bactérias presentes no intestino.<sup>(12)</sup> Em estudo realizado por Sato et al.,<sup>(13)</sup> identificou-se maior prevalência de ITU no gênero feminino, sendo que essa infecção se mostrou vinte vezes mais frequentemente em mulheres em relação ao gênero masculino. Além disso, mulheres na faixa etária de maior destaque podem apresentar vida sexual ativa, favorecendo a ocorrência de ITU.<sup>(13)</sup>

No que diz respeito à distribuição de ITU por faixa etária, no presente trabalho foi observado que a maior frequência de casos de infecção ocorreu em mulheres com idade entre 19 e 40 anos, cuja taxa foi de 38,8% (IC 95%: 35,3-42,1), o que se assemelha ao estudo de Dias et al.,

onde 27,8% (IC: 95%; 23,7- 32,2) das mulheres em idade de 26 a 38 anos apresentaram positividade para ITU,<sup>(14)</sup> o que condiz com a literatura, onde mulheres nessa faixa etária são mais propícias a desenvolver este tipo de infecção.<sup>(5)</sup>

Já em relação ao gênero masculino foi verificada uma prevalência de 5,7% (IC 95%: 4,2-7,6) dos casos de infecção urinária naqueles com idade acima de 60 anos. No entanto, ao se analisarem os elementos constituintes desse grupo etário com o estudo de Costa et al., foi observado um índice muito mais elevado (36,9%; IC 95%: 32,9-41,0) do que o observado em nosso grupo. Esta maior frequência de ITU em homens nessa faixa etária é descrita na literatura,<sup>(5)</sup> sendo que esta aponta alguns fatores que predispoem o homem, em particular aqueles com idade acima de 60 anos, a desenvolver este tipo de infecção. Essa susceptibilidade se deve à ocorrência de hipertrofia prostática benigna ou mesmo ao câncer de próstata.<sup>(15)</sup>

Quanto à prevalência de ITU em crianças, naquelas com idade entre 1 e 5 anos, foi verificada uma taxa de 3,1% (IC 95%: 2,0-4,6) para meninos e 2,3% (IC 95%: 1,4-3,7) para meninas, sendo que estes índices foram estatisticamente semelhantes entre estes dois grupos. Esta mesma característica de semelhança entre meninos e meninas nesta faixa etária também foi observada em Campina Grande (PB),<sup>(5)</sup> com taxas de 8,3% (IC 95%: 3,7-16,9) e 7,9% (IC 95%: 7,1-10,7), respectivamente. Ao longo da vida, os índices de ITU são maiores em mulheres, no entanto, nesta faixa etária as frequências podem se sobrepor, pois a ocorrência de anomalias anatômicas e funcionais diagnos-

ticadas em meninos até os 5 anos podem favorecer uma maior possibilidade de desenvolvimento de ITU neste gênero.<sup>(15)</sup> Já na faixa etária seguinte (6 a 18 anos), este índice se torna maior em meninas (12,9%; IC 95%: 10,7-15,5) do que em meninos (0,9%; IC 95%: 0,3-1,8). Esta maior prevalência em meninas, segundo a literatura, pode estar associada principalmente a alterações hormonais, que favoreceriam a colonização vaginal por bactérias patogênicas, migração para área periuretral e possível ascendência via trato urinário, podendo levar ao desenvolvimento de ITU.<sup>(16)</sup>

Dentre o período de estudo foi observada uma maior frequência de ITU por bactérias Gram-positivas no ano de 2013, cuja taxa foi de 27,9% (224 amostras). No entanto, este maior índice mostrou-se proporcional quando se compara a quantidade de entrada de exames e o índice de ITU diagnosticada em todos os períodos. Em 2017, o índice de entrada de exames e positividade para ITU foram os menores índices observados, provavelmente associados à diminuição de demanda do próprio laboratório clínico.

Considerando os principais agentes patogênicos identificados no presente estudo, a maior prevalência de ITU foi observada no grupo de bactérias classificadas como estafilococos coagulase negativa (57,8%; IC 95%: 54,3-61,2). Este índice se mostrou estatisticamente semelhante ao observado por Almada et al.,<sup>(2)</sup> que realizaram estudo em laboratório privado do município de Santa Inês (MA), cuja taxa encontrada foi de 41,4% (IC 95%: 27,3- 57,0). Dados da literatura apontam que os estafilococos coagulase negativa são um grupo de patógenos virulentos e complexos e que nas últimas décadas têm demonstrado um aumento da sua frequência. Acredita-se que esta elevação nos índices esteja relacionada à capacidade destes microorganismos em formar biofilmes, produzir enzimas, toxinas e outras exoenzimas.<sup>(17)</sup>

Já o *S. aureus* foi o segundo patógeno mais prevalente (21,1%; IC 95%: 18,7-24,5) nos pacientes do estudo, sendo que este índice foi estatisticamente semelhante ao descrito por Salton e Marciel (21,0%; IC 95%: 12,8- 35,3).<sup>(10)</sup> O encontro do *S. aureus* como um importante agente de ITU pode estar associado com a facilidade desta bactéria ser encontrada na pele, fossas nasais, colonizando região perineal e trato urinário, estando associada principalmente à ocorrência de ITU em imunocomprometidos.<sup>(18)</sup>

A ocorrência de ITU associada à proliferação de bactérias Gram-positivas neste sítio apresenta grande importância visto que estes agentes, principalmente do gênero *Staphylococcus*, vêm apresentando resistência às penicilinas como ampicilina, amoxicilina e carbenicilina. Esta resistência conduziu à criação de penicilinas semissintéticas que proporcionam à droga uma ação mais eficaz, principalmente contra a enzima betalactamase. Ao longo dos anos, novos agentes bacterianos resistentes têm surgido, demonstrando a capacidade de adaptação à pres-

são seletiva deste gênero bacteriano frente aos antibióticos, principalmente às penicilinas.<sup>(17)</sup>

Quanto ao *Enterococcus* sp., foi evidenciada uma frequência de 9,1% (IC: 7,2-11,3). De acordo com o trabalho desenvolvido em 2005 por Poletto e Reis,<sup>(3)</sup> a partir de amostras de pacientes ambulatoriais no Laboratório de Análise da Saúde da Universidade Católica de Goiás (LAS/UCG), em Goiânia, no período de junho de 2002 a agosto de 2003, obteve-se resultado de 2,5% (IC 95%: 0,4-9,8). Os resultados obtidos nestes estudos concordam com a literatura, demonstrando que os *Enterococcus* sp. são responsáveis por uma pequena quantidade de infecções geniturinárias diagnosticadas na comunidade.<sup>(10)</sup> Houve uma discrepância em relação ao estudo de Oliveira et al.,<sup>(19)</sup> realizado no Laboratório de Análises Clínicas em Sete Alagoas (MG), que evidenciou uma prevalência de 36,4% (IC 95%: 31,1-42,0) para o gênero *Enterococcus*. Essa prevalência, segundo os autores, está associada à variação regional.

Já em relação ao *Streptococcus agalactiae*, foi observada uma variação entre os índices no período de estudo (6,7% a 19,6%), porém a média de identificação foi de 9,1% (IC 95%: 7,2-11,3). Já em estudo realizado por Siqueira,<sup>(20)</sup> a taxa foi de 14,3% (IC 95%: 11,5-17,6); no entanto, este foi um dado obtido a partir de amostras de mulheres gestantes. É importante destacar que o presente trabalho identificou o *S. agalactiae* em pacientes de todas as faixas etárias e em ambos os gêneros, o que limita a associação entre nossos achados e aqueles descritos na literatura, exclusivamente em gestantes. Este é um agente patogênico que pode causar danos importantes tanto na gestante quanto no recém-nascido. Na gestante pode acometer o trato urinário, causando ITU, endometrite ou mesmo bacteremia. A disseminação do *S. agalactiae* pode comprometer a gravidez, podendo levar à ocorrência do parto prematuro, quadros de meningite, pneumonia ou mesmo morte. Cerca de 75% dos casos de infecção precoce ocorrem comumente na primeira semana de vida, normalmente antes das primeiras 72 horas de nascimento. Já em infecções tardias pode aparecer entre a 1ª e a 4ª semanas de vida.<sup>(21)</sup> Contudo, a pesquisa de *S. agalactiae* é de suma importância, pois quando diagnosticado precocemente e tratado corretamente não compromete a evolução gestacional, evitando o aborto e morte fetal intrauterina.<sup>(22)</sup>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostrou que a ITU foi mais frequente em mulheres com idade entre 19 a 40 anos, tendo sido causada principalmente por agentes patogênicos do grupo denominado estafilococos coagulase negativa. Estes dados se mostraram semelhantes aos descritos na literatura, reforçando assim a necessidade do diagnóstico cor-

reto do agente bacteriano Gram-positivo associado à ITU, diminuindo, desta forma, a possibilidade do surgimento de cepas resistentes aos antimicrobianos de escolha para o tratamento desta infecção, que, em sua maioria, é causada por bactérias Gram-negativas.

#### Abstract

**Objective:** To identify the prevalence of Gram-positive pathogenic bacteria that cause UTI, analyzing the age group and the most affected genus. **Methods:** A retrospective study was carried out, in which 24,529 records of outpatients were analyzed, performed at the Clinical Laboratory of the Pontifical Catholic University of Goiás (LC/PUC Goiás) from January 2011 to December 2017. Both genders and of all ages. Data were collected from the log book of samples specific to the microbiology section and selected the culture results positive for Gram positive bacteria. **Results:** Of the 24,529 urocultures analyzed, 21,2%(804) presented a positive diagnosis for UTI for Gram positive bacteria. Of these, 85.0% were female, and coagulase negative staphylococci were the most prevalent pathogens (57.8%). **Conclusion:** Urinary tract infection was more frequent in women aged of 19-40 years, with coagulase-negative Staphylococcus being the main uropathogens associated with infection, followed by Staphylococcus aureus. The identification of Gram-positive bacteria has been show to be extremely important, especially for the correct treatment of patients.

#### Keywords

Urinary tract; Staphylococcus; bacterial infections

## REFERÊNCIAS

- Rangel M, Tressa Y, Zago SS. Infecção urinária: do diagnóstico ao tratamento. *Colloquium Vitae* 2013. Jan/jun.5(1):61.
- Almada MV, Gomes HBS, Sousa JB, Nunes DS, Firmo ACW. Perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes atendidos em um laboratório privado no município de Santa Inês. *Revista Uningá*. 2017. Apr/jun.30(3):10-14.
- Poletto KQ, Reis C. Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes ambulatoriais na cidade de Goiânia, GO. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2005 Oct ;38(5):416-420. Acessível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822005000500011>
- Dallacorte RR, Schneider HR, Benjamin WW. Perfil das infecções do trato urinário em idosos hospitalizados na Unidade de Geriatria do Hospital São Lucas da PUCRS. *Sci. med*;17(4):197-204, 2007
- Costa CL, Belém FL, Silva FMP, Pereira SH, Júnior SDE, Leite RT, Pereira SJG. Infecções urinárias em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos. *Rev. Bras. Anal. Clin.* (Rio de Janeiro). 2010.42(3):175-180.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Diagnóstico Microbiológico*. Guanabara Koogan RJ. 1997. 5ª ed. 142, 552, 553, 559, 590, 598, 608, 609.
- Guidoni MBE, Toporovski J. Infecção urinária na adolescência. *J. Pediatr.* 2001.77 (2):165-16.
- Schenkel FD, Dallé J, Antonello SV. Microbial etiology and susceptibility of community urinary tract infections during pregnancy in the south of Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2014 Mar;36(3):102-6. [Article in Portuguese]. DOI: 10.1590/s0100-72032014000300002
- Kline KA, Lewis AL. Gram-Positive Uropathogens, Polymicrobial Urinary Tract Infection, and the Emerging Microbiota of the Urinary Tract. *Microbiol Spectr.* 2016;4(2):7-12. DOI: 10.1128/microbiolspec.UTI-0012-2012
- Salton G, Maciel JM. Prevalência e perfil de resistência de bactérias isoladas em uroculturas de pacientes de uma cidade do interior do Rio Grande do Sul. *Ciência e Saúde.* 2017;10(4):196-197.
- Rodrigues BJF, Barroso DPA. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do trato urinário. *Rev. Port. Sau. Pub.* [Internet]. 2011 Jul;29(2):123-131. Disponível em: [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0870-90252011000200005&lng=pt](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0870-90252011000200005&lng=pt).
- Oliveira MS, Santos LLG. Infecção do trato urinário: estudo epidemiológico em prontuários laboratoriais. *Journal Health NPEPS.* 2018.3(1):204.
- Sato FA, Svidzinski EA, Consolaro LEM, Boer GC. Nitrito urinário e infecção do trato urinário por cocos gram-positivos. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [Internet]. 2005 Dec;41(6):397-404. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442005000600005&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442005000600005&lng=en).
- Dias VOL, Coelho MA, Dorigon I. Infecção do trato urinário em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos no período de 2009 a 2012. *Saúde (Santa Maria)*. 2015. Jan./Jul.41(1):210-212.
- Heilberg PI, Schor N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário: ITU. *Rev. Assoc. Med. Bras.* [Internet]. 2003 Jan;49():109-116. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302003000100043&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302003000100043&lng=en)
- Grossman E, Caroni MM. Infecção urinária na adolescência. *Adolescência e Saúde.* 2009. Oct.6(4):2-3.
- Machado BMP. Resistência à metilina mediada pelo gene mecA nos Staphylococcus spp coagulase negativa. *Dissertação de mestrado-UFRGS.* 2007.15-18.
- Sales LM, Silva TM. Staphylococcus aureus metilina resistente: um desafio para a saúde pública. *Acta Biomed Bras.* 2012;3(1): 1-13.
- Oliveira XCGT, Lacerda GHL. Perfil de resistência dos antimicrobianos mais prevalentes em uroculturas no laboratório de análises clínicas Laboranálise em Sete Lagoas, Minas Gerais. *J Faculdade ciências da vida (FCV).*2016.Aug.7-8.
- Siqueira F. Colonização de pacientes grávidas por Streptococcus agalactiae em Taguatinga, Distrito Federal, Brasil. *Dissertação de Mestrado- UEPMF.*2017.29-32.
- Areal A, Nunes S, Moreira M, Faustino AM, Cardoso L, Sá C. Infecção perinatal por Streptococcus agalactiae pode ser evitada: Prevalência da colonização em parturientes no Hospital São Marcos, factores de risco e a sua relação com a infecção perinatal. *Acta Pediatr Port* 2010;41(1):16-21.
- Beraldo C, Brito JSA, Saridakis OH, Matsuo T. Prevalência da colonização vaginal e anorretal por Estreptococo do grupo B em gestantes do terceiro trimestre. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* [Internet]. 2004 Aug;26(7):543-549. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-72032004000700006&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032004000700006&lng=en)

Correspondência

**Barbara Gomes de Castro**

Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Praça Universitária, 1440, Setor Universitário  
74175-120 – Goiânia-GO, Brasil

# Incidência de dermatofitoses em cães no período de janeiro de 2016 a janeiro de 2018 em um laboratório veterinário de análises clínicas na cidade de Chapecó - SC

*Incidence of dermatophytes in dogs in the period from January 2016 to January 2018 in a veterinary laboratory of clinical analysis in the city of Chapecó - SC*

Mariana Danieli Smaniotto<sup>1</sup>  
Tatiani Karini Rensi Botelho<sup>2</sup>

## Resumo

**Objetivo:** Tendo em vista a possibilidade de variação na incidência e prevalência das dermatofitoses de uma região geográfica para outra, e seu potencial zoonótico, o presente trabalho teve como objetivo fornecer dados a respeito da frequência de dermatofitoses em cães na cidade de Chapecó-SC. **Métodos:** Avaliaram-se resultados de exames micológico direto e cultura fúngica de caninos, emitidos por um laboratório particular de análises clínicas veterinárias na cidade de Chapecó, Santa Catarina. Os dados foram coletados do sistema Multvet e analisados por meio do *software* IBM SPSS 22.0 através do cálculo de frequência. **Resultados:** No período compreendido foram solicitados 108 exames para micológico direto e 223 para cultura fúngica. Destes, 81 laudos de micológico direto (75%) e 159 laudos de cultura fúngica (71%) atendiam aos critérios de inclusão, sendo a maioria dos resultados pertencentes a fêmeas com idade entre 1 e 8 anos, sem raça definida (SRD); além disso verificou-se que não houve diferença significativa entre as solicitações dos exames por estação do ano. A respeito da espécie de dermatófito isolado na cultura fúngica, corroborando com demais estudos, o *Microsporium canis* foi o mais frequente. **Conclusão:** Visto que as dermatofitoses são consideradas doenças com potencial zoonótico, e sua epidemiologia é conhecida por mudar ao longo do tempo, os resultados desta pesquisa mostraram que tanto o papel do médico veterinário quanto o do patologista clínico são de suma importância para o prognóstico favorável do paciente.

## Palavras-chave

Epidemiologia; animais domésticos; dermatomicoses

## INTRODUÇÃO

A dermatofitose é uma infecção fúngica de tecidos queratinizados nos quais os dermatófitos degradam a queratina presente nos pelos, pele e unhas por ação das queratinases.<sup>(1)</sup> Suas espécies estão distribuídas nos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporium* e *Trichophyton*, podendo ser categorizados de acordo com seu *habitat* em: antropofílicos, zoofílicos e geofílicos.<sup>(1)</sup> Sua prevalência é maior em regiões tropicais e subtropicais, pois a temperatura e a umidade presentes nestes locais favorecem o seu desenvolvimento.<sup>(1)</sup>

Dentre as espécies citadas, cães e gatos funcionam como reservatórios de *Microsporium* spp. e *Trichophyton* spp., visto que um animal infectado é capaz de espalhar

artroconídios e contaminar o ambiente e os objetos à sua volta, sendo considerados agentes zoonóticos importantes, tendo em vista o seu contato mais estreito com os seres humanos.<sup>(2,3)</sup>

Estima-se que entre 20% e 75% de todos os animais examinados na prática clínica veterinária apresentem enfermidades do sistema tegumentar. Devido à sua alta prevalência, a dermatofitose provoca sintomas como prurido, lesões e odores desagradáveis nos cães, sendo o principal motivo pelos quais muitos proprietários buscam auxílio veterinário.<sup>(2)</sup>

Sabendo que cerca de 15% de todos os quadros clínicos de dermatofitoses humanas possuem origem zoonótica,<sup>(4)</sup> o diagnóstico laboratorial é extremamente importante, e é realizado a partir do isolamento do fungo em meios

<sup>1</sup>Biomédica. Celer Faculdades. Biomédica em um Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias – Xaxim-SC, Brasil.

<sup>2</sup>Mestre em Farmácia pela Fundação Regional de Blumenau (FURB) – Blumenau-SC, Brasil.

Instituição: Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc) – Chapecó-SC, Brasil.

Recebido em 11/03/2019  
Artigo aprovado em 18/09/2019  
DOI: 10.21877/2448-3877.201900830

como ágar Mycosel ou ágar DTM (*Dermatophyte Test Medium*), meios de cultura que possuem em sua composição nutrientes necessários para o desenvolvimento do organismo, além de antibióticos como cloranfenicol, cicloheximida, gentamicina e clortetraciclina, os quais dificultam o desenvolvimento de bactérias e fungos saprófitos.<sup>(5)</sup>

A identificação é feita pelas características da colônia, a pigmentação do verso e reverso, e, na morfologia microscópica, com a verificação dos macroconídios e microconídios.<sup>(6)</sup>

As características macroscópicas que permitem identificar o *Microsporum canis* são: crescimento de seis a dez dias, aspecto da colônia plana, aveludada, de coloração branca com discreto relevo umbilicado e radiado, reverso com coloração amarelo-limão, que, ao difundir-se pelo meio, pode tornar-se com coloração castanha.<sup>(7)</sup> Já o *Microsporum gypseum* possui crescimento rápido, entre três a cinco dias, aspecto da colônia plana, com bordas irregulares e extremamente granular, semelhante à areia de praia, a pigmentação do verso é amarelo-castanho e a do reverso é laranja a marrom.<sup>(6,7)</sup> O *Trichophyton mentagrophytes* possui colônias planas, de coloração creme, com superfície pulverulenta ou algodonosa quando mantida em laboratório, e o reverso pode ser amarelo-alaranjado, vinho ou castanho.<sup>(7)</sup>

Tendo em vista a possibilidade de variação na incidência e prevalência das dermatofitoses de uma região geográfica para outra, e seu potencial zoonótico, o presente trabalho tem como objetivo fornecer dados a respeito da frequência de dermatofitoses em cães na cidade de Chapecó-SC.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho é um estudo descritivo, de caráter retrospectivo de resultados de exames de micológico direto e cultura fúngica de caninos emitidos por um laboratório particular de análises clínicas veterinárias na cidade de Chapecó, Santa Catarina, no período de janeiro de 2016 a janeiro de 2018. Os dados foram coletados do sistema Multvet e exportados para planilhas no Excel 2011 para posterior análise.

Foram incluídos na pesquisa caninos com resultado positivo e negativo para micológico direto e/ou cultura fúngica. Estabeleceram-se como critérios de exclusão outras espécies de animais, informações incompletas como idade, raça, sexo e outras espécies de fungos que não fossem dermatófitos no respectivo laudo do exame de cultura fúngica.

Por se tratar de um laboratório particular, as amostras não eram coletadas no próprio laboratório, mas sim pelo veterinário solicitante do exame, o qual poderia ser tanto de uma clínica veterinária como de médicos veterinários que atendiam em domicílios. Estes coletavam as amostras

de pelo dos animais, acondicionavam em um frasco estéril, devidamente identificado, e enviavam ao laboratório juntamente com a requisição do exame.

As técnicas empregadas pelo laboratório para o exame micológico direto incluíam KOH 20% deixados em contato com a amostra do paciente por 24 horas, e posteriormente analisados no microscópio para verificar a presença ou ausência dos elementos fúngicos (blastoconídios e hifas hialinas). Já para o exame de cultura fúngica utilizava-se o ágar mycosel da New Prov.

As culturas eram avaliadas conforme a sua macro morfologia (cor, textura, pigmento do verso e reverso), a cada semana, por um período de até trinta dias, sendo o laudo concluído após esse período. É importante mencionar que havia um único patologista clínico com experiência na área veterinária responsável por liberar esses exames no período compreendido.

Os animais foram agrupados nas faixas etárias de 0 a 3 meses, de 3 a 6 meses, de 6 a 12 meses, 1 ano a 8 anos e maior de 8 anos, para uma melhor classificação.

Os dados foram classificados em planilhas do Excel e transferidos para o software IBM SPSS Statistics 22 para análise estatística de frequência relativa nas variáveis de sexo, raça, idade, estação do ano, espécie de dermatófito, e tipo de exame, e, após o cálculo da frequência, os dados foram utilizados para a elaboração de gráficos e tabelas.

O trabalho passou pela aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc) sob o número 93204718.2.0000.5367

## RESULTADOS

No período compreendido foram solicitados 108 exames para micológico direto e 223 para cultura fúngica; destes, 81 laudos de micológico direto (75%) e 159 laudos de cultura fúngica (71%) atendiam aos critérios de inclusão.

Pode-se observar que os exames de cultura fúngica foram mais solicitados do que o exame micológico direto, porém a porcentagem de aproveitamento dos dados foi discretamente maior no exame micológico direto do que no exame de cultura fúngica. Quanto às características dos caninos, a maioria dos exames positivos pertencia a fêmeas com idade entre 1 e 8 anos.

Tabela 1 - Cálculo da frequência relativa dos resultados dos exames de micológico direto e cultura fúngica

Micológico Direto	N %
Resultado	
Positivo	55 67,9
Negativo	26 32,1
Cultura Fúngica	N %
Resultado	
Positivo	77 48,4
Negativo	82 51,6

Tabela 2 - Perfil dos resultados positivos por tipo de exame através do cálculo de frequência relativa

Micológico Direto	N	%
<b>Sexo</b>		
Fêmea	32	58,2
Macho	23	41,8
<b>Idade</b>		
Mais de 8 anos	4	7,3
1 a 8 anos	47	85,5
6 a 12 meses	4	7,3
3 a 6 meses	0	0
0 a 3 meses	0	0
Cultura Fúngica	N	%
<b>Sexo</b>		
Fêmea	45	58,4
Macho	32	41,6
<b>Idade</b>		
Mais de 8 anos	8	10,4
1 a 8 anos	53	68,8
6 a 12 meses	8	10,4
3 a 6 meses	4	5,2
0 a 3 meses	4	5,2

Quanto à raça dos caninos, cães sem raça definida (SRD) obtiveram a maioria dos resultados positivos no exame micológico direto, 16,4% (n=9), seguidos pela raça Yorkshire, 14,5% (n=8), Shih Tzu, 12,7% (n=7), Lhasa Apso, 7,3% (n=4) e Pinscher, 7,3% (n=4). Resultado semelhante foi encontrado no exame de cultura fúngica, onde cães sem raça definida também apresentaram a maioria dos resultados positivos 23,4% (n=18), seguido de cães com raça definida como Shih Tzu 20,8% (n=16), Yorkshire 10,4% (n=8), Lhasa Apso 5,2% (n=4) e Pinscher 5,2% (n=4).

Os resultados positivos também foram agrupados por estação do ano, verificou-se que não houve diferença significativa entre as solicitações dos exames por estação, apenas que houve um predomínio maior de exames positivos na época do outono e inverno.

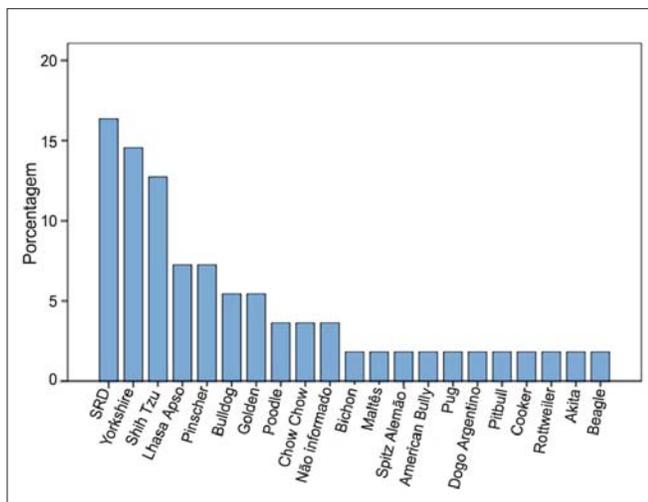


Gráfico 1. Perfil dos resultados positivos por raça no exame micológico direto calculados através da frequência relativa.

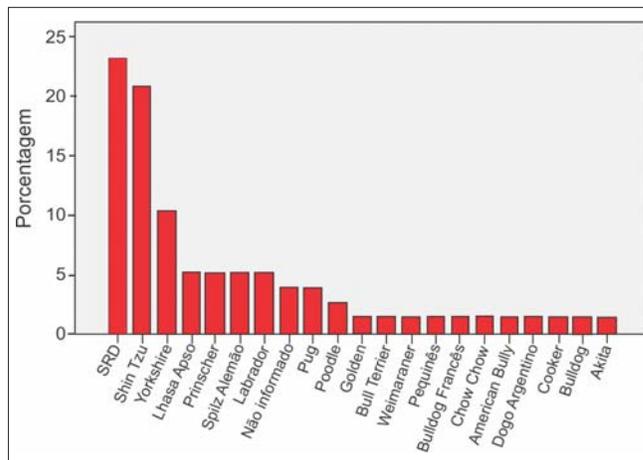


Gráfico 2. Perfil dos resultados positivos por raça no exame de Cultura Fúngica calculados através da frequência relativa.

Tabela 3 - Resultados positivos por estação do ano calculados através da frequência relativa

Micológico Direto	N	%
<b>Estação do ano</b>		
Verão	11	20,0
Outono	15	27,3
Inverno	16	29,1
Primavera	13	23,1
Cultura Fúngica	N	%
<b>Estação do ano</b>		
Verão	14	18,2
Outono	22	28,6
Inverno	27	35,1
Primavera	14	18,2

Tratando a respeito da espécie dos dermatófitos nas culturas fúngicas, dos 48,4% (n=77) resultados de cultura fúngica positivas, a espécie de dermatófito mais prevalente foi o *Microsporum canis* 44,2% (n=34), seguida por *Trichophyton* sp. 22,1% (n=17) e *Trichophyton mentagrophytes* 18,2% (n=14); as espécies *Microsporum* sp. 13% (n=10) e *Microsporum gypseum* 2,6% (n=2) foram as menos frequentemente isoladas.

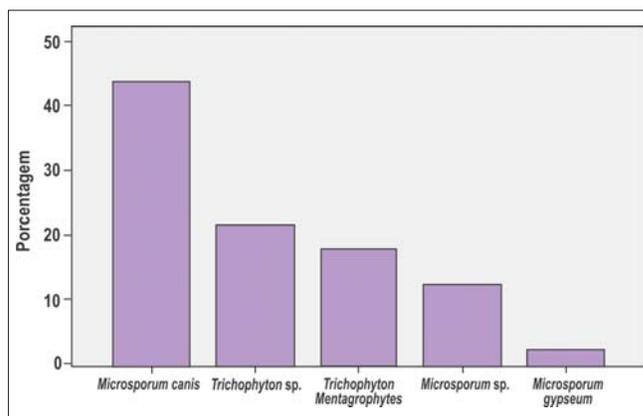


Gráfico 3. Resultado por espécie e gênero de dermatófito na Cultura Fúngica através da análise estatística da frequência relativa.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, no período de 24 meses foram atendidos 331 cães entre exames de cultura fúngica e micológico direto, e, destes, 132 obtiveram resultados positivos, demonstrando que, nesta pesquisa, a prevalência de dermatofitoses foi de 2,5% (331/132); resultados maiores foram evidenciados por Neves em 2011,<sup>(4)</sup> no período de 36 meses (7,14%); já Palumbo,<sup>(8)</sup> em 2010, encontrou uma magnitude porcentual de 5,1% em 53 meses, enquanto que uma pesquisa realizada em 2004 obteve a prevalência de 1,7% no período de 27 meses.<sup>(9)</sup>

Na presente pesquisa observamos uma solicitação maior dos exames para cultura fúngica do que a pesquisa de fungos, o que pode representar um desconhecimento dos veterinários da região de Chapecó a respeito da sensibilidade e prazo de liberação de ambas as técnicas, bem como a importância em solicitar os dois exames para aumentar as chances de identificação e isolamento, visto que é possível obter-se uma pesquisa de fungos positiva com uma cultura fúngica negativa, e isso foi observado por Nogueira et al.,<sup>(10)</sup> no ano de 2013: comparando o exame micológico direto e a cultura fúngica em 114 animais, observou que de vinte amostras positivas no exame direto 12 negativaram na cultura.

Existem alguns fatores que podem tornar uma cultura negativa em uma pesquisa de fungos positiva, e esses resultados devem ser observados com cautela.<sup>(11)</sup> Na cultura fúngica, uma coleta inadequada e a falta de material suficiente podem tornar difícil o isolamento dos fungos, e, além disso, o uso de antifúngicos durante o processo de coleta do material produz resultados não condizentes com a realidade clínica do paciente.<sup>(5)</sup> No presente trabalho, o elevado número de culturas negativas é semelhante ao encontrado por Coelho,<sup>(12)</sup> em 2008, onde o autor traz a solicitação da cultura fúngica pelos clínicos apenas para diagnóstico diferencial dos casos positivos na pesquisa de fungos. Desta forma, uma positividade maior no exame micológico direto pode ter ocorrido por conta da quantidade de amostra coletada e da solicitação do exame, visto que nem todos os cães realizaram o exame micológico direto concomitante com o exame de cultura fúngica, o que seria o mais recomendado, pois aumenta as chances de isolamento e diagnóstico dos animais. Além disso, a baixa taxa de isolamento reflete a dificuldade em se obter uma amostra adequada para a realização do exame bem como a dificuldade em se estabelecer um diagnóstico apenas com base nas lesões.<sup>(12)</sup>

Quanto aos dados que refletem o sexo dos cães e a idade, prevaleceram fêmeas com idade entre 1 a 8 anos. Resultados semelhantes foram encontrados por Amarante<sup>(2)</sup> em 2012 ao verificar a prevalência de dermatofitoses em cães atendidos em um setor de Dermatologia entre 2005 a

2010 na cidade do Rio de Janeiro. O autor encontrou uma prevalência maior em fêmeas, 3,73%, do que em machos, 2,74%; o mesmo ocorreu na idade, cães adultos obtiveram os maiores resultados positivos para dermatofitoses. Já Waller,<sup>(13)</sup> no mesmo ano, 2012, analisando a frequência de dermatofitoses em cães e gatos no sul do Rio Grande do Sul, entre 1980 a 2011, encontrou nos caninos uma predominância em fêmeas, 53,4%, e em cães jovens, com idade até 1 ano, 48,8%.

Neves,<sup>(4)</sup> em 2011, realizando um estudo retrospectivo de animais atendidos com dermatofitoses em um hospital veterinário na cidade de Mato Grosso, observou uma variação na faixa etária dos cães entre 1 a 180 meses, tendo como idade média 40,8 meses. Com relação ao sexo, do total de animais com dermatofitose, 123 eram machos e 147 eram fêmeas. Em contrapartida, Bin,<sup>(14)</sup> no ano de 2010 constatou uma prevalência maior, mas não tão significativa em machos. O mesmo foi identificado por Bier,<sup>(15)</sup> em 2013, ao avaliar 33 caninos com amostras positivas para dermatofitoses, sendo que a predominância foi de machos, porém a idade dos caninos enquadrava-se em filhotes. Na Índia, estudos realizados na cidade de Kolkata, no ano de 2015, encontraram uma incidência de infecção significativamente maior em cães machos (58,3%) em comparação com cadelas (41,7%).<sup>(16)</sup>

Entretanto, diversos autores não encontraram uma diferença significativa da prevalência de dermatofitose entre os sexos, o que se assemelha a esta pesquisa.<sup>(2,8,9)</sup> Já a respeito da idade, no presente estudo, os cães mais acometidos foram cães adultos com idade entre 1 e 8 anos, divergindo de outros estudos na área, os quais relacionam casos de dermatofitoses com cães jovens e filhotes.<sup>(4,13,15,17)</sup>

No que se refere à raça, nesta pesquisa, a prevalência foi em cães sem raça definida tanto no exame micológico direto quanto na cultura fúngica, prosseguida por cães da raça Shih Tzu, Yorkshire, Lhasa Apso e Pinscher. Neves,<sup>(4)</sup> em 2011, ao verificar a incidência de dermatofitoses em 270 cães encontrou uma prevalência maior em cães da raça American Pit Bull Terrier, seguido por Dachshund, Pinscher e Poodle, os cães da raça Shih Tzu, Yorkshire e Lhasa Apso foram pouco incidentes. Já Nardo et al.,<sup>(18)</sup> em 2015, obtiveram resultados um tanto quanto diferentes, ao realizarem um estudo com 639 culturas fúngicas de cães com dermatopatia entre 2008 e 2014 atendidos no Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique", na cidade de São José do Rio Preto-SP, verificando que a raça Poodle foi a mais frequente (13,7%), seguida pela raça Shih Tzu (8,7%) e Dachshund (6,2%), enquanto que Cardoso,<sup>(17)</sup> em 2011, verificou uma porcentagem de 27,59% em cães da raça Teckel e 13,78% em cães SRD. Pesquisas anteriores de Balda et al., e Sparkes et al.<sup>(9,20)</sup> descrevem a raça Yorkshire como a mais acometida por conta da pelagem desses caninos.

As razões que explicam as predisposições de tais raças ainda não estão bem claras. Uma das explicações de as dermatofitoses acometerem cães com pelos longos é porque eles contribuem para as estruturas ficarem protegidas da dessecação, facilitando a propagação,<sup>(20)</sup> enquanto que outros autores relacionam a diferença com as defesas cutâneas e com a secreção sebácea/ sudorípara dos caninos.<sup>(20)</sup> Contudo, a maioria dos estudos não coloca cães sem raça definida como os cães mais acometidos por dermatofitoses, isso porque, de uma maneira geral, esses cães deveriam ter uma imunidade maior devido à junção de diversas raças, enquanto que cães com raça definida têm mais predisposição a ter doenças. Entretanto, nenhum estudo conseguiu encontrar uma predisposição definitiva, podendo isso haver ocorrido por conta da quantidade e pela prevalência das raças caninas em cada região.

Sabe-se que a prevalência de dermatófitos em cães varia de 4% a 10%, e, além dos fatores acima mencionados, a dermatofitose pode ser respectivamente influenciada pela temperatura, clima, umidade relativa e precipitações nas mais diferentes regiões geográficas.<sup>(7)</sup> Diante dessa informação, os resultados positivos foram tabulados por estação do ano para verificar se há uma relação da positividade dos casos com estas estações. Estudos de Waller,<sup>(13)</sup> no estado do Rio Grande do Sul, encontraram uma diferença pequena entre as estações do ano. Realizando um estudo retrospectivo em noventa caninos, as estações do ano mais prevalentes de dermatofitoses isoladas de culturas fúngicas foram o Verão (27,8%) e o Outono (27,8%).

Neves,<sup>(4)</sup> em 2011, verificou que o maior número de consultas com animais positivos para dermatofitose ocorreu no período de março, abril e maio, sem, no entanto, ocorrer diferença estatisticamente significativa, porém, esse período coincide com a estação chuvosa na cidade de Mato Grosso, onde a pesquisa foi realizada. Outros autores também encontraram uma taxa significativamente maior de infecção na estação chuvosa em comparação com outras estações do ano.<sup>(16,21,22)</sup> Segundo dados fornecidos pela Cedar Lake Ventures,<sup>(23)</sup> a cidade de Chapecó tem variação sazonal significativa na precipitação mensal de chuva, pois chove ao longo do ano inteiro em Chapecó, porém o máximo de chuva ocorre durante os 31 dias ao redor do mês de outubro, mês caracterizado como a estação da Primavera, divergindo dos estudos anteriormente citados, nos quais a prevalência de dermatofitoses ocorre durante o período chuvoso. O estudo realizado na cidade de Chapecó demonstrou que o período das chuvas não foi um fator importante no aumento dos casos de dermatofitoses, visto que a prevalência maior ocorreu durante o Outono e o Inverno, período já considerado como não chuvoso. Seker,<sup>(17)</sup> em 2010, encontrou uma taxa de isolamento de dermatófitos mais alta na Primavera e no Inverno, enquanto que Palumbo<sup>(8)</sup> e seus colaboradores, no mesmo

ano, observaram que as lesões provocadas por dermatófitos apareceram com mais frequência na Primavera (28,9%), Outono (27,2%) e Verão (24,6%).

Em outros países, como no Egito, uma pesquisa procurou estudar a prevalência e identificar diferentes dermatófitos em cães e gatos sintomáticos e assintomáticos no ano de 2017, e a prevalência de casos positivos ocorreu durante a Primavera e o Inverno.<sup>(24)</sup> Já na cidade de West Bengali, na Índia, a prevalência de casos positivos para dermatofitoses em cães foi de 22,16% no Outono e 22,69% no Verão.<sup>(25)</sup>

Desta forma, os possíveis contrastes encontrados entre as pesquisas podem ser justificados pela variação do clima, temperatura, umidade relativa e níveis de precipitação pluviométrica encontrados entre as regiões geográficas estudadas.<sup>(26)</sup>

A respeito da espécie e gênero do dermatófito isolado na cultura fúngica, em concordância com a maioria das pesquisas, o agente *Microsporium canis* é o principal dermatófito isolado de amostras de pele e pelo de caninos. Essa informação pode ser comprovada por diversos estudos tanto na região de Santa Catarina quanto fora do país.

Um estudo realizado na cidade de Xanxerê-SC, após o cultivo de 41 amostras coletadas de cães, seis amostras obtiveram resultado positivo na cultura fúngica; destas, 50% foram identificadas como *Microsporium canis*, 33,30% como *M. gypseum* e 16,67% como *M. nanum*.<sup>(26)</sup> Nesta pesquisa, nenhuma espécie de *Trichophyton* foi isolada. Resultados semelhantes foram encontrados por Bin<sup>(14)</sup> no ano de 2010. Avaliando amostras de 76 animais, 18 (23,6%) apresentaram culturas positivas. As espécies fúngicas isoladas de cães e gatos foram: *Microsporium canis* (88,8%), *Microsporium gypseum* (5,5%) e *Trichophyton mentagrophytes* (5,5%). Já um estudo retrospectivo de fichas clínicas de cães diagnosticados com dermatofitoses no Hospital Veterinário de São José do Rio Preto-SP, utilizando dados de 639 culturas de cães no período de janeiro de 2008 a setembro de 2014, observou-se uma porcentagem de 72,7% para *Microsporium* sp., 20% para *Trichophyton* sp., e 3,7% para *Epidermophyton* sp..<sup>(18)</sup> Já Bier,<sup>(15)</sup> no ano de 2013, na cidade de Curitiba-PR, coletou amostras de pelos e escamas de um total de 54 animais; destes, 33 pertenciam a caninos, e, após isolamento em ágar Mycosel, 16 amostras obtiveram resultado positivo, em 14 amostras foi isolado o dermatófito *M. canis* e em duas foi isolado o *Microsporium gypseum*. Waller,<sup>(13)</sup> em 2012, ao analisar a frequência de dermatofitoses em cães e gatos no sul do estado do Rio Grande do Sul, em noventa amostras de caninos evidenciou o *Microsporium canis* como a espécie mais isolada, com 56,6%, seguido por *Microsporium gypseum* 30% e *Trichophyton mentagrophytes* apenas 3,4%

Um estudo brasileiro mais recente com o objetivo de isolar dermatófitos de amostras clínicas de cães e gatos

atendidos em hospitais veterinários da cidade de Recife-PE coletou 106 amostras de pelo de animais para isolamento e identificação de dermatófitos; de 106 animais sintomáticos, 99 eram caninos, e, após a realização da cultura, apenas 14 obtiveram crescimento, sendo respectivamente seis amostras positivas para *M. canis* e uma amostra para *M. gypseum*.<sup>(27)</sup>

Estudos realizados fora do Brasil demonstram um perfil um pouco diferente. Na cidade de Vila Real, Portugal, Coelho,<sup>(12)</sup> no ano de 2008 analisou a frequência de dermatófitos em animais domésticos. Em caninos, o *Microsporium gypseum* foi isolado em 60% das amostras, enquanto que o *Trichophyton mentagrophytes* foi isolado em 40%.

Já Wally et al.,<sup>(24)</sup> em 2017, com o objetivo de identificar a prevalência de dermatofitoses em cães e gatos no Egito, isolaram as amostras de 103 animais sintomáticos e assintomáticos além de trinta animais de um *Pet shop* local. Em cães assintomáticos e sintomáticos, três espécies de dermatófitos foram isoladas, predominando *Microsporium canis*, seguido por *Trichophyton mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum*. Já o *Microsporium gypseum* foi a espécie predominante em cães provenientes do *Pet shop* local.

Na Índia, um estudo realizado em 1.209 amostras de cães encontrou, em 248 amostras de cultura fúngicas, a porcentagem de 43,55% para *Microsporium canis*, 36,69% *Microsporium gypseum* e 19,79% para *T. mentagrophytes*.<sup>(25)</sup>

Outro estudo na Índia, utilizando 122 cães com afecções dermatológicas submetidos ao exame de cultura fúngica, encontrou em 18 culturas positivas o *Microsporium gypseum* (50%) como o principal dermatófito isolado, seguido de *Microsporium canis* (33%) e *Trichophyton mentagrophytes* (17%).<sup>(28)</sup>

No mesmo ano e no mesmo país, um estudo realizado na cidade de Kolkata analisou amostras de 171 cães da região; destes, 66 obtiveram resultados positivos para dermatófito. Neste estudo, o *M. canis* foi prevalente com 61,1 % dos isolados, prosseguido por *M. gypseum* com 22,2% e *T. mentagrophytes* com 16,7%.<sup>(16)</sup>

Em 2016 foi realizado um estudo na cidade de Baku, capital do Azerbaijão, com o objetivo de avaliar a frequência de infecção dermatofítica da pele de cães e gatos durante um período de um ano. Durante esse período, 116 cães e 77 gatos foram incluídos no estudo; de 193 amostras, 108 obtiveram resultados positivos, tratando-se apenas de cães, *Microsporium gypseum* foi isolado em 38 amostras (35,1%), *Microsporium canis* em 22 (20,3%) e *Trichophyton mentagrophytes* em nove amostras (8,3%).<sup>(29)</sup>

Estudos demonstram que o *M. canis* é responsável pela maioria (70%) dos casos de dermatofitoses em cães, enquanto que *M. gypseum* é encontrado em 2% a 8% dos casos,<sup>(30)</sup> dados que se assemelham a esta pesquisa, onde

o *Microsporium canis* foi o principal dermatófito isolado, enquanto que o *Microsporium gypseum* foi o menos frequentemente isolado.

## CONCLUSÃO

A epidemiologia das dermatofitoses em caninos na cidade de Chapecó-SC demonstrou que fêmeas, sem raça definida, com idade de 1 a 8 anos, foram as mais acometidas pelas dermatofitoses, e que, assim como as demais regiões, o dermatófito mais isolado foi o *Microsporium canis*. Não houve diferença significativa entre os resultados positivos com a estação do ano, apenas observou-se um aumento maior de casos durante o Outono e o Inverno. Tratando a respeito da solicitação de exames complementares, a cultura fúngica foi o exame mais solicitado pelos veterinários dessa região, o que pode refletir um desconhecimento dos veterinários a respeito das duas metodologias empregadas nos exames.

Diante disso sugere-se que, para um melhor diagnóstico das dermatofitoses, o médico veterinário solicite a cultura fúngica e a pesquisa de fungos ao laboratório veterinário, e neste contexto o papel do patologista clínico é imprescindível para esclarecer a importância da solicitação de ambos os exames, bem como orientação quanto à forma de coleta, uma vez que a coleta do material é uma das etapas mais importantes do processo e deve ser colhida em quantidade suficiente por um profissional experiente.

Visto que as dermatofitoses são consideradas doenças com potencial zoonótico, os resultados desta pesquisa mostraram que tanto o papel do médico veterinário na suspeita clínica e solicitação do exame quanto do patologista clínico na confirmação do diagnóstico são de suma importância para o prognóstico favorável do paciente.

Além disso, a epidemiologia das dermatofitoses é conhecida por mudar ao longo do tempo, exigindo que as informações a respeito das mesmas sejam atualizadas de tempos em tempos preferencialmente em todas as regiões do País, favorecendo as ações em saúde pública.

## Abstract

**Objective:** Given the possibility of occurrence of variance and prevalence of dermatophytosis from one geographical region to another, and its zoonotic potential, the present study had an impact on the frequency of dermatophytosis in dogs in the city of Chapecó SC. **Methods:** Evaluation of results obtained through direct mycological examination and canine culture issued by a private veterinary clinical anamnesis laboratory in the city of Chapecó, Santa Catarina, with data collected by the IBM SPSS 22.0 system through frequency calculation. **Results:** No complete year, 108 direct microbial and 223 religious culture tests were requested, at the same time, 81 direct micrological compliments (75%) and 159 fungal culture reports (71%) within inclusion lips, a large majority of the results belonged to female dog aged 1 to 8 years, with no defined race (SRD), and it was found that there was no major difference between examinations by season. Treating the resistance of sexual dermatitis in fungal culture, corroborating other

studies, *Microsporium canis* was the most frequent. **Conclusion:** *Dermatophytosis is a closed disease with zoonotic potential, and its epidemiology is known to change over time. The results of the research are as important as the role of the veterinarian in clinical pathology are important for the favorable prognosis of the disease patient.*

### Keywords

Epidemiology; domestic animal; dermatomycosis

## REFERÊNCIAS

- Lopes CA, Dantas WMF. Dermatofitoses em cães e gatos: Revisão de Literatura. In: VIII Simpoc. 2016, Viçosa - MG. Anais Eletrônicos. Viçosa - MG. Disponível em: <https://academico.univicoso.com.br/revista/index.php/RevistaSimpoc/article/view/657>> Acesso em 18 abr. 2018
- Amarante CF. Análise Epidemiológica das Dermatopatias de uma População Canina Atendida no Período de 2005 a 2010 no Setor de Dermatologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2012. 131 f. Tese (Mestrado) - Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2012.
- Moriolo KA. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet Dermatol*. 2004 Apr; 15(2):99-107.
- Neves RCSM, Cruz FACS, Lima SR, Torres MM, Dutra V, Sousa VRF. Retrospectiva das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso, nos anos de 2006 a 2008. *Ciênc. rural*; 41(8):1405-1410, Aug. 2011.
- Minami PS. Micologia: Métodos Laboratoriais de Diagnóstico das Micoses, Ed. Manoel Ltda, São Paulo, 2003
- Cruz Luiz Celso Hygino. Micologia Veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2010.
- Mattei AS. Diagnóstico de Dermatofitose em Pequenos Animais: Um Estudo Retrospectivo Na Região Sul do Rio Grande do Sul. 2009. 30 f. Monografia (Especialização) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- Poci Palumbo MI, Machado LHA, Paes AC, Mangia SH, Motta RG. Estudo epidemiológico das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no serviço de dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 2, 2010.
- Balda AC, Larsson CE, Otsuka M, Gambale W. Estudo retrospectivo de casuística das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no Serviço de Dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2004;32(2):133-40.
- Azevêdo Nogueira MÁ, Santos AS, Leal CAS, Lima DCV, Oliveira EAA, Silva LTR, Silva LBG. Diagnóstico das Dermatites Fúngicas em Cães e Gatos. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. 2013, Recife. Anais eletrônicos. Recife, 2013. Disponível em < <http://www.eventosufpe.com.br/2013/cd/resumos/R0234-1.pdf>>. Acesso em 29 março 2018.
- Chaves LJQ. Dermatomicoses em cães e gatos: avaliação do diagnóstico clínico-laboratorial e dos aspectos epidemiológicos em uma população de portadores de lesões alopecias circulares. 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza - Ce, 2007.
- Coelho AC, Alegria N, Rodrigues J. Isolamento de dermatófitos em animais domésticos em Vila Real, Portugal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. [online]. 2008, vol.60, n.4, pp.1017-1020. Acessível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000400035>
- Waller, Stefanie Bressan; dos Reis Gomes, Angelita; Foresti, Laís; Santin, Rosema; Martins Madrid, Isabel; Araújo Meireles, Mário Carlos. *Archives of Veterinary Science*. SUP2012, Vol.17 Issue S1, p160-162. 3p.
- Bin LLC, Gomes J, Bráz SA, Giuffrida R. Comparação de métodos diagnósticos para dermatofitose em animais de companhia. *Colloquium Agrariae*. 2010;6(2): 46-51. DOI: 10.5747/ca.2010.v06.n2.a058
- Bier D, Farias MR, Muro MD, Soni LMF, Carvalho VO, Pimpão CT. Isolamento de dermatófitos do pelo de cães e gatos pertencentes a proprietários com diagnóstico de dermatofitose. *Archives of Veterinary Science*, v.18, n.1, p.1-8, 2013.
- Murmu S, Debnath C, Pramanik AK, Mitra T, Jana S, Dey S, et al. Detection and characterization of zoonotic dermatophytes from dogs and cats in and around Kolkata. *Vet World*. 2015 Sep; 8(9): 1078–1082. doi:10.14202/vetworld.2015.1078-1082.
- Seker E, Dogan N. Isolation of dermatophytes from dogs and cats with suspected dermatophytosis in Western Turkey. *Prev Vet Med*. 2011 Jan 1;98(1):46-51. doi: 10.1016/j.prevetmed.2010.11.003.
- Nardo CDD, et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos de cães com dermatofitose atendidos no hospital veterinário "dr halimatique" no período de janeiro de 2008 a setembro de 2014. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, São José do Rio Preto - Sp*, v. 13, n. 3. 2015
- Cardoso MJL, Machado LHA, Melussi M, Zamarian TP, Carnielli CM, Ferreira Júnior JCM. Dermatopatias em cães: revisão de 257 casos. *Archives of Veterinary Science*. 2011;16(2): 66-74, DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v16i2>
- Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Shaw SE, Wright AI, Stokes CR. Epidemiologic and diagnostic features of canine and feline dermatophytosis in the United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet Rec*. 1993 Jul 17;133(3):57-61.
- Falahati M, Akhlaghi L, Lari AR, Alaghebandan R. Epidemiology of dermatophytoses in an area south of Tehran, Iran. *Mycopathologia*. 2003;156(4):279-87.
- Maraki S. Epidemiology of dermatophytoses in Crete, Greece between 2004 and 2010. *G Ital Dermatol Venereol*. 2012;147 (3):315-9.
- Ventures, Cedar Lake. Condições meteorológicas médias de Chapecó. Disponível em: <<https://pt.weatherspark.com/y/29626/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Chapec%C3%B3-Brasil-durante-o-ano>>. Acesso em: 04 nov. 2018.
- Nashwa Waly, Rehab Kamel, Laila Ahmed, Mady Ismail. Prevalence of dermatophytosis in dogs and cats in Egypt. *BSAVA Congress Proceedings 2017*, [s.l.], p.457-457, 2017.
- Debnath C, Mitra T, Kumar A, Samanta I. Detection of dermatophytes in healthy companion dogs and cats in eastern India. *Iran J Vet Res*. 2016 Winter;17(1):20-4.
- Silva F, Drescher G, Mattiello SP, Kolling L, Muller G, Ferronato AI, et al. Agentes fúngicos da dermatofitose em cães e gatos do município de Xanxerê, Santa Catarina. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 32, n. 3, p. 1095-1100, jul/set. 2011. DOI: 10.5433/1679-0359.2011v32n3p1095.
- Torres MELM, Herculano PN, Lima MLF, Soares PT, Siqueira ABS, Souza-Motta CM, et al. Isolation and enzymatic profile of dogs and cats with dermatofitosis attended at veterinary hospitals in Recife, Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras*. 38(5):930-934, maio 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-4679
- Dubey AG, Rode AM, Dakshinkar NP, Ingle VC, Sanghai AA. Clinic-Diagnostic Study on Canine Dermatophytosis - A Study of 18 Dogs. *Intas Polivet*. Jul-Dec 2015, Vol. 16, Issue 2, p 469-472.
- Roshanzamir H, Naserli S, Ziaie B, Fakour M. Incidence of dermatophytes isolated from dogs and cats in the city of Baku, Azerbaijan. *Comp Clin Pathol* 25, 327–329 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2185-x>
- Madrid IM, Gomes AR, Mattei AS, Santin R, Cleff MB, Faria RO, Meireles MCA. Dermatofitose neonatal canina por *Microsporium gypseum*. *Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP*, v. 19, n. 1, p. 773-778, mar. 2012.

Correspondência

**Mariana Danieli Smaniotto**

Fundação Universidade do Oeste de Santa Catarina  
R. Paese, 198 - Universitário  
89560-000 – Videira-SC, Brasil

# Frequência de protozoários e helmintos entéricos em hortaliças produzidas e comercializadas em Bauru, no centro-oeste paulista

## Frequency of enteric protozoa and helminths in vegetables in Bauru, midwest region of the São Paulo State

Janaina Regina Lélis<sup>1</sup>

Natássia Carolina Esposito Rosa<sup>2</sup>

Armando Castello Branco Jr.<sup>3</sup>

### Resumo

**Objetivo:** Avaliar a ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas em feiras livres e supermercados em Bauru, SP. **Métodos:** Entre outubro e dezembro de 2016 foram analisados 55 pés de alface comercializados por cinco redes de supermercados e, entre março e maio de 2017, 94 pés de alface de nove produtores em feiras livres. As amostras foram coletadas semanalmente e processadas em laboratório. **Resultados:** Revelou-se a presença de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli*, nematoides, ancilostomídeos e rhabditoídeos. A maior frequência foi de *G. lamblia*. A frequência de hortaliça contaminada nos supermercados oscilou de 18,2% a 36,3% enquanto que nas feiras livres oscilou de 8,3% a 22,2%. **Conclusão:** Os resultados sugerem haver potencial de transmissão de enteroparasitos por hortaliças. O nível deste potencial depende de aspectos não avaliados como higiene no preparo deste alimento e viabilidade das formas evolutivas dos parasitos encontradas.

### Palavras-chave

Verduras; parasitos; helmintos; protozoários

## INTRODUÇÃO

O elenco de enteroparasitos humanos é vasto e diversificado envolvendo comumente não apenas bactérias e vírus mas também protozoários e helmintos. O parasitismo intestinal causado pelos dois últimos grupos ocorre em quase 25,0% da população mundial, com maior frequência nas regiões tropicais.<sup>(1,2)</sup> Embora o quadro sintomatológico mais frequente seja diarreia branda ou moderada tem-se que a consequente desidratação é o maior risco para crianças e idosos.<sup>(2)</sup>

Diversos aspectos influenciam a infecção por enteroparasitos no homem, destacando-se seus hábitos higiênicos, comportamento, educação e grau de informação, além do estado nutricional e da resposta imunológica. Da mesma forma, também têm influência as condições socioeconômicas e as políticas sanitárias adotadas.<sup>(2)</sup>

É hábito comum na população humana a ingestão de diversas hortaliças, muitas delas *in natura*. O fato de que

muitas vezes estas hortaliças são mal lavadas expõe o homem à infecção por diversos patógenos, inclusive helmintos e protozoários. A possibilidade de infecção via hortaliças contaminadas vem sendo avaliada por diversos autores há muito tempo.<sup>(3,4)</sup>

A transmissão de enteroparasitos envolve diversos fatores tais como mãos contaminadas, frequência dos parasitos em alimentos como verduras e também no solo, a presença de moscas e outros insetos sinantrópicos, vetores mecânicos, e especialmente a veiculação hídrica.<sup>(5)</sup> Esta última é muito comum devido ao lançamento de esgotos domésticos *in natura* nos cursos d'água a despeito de uma vasta legislação existente no Brasil. Esta prática acarreta ainda o comprometimento dos cursos d'água.<sup>(6-8)</sup>

Os cursos d'água de Bauru, no interior de São Paulo, têm seu uso não só para o abastecimento público mas também para a agricultura na irrigação de diversas culturas, inclusive hortaliças. Estes alimentos, se contaminados e comercializados, podem ter uma grande expressão como

<sup>1</sup>Mestranda. Depto. Patologia e Medicina Legal. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), campus de Ribeirão Preto – Ribeirão Preto-SP, Brasil.

<sup>2</sup>Mestranda. Depto. Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem. Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), campus de Botucatu – Botucatu-SP, Brasil.

<sup>3</sup>Doutor. Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), campus de Iturama – Iturama-MG, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) campus de Iturama – Iturama-MG, Brasil.

Recebido em 02/05/2019

Artigo aprovado em 18/08/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900843

veículos de transmissão de parasitos, dependendo da frequência destes em hortaliças e da intensidade de seu consumo pela população.<sup>(6,8)</sup>

As condições higiênicas das hortaliças dependem de vários fatores, além da água de irrigação, tais como o tipo de adubo utilizado, a embalagem e os cuidados no processo de acondicionamento, os procedimentos de transporte desde as propriedades até os pontos de comercialização, além da higiene na manipulação e preparo destes alimentos.<sup>(4,9)</sup>

O presente trabalho tem por objetivo a avaliação da frequência de enteroparasitos em hortaliças cultivadas no município, tendo como critério de inclusão a irrigação por água de riacho. A partir dos resultados obtidos, argumenta-se a possibilidade de haver algum potencial de transmissão de enteroparasitos pelas hortaliças.

Considerando-se que a alface é uma das hortaliças de maior consumo no Brasil<sup>(10,11)</sup> e, na maioria das vezes, ingerida *in natura*, é relevante a investigação sobre a qualidade sanitária desta hortaliça. A despeito das dezenas de trabalhos versando sobre este assunto no país, salienta-se que, em quase duas décadas, pouco mais de uma dezena de trabalhos foi publicada sobre esta temática em apenas dez cidades do estado de São Paulo, sendo que a região avaliada mais próxima de Bauru fica cerca de 130 Km de distância. Desta forma, os resultados obtidos contribuem para o conhecimento da frequência destes parasitos na região e para o fortalecimento dos programas e campanhas de controle e profilaxia de infecções por enteroparasitos na macrorregião de Bauru.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi delineado de modo a gerar um quadro da frequência de enteroparasitos no período amostrado em cada tipo de estabelecimento que comercializava a hortaliça.

Foram verificadas as redes de supermercados que operavam na cidade de Bauru. Por razões éticas, as redes eleitas foram denominadas A, B, C, D e E. Foi selecionada uma unidade de cada rede para fazer a amostragem semanal de um pé (uma touceira) de alface crespa (*Lactuca sativa*) no período de outubro a dezembro. Todos os supermercados avaliados comercializavam alfaces cultivadas com irrigação tradicional com água de riacho.

Ao longo dos meses de janeiro e fevereiro foi realizado um levantamento de produtores e intermediários de hortaliças no Ceagesp (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo) e nas feiras livres de diferentes regiões do município de Bauru, com visitas técnicas e entrevistas com os proprietários. Nas entrevistas foram verificadas as condições dos proprietários (produtor ou intermediário) e o tipo de irrigação das hortaliças.

Foi analisada uma amostra semanal de um pé (uma touceira) de alface (*Lactuca sativa*) de cada produtor rural no período de março a maio. Por razões éticas, os produtores avaliados foram denominados A, B, C, D, E, F, G, H e I.

Todas as alfaces analisadas dos nove produtores feirantes foram cultivadas de forma tradicional com irrigação por água de riacho.

As amostras de hortaliças tanto dos supermercados quanto das feiras livres foram embaladas individualmente em embalagens plásticas descartáveis e transportadas para análise laboratorial.

Cada amostra foi lavada folha a folha, com auxílio de um pincel chato descartável, número 13, em um recipiente plástico contendo 250 mL de solução aquosa de 0,6% de detergente neutro laboratorial (Extran®). Foi utilizada água mineral para as lavagens. As folhas mais externas foram descartadas antes da lavagem. As folhas tiveram toda sua superfície esfregada e, em seguida, foram suspensas, por cerca de dez segundos para escorrer completamente o líquido de lavagem para, então, serem descartadas. O líquido da lavagem de cada amostra de alface foi transferido para cálice de sedimentação, decantando então por vinte horas. Esta técnica é a mesma proposta por Hoffman, Pons e Janer,<sup>(12)</sup> com a adaptação da decantação original de duas horas para vinte horas para atender à logística disponível. Outros autores utilizam a mesma técnica com um período de decantação de 21<sup>(13)</sup> a 24 horas.<sup>(14-16)</sup>

As lâminas foram montadas com o sedimento de cada cálice com auxílio de pipeta Pasteur, coradas com lugol na proporção de 1:1 (sedimento: lugol) e observadas ao microscópio óptico (objetivas de 10x e 40x). Cada sedimento foi examinado em triplicata.<sup>(16-18)</sup>

A identificação dos parasitos foi baseada nos critérios e parâmetros apresentados por De Carli<sup>(17)</sup> quanto à morfologia de cistos de protozoários e ovos e larvas de helmintos.

A identificação dos parasitos presentes em alface e não diretamente de dejetos humanos levanta dúvidas sobre a correta identificação de dois grupos de nematoides. As larvas de ancilostomídeos encontradas podem não ser unicamente de parasitos de humanos, mas também de outros animais, de plantas ou até serem de vida livre. Assim, no presente trabalho, este grupo foi denominado pela superfamília *Ancylostomoidea* não podendo ser tratado como grupo de parasitos.

A mesma problemática existe para o diagnóstico de larvas de *Strongyloides* fora de seu hospedeiro natural devido à semelhança morfológica entre as espécies de parasitos de outros mamíferos e *S. stecoralis*.<sup>(1)</sup> Assim, no presente trabalho, este grupo foi denominado pela superfamília *Rhabditoidea*.

Os resultados sobre a frequência de contaminação entre as redes de supermercados, entre os produtores e

entre supermercados e produtores foram analisados pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2 = 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Supermercados

A escolha de uma unidade de cada rede de supermercados deveu-se ao fato de os fornecedores serem os mesmos para toda a rede. Assim, independente da unidade escolhida para amostragem da hortaliça o fornecedor seria o mesmo.

Foram analisados 55 pés de alface crespa no período de outubro a dezembro. Foi observada a presença dos enteroparasitos *Ascaris lumbricoides* e *Giardia lamblia*. Os nematoides ancilostomídeos e rabditoídeos podem até possuir representantes parasitas de humanos, mas a identificação morfológica foi inviável.

A frequência de *G. lamblia*, no período estudado, foi de 21,8%, sendo a mais alta, seguida por *A. lumbricoides* com 1,8%. As larvas de nematoides ancilostomídeos e rabditoídeos foram de 41,8% e 3,6%, respectivamente.

Na Tabela 1 também podem ser observados os resultados quanto à frequência de hortaliça contaminada comercializada por supermercado avaliado. Os grupos das larvas dos nematoides das superfamílias *Ancylostomoidea* e *Rhabditoidea* não foram considerados nos cálculos de frequência de hortaliça contaminada. Embora a rede de supermercado A tenha apresentado 36,3% das amostras positivas para algum parasito, seguida pela rede E com 27,2% das alfaces contaminadas e as redes B, C e D com a mesma frequência de 18,2% das hortaliças comercializadas contaminadas por algum enteroparasito, a análise estatística não revelou diferença significativa entre as frequências entre as redes de supermercado. No total, verificou-se que 23,6% das hortaliças analisadas dos supermercados estavam contaminadas.

### Ceagesp e feiras livres

Todos os comerciantes do Ceagesp foram excluídos por se tratarem de intermediários que comercializam hortaliças compradas de produtores de áreas distantes da região de Bauru.

Tabela 1 - Frequência de protozoários e helmintos enteroparasitos e nematoides ancilostomídeos e rabditoídeos em amostras semanais de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados das redes que abastecem o município de Bauru/SP, no período de outubro a dezembro de 2016

		Redes de Supermercado					
		A	B	C	D	E	
Semanas	Outubro	1ª	Al	(-)	Gl	Gl	(-)
		2ª	Gl	Gl	(-)	(-)	Gl
		3ª	Gl	(-)	(-)	Gl	Gl
		4ª	Gl	(-)	Gl	Anc	Gl
Semanas	Novembro	1ª	Anc	Gl	(-)	Anc	Anc
		2ª	(-)	Anc	Anc	Anc	(-)
		3ª	Anc	(-)	Anc	Anc	(-)
		4ª	Anc	Anc	(-)	(-)	Anc
Semanas	Dezembro	1ª	Anc	Anc	(-)	Anc	Anc
		2ª	Anc	(-)	(-)	Anc	Anc
		3ª	Anc/Rbd	(-)	(-)	Anc	Anc/Rbd
<b>Total de amostras por rede de supermercado</b>		<b>11</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	

Al = ovos de *Ascaris lumbricoides*; Anc = ovos e larvas de ancilostomídeos; Gl = cistos de *Giardia lamblia*; Rbd = larvas de rabditoídeos; NR = análise não realizada; (-) = Amostra sem parasitos diagnosticados

Nas feiras livres de Bauru foram levantadas vinte barracas de produtores de hortaliças da região de Bauru. Deste total, nove (45,0%) eram produtores que irrigavam suas culturas com água de riacho, sendo assim, selecionados para amostragem do presente trabalho.

Estes produtores selecionados operavam em diferentes feiras de Bauru, comercializando seus produtos em 17 das 43 feiras livres existentes no município. Assim, a análise destes produtores cobre um total de 39,5 % das feiras livres do município.

Foram analisados 94 pés de alface no período de março a maio. Foi observada a ocorrência dos seguintes enteroparasitos: *Trichuris trichiura*, *Entamoeba coli* e *Giardia lamblia*. Também foram encontradas larvas de nematoides, de *Ancylostomoidea* e *Rhabditoidea* (Tabela 2).

O enteroparasito presente em maior percentual de amostras de hortaliças, nas feiras livres, foi *E. coli* (6,4%) seguido por *G. lamblia* e *T. trichiura* com 2,0% e 1,0% de ocorrência, respectivamente. As larvas de ancilostomídeos

Tabela 2 - Frequência de protozoários e helmintos enteroparasitos e nematoides ancilostomídeos e rabditoídeos em amostras semanais de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres no município de Bauru/ SP, no período de março a maio de 2017. Alfices de produtores da região com cultura irrigada por água de riacho

		Produtores								
		A	B	C	D	E	F	G	H	I
Semanas de março	1 <sup>a</sup>	NR	NR	NR	NR	Tt	(-)	Anc	(-)	Ec
	2 <sup>a</sup>	(-)	(-)	NR	Ec	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3 <sup>a</sup>	Anc	Anc	Anc	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	4 <sup>a</sup>	(-)	(-)	Anc	(-)	Anc	(-)	Anc	Anc	Anc
Semanas de abril	1 <sup>a</sup>	Anc	GI/Ec	(-)	Anc/Ec	(-)	(-)	(-)	Anc	Anc
	2 <sup>a</sup>	Anc/ Ec	(-)	(-)	(-)	Anc	(-)	(-)	Anc	(-)
	3 <sup>a</sup>	Anc	(-)	Anc/Rbd	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	4 <sup>a</sup>	Anc	(-)	Anc	Anc	(-)	(-)	(-)	Anc	Anc
Semanas de maio	1 <sup>a</sup>	(-)	(-)	Anc	(-)	Anc	(-)	(-)	(-)	(-)
	2 <sup>a</sup>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Anc	Anc	(-)	Rabd
	3 <sup>a</sup>	Anc	(-)	Anc	Anc	(-)	(-)	Anc	(-)	(-)
	4 <sup>a</sup>	(-)	Anc	Anc	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	5 <sup>a</sup>	Anc	Anc	Anc	Anc	Anc	(-)	(-)	Anc	GI/Ec
Total de amostras por produtor	12	12	11	9	10	10	10	10	10	

Anc = ovos e larvas de ancilostomídeos; Rbd = larvas de rabditoídeos; GI = cistos de *Giardia lamblia*; Tt = ovos de *Trichuris trichiura*; Ec = cistos de *Entamoeba coli*; NR = análise não realizada; (-) = Amostra sem parasitos diagnosticados

tiveram a frequência de 41,5% enquanto que as de rabditoídeos apresentaram 2,0% de ocorrência.

Na Tabela 2 observa-se que os grupos das larvas de *Ancylostomoidea* e *Rhabditoidea* não foram considerados nos cálculos de frequência de hortaliça contaminada. Assim, foi detectado que 22,2% das alfaces produzidas e comercializadas pelo produtor D estavam contaminadas por algum enteroparasito. O segundo produtor com maior frequência de hortaliça contaminada foi o produtor I com 20,0% de contaminação. Seguiram-se os produtores E com 10,0% e os produtores A e B, ambos com 8,3% de alfaces contaminadas. A análise estatística, no entanto, não revelou diferença significativa entre as frequências de hortaliças contaminadas entre os produtores. No total, verificou-se que 7,4% das alfaces analisadas estavam contaminadas. A análise estatística também não revelou diferença significativa entre as frequências de hortaliças contaminadas entre supermercados e feiras.

## DISCUSSÃO

A frequência de enteroparasitos em hortaliças é reportada em diversas localidades brasileiras com grande variação de frequência e de espécies refletindo condições locais de saneamento, higiene na produção, transporte e manuseio do produto bem como a qualidade da água utilizada para irrigação,<sup>(8,9,13)</sup> inclusive no estado de São Paulo.<sup>(4,7,19,20)</sup>

A contaminação de 23,6 % das alfaces analisadas de supermercados, verificada no presente trabalho, está similar aos resultados reportados em alfaces analisadas de supermercados de Lages-SC<sup>(21)</sup> (22,1% de contaminação de alfaces), e, no estado de São Paulo, em alfaces de varejões em Presidente Prudente-SP<sup>(20)</sup> (21,7% e 20% de contaminação).

A grande maioria dos trabalhos, analisando alfaces de estabelecimentos comerciais como mercados, supermercados e varejões em diversos municípios brasileiros, reporta resultados superiores aos valores aqui verificados. Estes valores oscilam de 32% em Santos-SP<sup>(7)</sup> até 100% de contaminação em alfaces de mercados e quitandas em Quatá-SP.<sup>(14)</sup> Na verdade, na maioria dos relatos, a frequência de alfaces contaminadas em supermercados, mercados e varejões é superior a 70,0%.<sup>(19,22,23)</sup>

São poucos os relatos de alfaces não contaminadas e comercializadas por supermercados ou varejões.<sup>(15,24)</sup> Estes resultados poderiam ser devidos não apenas aos cuidados desde o cultivo no campo até o estabelecimento comercial, mas também devido à variedade da alface.<sup>(15)</sup> A arquitetura das folhas de alface de diferentes variedades poderia interferir na frequência de parasitos.<sup>(25)</sup>

Comparando-se a contaminação de 7,4% das alfaces comercializadas nas feiras do município de Bauru, verificada no presente trabalho, com outros relatos descritos no estado de São Paulo, verifica-se em Bauru uma frequência maior do que a relatada em Sorocaba e em

ltuverava, respectivamente 0,7% e 2,0% de contaminação das alfaces comercializadas nas feiras daqueles municípios.<sup>(26,27)</sup> No entanto, em outros estados, como em Lages-SC, Terezinha-PI e em Barro-CE, os relatos revelaram frequências mais altas, 11,5%, 34,1% e 90,9%, respectivamente.<sup>(8,16,21)</sup>

Infelizmente, diversos trabalhos reportando frequências de contaminação variada de 32%, 44%, 62,5%, 80% e 90% não reportaram a variedade de alface com que trabalharam, dificultando comparações sobre a influência deste parâmetro na frequência de parasitos.<sup>(7,18,19,28)</sup> No entanto, num conjunto de nove trabalhos realizados com alface crespa, incluindo o presente, apenas em Ituverava foi relatada frequência de 2,0%.<sup>(27)</sup> Todos os demais reportaram frequências que oscilaram de 7,4% a 100% de contaminação nas alfaces crespas analisadas, tanto de supermercados como feiras ou varejões.<sup>(8,14,16,21-23)</sup> Os resultados não permitem conclusões sobre a relevância da estrutura da variedade da hortaliça na frequência de enteroparasitos humanos pois há outros aspectos envolvidos.

Quanto aos enteroparasitos encontrados no presente trabalho, tem-se que cistos de *G. lamblia* e de *E. coli* e ovos de *A. lumbricoides* e de *T. trichiura* são comumente reportados por diversos autores analisando alfaces tanto de supermercados como de feiras e varejões.<sup>(7,8,14,16,18-23,27-30)</sup>

A variação das frequências reportadas, no entanto, é grande. Por exemplo, enquanto que *G. lamblia* foi verificada, no presente trabalho, em 21,8% das amostras de alfaces crespas de supermercados e em apenas 2% das amostras das alfaces de feiras, em Salvador-BA foram reportados valores de 13,3% e 20% respectivamente em supermercados e feiras, também em alfaces crespas.<sup>(22)</sup>

No estado de São Paulo, nos municípios de Quatá,<sup>(14)</sup> São Carlos<sup>(19)</sup> e Santos<sup>(7)</sup> foram reportadas as frequências de 40%, 10% e 4% de *G. lamblia*, respectivamente, em alfaces analisadas de mercados.

A mesma variação de frequências se verifica para as outras espécies em várias localidades de diversos estados brasileiros. De qualquer forma, a presença de protozoários e helmintos enteroparasitos confirma o potencial de transmissão pelas hortaliças contaminadas.

As razões pelas quais estas espécies foram encontradas nas hortaliças é uma questão multifatorial. A análise da qualidade da água de irrigação, tanto no cultivo convencional como no cultivo por hidroponia, a verificação da frequência de formas infectantes no solo das produções convencionais e no adubo utilizado em cultivos orgânicos também precisa ser realizada.<sup>(21,26)</sup> Outros aspectos como a qualidade das hortaliças ainda no solo e após a embalagem e o transporte até os pontos de comércio também precisam ser avaliados.<sup>(26)</sup>

Outra questão relevante, apresentada no presente trabalho, é quanto à frequência de ancilostomídeos e de *Strongyloides stercoralis*. Estes parasitos são comumente reportados em frequência variada em hortaliças comercializadas em cidades de diferentes estados brasileiros.<sup>(7,8,18-20,24,26,28,30)</sup> A questão é que as espécies de *Strongyloides* parasitos de outros hospedeiros mamíferos são muito semelhantes morfológicamente.<sup>(1)</sup> A sua identificação quando parasitando o hospedeiro correspondente é simples, mas quando as larvas são encontradas fora do hospedeiro, como no caso das alfaces, levanta a dúvida quanto à real identificação morfológica, como *S. stercoralis*, uma vez que há possibilidade de haver fezes de diferentes mamíferos hospedeiros na água de irrigação das hortaliças e/ou no solo do cultivo e até nas fezes usadas como adubo.<sup>(15,22)</sup> A mesma situação é relevante para ovos e larvas de ancilostomídeos.<sup>(29)</sup>

Alguns autores levantaram estas questões em trabalhos analisando diversas hortaliças como, por exemplo, em Ribeirão Preto-SP,<sup>(24)</sup> em Salvador-BA<sup>(22)</sup> e em Niterói-RJ.<sup>(29)</sup> Todos esses autores relembram que nem todas as larvas de nematoides em hortaliças são parasitos do homem. Muitas delas são, inclusive, de vida livre enquanto que várias podem ser parasitos de outros mamíferos e até de plantas.

Salienta-se assim a necessidade de maior atenção na identificação destes helmintos, pois a inclusão de parasitos de diferentes grupos de hospedeiros superestima a frequência destes parasitos assim como de suas parasitoses no homem e dificulta a comparação de dados da literatura. Mesmo agregando-se categorias para permitir a comparação de dados da literatura, como o proposto por alguns autores,<sup>(29)</sup> incorre-se na superestimação dos resultados reais.

Felizmente, houve possibilidade de comparação de dados entre os resultados do presente trabalho com alguns autores. Assim, a frequência de ovos e larvas de ancilostomídeos em alfaces crespas analisadas de feiras e supermercados de Bauru-SP, igual a 41,5% e 41,8%, respectivamente, são bastante superiores aos valores reportados em alfaces crespas de feiras de Niterói-RJ<sup>(29)</sup> (4,8%) e de alfaces de feiras livres e supermercados de Salvador-BA,<sup>(22)</sup> respectivamente reportados como 20% e 26,6%.

Inversamente, a frequência de larvas de *Rhabditoidea* em alfaces analisadas de feiras livres e supermercados de Bauru-SP, respectivamente igual a 2% e 3,6%, mostraram-se bem inferiores aos valores reportados em alfaces de feiras livres de Niterói-RJ(42,9%).<sup>(29)</sup>

De qualquer forma, os valores de frequência de larvas de *Rhabditoidea* e de ovos e larvas de ancilostomídeos não reflete, necessariamente, algum potencial de transmissão de enteroparasitos humanos.

## CONCLUSÕES

Os resultados descritos permitem a comprovação da existência de espécies de protozoários e helmintos parasitos intestinais do homem em alfaces comercializadas em feiras livres e supermercados de Bauru-SP. Este aspecto associado à frequência de hortaliças contaminadas comprovam o potencial de transmissão destes parasitos para o homem pela ingestão *in natura* desta hortaliça.

O nível do potencial de transmissão assim como os mecanismos que levaram às frequências detectadas necessitam de avaliações mais detalhadas envolvendo diversos fatores não avaliados no presente trabalho.

### Abstract

**Objective:** Evaluate the occurrence of enteroparasites in lettuces in farmers' markets and supermarkets. **Methods:** Fifty five heads of lettuce marketed in five supermarket franchises in Bauru/SP and 94 heads of lettuce produced by nine different farmers were analysed from October to December, 2016 and March to May, 2017, respectively. Lettuce samples were collected and processed weekly at the laboratory. **Results:** It was detected *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Giardia lamblia* and *Entamoeba coli*. *Nematode larvae of ancylostomoidea* and *rhabditoidea* were detected too. *G. lamblia* was the most prevalent parasite. The contamination rate of vegetable from supermarkets ranged from 18,2% to 36,3% while the values from farmers' markets ranged from 8,3% to 22,2%. **Conclusion:** Results obtained suggest that vegetables may transmit enteroparasites in urban areas. The level of this potential depends on non evaluated aspects such as food hygiene and viability of parasite life stages.

### Keywords

Vegetables; parasites; helminths; protozoa

## REFERÊNCIAS

- Rey L. Parasitologia. Parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2008.
- Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Vol. 1. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2013.
- Gelli DS, Tachibana T, Oliveira IR, Zamboni CQ, Pacheco JA, Spiteri N. Condições higiênicas-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1979; 39(1):37-43.
- Oliveira CAF, Germano PML. Estudo da ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I - Pesquisa de helmintos. *Rev Saúde públ*. 1992;26(4):283-9. Acessível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89101992000400011&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101992000400011&lng=en).
- Cantos GA, Soares B, Maliska C, Gick D. Estruturas parasitárias encontradas em hortaliças comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina. *NewsLab*. 2004;66:154-63.
- Soares B, Cantos GA. Qualidade parasitológica e condições higiênicas-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, Santa Catarina. *Brasil. Rev Bras epidemiol*. 2005;8(4):377-84.
- Silva TC, Gagliani LH. Frequência de enteroparasitas em hortaliças na cidade de Santos - SP - Brasil. *Revista UNILUS*. 2007;4(7):5-22.
- Mesquita DR, Silva JP, Monte NDP, Sousa RLT, Silva RVS, Oliveira SS et al. Ocorrência de parasitos em alface-crespa (*Lactuca sativa* L.) em hortas comunitárias de Teresinha, Piauí, Brasil. *Rev Patol Trop*. 2015;44(1): 67-76.
- Silva EP, Costa RAM, Soares MA, Paulino EJ, Murta NMG, Morais HA, et al. Aspectos higiênicos-sanitários de feirantes e análise parasitológica de hortifrúts comercializados em feiras livres de municípios do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*. 2015;13(2):591-602.
- Sala FC, Costa CP. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. *Hortic Bras*. 2012;30(2):187-94.
- Tani PE, Tivelli SW, Purquerio LFV, Azevedo Filho JA. Hortaliças Alface (*Lactuca sativa* L.). [acesso em 17 de jan 2018]. Disponível em: [http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/7.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/7.pdf).
- Hoffman WA, Pons JA, Janer JL. Sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni. *PR J Public Health Trop Med*. 1934;9:283-298.
- Pacifico BB, Bastos OM, Uchôa CMA. Contaminação parasitária em alfaces crespas (*Lactuca sativa* var. *crispa*), de cultivos tradicional e hidropônico, comercializadas em feiras livres do Rio de Janeiro (RJ). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2013;72(3):219-225.
- Silva LP, Silva VS, Ludwig KM, Montenegro MC, Silva RMG. Avaliação Parasitológica em amostras de alfaces (*Lactuca sativa* var. *crispa*) comercializadas no município de Quatá, São Paulo, Brasil. *Biosci J Uberlândia*. 2014;30(4):1252-8.
- Abreu ES, Lima MBA, Machado AD, Persoli LBL. Análise da qualidade parasitológica de alfaces orgânicas vendidas em uma rede de supermercados da cidade de São Paulo. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*. 2016;14(2):516-521.
- Nascimento MP, Gonçalves MNL, Viana MWC, Macedo NT, Pinto LC, Ferreira RJ. Avaliação parasitológica da alface (*Lactuca sativa*) comercializada na feira livre de Barro-CE, Brasil. *Cad Cult Ciênc*. 2017;15(2):70-81.
- De Carli GA. Parasitologia Clínica. Seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2010.
- Schemes CM, Schemes CM, Rodrigues AD. Prevalência de parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) de supermercados de uma cidade no sul do Brasil. *Revista Saúde-UNG* 2016;9(3-4):18-24.
- Saraiva N, Ballesterio LGB, Povea AM, Anibal FF. Incidência da contaminação parasitária em alfaces nos municípios de Araraquara (SP) e São Carlos (SP). *Revista UNIARA* 2005;16: 213-8.
- Santarém VA, Giuffrida R, Chesine PAF. Contaminação de hortaliças por endoparasitas e *Salmonella* spp. em Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. *Colloquium Agrariae*. 2012;8 (1):18-25.
- Quadros RM, Marques SMT, Favaro DA, Pessoa VB, Arruda AAR, Santini J. Parasitas em alfaces (*Lactuca sativa*) de mercados e feiras livres de Lages-Santa Catarina. *Revista Ciência & Saúde*. 2008;1:78-84.
- Santos NM, Sales EM, Santos AB, Damasceno KA, Thé TS. Avaliação parasitológica de hortaliças comercializadas em supermercados e feiras livres no município de Salvador/Ba. *R Ci méd biol Salvador*. 2009;8(2):146-52.
- Barbosa VAA, Cardoso Filho FC, Silva AXL, Oliveira DGS, Albuquerque WF, Barros VC. Comparação da contaminação de alface (*Lactuca sativa*) proveniente de dois tipos de cultivo. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal* 2016;10(2):231-42.
- Prado SPT, Ribeiro EGA, Capuano DM, Aquino AL, Rocha GM, Bergamini AMM. Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP/Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2008;67(3):221-7.
- Boaretto LC. Viabilidade econômica da produção de alface, em quatro sistemas tecnológicos: campo coberto, túnel baixo, estufa e hidropônico [dissertação de mestrado] - Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2005.

26. Coelho LMPS, Oliveira SM, Milman MHSA, Karasawa KA, Santos RP. Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001 Oct;34(5):479-482.
27. Marques RP, Salomão RL, Mendonça RP, Diego LOS, Carvalho KO. Enteroparasitoses em alfaces comercializadas no município de Ituverava-SP. Investigaçao 2016;15(6):122. DOI: <https://doi.org/10.26843/investigacao.v15i6.1703>.
28. Oliveira SRP, Lopez FS, Rodolpho JMA, Escher E, Toledo L, Bertozzi RI, Anibal FF. Prevalência de parasitos em alface em estabelecimentos comerciais na cidade de Bebedouro, São Paulo. Revista Saúde-UNG 2013;7(1-2):5-10.
29. Velasco UP, Uchôa CMA, Barbosa AS, Rocha FS, Silva VL, Bastos OMP. Parasitos intestinais em alfaces (*Lactuca sativa*, L.) das variedades crespa e lisa comercializadas em feiras livres de Niterói-RJ. Rev patol trop. 2014;43(2):209-18.
30. Graffunder KG, Von Mühlen LE, Moraes GP, Fockink VIS, Muller GA. Parasitas humanos e de outros animais encontrados em alfaces *Lactuca sativa* comercializadas em municípios da região noroeste do Rio Grande do Sul. In: Salão do Conhecimento - XXIV Seminário de Iniciação Científica UNIJUÍ; 2016; Ijuí, RS. p.5.

---

Correspondência

**Armando Castello Branco Jr.**  
*Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM,*  
*campus de Iturama*  
*Avenida Rio Paranaíba, 1295, Centro*  
*38.280-000 - Iturama-MG, Brasil*

## Ocorrência de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina em otite externa canina

### Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. in canine external otitis

Leonardo Cesar Andriola Carvalho<sup>1</sup>

Thiago Andre Cidra<sup>2</sup>

Maria Celeste Nunes de Melo<sup>3</sup>

Wagner José Nascimento Porto<sup>4</sup>

Renato Motta Neto<sup>3</sup>

#### Resumo

**Objetivo:** O presente estudo objetivou traçar o perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (SMR) em cães com otite externa proveniente de atendimentos ambulatoriais ou de internação. **Métodos:** Isolamento e identificação bacteriológica por meio de provas bioquímicas e testes de susceptibilidade a antibacterianos. Detecção do gene *mecA* por PCR e determinação da concentração bactericida mínima (CBM) ao gluconato de clorexidina. **Resultados:** Foram coletadas 140 amostras e, destas, foram isolados 122 *Staphylococcus* spp. (49,4%). Dos isolados bacterianos, 14 cepas (11,47%) foram SMR (oito coagulase positiva e seis coagulase negativa), apresentando o gene *mecA*. A concentração bactericida mínima ao gluconato de clorexidina para os *Staphylococcus* spp. coagulase positiva foi de 500.000 µg/mL (0,5%) e para os coagulase negativa foi de 62.500 µg/mL (0,0625%). Cinco SMR foram positivos para o teste-D. Os SMR foram 100% sensíveis à linezolida, cloranfenicol e rifampicina. **Conclusão:** Apesar da baixa frequência da multirresistência encontrada, existe a necessidade de monitoramento efetivo em estirpes isoladas de animais domésticos, garantindo o sucesso do tratamento e controle da resistência bacteriana em infecções otológicas caninas.

#### Palavras-chave

Cães; otite externa; *Staphylococcus* spp.; resistência a meticilina

## INTRODUÇÃO

Dentre as patologias auditivas caninas, a otite externa apresenta-se como uma das mais importantes, representando de 8% a 15% dos casos atendidos na rotina clínica veterinária brasileira.<sup>(1)</sup> A otite externa é uma afecção inflamatória que acomete o canal auditivo externo, sendo considerada uma das enfermidades mais comuns em cães. Acredita-se que a otopatia ocorra em função das características anatômicas da orelha na espécie canina e apresenta-se muitas vezes como um desafio diagnóstico e terapêutico para o clínico.<sup>(2)</sup>

Nos últimos anos tem sido reportado que a resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos em isolados obtidos de secreções auriculares caninas vem aumentando.<sup>(1)</sup> Portanto, a cultura bacteriológica e os testes de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos são de grande importância para o sucesso do tratamento, bem como para prevenir a seleção de cepas multirresistentes.<sup>(3)</sup>

A redução da susceptibilidade a antibióticos, entre as várias espécies bacterianas, representa um problema de saúde pública mundial, uma vez que o surgimento de novos recursos terapêuticos não acompanha a evolução dos mecanismos de resistência bacterianos.<sup>(4)</sup> Em se tratando da meticilina, essa diminuição pode ocorrer tanto em *Staphylococcus* spp. coagulase positiva (SCP) quanto em *Staphylococcus* spp. coagulase negativa (SCN)<sup>(5)</sup> pela modificação das proteínas ligantes de penicilina sintetizadas pelo gene *mecA*, que torna as cepas bacterianas resistentes aos antibióticos betalactâmicos.<sup>(4)</sup>

O fenômeno da resistência aos antimicrobianos apresentado pelos *Staphylococcus* spp. em animais tem sido considerado um problema crescente em medicina veterinária.<sup>(5)</sup> O SMR tem sido diagnosticado como um agente etiológico de potencial zoonótico, sugerindo que animais de companhia e de produção podem servir como reservatórios deste microrganismo, ocasionando infecções em humanos.<sup>(4)</sup>

<sup>1</sup>Discente do curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal-RN, Brasil.

<sup>2</sup>Discente do curso de Mestrado em Biologia Parasitária – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal-RN, Brasil.

<sup>3</sup>Professor (a) de Microbiologia – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal-RN, Brasil.

<sup>4</sup>Professor de Parasitologia Veterinária – Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Maceió-AL, Brasil.

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal-RN, Brasil.

Recebido em 07/08/2019

Artigo aprovado em 12/12/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900891

Considerando a elevada frequência de atendimentos de cães com otite externa bacteriana nas clínicas veterinárias, o presente estudo teve por objetivo verificar a ocorrência de SMR e seu perfil de resistência aos antibacterianos em pacientes ambulatoriais e de internamento diagnosticados com a otopatia, visando o aprimoramento na conduta clínica do médico veterinário.

## MATERIAL E MÉTODOS

Tratou-se de um estudo transversal descritivo e de abordagem quantitativa. Entre junho de 2015 e abril de 2016 foram coletadas 140 amostras de secreção otológica de pacientes caninos de ambos os sexos sem distinção de raça e idade, diagnosticados com otite externa, recrutados por demanda espontânea através de atendimento clínico em um hospital veterinário privado na cidade de Natal (RN) para realização de bacterioscopia, cultura bacteriana e antibiograma. Este trabalho limitou-se apenas ao estudo bacteriológico.

Como critério de inclusão, os cães otopatas deveriam apresentar pelo menos dois sinais indicativos de otite externa: prurido, estenose do conduto auricular, eritema, descamação, lignificação, alterações na quantidade, cor e odor da secreção auricular, dor à palpação, meneio cefálico.

A coleta do espécime foi realizada com auxílio de swabs individuais estéreis dos pavilhões auriculares e meato acústico bilateralmente, acondicionados em meio de transporte Cary Blair (HiMedia®) e encaminhados ao Laboratório de Micobactérias da UFRN para processamento em até 24 horas após a coleta. Para isolamento bacteriano, as amostras foram cultivadas nos meios de ágar suplementado com 5% de sangue de carneiro desfibrinado (HiMedia®) e ágar MacConkey (HiMedia®) e então incubadas a 35°C por 24 horas em estufa bacteriológica.<sup>(6)</sup> A identificação ocorreu através da coloração de Gram e provas bioquímicas.<sup>(6,7,8)</sup> Posteriormente, todos os isolados foram submetidos ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos: penicilina (PEN, 10U), cefoxitina (CFO, 30 µg), gentamicina (GEN, 10 µg), sulfametoxazol-trimetoprima (SUT, 1,25/23,75 µg), levofloxacin (LEV, 5 µg), eritromicina (ERI, 15 µg), cloranfenicol (CLO, 30 µg), clindamicina (CLI, 2 µg), rifampicina (RIF, 5 µg), tetraciclina (TET, 30 µg) e linezolida (LNZ, 30 µg) pelo método de difusão em ágar Müller-Hinton (HiMedia®) com discos, incluindo o teste-D.<sup>(9,10)</sup>

As cepas resistentes à cefoxitina detectadas no antibiograma (ágar disco difusão) foram triadas para o teste Met-25. Neste teste, as amostras foram transferidas para tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI - HiMedia®) e então deixadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas sob agitação para posterior semeio em placas contendo 25 µg de meticilina.<sup>(11)</sup> Confirmando crescimento

bacteriano (positividade do Met-25), era então realizada PCR a fim de confirmar presença do gene *mecA*.

A extração do DNA cromossomal foi realizada pela técnica da lise térmica e o gene *mecA* foi detectado utilizando-se os primers *mecA* senso 5'-TCCAGATTACAACTTCAC CAGG-3' e *mecA* antissenso 5'-CCACTTCATATCTT GTAACG-3' amplificando 192 pares de bases na região V do domínio 23S do gene do RNA ribossômico do SCC*mec*, ambos na concentração de 0,5 µM. A reação foi preparada pela adição de 25 unidades/mL de Taq DNA polimerase, 200 µL dATP, 200 µL dCTP, 200 µL dGTP, 200 µL dTTP, 3 mM de MgCl<sub>2</sub> em termociclador Biorad® (São Paulo, Brasil) T-100 Thermal Cycler utilizando Master Mix (Promega®, São Paulo, Brasil).<sup>(12)</sup>

Os ciclos da reação foram: um ciclo de 94°C por cinco minutos para desnaturação inicial do DNA alvo, seguido de 35 ciclos de trinta segundos a 94°C, trinta segundos a 52°C, um minuto e trinta segundos a 72°C, e um passo de extensão final do primer a 72°C por cinco minutos. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1% com tampão TBE (Tris-Ácido-Bórico-EDTA) 0,5 x durante cinquenta minutos a 100V. Na sequência da eletroforese, os géis foram corados com brometo de etídio a 10 µL por dez minutos e visualizados em transiluminador UV e fotografados. Como controle positivo foi utilizada a cepa BMB 9393 e como controle negativo da reação, água livre de nuclease.<sup>(12)</sup>

Nos espécimes portadores do *mecA* foi determinada a concentração bactericida mínima ao gluconato de clorexidina, ou seja, a menor concentração da solução de clorexidina capaz de impedir o crescimento estafilocócico; 100 µL de BHI (concentração dupla) foram distribuídos em placa de microtitulação de 96 poços, em todos os poços. Foram adicionados à primeira coluna 100 µL de solução de gluconato de clorexidina a 1%; depois, foram homogeneizados e retirados 100 µL de cada poço da coluna 1 (da linha A até a linha H) para a coluna 2. Esse mesmo procedimento se repetiu sucessivamente por todas as colunas (até a coluna 12), obtendo-se, então, as concentrações da solução de clorexidina (1.000.000 µg/mL<sup>-1</sup> - 1%, a 7.812,5 µg/mL<sup>-1</sup> - 0,0078 12%).<sup>(13)</sup>

Em seguida, adicionou-se uma alíquota de 10 µL do inóculo bacteriano em cada poço da microplaca e incubou-se a 35°C por 24 horas. Após esse tempo, 10 µL de cada poço foram retirados e inoculados na superfície do ágar Müller-Hinton (HiMedia®) com as placas devidamente identificadas para cada concentração testada. As placas foram então incubadas a 36°C e, após 24 horas, foi observado se houve ou não crescimento bacteriano, e, se houve, em qual concentração.<sup>(13)</sup>

Todos os dados da pesquisa foram agrupados em tabelas. As análises estatísticas para as associações entre as variáveis foram realizadas com base no Teste Exato de

Fisher (software estatístico R) com nível de significância  $\alpha=0,05$ . O valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. O modelo estatístico foi proposto pelo Laboratório de Estatística Aplicada da UFRN.

### Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (CEUA/UFRN) sob o protocolo nº 027/2015.

## RESULTADOS

Nos isolados bacterianos dos 140 cães participantes do estudo percebeu-se que o gênero *Staphylococcus* foi presente em 122 amostras (82 SCN - 67,21%; 40 SCP - 32,79%). Destes, 14 cepas foram SMR (11,47%), sendo estas mesmas também positivas no Met-25 e apresentaram o gene *mecA* (Figura 1). Das cepas resistentes à Meticilina, cinco foram teste-D positivo (Figura 2).

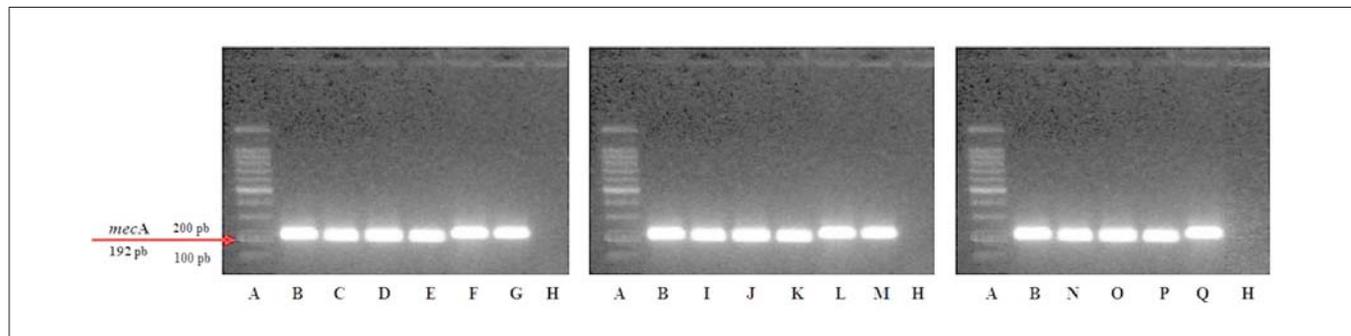


Figura 1. Produto da amplificação dos SMR em gel de eletroforese.

(A) Padrão de peso molecular 123 pb (invitrogen). (B) Cepa de *Staphylococcus aureus* BMB 9393, controle positivo para o gene *mecA*. (C) Amostra *S. aureus* 06. (D) Amostra SCN 09. (E) Amostra *S. aureus* 19. (F) Amostra SCN 20. (G) Amostra SCN 21. (H) Controle negativo. (I) Amostra *S. aureus* 24. (J) Amostra SCN 28. (K) Amostra *S. intermedius* 63. (L) Amostra *S. hyicus* 71. (M) Amostra SCN 79. (N) Amostra *S. aureus* 86. (O) Amostra SCN 109. (P) Amostra *S. aureus* 135. (Q) Amostra *S. aureus* 136.

Espécime	N	%	Teste-D (+)	Met-25	<i>mecA</i>
Coagulase (+)					
<i>S. Intermedius</i>	01	7,14	—	Positivo*	Positivo*
<i>S. aureus</i>	06	42,86	02	Positivo*	Positivo*
<i>S. hyicus</i>	01	7,14	—	Positivo*	Positivo*
Coagulase (-)	06	42,86	03	Positivo*	Positivo*
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>100</b>	<b>05</b>	<b>14</b>	<b>14</b>

(Teste Exato de Fisher: \* $p < 0,05$ )

Figura 2. Perfil dos SMR isolados. Identificação e perfil das 14 cepas de SMR isoladas.

Todos os SMR apresentaram perfil de multirresistência, mais notadamente frente às penicilinas (100%), cefamicinas (100%), sulfametoxazol + trimetoprim (78,57%), tetraciclina (78,57%) e lincosamidas (64,29%). Dentre os antimicrobianos testados, os que apresentaram melhor sensibilidade *in vitro* foram: linezolida (100%), cloranfenicol (100%), rifampicina (100%) e gentamicina (78,57%).

Houve significância estatística pelo Teste Exato de Fisher (software estatístico R -  $p < 0,05$ ) entre as variáveis "resistência à cefoxitina" no antibiograma, "Met-25 positivo" e "*mecA* positivo" nas 14 amostras de SMR. A CBM ao gluconato de clorexidina foi de 500.000  $\mu\text{g/mL}$  (0,5%) para os SCP e 62.500  $\mu\text{g/mL}$  (0,0625%) para os SCN (Figura 3).

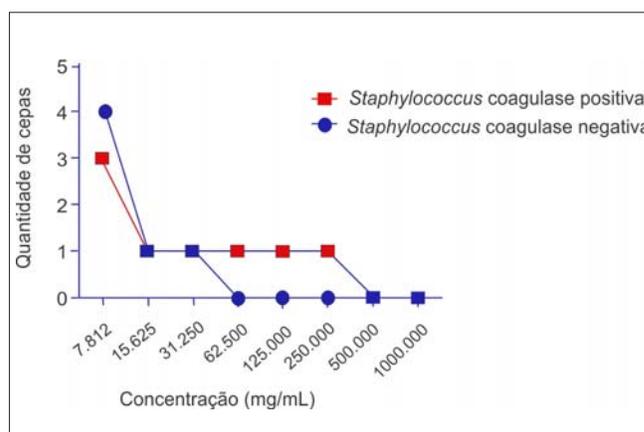


Figura 3. CBM para o gluconato de clorexidina das cepas SMR. Crescimento bacteriano frente às concentrações de Clorexidina testadas.

## DISCUSSÃO

Tunon et al.<sup>(14)</sup> discutiram que muitas vezes a otite é um sintoma de outras doenças e não um diagnóstico definitivo, podendo estar presente em cerca de até 25% dos cães atendidos em uma clínica veterinária por outro motivo. Esta pode ser a provável explicação para a otopatia ter sido tão detectada nos pacientes ambulatoriais.

O fato de os estafilococos serem comensais da pele e contaminantes ambientais pode ter favorecido sua ocorrência no presente estudo.<sup>(2)</sup> Além disso, a presença de diversos fatores de agressão e a produção da enzima coagulase estão correlacionadas à patogenicidade do gênero *Staphylococcus*, conferindo maior capacidade de determinar infecções, mesmo sobre pouca influência de fatores predisponentes.<sup>(1)</sup>

Das cinco cepas que foram teste-D positivo, três eram de SCN e este dado é alarmante, pois além de diminuir o arsenal terapêutico para o clínico veterinário, possibilita que uma bactéria comensal do microbioma adquira alto perfil de resistência, podendo, inclusive, transmiti-lo para outras bactérias, causando um agravo maior à saúde do animal acometido.<sup>(10)</sup> Tunon et al.<sup>(14)</sup> comentaram que os SCN são considerados patógenos emergentes. Eles podem causar infecções oportunistas em indivíduos que apresentem lesões ou façam uso de dispositivos médicos invasivos.<sup>(15)</sup>

Acredita-se que o uso indiscriminado de antimicrobianos tópicos pelos proprietários dos cães possa estar induzindo o processo de resistência bacteriana, uma vez que estes proprietários frequentemente ignoram preceitos de limpeza, frequência regular de aplicações e duração mínima do tratamento.<sup>(16)</sup> Sfaciotte et al.<sup>(17)</sup> discutiram que a ocorrência de microrganismos multirresistentes na medicina veterinária se dá pelo uso de antibacterianos como "promotores do crescimento" em aves e suínos, na profilaxia de doenças específicas, além do uso incorreto e no apelo comercial de certos fármacos.

Papich<sup>(18)</sup> apontou que normalmente os estafilococos resistentes à meticilina também são resistentes a diversas outras classes de antibacterianos não  $\beta$ -lactâmicos, como macrolídeos, sulfonamidas e tetraciclinas, dados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Lilenbaum et al.<sup>(19)</sup> verificaram que as melhores drogas contra infecções otológicas por *Staphylococcus* spp. foram rifampicina e gentamicina. Oliveira et al.<sup>(20)</sup> acrescentaram ainda as quinolonas, os aminoglicosídeos e o cloranfenicol como antimicrobianos frequentemente escolhidos para o tratamento de otites caninas devido à sua eficiência contra bactérias Gram-positivas e bactérias Gram-negativas. Além destes, Cruz et al.<sup>(21)</sup> indica-

ram as cefalosporinas e inibidores de  $\beta$ -lactamases para tratamento da otite externa canina, corroborando com este estudo.

Cepas de SMR associadas com um perfil de multirresistência podem ser preocupantes em função da sua implicação na Saúde Pública, mostrando que os cães podem ser reservatórios e fontes de transmissão em potencial de patógenos multirresistentes para o homem pelo contato físico direto que ocorre com alta frequência devido à percepção humana de que os animais de companhia são membros da família e pelo fato de ambas as espécies serem medicadas com as mesmas classes de antibacterianos. Por isso, investir na educação dos tutores, em noções sobre posse responsável dos animais, além de cuidados de limpeza, retirada de pelos e da umidade do conduto auditivo são imprescindíveis e aliadas na profilaxia e no controle da otite em cães e na consequente seleção de bactérias multirresistentes.<sup>(22)</sup>

Mimica e Mendes<sup>(23)</sup> demonstraram que nos últimos anos diversos autores conferiram boa acurácia do teste de disco-difusão com cefoxitina para o diagnóstico rotineiro da resistência à oxacilina em estafilococos. Pela relevância estatística que houve ( $p < 0,05$ ) entre os testes de resistência fenotípicos e genotípicos para os *Staphylococcus* spp. deste estudo, constatou-se que ambos são bons preditores do caráter de multirresistência estafilocócica na medicina veterinária e conclui-se a relevância do Met-25 no diagnóstico clínico laboratorial. O teste fenotípico do Met-25 acaba se tornando um método mais simples, eficiente e de baixo custo quando comparado aos de biologia molecular (PCR) quando se deseja realizar estudos de vigilância.<sup>(3)</sup>

Pegoraro et al.<sup>(24)</sup> destacaram que, para a ação degermante tanto de microrganismos Gram-positivos quanto Gram-negativos, o gluconato de clorexidina é amplamente utilizado na área da saúde pelo seu efeito antisséptico. É uma droga bem aceita no tratamento de afecções dermatológicas, de fácil acesso, baixo custo e provável baixa toxicidade em função da baixa CBM encontrada no presente estudo.

Camilo et al.<sup>(25)</sup> discutiram que a utilização do gluconato de clorexidina para lavagens otológicas em cães que apresentam bactérias multirresistentes em quadros clínicos de otites crônicas foi benéfica, servindo como um auxiliar terapêutico no tratamento da otopatia, porém, deve-se primeiro confirmar a integridade da membrana timpânica do paciente.

## CONCLUSÕES

A otite externa canina é uma enfermidade relevante na clínica veterinária e o seu envolvimento com bactérias multirresistentes é reportado. Para evitar a disseminação

dessas bactérias é de suma importância se estabelecer o perfil de susceptibilidade aos agentes antibacterianos, além dos testes de resistência, visando um tratamento direcionado e eficaz, obtendo-se assim o sucesso desejado.

Apesar da baixa ocorrência de *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina neste estudo, existe a necessidade de um monitoramento constante em cepas isoladas de animais domésticos em virtude da transmissão de genes de multiresistência e do potencial zoonótico que estes podem causar.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à equipe técnica do Laboratório de Ensino em Microbiologia (LEM-UFRN) e aos Laboratório de Bacteriologia Médica (LabMed-UFRN) e Laboratório de Micobactérias (LabMic-UFRN) pela assistência na execução deste estudo.

### Abstract

**Objective:** The objective of this study is to outline the resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. (MRS) isolates from outpatient and inpatient care dogs diagnosed with otopathy. **Methods:** Isolation and bacteriological identification through biochemical tests and antibacterial susceptibility testing. Detection of *mecA* gene by PCR and determination of minimum bactericidal concentration (CBM) to chlorhexidine gluconate. **Results:** 140 samples were collected and from these 122 was *Staphylococcus* spp. (49.4%). Of all bacterial isolates 14 (11.47%) were MRS (eight coagulase positive and six coagulase negative) with *mecA* gene. The minimum bactericidal concentration to chlorhexidine gluconate was 500,000 µg/mL (0.5%) for coagulase positive *Staphylococcus* spp. and 62,500 µg/mL (0.0625%) for coagulase negative. Five MRS were positive for D-test. The MRS were 100% sensitive to linezolid, chloramphenicol and rifampicin. **Conclusion:** Despite the low frequency of multiresistance found, there is a need for more effective monitoring in strains isolated from domestic animals to guarantee successful treatment and control of bacterial resistance in canine otological infections.

### Keywords

Dogs; otitis externa; *Staphylococcus* spp.; methicillin resistance

### REFERÊNCIAS

- Plischke KM, Pereira AV. Etiopatogenia, diagnóstico e tratamento da otite externa canina: revisão. *Medvet Derm*. 2012;2(4):188-95.
- Moura ESR, Fonseca ZAAS, Feijó FMC, Filgueira KD, Silva JBA. Isolamento e identificação de microrganismos causadores de otites em cães. *Pubvet [periódicos na internet]*. 2010 [acesso em 04 de nov 2016]; 4(2). Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/1599/isolamento-e-identificaccedilatideo-de-microrganismos-causadores-de-otites-em-catildees>.
- Pemma B, Varges RG, Medeiros L dos S, Martins GM de S, Martins RR, Lilienbaum W. Editora Guará, São Paulo, Brazil, Clínica Veterinária, 2011, Vol.16, Nº 90, pp. 82-88.
- Pantosti A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. *Front Microbiol*. 2012 Apr 9;3:127. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00127>.
- Kluytmans JA Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food products: cause for concern or case for complacency? *Clin Microbiol Infect*. 2010 Jan;16(1):11-5. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03110.x.
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of clinical microbiology. 7ª ed. Washington: ASM Press; 2009.
- Brito MVP, Campos GMM, Brito JRF. Esquema simplificado para identificação de estafilococos coagulase-positivos isolados de mastite bovina. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 1, p.79-82, Feb. 2002. Acessível em <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000100014>
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2007.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Pennsylvania: NCCLS; 2015.
- Amorim DMR, Person OC, Amaral PJ, Tanaka II. Resistência induzível à clindamicina entre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*. *O Mundo da Saúde* 2009;33:401-405.
- Coelho SMO, Moraes RAM, Soares LC, Pereira IA, Gomes LP, Souza MMS. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies humanas e animais. *Cienc. Rural*. 2007 Jan;(37):195-200.
- Cidral TA, Carvalho MC, Figueiredo AM, de Melo MC. Emergence of methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* resistant to linezolid with rRNA gene C2190T and G2603T mutation. *APMIS*. 2015 Oct;123(10):867-71. doi: 10.1111/apm.12426
- Bona EAM, Pinto FGS, Fruet TK, Jorge TCM, Moura AC. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arq. Inst. Biol*. 2014 Feb;81(3):218-25. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001192012>.
- Tunon GIL, Silva EP, Faienstein CC. Isolamento de estafilococos multiresistentes de otites em cães e sua importância para a saúde pública. *Bepa*. 2008 Out;5(58):4-7.
- Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009 Mar;23(1):73-98. doi: 10.1016/j.idc.2008.10.001.
- Hariharan H, Coles M, Poole D, Lund L, Page R. Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *Can. Vet. J*. 2006 Mar;47(3):253-55.
- Sfaciotte RAP, Coronel LG, Osaki SC, Wosiacki SR. Gram-positive bacterial resistant strains of interest in animal and public health. *Semina: Ci. Agrárias*. 2015 Jul;36(4):2693-2712.
- Papich MG. Selection of antibiotics for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: time to revisit some old drugs? *Vet Dermatol*. 2012 Aug;23(4):352-60, e64. doi: 10.1111/j.1365-3164.2011.01030.x
- Lilienbaum W, Veras M, Blum E, Souza GN. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococci* isolated from otitis externa in dogs. *Lett Appl Microbiol*. 2000 Jul;31(1):42-5. DOI: 10.1046/j.1472-765x.2000.00759.x
- Oliveira VB, Ribeiro MG, Almeida ACS, Paes AC, Condas LAZ, Lara GHB, et al. Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspectos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos. *Semina: Ci. Agrárias*. 2012 Nov; 33(6):2367-74.
- Cruz AR, Paes AC, Siqueira AK. Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos. *Vet. e Zootec*. 2012 Dez;19(4):601-10.
- Lima M, Pedroso KC, Lucas R, Medeiros FRC, Rosa C, Lezan S, et al. Estudo retrospectivo de identificação de bactérias isoladas em otites de cães e seu perfil de susceptibilidade nas cidades: Rio de Janeiro e São Paulo. *Medvet Derm*. 2012;2(3):100-4.
- Mimica MJ, Mendes CMF. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. *J. Bras. Patol. Med. Lab*. 2007 Dez;43(6):399-406.

24. Pegoraro J, Silvestri L, Cara G, Stefenon L, Mozzini CB. Efeitos adversos do gluconato de clorexidina à 0,12%. J Oral Invest. 2015 Nov;3(1):33-7.
25. Camilo CCES, Travessos VM, Lima ER. Avaliação terapêutica da otite externa em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco. In: XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão [evento na internet]. 2013 09dez-13dez; Recife, Brasil [acesso em 26 nov 2016]. Disponível em: <http://eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/r0886-1.pdf>.

---

Correspondência

**Leonardo Cesar Andriola Carvalho**  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)  
Campus Universitário, Lagoa Nova  
59078-970 – Natal-RN, Brasil

# Inclusões semelhantes aos corpúsculos de Russell em blastos mieloides

## *Inclusions similar to Russell bodies in myeloblasts*

João Thomas Schmidt Mello<sup>1</sup>

Maria Carla Dania Barbosa<sup>2</sup>

Julia Poeta<sup>1</sup>

Carine Ghem<sup>3</sup>

### Resumo

Alterações nos mecanismos celulares resultam no aparecimento de corpúsculos de Russell, que são inclusões intracitoplasmáticas basofílicas. Estas inclusões ocorrem devido a uma indigestão celular de proteínas e podem ser observadas em diversas condições patológicas como leucemias, mieloma múltiplo, linfoma de Burkitt e gastrite com corpúsculos de Russell, sendo raramente observadas em leucemias mieloides agudas. O presente estudo relata a presença de inclusões semelhantes aos corpúsculos de Russell em blastos no sangue periférico de uma paciente de 51 anos com leucemia mieloide aguda.

### Palavras-chave

Leucemia mieloide; hematologia; corpos de inclusão

## INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela expansão clonal de células progenitoras hematopoiéticas, que têm como consequência a proliferação de células mieloides imaturas, com prejuízo da hematopoiese normal, levando a infecções severas, anemia e hemorragia.<sup>(1)</sup>

A LMA pode ocorrer em qualquer faixa etária, sendo uma doença predominante em pessoas idosas, com média de idade ao diagnóstico de 68 anos.<sup>(2)</sup> A sua patogênese está associada a alterações genéticas e moleculares, sendo descritas diferentes translocações cromossômicas e mutações gênicas que estão envolvidas com alterações no mecanismo de proliferação celular, como é o caso das mutações incluindo os genes *PML*, *RUNX1*, *CBFB*, *TET2*, *FLT3*, dentre outros.<sup>(3)</sup>

A mutação do gene *FLT3* (*FMS-like tyrosina kinase*) é uma das mais comuns alterações genômicas na LMA, identificada em aproximadamente 1/3 dos pacientes. O gene *FLT3* está localizado no cromossomo 13q12 e codifica um receptor com atividade tirosina quinase altamente expresso em células progenitoras hematopoéticas. Esse receptor está associado à sinalização nas vias de apoptose, proliferação celular e diferenciação das células na medula

óssea, e o seu mau funcionamento provoca descontrole na produção hematopoiética e imaturidade celular.<sup>(4,5)</sup>

Alterações nos mecanismos celulares também podem ser evidenciadas pela presença dos corpúsculos de Russell, que são inclusões intracitoplasmática basofílicas. Estas inclusões ocorrem devido a uma indigestão celular de proteínas e podem ser observadas em diversas condições patológicas como: leucemias, mieloma múltiplo, linfoma de Burkitt e gastrite com corpúsculos de Russell, sendo mais raras de serem observadas nas leucemias mieloides agudas.<sup>(6)</sup> As possíveis causas destas alterações intracelulares são a falha na degradação de proteínas no retículo endoplasmático, mutação em uma imunoglobulina da classe G, que não pode ser degradada pelas proteases, ou falha no transporte para a degradação.<sup>(7)</sup>

Os corpúsculos de Russell representam morfologicamente a cisterna do retículo endoplasmático dilatado contendo imunoglobulinas condensadas, geralmente uma imunoglobulina mutada que não é secretada ou não é degradada. Originalmente foram descritos nas células plasmáticas, porém têm sido encontrados em diferentes tipos celulares.<sup>(7)</sup>

O presente estudo tem como objetivo relatar a presença de inclusões citoplasmáticas semelhantes aos corpúsculos de Russell em blastos de esfregaço de sangue

<sup>1</sup>Biomédico (a). Centro Universitário Ritter dos Reis, Porto Alegre-RS, Brasil.

<sup>2</sup>Farmacêutica-Bioquímica. Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre-RS, Brasil.

<sup>3</sup>Biomédica. Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre-RS, Brasil.

Instituição: Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). UniRitter - Centro Universitário Ritter dos Reis, Porto Alegre-RS, Brasil.

Recebido em 09/09/2019

Artigo aprovado em 12/12/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900909

periférico em uma paciente com LMA. Este estudo obteve aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob o número 2018-08-24, e a paciente assinou o termo de consentimento livre e esclarecido.

## RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, 51 anos de idade, com diagnóstico prévio de LMA, apresentou recaída medular da doença dois anos após o diagnóstico. No hemograma foram observados: eritrócitos: 2,55 milhões/uL; hemoglobina: 7,3 g/dL; hematócrito: 21,5%; VCM: 84,3fL; HCM: 28,6 pg e leucócitos totais:  $19,38 \times 10^3/uL$ , com presença de 95% de blastos no esfregaço de sangue periférico. Na análise do esfregaço sanguíneo foram observados blastos com inclusões intracitoplasmáticas basofílicas, muito similares aos corpúsculos de Russell (Figura 1). A paciente apresentou cariótipo normal, com presença de mutação do gene *FLT3*.

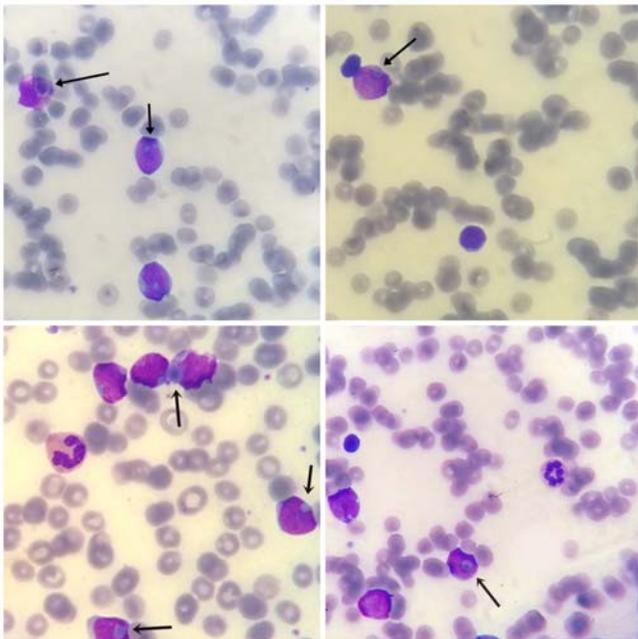


Fig. 1. Blastos com inclusões citoplasmáticas semelhantes a corpúsculos de Russell.

O estudo imunofenotípico da população total de células identificou 87% de células mieloides imaturas, positivas para cMPO fraco e heterogêneo, CD33 fraco e CD45 fraco, destas 25% expressam CD117 fraco. Ausência de CD35, HLA-DR e CD15, sendo esse imunofenótipo sugestivo de LMA.

O medulograma apresentou medula hiper celular com a hematopoiese normal substituída por infiltração de 90% de blastos com aspecto mielóide. A paciente iniciou protocolo quimioterápico e entrou em remissão morfológica. Não foi realizado o transplante de células-tronco hematopoiéticas devido ao alto risco de morte.

## DISCUSSÃO

Os achados morfológicos no esfregaço de sangue periférico, mielograma e a imunofenotipagem por citometria de fluxo são utilizados em conjunto para confirmar o diagnóstico da LMA. A análise citogenética e o *screening* para mutações genéticas também auxiliam no diagnóstico e prognóstico do paciente, sendo que a mutação do gene *FLT3* é um alvo importante para o desenvolvimento de terapias para o tratamento da LMA e outras formas de leucemia. Entender os mecanismos pelos quais cada mutação interage com os mecanismos celulares pode auxiliar no diagnóstico e prognóstico do paciente.

O presente relato demonstrou a presença de inclusões morfológicamente semelhantes aos corpúsculos de Russell em blastos de uma paciente com LMA. Acredita-se que a hiperestimulação antigênica na leucemia, provocada pelas inflamações ou pela invasão de agentes patológicos, possa resultar em disfunções de armazenamento de proteínas no retículo endoplasmático, não só em plasmócitos mas também em blastos.<sup>(8,9)</sup> No entanto, não foi evidenciada a presença de processo inflamatório ou infeccioso ativo nesta paciente, uma vez que estes quadros poderiam estar associados a depósitos intracelulares e, desta forma, contribuir para a formação das inclusões observadas.

Bunting & Lew demonstraram a presença de inclusões semelhantes aos corpúsculos de Russell em um caso de leucemia linfoblástica, porém os exames de imunohistoquímica foram negativos para IgM e cadeias leves Kappa e Lambda, demonstrando que o material condensado não era constituído por imunoglobulinas, como ocorre na formação dos corpúsculos de Russell. As inclusões eram compostas de material granular e fibrilar, demonstrando que distúrbios fisiológicos são capazes de causar disfunções de armazenamento intracelular em blastos.<sup>(10)</sup>

No presente relato de caso não foi possível a realização de exames de imunohistoquímica para avaliar a composição das inclusões observadas, e não está claro o papel desempenhado por esse achado incomum na morfologia dos blastos para o diagnóstico e prognóstico da LMA, bem como se existe uma associação da mutação do gene *FLT3* com a presença dos corpúsculos de Russell, uma vez que essa mutação é a causa de alterações de mecanismos celulares. O conhecimento das características bioquímicas e consequências fisiológicas dos corpúsculos de Russell ainda permanecem obscuras, sendo necessários estudos adicionais para avaliar o seu real valor prognóstico.

### Abstract

*Changes in cell mechanisms result in the appearance of Russell bodies, which are basophilic intracytoplasmic inclusions. These inclusions occur due to cellular indigestion of proteins, and can be observed in*

several pathological conditions such as leukemias, multiple myeloma, Burkitt's lymphoma, and gastritis with Russell bodies, but rarely observed in acute myeloid leukemias. The present study reports the presence of inclusions similar to Russell bodies in peripheral blood blasts in a 51-year-old female patient with acute myeloid leukemia.

**Keywords**

*Myeloide Leukemia; hematology; inclusion bodies*

---

**REFERÊNCIAS**

1. Short NJ, Rytting ME, Cortes JE. Acute myeloid leukaemia. *Lancet*. 2018 Aug 18;392(10147):593-606. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31041-9.
2. McNerney ME, Godley LA, Le Beau MM. Therapy-related myeloid neoplasms: when genetics and environment collide. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(9):513-27. doi: 10.1038/nrc.2017.60.
3. Goldman SL, Hassan C, Khunte M, Soldatenko A, Jong Y, Afshinnekoo E, et al. Epigenetic Modifications in Acute Myeloid Leukemia: Prognosis, Treatment, and Heterogeneity. *Front Genet*. 2019;10:133. doi: 10.3389/fgene.2019.00133.
4. Daver N, Schlenk RF, Russell NH, Levis MJ. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia*. 2019;33(2):299-312. doi: 10.1038/s41375-018-0357-9.
5. Short NJ, Kantarjian H, Ravandi F, Daver N. Emerging treatment paradigms with FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719827310.
6. Yorita K, Iwasaki T, Uchita K, Kuroda N, Kojima K, Iwamura S, et al. Russell body gastritis with Dutcher bodies evaluated using magnification endoscopy. *World J Gastrointest Endosc*. 2017; 9(8):417-24. doi: 10.4253/wjge.v9.i8.417.
7. Kopito RR, Sitia R. Aggresomes and Russell bodies. Symptoms of cellular indigestion? *EMBO Rep*. 2000;1(3):225-31. DOI: 10.1093/embo-reports/kvd052.
8. Mossuto MF, Ami D, Anelli T, Fagioli C, Doglia SM, Sitia R. Biochemical nature of Russell Bodies. *Sci Rep*. 2015;5:12585. <https://doi.org/10.1038/srep12585>
9. Mattioli L, Anelli T, Fagioli C, Tacchetti C, Sitia R, Valetti C. ER storage diseases: a role for ERGIC-53 in controlling the formation and shape of Russell bodies. *J Cell Sci*. 2006;119(Pt 12):2532-41.
10. Bunting ST, Lew G. "Russell-like" bodies in Philadelphia chromosome-positive B-lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014;123(16):2448. doi: 10.1182/blood-2014-01-547513.

---

Correspondência

**João Thomas Schmidt Mello**

Ramiro Barcelos 2350, Bairro Santa Cecília  
Porto Alegre-RS, Brasil

## Avaliação da concordância da dispensação de antimicrobianos em relação aos microrganismos isolados em culturas de um hospital no meio-oeste catarinense

*Evaluation of the concordance of the antimicrobial dispensation in relation to the microorganisms isolated in cultures of a hospital in the middle-west of Santa Catarina State*

Alana de Souza<sup>1</sup>

Bruna do Prado Alves<sup>1</sup>

Emyr Hiago Bellaver<sup>2</sup>

Vilmair Zancanaro<sup>2</sup>

### Resumo

Os antibacterianos estão entre os fármacos mais prescritos e dispensados, sobretudo em ambientes hospitalares, porém, seu uso inadequado, metodologias indevidas de teste, falta de coesão na prescrição e não aderência do paciente ao tratamento implica resistência bacteriana, elevação de custos com terapias e diminuição da qualidade de vida do paciente. Objetivou-se com este estudo analisar a coerência da prescrição, dispensação e antibacterianos testados, tendo como base as normativas do *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) contidas no manual M100-S25. Os dados foram obtidos por meio da análise das hemoculturas, culturas de urina e de aspirado traqueal de pacientes internados no período de janeiro a julho de 2017 em um hospital de médio porte de um município localizado no meio-oeste catarinense, totalizando 66 amostras. Do total de prontuários e culturas analisadas, 28,8% dos antibacterianos prescritos não estavam de acordo com a metodologia ou com a classe testada preconizada pelo CLSI; 37,9% estavam parcialmente corretos e 33,3% estavam corretos em relação aos objetivos deste estudo, sendo observadas necessidades de redirecionamento da terapêutica e adequação mais rigorosa das metodologias vigentes no manual. Os resultados do presente estudo podem servir de alerta às instituições hospitalares para que adotem a racionalização do uso de antimicrobianos, fundamentado no laudo do antibiograma liberado pelo laboratório e na concordância da dispensação em relação aos microrganismos isolados e contemplando medidas que permitam uma melhoria no padrão de prescrição pautado no CLSI.

### Palavras-chave

Antimicrobianos; dispensação; hospital

## INTRODUÇÃO

Na prática hospitalar, os antibacterianos estão entre os medicamentos mais prescritos e o seu uso inadequado implica resistência bacteriana, elevação de custos e diminuição da qualidade de vida do paciente. O princípio da escolha do antimicrobiano se norteia por testes de efetividade microbiológica para microrganismos coletados do paciente, isto é, terapia específica. Em contrapartida, existem situações nas quais o início do tratamento precisa ser feito antes do diagnóstico laboratorial, representando a terapia empírica. O tratamento empírico é aceitável em condições de severidade da infecção, impossibilidade de se conseguir isolado clínico e incompetência de testes de eficiência microbiológica para algumas bactérias.<sup>(1,2)</sup>

A utilização de antimicrobianos nos hospitais tem sido avaliada como inadequada, irrelevante ou exagerada. Os microrganismos, anteriormente sensíveis aos antimicrobianos comuns e que se limitavam a ocasionar infecções dentro do ambiente hospitalar, têm se tornado razões de morbidade e mortalidade nos pacientes internados, além de afetar o ambiente extra-hospitalar por seus diversos meios de difusão, promovendo doenças graves na população antes saudável.<sup>(3,4)</sup>

Além disso, os eventos adversos a medicamentos (EAMs) podem promover o prolongamento do tempo de internação hospitalar, ocasionar agravamentos na situação clínica do paciente e até levar ao óbito.<sup>(5)</sup>

Além dos fatores relativos aos agentes microbianos, a escolha do antimicrobiano deve estar fundamentada no

<sup>1</sup>Universidade Alto Vale do Rio do Peixe (UNIARP), Campus Caçador – Caçador-SC, Brasil.

<sup>2</sup>Mestre. Universidade Alto Vale do Rio do Peixe (UNIARP), Campus Caçador – Caçador-SC, Brasil.

Instituição: Universidade Alto Vale do Rio do Peixe (UNIARP), Campus Caçador – Caçador-SC, Brasil.

Recebido em 30/06/2019

Artigo aprovado em 11/12/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900874

conhecimento de outros fatores, como as peculiaridades do hospedeiro e os aspectos farmacológicos básicos (farmacocinética e farmacodinâmica) do antimicrobiano a ser utilizado, fato relevante apontado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma vez que cerca de 50% das prescrições dos antimicrobianos em todo o mundo são inapropriadas. Tal fato justifica o monitoramento do uso de antimicrobianos, desde sua compra até os resultados terapêuticos obtidos através deles.<sup>(6,7)</sup>

Considerando a importância que representa esta classe terapêutica, devem-se centralizar esforços em medidas que correlacionem o microrganismo isolado, o perfil de sensibilidade e a necessidade de padronização dos antibacterianos testados com as normas vigentes do *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)*, para que a prescrição adequada de antimicrobianos se consolide em uma das ações no combate à resistência microbiana.<sup>(8,9)</sup>

A equipe laboratorial tem como componentes sua maior parte formada por farmacêuticos e biomédicos. Ambos têm a propensão de amplificar medidas, tendo por principal objetivo prevenir a propagação do microrganismo resistente contestando o uso inadequado de antimicrobianos, as elevadas taxas de infecções hospitalares, extensão no tempo de internação e mortalidade, condição que vem agravando a posição financeira dos hospitais e todo o sistema de saúde pública no país.<sup>(10,11)</sup>

A Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) é indispensável na prevenção da resistência bacteriana. O farmacêutico e o biomédico, como componentes da CCIH, são os profissionais capacitados para avaliar as prescrições hospitalares, propor o uso adequado dos antimicrobianos, elaborar juntamente com uma equipe multidisciplinar um guia de uso de antibacterianos. A padronização deve ser realizada, assim como os exames de identificação do agente infeccioso e sensibilidade dos antimicrobianos, para a correta seleção do fármaco, a prevenção da propagação do patógeno e sua correta eliminação do ambiente.<sup>(12,13)</sup>

Assim, o objetivo deste estudo foi analisar a concordância da dispensação de antimicrobianos em relação aos microrganismos isolados em culturas de um hospital no meio-oeste catarinense.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com base nos resultados dos laudos laboratoriais microbiológicos e as prescrições médicas de antibacterianos. O local da pesquisa foi em um hospital do meio-oeste catarinense de médio porte com 163 leitos.

Essa instituição possui abrangência regional prestando serviços aos usuários o Sistema Único de Saúde, atendimentos de conveniados e particulares. Também conta com

serviços de média complexidade nas demais unidades assistenciais: ambulatório de especialidades, urgência e emergência, Centro e Unidade de Terapia Intensiva (CTI), pediatria e obstetrícia. A farmácia do hospital possuía sistema de distribuição de medicamentos individualizada. O laboratório do hospital possuía setor de microbiologia para as análises das culturas, identificação bacteriana e teste de sensibilidade aos antibacterianos.

Após aprovação de número 67386417.3.0000.5593 do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe – UNIARP, foram coletados os dados dos prontuários eletrônicos dos pacientes. Após a identificação dos pacientes, foram analisados os laudos laboratoriais microbiológicos e as prescrições médicas dos adultos internados na faixa etária de 19 a 88 anos, de ambos os gêneros, no período de janeiro de 2017 a julho de 2017.

Como critério de inclusão, foram coletados os dados apenas dos prontuários com prescrição de antibacterianos via oral e/ou parenteral, cujos pacientes permaneceram no mínimo cinco dias internados e possuíam cultura com identificação bacteriana e teste de susceptibilidade aos antimicrobianos realizados pelo laboratório de microbiologia do hospital.

Para a avaliação da concordância da dispensação de antimicrobianos em relação aos microrganismos isolados foram analisadas as bactérias causadoras da infecção, a susceptibilidade ao antimicrobiano e a relação como a padronização proposta pelo CLSI. Para as análises dos dados foram elaboradas planilhas no programa Microsoft Office Excel e, após, processada a estatística descritiva utilizando-se valores absolutos e porcentagens por meio de tabelas.

## RESULTADOS

Neste estudo pôde-se verificar que 17,4% tinham a idade entre 19 e 40 anos, 23,9% entre 41 e 60 anos e 58,6% entre 61 e 88 anos. No período estudado observou-se um total de 66 amostras sendo quatro de hemocultura, 21 de urocultura e 41 de aspirado traqueal.

Os antibacterianos testados foram divididos em grupos (A, B, C, U) segundo normativas do CLSI. Para o grupo A são testados antibacterianos das classes das penicilinas, cefalosporinas de 1ª e 3ª geração, aminoglicosídeos, macrolídeos, sulfonamidas e lincosaminas. Para o grupo B são testados antibacterianos das classes das penicilinas, cefalosporinas de 2ª, 3ª e 4ª geração, aminoglicosídeos, quinolonas, carbapenêmicos ( $\beta$ -lactâmico), glicopeptídeos, oxazolidonas e sulfonamidas. Para o grupo C são utilizados os antibacterianos das classes  $\beta$ -lactâmicos, cefalosporinas de 3ª e 5ª geração, tetraciclina, anfenicóis, quinolonas e aminoglicosídeos. O grupo U fica restrito ao

uso para uroculturas e são testados antibacterianos das classes cefalosporinas de 1ª geração, as quinolonas, tetraciclinas e sulfonamidas.

Ao analisarmos a Tabela 1, infere-se que os antibacterianos testados estão parcialmente corretos e de acordo com o CLSI. Foram testados do grupo A 22,2%, do grupo B, 5,5%, grupo B\*, 16,6%, grupo C, 16,6%, grupo U, 22,2% e grupo Z, 16,6%. Os antibacterianos prescritos e dispensados variaram de um a cinco por paciente, sendo 25% dispensados de forma correta, 25% parcialmente correta

e 50% de forma incorreta, ou seja, não preconizados pelo CLSI em um período de internação, que foi de 14 a 43 dias.

A distribuição dos antibacterianos pertence a diferentes grupos dos antibacterianos prescritos, nota-se que o foco de interesse não foi alcançado, visto que houve erros na prescrição e dispensação dos antibacterianos. Dessa forma, infere-se que pacientes com um longo período de internação podem não ter obtido resultados positivos com o tratamento, uma vez que fizeram uso inadequado de antibacterianos.

Tabela 1 - Análise dos antibacterianos testados e dispensados na unidade hospitalar em amostras de hemocultura no período de internação nos meses de janeiro a julho de 2017, totalizando quatro culturas no período

Período de internação	Microrganismo isolado	Grupo de antibacterianos testados segundo CLSI	Antibacterianos prescritos e dispensados	Concordância da dispensação
14 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B* C U Z	CRO** VAN	N
30 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B* C U Z	CPM, PPT, VAN	N
31 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B* U	ASB, CPM, LVX, MER, VAN	P
43 dias	<i>Escherichia coli (E. coli)</i>	A B C U Z	PPT	S

Z- Antibiótico testado não presente nos grupos antimicrobianos preconizados pelo CLSI;

N- A dispensação realizada não condiz com os antibacterianos testados;

S- A dispensação segue os antibacterianos testados e as metodologias de teste são aceitas;

P- Condiz parcialmente. Houve a dispensação de antibacterianos não testados ou não pertencentes ao grupo bacteriano preconizados pelo CLSI;

\*O antibiótico testado não segue a metodologia proposta;

\*\*Antibiótico dispensado não foi testado e/ou não está presente nos grupos antimicrobianos preconizados pelo CLSI.

Ceftriaxona (CRO); Vancomicina (VAN); Cefepime (CPM); Piperacilina+Tazobactam (PPT); Ampicilina+Subactam (ASB); Levofloxacino (LVX) e Meropenem (MER).

Ao analisarmos os resultados apresentados na Tabela 2, observa-se que 21,6% dos antibacterianos foram testados corretamente, seguindo a norma preconizada pelo CLSI. Os antibacterianos testados do grupo A foram 21,6%, grupo B, 21,6%, grupo C, 18,5%, grupo U, 21,6%, grupo Z, 9,2% e

grupo Z\*, 7,2%. O período de internação variou de 6 a 130 dias, tendo em vista que os pacientes com longo prazo de internamento estavam tratando outros tipos de doenças.

Após os resultados das uroculturas, ressalta-se que 61,9% do total de pacientes receberam tratamento dire-

Tabela 2 - Análise dos antibacterianos testados e dispensados na unidade hospitalar em amostras de urocultura no período de internação nos meses de janeiro a julho de 2017, totalizando 21 culturas no período (1ª parte)

Período de internação	Microrganismo isolado	Grupo de antibacterianos testados segundo CLSI	Antibacterianos prescritos e dispensados	Concordância da dispensação
07 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	CFZ	S
53 dias	<i>Proteus mirabilis</i>	A B C U Z*	FLU, PPT, VAN**, POLB	N
11 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	ASB	S
19 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	PPT	S
15 dias	<i>E. coli</i>	A B U	PPT, LVX	S
130 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z*	AMI, ASB, CPM, FLU**, CPM, FLU, MER, PPT, POLB, TEI**, VAN**	P
17 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	CRO, MER	S
30 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z*	CPM, PPT, VAN	P
28 dias	<i>Morganella morganii</i>	A B C U Z*	MER, VAN**	N
24 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	FLU**, IPM, LVX	S
7 dias	<i>E. coli</i>	A B U Z	NIT	S
39 dias	<i>E. coli</i>	A B U Z	CFZ, CRO	S
9 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	AMC, CAZ, CPM	S
28 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	CRO, CIP, PPT	S
74 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z*	AMC, CAZ, LVX, PPT, VAN**	P
7 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	ASB, CIP, GEN, LVX	S
13 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	CPM	N

Tabela 2 - Análise dos antibacterianos testados e dispensados na unidade hospitalar em amostras de urocultura no período de internação nos meses de janeiro a julho de 2017, totalizando 21 culturas no período (2a parte)

Período de internação	Microrganismo isolado	Grupo de antibacterianos testados segundo CLSI	Antibacterianos prescritos e dispensados	Concordância da dispensação
13 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	CPM	N
14 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z*	AMC, LVX, PPT, VAN**	P
11 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	AMI, CAZ, CPM	S
6 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	AMP	S
55 dias	<i>Enterococcus</i> sp.	A B C U Z*	AMI**, CPM**, FLU**, LVX, MER**, POLB, VAN	N

Z- Antibiótico testado não presente nos grupos antimicrobianos preconizados pelo CLS; N- A dispensação realizada não condiz com os antibacterianos testados; S- A dispensação segue os antibacterianos testados e os testados ou não pertencentes ao grupo bacteriano preconizados pelo CLSI;

\*O antibiótico testado não segue a metodologia proposta pelo CLSI;

\*\*Antibiótico dispensado não foi testado e/ou não está presente metodologias de teste são aceitas;

P- Condiz parcialmente houve dispensação de antibacterianos não testados ou não pertencentes ao grupo bacteriano preconizados pelo CLSI.

Cefazolina (CFZ); Fluconazol (FLU); Piperacilina+Tazobactam (PPT); Vancomicina (VAN); Polimixina B (POLB); Ampicilina+Subactam (ASB); Imipenem (IPM); Levofloxacino (LVX); Amicacina (AMI); Meropenem (MER); Teicoplanina (TEI); Ceftriaxona (CRO); Nitrofurantoina (NIT); Amoxicilina+Clavulanato (AMC); Ciprofloxacino (CIP); Ceftazidima (CAZ); Cefepime (CPM) e Gentamicina (GEN).

cionado onde os antibacterianos foram prescritos e dispensados de acordo com a preconização do CLSI. Do total, 19,0% estavam parcialmente corretos enquanto que 19,0% foram prescritos de forma inadequada. Em face ao exposto, mais da metade dos pacientes teve o tratamento adequado para a patologia diagnosticada.

A análise da Tabela 3 evidencia que 15,6% dos antibacterianos foram testados de maneira inadequada em um

período de internamento que variou entre 5 a 99 dias, lembrando que os pacientes com internação, em longo prazo, tratavam também outras patologias.

A análise da dispensação de antimicrobianos em amostras de aspirado traqueal apresenta um erro significativo em relação às prescrições e à dispensação, com apenas 22,5% prescritas de forma correta, 30% de prescrições incorretas e 47,5% parcialmente corretas, haven-

Tabela 3 - Análise dos antibacterianos testados e dispensados na unidade hospitalar em amostras de cultura de aspirado traqueal no período de internação nos meses de janeiro a julho de 2017, totalizando 40 culturas no período (1ª parte)

Período de internação	Microrganismo isolado	Grupo de antibacterianos testados segundo CLSI	Antibacterianos prescritos e dispensados	Concordância da dispensação
13 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B C B*	CPM, MER**, VAN	P
5 dias	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	A B Z	VAN, FLU**, CPM, PPT**	S
7 dias	<i>Klebsiella ozaenae</i>	A B C	VAN**, PPT	P
12 dias	<i>Hafnia alvei</i>	A B U	VAN**, MER	S
99 dias	<i>S. pneumoniae</i>	A B C Z	AMI, AMP, FLU**, MER, POLB**, TEI* VAN**, PPT	P
99 dias	<i>Klebsiella oxytoca</i>	A B C U Z	AMI, ASB, CPM, FLU**, MER, POLB, EI**, VAN**, PPT	P
30 dias	<i>Staphylococcus aureus</i>	A B C U Z*	CPM**, PPT, VAN	P
10 dias	<i>Serratia liquefaciens</i>	A B C U Z	MER, CPM	S
59 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B C* U	AMI, ASB, FLU**, MER, POLB**, TEICO, VAN, PPT, CPM	N
17 dias	<i>Staphylococcus aureus</i>	A B C U Z	ASB, CAZ**, CPM, ERI	N
8 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	AMP, CAZ	S
13 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	CPM, PPT	S
12 dias	<i>Klebsiella</i> sp.	A B C U Z	ASB, CPM, MER, POLB, VAN**	P
12 dias	<i>E. coli</i>	A B C Z	ASB, CPM, MER, POLB, MER, VAN**	P
30 dias	<i>Klebsiella ozaenae</i>	A B C U Z	AMI, MER, VAN**	S
29 dias	<i>Staphylococcus aureus</i>	A B C U	AMI, MER, VAN**	N
16 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B C U	CIP, PPT	N
20 dias	<i>E. coli</i>	A B C U	CRO, CIP, CPM	S
20 dias	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	A B C* U	CFL, CPM, FLU**, MER**, VAN	N

Tabela 3 - Análise dos antibacterianos testados e dispensados na unidade hospitalar em amostras de cultura de aspirado traqueal no período de internação nos meses de janeiro a julho de 2017, totalizando 40 culturas no período (2ª parte)

Período de internação	Microrganismo isolado	Grupo de antibacterianos testados segundo CLSI	Antibacterianos prescritos e dispensados	Concordância da dispensação
37 dias	<i>Klebsiella ozaenae</i>	A B C* U Z	AMI, CRO, FLU**, GEN, MER, PPT, VAN	S
20 dias	<i>Enterobacter sakazakii</i>	A B C U Z	MER PIP+TAZ, VAN**	P
16 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	CFZ, COM, VAN**	P
5 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	FLU**, GEN, IPM, MER, PPT, VAN**	P
56 dias	<i>S. aureus</i>	A B C* U Z	CPM, PPT, VAN	N
14 dias	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	A B C* Z	ASB, CPM, LVX, VAN	P
62 dias	<i>Morganella morganii</i>	A B C U Z	AMP, CPM, FLU**, PPT, VAN**	P
4 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	CAZ, CPM, MER, POLB	P
24 dias	<i>S. aureus</i>	A B C* U	AMX, LVX, PPT, VAN	N
12 dias	<i>S. aureus</i>	A B C U	AMP, LVX	P
28 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	AMI, AMP, CIP, FLU**, MER, VAN**	S
18 dias	<i>S. aureus</i>	A B C U	AMP, CFZ, CPM	N
29 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	AMI, FLU**, MER, PPT, VAN**	P
24 dias	<i>S. aureus</i>	A B C** U Z	CRO, CPM, PPT, VAN	N
47 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	FLU**, IPM, PPT, TEI**, VAN**	N
24 dias	<i>Enterococcus sp.</i>	A B C U Z	CAZ, CPM, OXA, VAN	N
98 dias	<i>E. coli</i>	A B C U Z	AMI, FLU**, MER, POL, VAN**	P
38 dias	<i>S. aureus</i>	A B C* U Z	MER**, PPT, VAN	N
30 dias	<i>Proteus mirabilis</i>	A B C U Z	CPM, FLU**, MER, VAN**	P
7 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	CRO, CLI**	P
16 dias	<i>K. ozaenae</i>	A B C U Z	MER, PPT, VAN**	P

Z- Antibiótico testado não presente nos grupos antimicrobianos preconizados pelo CLSI; N- A dispensação realizada não condiz com os antibacterianos testados; S- A dispensação segue os antibacterianos testados e as metodologias de teste são aceitas;

P- Condiz parcialmente houve dispensação de antibacterianos não testados ou não pertencentes ao grupo bacteriano preconizados pelo CLSI

\*O antibiótico testado não segue a metodologia proposta pelo CLSI;

\*\*Antibiótico dispensado não foi testado e/ou não está presente nos grupos antimicrobianos preconizados pelo CLS

Amicacina (AMI); Amoxicilina+Clavulanato (AMC); Ampicilina+Sulbactam (ASB); Ceftazidima (CAZ); Cefazolina (CFZ); Ciprofloxacino (CIP); Cefalotina (CFL); Clindamicina (CLI), Cefepime (CPM); Ceftriaxona (CRO); Eritromicina (ERI); Fluconazol (FLU); Gentamicina (GEN); Imipenem (IPM); Levofloxacino (LVX); Meropenem (MER); Nitrofurantoina (NIT); Polimixina B (POLB); Piperacilina+Tazobactam (PPT); Teicoplanina (TEI) e Vancomicina (VAN).I.

do dispensação de antibacterianos não testados e não pertencentes aos grupos preconizados pelo CLSI para os microrganismos isolados.

## DISCUSSÃO

A importância do monitoramento e do padrão de sensibilidade/resistência dos antimicrobianos frente aos microrganismos aumenta diante das falhas no tratamento que, na maioria das vezes, é empírico. No entanto, para o sucesso da terapêutica é necessário uma nova conduta que favoreça o sucesso na terapia.

Uma das diretrizes mais populares utilizadas em todo o mundo é a do Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório (CLSI), cujos cortes interpretativos para antibacterianos são baseados em distribuições de Concentrações Inibitórias Mínimas (MIC), propriedades farmacocinética, farmacodinâmicas e mecanismos de resistência.<sup>(14,15)</sup> As infecções mais prevalentes em ambientes hospitalares no

Brasil, em um estudo realizado nas cinco regiões brasileiras, destacaram a pneumonia, com prevalência de 3,6%, a sepse com 3,5%, a infecção do sítio cirúrgico com 1,4%, a infecção do trato urinário com 1,1% dos casos.<sup>(16)</sup>

As infecções causadas por patógenos na circulação sanguínea tem sido de grande impacto sobre o diagnóstico e cuidados terapêuticos em pacientes. A identificação do microrganismo ocorre através de análise bacteriológica no sangue pela hemocultura e tem valor preditivo quanto ao diagnóstico, uma vez que os casos de septicemia são os mais agravantes na evolução clínica do paciente.<sup>(17)</sup>

A terapia empírica de amplo espectro deve ser utilizada nos pacientes com sepse grave ou choque séptico, com o objetivo de oferecer melhor cobertura antimicrobiana para o paciente. Na escolha da terapia de amplo espectro devem-se considerar os seguintes critérios: o foco primário da infecção, a susceptibilidade dos patógenos conforme o local de aquisição da infecção (hospital ou comunidade), infecções prévias e uso recente de antimicrobianos.<sup>(18-20)</sup>

No que diz respeito ao tratamento antimicrobiano, ressalta-se que o uso de antibacterianos de amplo espectro de ação na terapia empírica está relacionado a menores taxas de mortalidade entre pacientes criticamente enfermos.<sup>(21-23)</sup> Por este motivo, os *guidelines* para tratamento recomendam que pacientes que possuam fatores de risco para infecções por microrganismos resistentes recebam terapia empírica com pelo menos dois antimicrobianos de amplo espectro de ação,<sup>(24,25)</sup> o que foi observado neste trabalho.

Entretanto, o uso indiscriminado de antibacterianos de amplo espectro pode favorecer a ocorrência de resistência bacteriana, além de elevar os custos. Nesta pesquisa, o tratamento empírico dos pacientes foi mais oneroso que o tratamento direcionado (Tabela 1). Ressaltamos a importância do ajuste dos antibacterianos de acordo com os resultados das culturas, ou seja, bactéria isolada, *Staphylococcus coagulase* negativa, e o antibiótico testado não seguiu a metodologia proposta e/ou o antibiótico dispensado não foi testado e/ou não está presente nos grupos preconizados pelo CLSI.

Uma hipótese levantada nessa pesquisa em relação ao não ajuste do tratamento antimicrobiano pode ter sido pela demora do resultado laboratorial da hemocultura, sendo que o tratamento empírico pode ter chegado ao fim ou o paciente não apresentava mais os sintomas da infecção, optando-se por não se realizar o direcionamento.

Ao analisar 106 uroculturas de pacientes hospitalizados na Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa-PR, os autores observaram que, dos 94 prontuários estudados, em 80,8% constavam antibacterianos prescritos. Em 62,8% iniciou-se o tratamento empiricamente e em 18% aguardou-se o resultado do antibiograma para a tomada de decisão. Na comparação entre o perfil de susceptibilidade, observado no antibiograma com as prescrições empíricas, observou-se que em 81,4% dos prontuários os antimicrobianos prescritos apresentaram sensibilidade no antibiograma e em 18,6% estavam resistentes. O antibiótico empírico de escolha foi o norfloxacino, onde as *Escherichia coli* isoladas de infecções comunitárias e hospitalares apresentaram taxa de resistência de 11,6% e 15,8%, respectivamente.<sup>(26)</sup>

Analisando infecções do trato urinário (ITU), os autores encontraram prevalência de *E. coli* em 69,9% das amostras, comparável ao que foi relatado em estudos realizados em outras regiões do Brasil, como em São Paulo, Rio Grande do Sul, Ribeirão Preto e em Caçador-SC. Dentre as principais causas evitáveis que podem conduzir um paciente com infecção urinária à morte, destaca-se a prescrição do tratamento farmacológico inadequado como a principal causa.<sup>(27,28)</sup>

Em um estudo realizado em um hospital do sudeste de Minas Gerais, a maioria das bactérias isoladas em

uroculturas foi proveniente de pacientes do gênero feminino (54,7%). A prevalência de identificação nas amostras foi de *Klebsiella pneumoniae* (18,0%), *Escherichia coli* (17,6%) e *Pseudomonas aeruginosa* (9,5%), o que chama a atenção por serem bactérias Gram-negativas com grande probabilidade de desenvolverem rapidamente mecanismos de resistência a múltiplos antibacterianos.<sup>(29,30)</sup>

No presente estudo, no que diz respeito ao tratamento antimicrobiano dos pacientes, notou-se que 38% dos pacientes utilizaram antibiótico empírico. O recebimento do tratamento empírico pode ser por ausência ou demora nos resultados dos antibiogramas ou antibiogramas com antibacterianos testados de forma incorreta.

As infecções causadas por bactérias resistentes têm um impacto negativo nas finanças dos hospitais, visto que eleva o tempo de internação, necessidade de antimicrobianos de última geração, que são mais caros, e consequentemente aumenta o risco de mortalidade. Na Europa, por exemplo, as resistências bacterianas aos antimicrobianos custam nove bilhões de euros por ano e nos Estados Unidos de quatro a cinco bilhões de dólares.<sup>(12,13)</sup>

Especificamente no cenário nacional, observa-se a carência de estudos sobre o custo direto com antimicrobianos no tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes em um contexto em que a resistência bacteriana torna-se cada vez mais frequente e os antibacterianos são utilizados de forma indiscriminada, sem padronização nacional e sem observância aos protocolos com recomendações internacionais.<sup>(11)</sup>

No ambiente hospitalar, a CCIH, a farmácia e o laboratório de microbiologia devem instituir critérios de escolha e emprego dos antimicrobianos na tentativa de tornar mínima a falha no tratamento, a toxicidade e as despesas com estes fármacos, avaliando-se continuamente a questão da resistência microbiana.

## CONCLUSÕES

Mediante o exposto, foi possível verificar que 28,8% dos antibacterianos prescritos não estavam de acordo com a metodologia ou com a classe testada preconizada pelo CLSI, 37,9% estavam parcialmente corretos e 33,3% estavam corretos em relação aos objetivos deste estudo. Os resultados do presente estudo podem servir de alerta às instituições hospitalares para que adotem um programa de controle e racionalização do uso de antimicrobianos, fundamentado no laudo do antibiograma liberado pelo laboratório e na concordância da dispensação desses medicamentos em relação aos microrganismos isolados e contemplando medidas que permitam uma melhoria no padrão de prescrição pautado no CLSI.

O estudo proposto traz subsídios para pesquisas nesta temática. O cenário atual é preocupante, e o desenvolvi-

mento de novos antibacterianos e novas medidas de controle se faz cada vez mais importante num mundo globalizado onde todas as áreas da microbiologia se fazem presentes. É necessário reavaliar a terapêutica e as prescrições para os pacientes, diminuindo os possíveis equívocos cometidos inicialmente

#### Abstract

*Antibacterial drugs are among the most commonly prescribed and dispensed drugs, especially in hospital settings. However, their inadequate use, improper test methodologies, lack of cohesive prescribing and non-adherence to treatment imply bacterial resistance, increased cost of therapies and decreased quality of life of the patient. The objective of this study was to analyze the consistency of prescription, dispensation and antibacterial tested based on the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) standards contained in the manual M100-S25. Data were obtained through the analysis of blood cultures, urine cultures and tracheal aspirate from patients hospitalized from January to July 2017 in a medium-sized hospital in a municipality located in the Midwest of Santa Catarina, totaling 66 samples. Of the total medical records and cultures analyzed, 28.8% of the prescribed antibacterial were not in accordance with the methodology or CLSI class, 37.9% were partially correct and 33.3% were correct in relation to the objectives of this study. being observed needs of redirection of the therapy and more rigorous adaptation of the methodologies in force in the manual. The results of the present study may serve as a warning to hospital institutions to adopt the rationalization of the use of antimicrobials, based on the antibiogram report released by the laboratory and on the agreement of the dispensation on isolated microorganisms and contemplating measures that allow an improvement in the standard prescription based on CLSI.*

#### Keywordse

*Antimicrobial; dispensation; hospital*

## REFERÊNCIAS

1. Silva ERM. Análise do perfil das prescrições de antimicrobianos na clínica médica de um hospital público do Pará. *Rev Bras Farm Hosp Serv Saúde*. 2012;3(2):15-19.
2. Rodrigues FDA, Bertoldi AD. Perfil da utilização de antimicrobianos em um hospital privado. *Ciênc. Saúde Colet*. 2010;15(1):1239-1247.
3. Azevedo EF, Barbosa LA, Cassiani SHDB. Administração de antibióticos por via subcutânea: uma revisão integrativa da literatura. *Acta Paulista de Enfermagem*. 2012;25(5): 817-822.
4. Costa ALP da; Silva Junior ACS. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*. 2017;7(2): 45-57, 2017.
5. Leite MS, Deuschle VCKN, Deuschle RAN. Eventos adversos a medicamentos em ambiente hospitalar. *Revista Espaço Ciência & Saúde*. 2016;4(1):82-91.
6. World Health Organization. (2012). The pursuit of responsible use of medicines: sharing and learning from country experiences. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/75828>.
7. Ferreira VM, Gonzaga LMO, Gonzaga LMC, Batista TB, Moreira ED, Oliveira MVM. Perfil de dispensação de antibióticos nos ambientes ambulatorial e hospitalar em Montes Claros - MG. *Rev Unimontes Científica*. 2016;18(1):55-63.
8. Anvisa - Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. M100-S15 v. 25, n. 1 Substitui a Norma M100-S14. 2005;24.
9. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013
10. Franco JMPL, Menezes CDA, Cabral FRF, Mendes RC. O papel do farmacêutico frente à resistência bacteriana ocasionada pelo uso irracional de antimicrobianos. *Revisão integrativa. rev. e-ciênc*. 2015;3(2):57-65. DOI: <http://dx.doi.org/10.19095/rec.v3i2.64>
11. Bader MS, Loeb M, Brooks AA. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med*. 2017;129(2):242-258. <https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1246055>
12. Gottlieb T, Nimmo GR. Antibiotic resistance is an emerging threat to public health: an urgent call to action at the Antimicrobial Resistance Summit. *Med J Aust*. 2011 Mar 21;194(6):281-3.
13. Fernandes IDQ, Sousa HF, Brito MAM, Tavares SN, Matos VC, Souza MOB. Impacto farmacoeconômico da racionalização do uso de antimicrobianos em unidades de terapia intensiva. *Rev Bras Farm Hosp Serv Saúde*. 2012;3(4):10-14.
14. Marchese A, Esposito S, Barbieri R, Bassetti M, Debbia E. Does the adoption of EUCAST susceptibility breakpoints affect the selection of antimicrobials to treat acute community-acquired respiratory tract infections? *BMC Infect Dis*. 2012 Aug 6;12:181. DOI: 10.1186/1471-2334-12-181
15. Wolfensberger A, Sax H, Weber R, Zbinden R, Kuster SP, Hombach M. Change of antibiotic susceptibility testing guidelines from CLSI to EUCAST: influence on cumulative hospital antibiograms. *PLoS One*. 2013 Nov 1;8(11):e79130. DOI: 10.1371/journal.pone.0079130.
16. Fortaleza CMCB, Padoveze MC, Kiffer C, Barth AL, Carneiro ICRS, Rodrigues JLN, et al. Countrywide prevalence study of healthcare-associated infections in Brazilian hospitals: preliminary results. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013;2(Suppl 1):O26. doi: 10.1186/2047-2994-2-S1-O26
17. Alves LNS, Oliveira CR, Silva LAP, Gervásio SMD, Alves SR, Sgavioli GM. Hemoculturas: estudo da prevalência dos microrganismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos utilizados em Unidade de Terapia Intensiva. *J Health Sci Inst*. 2012; 30 (1):44-7.
18. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): boas práticas em microbiologia clínica*. Barueri: Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, 2015.
19. Sawhney N, Shynu P, Singh VA. Bacteriological profile and antibiotic susceptibility pattern of neonatal septicaemia in a tertiary care hospital. *J Curr Microbiol App Sci*. 2015;4(10):977-84.
20. Reinaldo S, Diamant D, Rigatto O, Gomes B, Silva E, Carvalho NB, et al. Diretrizes para tratamento da sepse grave/choque séptico: abordagem do agente infeccioso - controle do foco infeccioso e tratamento antimicrobiano. *Rev. bras. ter. intensiva*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 145-157, June 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-507X2011000200006>
21. Dantas RC, Ferreira ML, Gontijo-Filho PP, Ribas RM. Pseudomonas aeruginosa bacteremia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. *J Med Microbiol*. 2014;63 (12): 1679-87. DOI: 10.1099/jmm.0.073262-0
22. Fortuin-de Smidt MC, Singh-Moodley A, Badat R, Quan V, Kularatne R, Nana T et al; for GERMS-SA. Staphylococcus aureus bacteraemia in Gauteng academic hospitals, South Africa. *Int J Infect Dis*. 2015 Jan;30:41-8. doi: 10.1016/j.ijid.2014.10.011
23. Micek ST, Wunderink RG, Kollef MH, Chen C, Rello J, Chastre J, et al. An international multicenter retrospective study of Pseudomonas aeruginosa nosocomial pneumonia: impact of multidrug resistance. *Crit Care*. 2015;6(19):219-227. doi: 10.1186/s13054-015-0926-5.
24. Dryden M, Andrasevic AT, Bassetti M, Bouza E, Chastre J, Baguneid M, et al. Managing skin and soft-tissue infection and nosocomial pneumonia caused by MRSA: a 2014 follow-up survey. *Int J Antimicrob Agents*. 2015 Apr 24;45 Suppl 1:S1-14. doi: 10.1016/S0924-8579(15)30002-9.

25. Gudiol F, Aguado JM, Almirante B, Bouza E, Cercenado E, Domínguez MÁ, et al. Executive summary of the diagnosis and treatment of bacteremia and endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. A clinical guideline from the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(9):626-32. DOI: 10.1016/j.eimc.2015.03.014.
26. Bail L, Ito CAS, Esmerino L. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. *Rev. bras. anal. clin.* 2006;38(1):51-56.
27. Filho AC, Camargo AS, Barbosa FA, Lopes TF, Motta YR. Estudo do perfil de resistência antimicrobiana das infecções urinárias em mulheres atendidas em hospital terciário. *Rev Bras Clin Med*. 2013;11(2):102-107.
28. 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 Patol Med Lab*. 2009;45(6):449-56.
29. Carneiro AA, Ferreira AP, Garcia PG. Análise do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de bactérias isoladas de amostras de urina em um hospital do sudeste de Minas Gerais. *Rev. bras. anal. clin.* 2018;50(2):135-8.
30. Elias DBD, Ribeiro ACS. Perfil de sensibilidade antimicrobiana em urinoculturas de um hospital universitário do estado do Ceará no período de janeiro a junho de 2015. *Rev. bras. anal. clin.* 2017; 49(4): 381-9.

---

Correspondência

**Alana de Souza**

*Universidade Alto Vale do Rio do Peixe  
Rua Victor Baptista Adami, 800 - Centro  
89500-000 – Caçador-SC, Brasil*



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
<b>Título Completo</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Complete Title</b> <i>Incluir versão em Português</i>
<b>Título Corrido</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Running Title</b> <i>Incluir versão em Português</i>
<b>Autores</b>	<b>Authors</b>
<b>Resumo</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Abstract</b> <i>Incluir versão em Português</i>
<b>Palavras-Chave</b> <i>Incluir versão em Inglês</i>	<b>Keywords</b> <i>Incluir versão em Português</i>
<b>Introdução</b>	<b>Introduction</b>
<b>Material e Métodos</b>	<b>Material and Methods</b>
<b>Ética</b>	<b>Ethics</b>
<b>Resultados</b>	<b>Results</b>
<b>Discussão</b>	<b>Discussion</b>
<b>Conclusão</b>	<b>Conclusion</b>
<b>Conflito de interesse</b>	<b>Conflicts of Interests</b>
<b>Suporte Financeiro</b>	<b>Funding Sources</b>
<b>Agradecimentos</b>	<b>Acknowledgements</b>
<b>Referências</b>	<b>References</b>

**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/PMC2611811/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2611811/) (Versão em Português) ou em [www.icmje.org/urm\\_full.pdf](http://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<sup>(26)</sup> mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.<sup>(32)</sup> 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,<sup>(17)</sup> 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,<sup>(5)</sup> 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.<sup>(14)</sup>

**AUTORES:** Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

#### Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.

- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

**TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS:** Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

**TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO:** Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

**MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS:** O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: *Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec*. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

**EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO:** As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

**PARÁGRAFOS:** Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

#### Alguns exemplos de referências:

##### Periódicos:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

• **Carta ao editor:** Dettkenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

**Livros:**

• **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. *Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária.* 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. *Bases da parasitologia médica.* 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Penteado MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. *Ética em pesquisa: temas globais.* Brasília: Editora UNB; 2008.

**Teses, Dissertações e Monografias:**

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. Análise da expressão gênica no dermatófito *Trichophyton rubrum* mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes. São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

**Eventos Científicos:**

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MV, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. Espécies de *Candida* isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

**Órgãos/ Instituições:**

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes.* Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. *Relatório de atividades: 2006.* Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

**Referências Legislativas:**

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

**Meios Eletrônicos:**

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niêro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida* spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform). *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/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](http://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: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

# CURSOS PNCQ GESTOR 2020

Prepare seu laboratório para a Acreditação – SNA/DICQ.

## CURSO + SOFTWARE + CONSULTORIA POR E-MAIL

- Atende aos requisitos do Manual do SNA/DICQ 7ª ed., baseados na ISO 15189:2015 e da RDC 302/2005 da ANVISA.
- Auxilia a elaborar e controlar a documentação de seu Sistema de Gestão da Qualidade.



## Agenda de Cursos PNCQ Gestor 2020

- **Março**  
12 e 13 – Salvador/BA  
19 e 20 – Juiz de Fora/MG
- **Abril**  
2 e 3 – Porto Alegre/RS  
15 e 16 – Campinas/SP  
(Pré III CONGIPLAB)
- **Maio**  
14 e 15 – Rio de Janeiro/RJ  
21 e 22 – Belo Horizonte/MG
- **Junho**  
12 e 13 – Fortaleza/CE  
(Pré 47ª CBAC)  
25 e 26 – Curitiba/PR
- **Julho**  
9 e 10 – Porto Velho/RO  
23 e 24 – Florianópolis/SC
- **Agosto**  
12 e 13 – São Lourenço/MG  
(Pré 10ª Sul Mineiro)  
27 e 28 – Brasília/DF
- **Setembro**  
10 e 11 – João Pessoa/PB  
24 e 25 – São Paulo/SP
- **Outubro**  
1 e 2 – Foz do Iguaçu/PR  
22 e 23 – Vitória/ES
- **Novembro**  
5 e 6 – Teresina/PI  
26 e 27 – Cuiabá/MT

