



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 54 - N 04 | Ano 2022

ISSN 2448-3877





48° CBAC

Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

Costão do Santinho - Florianópolis

18 a 21 de junho de 2023

O que está incluso na sua inscrição?

Inscrevendo-se como congressista, você garante acesso à:

- ✓ Feira de exposição (estandes)
- ✓ Mesas-redondas
- ✓ Conferências
- ✓ Sessões interativas
- ✓ Conferência magna
- ✓ Atividades sociais

E ainda receberá:

-  Pasta exclusiva do 48° SBAC
-  Crachá para circulação no evento
-  Certificado de participação no evento

Inscriva-se em:
cbac.org.br



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

Volume 54 - Número 4 - 2022

Edição online - ISSN 2448-3877

Editor-chefe/Editor-in-Chief

Paulo Murillo Neufeld (RJ)

Produção Editorial/Publisher

Editorarte Projetos de Comunicação e Editora Ltda.

Editores Associados/Associate Editors

Bacteriologia Clínica/Clinical Bacteriological

Joseli Maria da Rocha Nogueira

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

Mauren Isfer Anghebem

Gestão e Controle da Qualidade/Quality Management and Control

Flávia Martinello

Hematologia Clínica/Clinical Hematology

Júlio César Merlim

Micologia Clínica/Clinical Micology

Sarah Gonçalves

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

Lenilza Mattos Lima

Patologia Clínica Veterinária/Veterinary Clinical Pathology

Breno Fernando Martins de Almeida

Daniele Silvano Gonçalves

Uroanálise e Líquidos Biológicos/Uroanalysis and Biological Liquids

José Antonio Poloni

Corpo Editorial/Editorial Board

Adriana Dalpicolli Rodrigues - Brasil
Alessandro Conrado de Oliveira Silveira - Brasil
Ana Cristina Rivas da Silva - Brasil
Andréa Regina de Souza Baptista - Brasil
Andrea Silva - Chile
Carlos Álvarez - Chile
Claudia Regina Bonini - Brasil
Diogo André Pilger - Brasil

Eduardo Álvarez Duarte - Chile
Eleine Kuroki Anzai - Brasil
Jaime Antonio Abrantes - Brasil
Juliane Araujo Greinert Goulart - Brasil
Luis Zaror Cornejo - Chile
Marcos Kneip Fleury - Brasil
Maria Elizabeth Menezes - Brasil
Maria Regina Reis Amendoeira - Brasil
Marilise Brittes Rott - Brasil

Patrício Godoy Martinez - Chile
Patrick Menezes Lourenço - Brasil
Ricardo David Couto - Brasil
Ricardo Luiz Dantas Machado - Brasil
Simone Martins de Castro - Brasil
Tiana Tasca - Brasil
Victor Silva - Chile
Vladimir Cantarelli - Brasil

DIRETORIA EXECUTIVA/EXECUTIVE BOARD

Maria Elizabeth Menezes (SC)
Presidente/President

Marcos Kneip Fleury (RJ)
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

Jorge Luiz Joaquim Terrão (ES)
Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

Conselho Fiscal/Fiscal Board Titulares/holders

Juno Damasceno Silva (RJ)
Alverne Passos Barbosa (GO)
Júlio César Merlim (PR)

Suplentes/Alternates

Marcello Ávila Mascarenhas (SP)
Iberê Ferreira da Silva Júnior (MT)
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

Endereço para correspondência/Editorial Office

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

Editorial / Editorial

- 337** A história do exame de urina: Da idade contemporânea até a primeira metade do século XX
The history of urine examination: From the contemporary age to the first half of the 20th century
Neufeld PM

Artigos de revisão / Review articles

- 343** Relação entre tipo sanguíneo ABO e prognóstico de pacientes com Covid-19: uma revisão integrativa
Relationship between ABO blood type and prognosis of patients with Covid-19: an integrative review
Brunharo TMN, Caldana J, Mendonça LOA, Mesquita DP, Lopes PO, Schiassi AS, Scotini DP, Oliveira MS, Alves BG, Romão PS, Chiovatto CB, Faria STR
- 351** Importância da qualidade na fase pré-analítica
Importance of quality in the pre-analytical phase
Marques, KCB
- 360** A relação dos mecanismos fisiopatológicos entre a anemia e a doença renal crônica
The relationship of physiopathological mechanisms between anemia and chronic kidney disease
Filho AMSF, Hirai KE, Sekioka NML, Batista NT
- 368** O tratamento da anemia falciforme durante a pandemia pelo vírus SARS-CoV-2: uma mini-revisão
Treatment of sickle cell anemia during the pandemic SARS-CoV-2 virus: A mini-review
Miranda CA, Brito Junior LC

Artigos de atualização / Update

- 379** A qualidade em laboratório de análises clínicas para efetividade terapêutica: revisão de literatura
The quality in clinical laboratories for therapeutic effectiveness: literature review
Silva BKS, Beretta ALRZ
- 383** Utilização de machine learning em laboratórios de análises clínicas
Machine Learning utilization in Clinical Laboratory
Sousa AB

Artigos originais / Original articles

- 388** Relação neutrófilos/linfócitos como marcador precoce de toxicidade no tratamento de doenças onco-hematológicas
Neutrophils/lymphocytes ratio as early marker of toxicity in onco-hematologic disease treatment
Dors AC, Reckziegel L, Biolchi V, Muccillo-Dexheimer G

- 394** Marcadores renais como prognóstico para Covid-19
Renal markers as a prognosis for Covid-19
Silveira CCS, Frizzo MN, Oliveira VA
- 400** Prevalência de critérios não clássicos citológicos sugestivos de HPV na presença de vaginose bacteriana
Prevalence of non-classic cytological criteria suggestive of HPV in the presence of bacterial vaginosis
Machado EP, Dec ATS, Souza SG, Fagundes GL, Schram AB
- 409** Interferências laboratoriais: Principais fármacos que alteram o perfil glicêmico
Laboratory interferences: Main drugs that alter the glycemic profile
Silva CSM, Althaus GB
- 414** Avaliação de indicadores da qualidade da coleta de esfregaços citopatológicos cervicovaginais
Quality indicators evaluation of sample collection in positive cervical smears
Vitto MF, Calil LN, Mezzomo LC
- 419** Avaliação da performance do equipamento Sysmex XN em amostras liberadas sem revisão microscópica
Evaluation of Sysmex XN equipment performance on samples released without microscopic review
Morkis IVC, Correa GG, Orso FR, Lemos FKO, Bo SD, Barbosa MCD, Felisberto M, Cagliari CR, Guimarães AC, Brum LMBP, Tasca S, Scotti L, Ghem C
- 423** Practice patterns of the use of antimicrobial agents in an Intensive Care Unit
Estudo do padrão das práticas de uso de antimicrobianos em Unidade de Terapia Intensiva
Ribeiro GES, Xavier AR, Kanaan S, Lugon JR
- Relatos de caso / Case report**
- 433** Inclusões citoplasmáticas semelhantes a bastonetes de Auer em plasmócitos: um achado morfológico pouco frequente
Auer rod-like cytoplasmic inclusions in plasma cells: an infrequent morphological finding
Vicari P, Queiroz VC
- 436** Células uroteliais no esfregaço citopatológico cervicovaginal: Relato de caso com revisão de literatura
Urotelial cells in cytopathological cervical smear: Case report with literature review
Rodrigues KB, Calil LN, Mezzomo LC
- 442** **Instruções aos autores/Instructions for authors**

A história do exame de urina: Da idade contemporânea até a primeira metade do século XX

The history of urine examination: From the contemporary age to the first half of the 20th century

Paulo Murillo Neufeld, *PhD* | Editor-Chefe da RBAC

No final do século XVIII e início do XIX, grandes avanços ocorreram na fabricação de lentes e a microscopia se beneficiou, de forma particular, desse desenvolvimento tecnológico, se tornando uma ferramenta cada vez mais útil nos estudos de biologia, fisiologia, morfologia, patologia e clínica médica e cirúrgica. Esse progresso teve a contribuição individual de um grande número de fabricantes de lentes e de pesquisadores oriundos de diversos países europeus que projetaram tipos diferentes de lentes compostas, melhorando a resolução e corrigindo as distorções.

Dentre esses, contribuiu, de forma importante, o comerciante de vinhos e naturalista inglês Joseph Jackson Lister [1786-1868], pai do médico e cirurgião Joseph Lister [1827-1912], que, por empregar rotineiramente a microscopia em seus estudos de biologia, projetou microscópios e lentes com combinações e disposições que trouxeram maior qualidade e nitidez às imagens visualizadas. Lister ainda ajudou a desenvolver a teoria sobre a óptica, a partir de suas várias descrições teóricas. Em 1827, juntamente com o médico patologista Guy Thomas Hodgkin [1798-1866], publicou o artigo *Notice of some microscopic observations of the blood and animal tissues*, fundando a anatomia microscópica moderna.

Outro nome de importância foi o do fabricante de lentes Giovanni Batista Amici [1786-1863], italiano de Modena, que provavelmente foi um dos primeiros, em 1814, a estudar e a confeccionar lentes acromáticas compostas. Como estava radicado em Paris, seu trabalho influenciou positivamente a produção de lentes de vários fabricantes franceses, em especial, a família Chevalier e a família Nachets, expoentes na produção de lentes.

Os Chevalier, o pai Vincent Chevalier [1770-1841] e o filho Charles Chevalier [1804-1859], desenvolveram, posteriormente, na segunda metade da década de 1820, microscópios com lentes acromáticas que proporcionavam uma resolução de 1,7 μ m e uma ampliação de 280 a 540x, além da redução do fator de distorção de 19% para 3% e da remoção das franjas de cor ao redor do objeto sob investigação.

Um fabricante de lentes chamado de Johann Georges Oberhauser [1798-1868], de origem alemã, e também radicado na França, em 1835, desenvolveu, por sua vez, um microscópio com lentes acromáticas que eram capazes de ampliar um objeto 1000x com uma resolução de 0,7 μ m, sendo considerado, assim, um dos mais potentes da época.

Com essa grande evolução na qualidade óptica e com um custo cada vez menor, os microscópios tornaram-se mais acessíveis e se difundiram por inúmeras escolas médicas

Recebido em 03/09/2022 | Aprovado em 17/11/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300113

da Europa, passando a microscopia a ser empregada, de forma ampla, em todas as especialidades da medicina. A anatomia e a histologia foram as áreas que, inicialmente, mais se beneficiaram com o uso da microscopia em seus estudos. Os médicos e anatomistas ingleses Richard Bright [1736-1858], Joseph Toynbee [1815-1866] e William Bowman [1816-1892] foram pioneiros na microdissecção e na investigação da histologia do tecido renal e na visualização de alterações histopatológicas dos rins, decorrentes de diferentes enfermidades, com o apoio de uma microscopia de melhor qualidade.

Apesar de haver alguns relatos na literatura do final do século XVIII sobre a utilização de microscópios em estudos com a urina, a introdução da microscopia urinária na prática cotidiana ocorreu, efetivamente, em 1837, pelo trabalho de dois nefrologistas franceses, Pierre Francois Olive Rayer [1793-1867], médico-chefe do Hospital Saint-Antoine e do Hospital de la Charité e consultor do rei Louis Philippe, e Eugène Napoléon Vigla [1813-1872], médico do Hospital de la Charité. Por volta de 1835, Rayer e Vigla perceberam que a urina de um paciente que exibia um aspecto purulento à visão desarmada, ao ser examinada em microscópio, revelava, na verdade, a presença de grande quantidade de cristais. Esse fato desencadeou enorme interesse desses pesquisadores pela microscopia, o que fez com que iniciassem um extenso estudo com as urinas dos pacientes internados nas enfermarias onde trabalhavam.

Rayer e Vigla publicaram seus resultados no periódico científico *L'Expérience – Journal de Médecine et de Chirurgie*, durante os anos de 1837 e 1838, e no *Traité des Maladies de Reins* [formado por três volumes], no período de 1839 a 1841. Dentre os achados microscópicos, foram relatados cristais indefinidos, cristais de ácido úrico, cristais de fosfato, células de tecido epitelial, restos celulares, fibrinas, glóbulos vermelhos [“corpúsculos de sangue”], glóbulos brancos [“células purulentas”], “glóbulos mucoides”, “corpúsculos de gordura”, espermatozoides e leveduras. Achados urinários em condições fisiológicas também foram descritos em seus textos. Além disso, introduziram os conceitos de hematúria e piúria e observaram a associação entre lipidúria e albuminúria. Esses autores publicaram ainda instruções detalhadas de como processar adequadamente a amostra de urina para a análise microscópica e como manusear corretamente o microscópio, bem como discutiram a importância de se correlacionar a microscopia com o estudo físico-químico da urina. Com o intuito de difundir a prática da microscopia, Rayer e Vigla disponibilizaram um microscópio para que fosse utilizado pelo *staff* do serviço sempre que houvesse interesse ou necessidade.

Na mesma época, o médico e bacteriologista francês Alfred François Donné [1801-1878], que também trabalhava no Hospital de la Charité, inventou o microscópio fotoelétrico em colaboração com o físico Jean Bernard Léon Foucault [1819-1869], empregando a nova técnica fotográfica [Daguerreótipo] desenvolvida, em 1839, pelo físico e pintor Louis Jacques Mandé Daguerre [1787-1851], o que permitiu, em 1845, a realização das primeiras imagens fotográficas, a partir de preparações microscópicas. Donné foi pioneiro na ministração de cursos de formação em microscopia para a classe médica e o público em geral. O nome de Alfred Donné está também associado, entre outros trabalhos, à descrição do *Trichomonas vaginalis*, à descrição das plaquetas, ao estudo microscópico das alterações sanguíneas na leucemia e à publicação, em 1845, de sua monumental obra sobre a microscopia de amostras de biológicos, denominada de *l'Atlas*, composto por 550 páginas e 80 imagens.

No mesmo período de publicação dos artigos de Rayer e Vigla, Alfred Becquerel [1814-1866], médico e físico francês, publicou, em 1841, seu clássico tratado sobre a análise microscópica da urina intitulado *Séméiotique des urines, ou traité des altérations de l'urine dans les maladies; suivi d'un traité de la maladie de Bright aux divers ages de la vie*, onde ele relatou que, em urina perfeitamente límpida, se poderia observar microscopicamente cristais de carbonato de cálcio, magnésio e fosfato, camadas de epitélio, muco, glóbulos mucoides, glóbulos de pus e glóbulos vermelhos irregulares e distorcidos que, provavelmente, foi o primeiro relato de eritrócitos dismórficos em doenças glomerulares. Somados aos achados microscópicos e com a evolução da físico-química da urina, Becquerel, Rayer e Vigla, bem como outros pesquisadores da época, passaram, aos poucos, a associar as alterações microscópicas e bioquímicas a um grande espectro de distúrbios patológicos.

Durante o período de 1842 a 1844, uma série de estudos sobre a análise microscópica da urina foi publicada na Alemanha. No entanto, ainda em 1837, Gabriel Gustav Valentin [1810-1883], professor e fisiologista alemão, foi o primeiro a visualizar cilindros tubulares dentro dos túbulos renais. Na sequência, Friedrich Gustav Jakob Henle [1809-1885], médico patologista e anatomista, observou, em 1842, cilindros tubulares em preparações histopatológicas renais semelhantes aos encontrados na urina, considerando-os fibrina coagulada. Henle também relacionou esses cilindros tubulares a distúrbios renais. Cilindros tubulares associados a doenças renais também foram detectados pelo químico Johann Franz Simon [1807-1843] e pelos médicos Hermann Nasse [1807-1892], Johann Joseph Scherer [1814-1869] e Julius Vogel [1814-1880]. Henle, Nasse e Vogel consideravam os cilindros intratubulares e os urinários como sendo os mesmos elementos. Friedrich Theodor von Frerichs [1819-1885], médico e fundador da patologia experimental alemã, em seu livro escrito em 1843, *Die Bright'sche Neierenkrankheit und deren Behandlung*, consolidou a ideia acerca da relação entre cilindros tubulares e alterações renais. Na verdade, Frerichs deu inúmeras contribuições às ciências médicas da época, sendo especialmente conhecido por suas pesquisas renais e hepáticas. Ele ajudou a dar à medicina diagnóstica uma base mais científica, através do ensino da fisiologia e da bioquímica.

Importa mencionar que as elegantes observações sobre os cilindros tubulares urinários feitas pelo físico Johann Franz Simon e publicadas em 1843, em seu livro *Beitrag zur Physiologische und Pathologische Chemie und Mikroskopie*, produziram enorme impacto na medicina europeia, principalmente sobre a visão que seus contemporâneos tinham acerca do sedimento urinário.

Na Inglaterra, a microscopia urinária também evoluía como instrumento diagnóstico. O médico Robert Christison [1797-1882] escreveu, em 1839, o livro intitulado *On Granular Degeneration of Kidnies* que já continha algumas referências sobre a microscopia urinária. O uso do microscópio no exame de urina foi tratado também pelo médico e químico Willian Prout [1785-1850], na terceira edição de seu livro *On the Nature and Treatment of Stomach and Urinary Diseases*, publicado em 1843, e no livro denominado *In Practical Manual* do médico fisiologista e naturalista John William Griffith [1819-1901], publicado também em 1843.

Com base no trabalho realizado por Johann Franz Simon, Golding Bird [1814-1854], o principal médico microscopista inglês e membro do Guy's Hospital em Londres, publicou, em 1844, o livro *Urinary Deposits: Their Diagnosis, Pathology and Therapeutical*

Indications, que se tornou o texto com a descrição mais abrangente da presença e do significado de cristais e sedimentos urinários, tendo alcançado, nas décadas subsequentes, cinco edições e colocado, de forma decisiva, no mundo anglo-saxão, a microscopia urinária na prática clínica diária, à semelhança do que aconteceu com Pierre Francois Olive Rayer, na França.

Trabalhos sobre depósitos de gordura na urina foram desenvolvidos por Sir Georg Johnson [1816-1896], eminente médico inglês, que publicou, em 1846, o livro *On the Minute Anatomy and Pathology of Bright's Disease of the Kidney and on the Relation of the Renal Disease to those Diseases of the Liver, Heart and Arteries with Which it is Associated*, com suas considerações iniciais sobre a presença de gordura em rins de pacientes nefróticos, apesar desse quadro já ter sido previamente relatado na literatura da época. De qualquer forma, a ideia de um tipo gorduroso de nefrite parenquimatosa degenerativa ganhou mais tarde força com o uso de luz polarizada no sedimento urinário por Fritz Munk [1879-1945].

Contribuições importantes foram dadas por Henry Bence Jones [1813-18173], médico inglês que descobriu a proteinúria de cadeia leve e os cilindros urinários e foi capaz de correlacionar clinicamente a presença de cilindros, doença de Bright e albuminúria. Além disso, em seu livro de 1850, *On animal Chemistry in Its Application to Stomach and Renal Diseases*, discorreu, de forma elegante, sobre o papel da microscopia urinária na investigação de pacientes com proteinúria e hematuria.

Na segunda metade do século XIX, houve grande avanço tecnológico em todos os campos científicos e, particularmente, no âmbito das ciências médicas. Com relação à microscopia da urina, isso significou a introdução de objetivas apocromáticas, que reduziu ainda mais as aberrações cromáticas e aumentou a resolução e ampliação dos objetos. Além disso, houve a introdução do uso de centrífugas manuais para a produção de *pellets* de sedimento urinário e a aplicação de corantes biológicos, como o Sudan III. Com todo esse desenvolvimento metodológico, novos elementos urinários foram sendo descritos. A evolução do conhecimento sobre as alterações fisiopatológicas foi também permitindo o estabelecimento de melhores correlações com a clínica e a definição dos processos urinários em amplo espectro de distúrbios.

Com relação à descrição de novos elementos, Frerichs, em 1854, descreveu novos cristais de leucina e tirosina encontrados por ele em pacientes com atrofia hepática aguda. O médico inglês Lionel Beale [1829-1906] descreveu, no final da década de 1860, cilindros mucosos que eram produzidos na ausência da albumina. Beale também descreveu os cristais de "colesterina" na urina de pacientes com degeneração gordurosa dos rins e relatou as alterações microscópicas em pacientes com câncer urinário. Em 1870, o médico alemão Louis Thomas [1838-1907] descreveu "cilindroides" que representavam elementos alongados, parcialmente semelhantes aos cilindros. George Harley [1829-1896], médico escocês, em 1872, descreveu a morfologia peculiar de um eritrócito urinário na doença de Bright.

Em decorrência da profusão de informação acerca do exame de urina, um grande número de material técnico e educativo foi sendo editado. Nesse sentido, pode-se ressaltar o trabalho de Lionel Beale, que publicou vários livros, textos e tabelas e realizou diversos cursos para o ensino prático da urinálise. James Tyson, médico anatomista norte-americano, também publicou, em 1875, o tratado *Guide to Practical Examination of Urine*, que representou um dos mais completos guias para o exame macroscópico e

microscópico do sedimento urinário. William Roberts [1830-1899], médico fisiologista inglês, deu, igualmente, importante contribuição, publicando uma série de livros, manuais e atlas de exame de urina de grande difusão na comunidade médica europeia.

Com a evolução das técnicas fotográficas nessa segunda metade do século XIX, tecidos e secreções corporais passaram a ser também fotografados, determinando uma maior qualidade das imagens, que inicialmente eram obtidas a partir de desenhos esquemáticos, o que contribuiu enormemente para o desenvolvimento da própria microscopia clínica. Assim, um grande número de material ilustrado sobre o exame microscópico de urina foi editado, particularmente, em língua alemã. De forma geral, as imagens desses atlas eram produzidas de maneira extremamente cuidadosa, bem como sua impressão era feita empregando a moderna tecnologia de cromolitografia, disponível na época. Um dos primeiros materiais dessa série foi o atlas do médico e cirurgião austríaco Robert Ultzmann [1842-1889], publicado em 1871, em parceria com o professor de química médica Karl Berthold Hoffmann [1842-1922], intitulado *Atlas der physiologischen und pathologischen Harnsedimente*. Outros trabalhos publicados foram, em 1893, *Mikroskopie und Chemie am krankebett: Leifaden bei der klinischen Untersuchung und Diagnose* por Hermann Lenharz [1854-1910], em 1897, *Atlas der Mikroskopie am Krankenbette* por Alexander Peyer [1841-1914] e, em 1898, *Atlas der klinischen Mikroskope des Harnes* por Hermann Rieder [1858-1932], médico radiologista alemão que discutiu a origem e o significado da presença de glóbulos vermelhos na urina.

Contribuições italianas também foram significativas para a evolução da microscopia clínica e urinária. O médico e pesquisador em patologia geral e histologia Giulio Bizzozero [1846-1901], conhecido por descobrir a bactéria *Helicobacter pylori* e a função das plaquetas na coagulação sanguínea, publicou, em 1876, o *Manuale di microscopia clinica*, importante material para o treinamento de médicos microscopistas clínicos na Itália. Outro italiano, o médico Carlo Leopoldo Rovida [1844-1877], embora não tenha descoberto novos elementos, publicou estudos, entre as décadas de 1860 e 1870, sobre a natureza química dos cilindros, encontrando uma proteína desconhecida que ele designou como “cilindrina” e que mais tarde foi identificada como sendo a proteína de “Tamm-Horsfall”.

A doença neoplásica renal começou a ser abordada com os trabalhos seminais de Lionel Smith Beale. Em seu relatório de 1854, intitulado *Cancer Diagnosis in Urine*, ele reportou as alterações microscópicas e clínicas observadas no exame de urina de pacientes com doenças neoplásicas renais. Vilém Dusan Lambl [1842-1895], médico tcheco, foi o primeiro a diagnosticar, em 1856, um câncer de bexiga a partir de material esfoliativo urinário. Ilustrações de lesões neoplásicas de bexiga em sedimento urinário foram publicadas, em 1865, por Carl Nebauer e Julius Vogel, no tratado *A guide to the qualitative and quantitative analysis of urine*. Em 1895, Hermann Rieder publicou também um caso raro de neoplasia renal diagnosticado, através de exame de urina, em seu artigo denominado *Zur Diagnose de Neubildungen bei klinischmikroskopischen Untersuchungen von transsudaten*.

No século XX, uma sequência de importantes avanços técnicos trouxe para o exame de urina uma nova perspectiva e dimensão diagnóstica. Os microscópios ópticos foram sendo aperfeiçoados com novos tipos e conjuntos de lentes e com o acoplamento de máquinas fotográficas convencionais. A introdução de centrífugas eletro-mecânicas facilitou a preparação das amostras, impactando positivamente sua qualidade. O emprego

de novos corantes, melhorando o estudo do sedimento urinário e da morfologia celular, foi outro fator decisivo para a evolução da urinálise.

Ulrik Quensel [1863-1934], médico e professor sueco, demonstrou a utilidade do azul de metileno [cádmio-azul de metileno-Sudan III] no exame do sedimento de urina e na citologia oncótica urinária, em uma publicação de 1918, intitulada *Untersuchungen über die Morphologie des Harnsedimentes bei Krankheiten der Nieren und der Harnwege und über die Entstehung der Harnzylinder*.

O aprimoramento no campo da microscopia também ocorreu com a descrição da técnica de contraste de fase e subsequente invenção do microscópio de contraste de fase pelo físico holandês Fritz Zernike [1888-1966], na década de 1930. As vantagens da utilização da microscopia de contraste de fase sobre a microscopia de campo claro no exame de urina foram, posteriormente, descritas pelo médico nefrologista Robert Kark [1911-2002], em 1968, em sua publicação *Identification of elements of urinary sediment with phase contrast microscopy*.

O estudo clássico do sedimento urinário ganhou maior sistematização com o trabalho do médico escocês-americano Thomas Addis [1881-1949]. A partir da década de 1920, Addis examinou urinas de inúmeros pacientes com diferentes patologias renais, correlacionando os achados das análises do sedimento com as condições e evoluções clínicas dos indivíduos avaliados. Esse estudo culminou com a publicação, em 1948, do livro *Glomerular Nephritis: Diagnosis and treatment*. Addis também deu importantes contribuições no campo da hemostasia, hemofilia e nefrologia.

Um grande marco na citologia urinária ocorreu com os estudos realizados pelo médico citopatologista grego George Papanicolaou [1883-1962]. Em 1945, Papanicolaou publicou o artigo denominado *Urine Sediment Smears as a Diagnostic Procedure in Cancers of the Urinary Tract*, onde descreveu detalhadamente a obtenção e o processamento das amostras de urina para análise oncológica, além de apresentar um sistema de classificação em citologia urinária com níveis de malignidade que variavam de 1 a 5.

Aqui concluímos o longo percurso do exame de urina, que abrange mais de 8.000 anos de história, passando pela uroscopia, iniciada na Antiguidade, chegando até o exame microscópico dos séculos XIX e XX. No século XXI, o estudo da urina viu um progresso vertiginoso em vários âmbitos de sua análise, como a utilização de diversos biomarcadores e biologia molecular, emprego de sistemas semiautomatizados e automatizados com diferentes metodologias e a inclusão da tecnologia computacional e digital e internet. Somados a isso, novos parâmetros e classificações foram propostos, o que tem permitido a análise e a interpretação dos resultados de forma cada vez mais uniforme e assertiva.

BIBLIOGRAFIA

- Antic T, DeMay RM. The fascinating history of urine examination. *J Am Soc Cytopathol*. 2014; 3(2):103-107.
- Armstrong JA. Urinalysis in Western culture: a brief history. *Kidney Int*. 2007; 71(5):384-7.
- Cameron JS. A history of urine microscopy. *Clin Chem Lab Med*. 2015; 53 (Suppl 2): s1453-64.
- Eknoyan G. Looking at the urine: the renaissance of an unbroken tradition. *Am J Kidney Dis*. 2007; 49(6):865-72.
- Kampmann J & Ann-Kathrine Schou Teglgård AKS. Urininspektionens historie fra uroskopi til urinanalyse. *Ugeskr Læger* 2017;179 (50): V69574.
- Magiorkinis E, Diamantis A. The fascinating story of urine examination: From uroscopy to the era of microscopy and beyond. *Diagn Cytopathol*. 2015; 43 (12): 1020-36.
- Voswinkel P. From uroscopy to urinalysis. *Clin Chim* 2000; 297 (1-2): 5-16.

Relação entre tipo sanguíneo ABO e prognóstico de pacientes com Covid-19: uma revisão integrativa

Relationship between ABO blood type and prognosis of patients with Covid-19: an integrative review

Thais de Melo do Nascimento Brunharo¹, Jaqueline Caldana¹, Luís Otávio Alves Mendonça¹, Diovanna de Paula Mesquita¹, Paulo Otávio Lopes¹, Amanda Silva Schiassi¹, Diego Pereira Scotini¹, Mariana de Sousa Oliveira¹, Beatriz Gimenez Alves¹, Poliana da Silva Romão², Caroline Brandão Chiovatto³, Sabrina Thalita dos Reis Faria⁴

¹ Universidade do Estado de Minas Gerais. Passos, MG, Brasil.

² Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

³ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil; Centro Universitário São Camilo. São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil; Hospital Moriah. São Paulo, SP, Brasil.

Resumo

Introdução: Tem-se notado uma associação entre o prognóstico dos infectados pelo SARS-CoV-2 e o fenótipo do sistema ABO, uma vez que os anticorpos anti-A ou anti-B poderiam modular o mecanismo de infecção desse vírus. **Objetivos:** Evidenciar se há relação entre a tipagem sanguínea do sistema ABO e o prognóstico, incluindo as complicações, de pacientes com Covid-19, além das possíveis explicações ou hipóteses. **Metodologia:** Revisão Integrativa feita em diferentes bases de dados coletados até 14 de julho de 2021, utilizando-se apenas de artigos que atendiam aos critérios propostos. **Resultados:** Amostra final foi constituída por seis artigos aderidos aos critérios. Encontrou-se muita disparidade nos resultados, como: maior risco de hospitalização na UTI e mortalidade no grupo A, fator de proteção no grupo O, fator protetivo do grupo AB, maior relação entre desenvolvimento de pneumonia em indivíduos do grupo A, grupo O não ser protetivo contra o risco e agravamento, tipo A com menor risco de incubação comparado ao tipo O e AB maior, também B apresentou maior risco de incubação e menor de morte comparado ao O. **Conclusão:** Os resultados heterogêneos evidenciados pela literatura não nos permitem chegar a uma conclusão clara acerca da influência do tipo sanguíneo ABO no prognóstico da Covid-19.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Sistema ABO de Grupos Sanguíneos; Prognóstico.

Abstract

Introduction: There is an association between the prognosis of people infected with SARS-CoV-2 and the ABO system phenotype, since anti-A or anti-B drugs modulate the mechanism of virus infection. **Objective:** To demonstrate the relationship between blood typing in the ABO system and the prognosis, including complications, of patients with Covid-19, in addition to possible explanations or hypotheses. **Methodology:** Integrative review conducted in different databases collected until July 14, 2021, using only original articles that met the proposed criteria. **Results:** The final sample consisted of 6 articles that met the criteria. There were many disparities in the results, such as: higher risk of ICU hospitalization and mortality in group A, protective factor in group O, protective factor in group AB, higher ratio of pneumonia development in group A, group O not being protective against risk and aggravation, type A with lower incubation risk compared to type O and AB higher, also B showed higher incubation risk and lower risk of death compared to O. **Conclusion:** The heterogeneous results evidenced by the literature do not allow us to reach a clear conclusion that limits ABO type blood supply on the prognosis of Covid-19.

Keywords: SARS-CoV-2; Prognosis; ABO Blood-Group System.

Correspondência

Sabrina Thalita dos Reis Faria

E-mail: sasareis@gmail.com

Recebido em 01/02/2022 | Aprovado em 06/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200015

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (2020), até a descoberta do SARS-CoV-2, causador da doença Covid-19, sete coronavírus eram conhecidos, entretanto não causavam doenças mais graves em humanos, sendo os responsáveis pela segunda maior causa de resfriados comuns. Todavia, em 31 de dezembro de 2019, a Organização Mundial de Saúde (OMS) foi alertada sobre vários casos de pneumonia que vinham afetando uma expressiva população em Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China. Em 7 de janeiro de 2020, a China confirmou se tratar de uma nova cepa de coronavírus. Desde então, a OMS, junto a autoridades chinesas e especialistas de vários países, tenta entender mais sobre essa nova cepa.

Dessa forma, diversos estudos foram surgindo, seja para investigar as medidas de contenção do novo vírus, para avaliar e entender o porquê de diferentes prognósticos, ou para descobrir terapêuticas que fossem eficazes no tratamento. A redução da mobilidade das pessoas foi evidenciada em várias pesquisas, como destacado por Nouvellet et al.,⁽¹⁾ o qual mostra redução da transmissão em 73% dos 52 países analisados após a adoção das medidas restritivas de circulação. O uso de máscara e a limpeza das mãos foram recomendados como barreiras físicas e na diminuição da carga viral visando, portanto, uma redução na transmissibilidade.

Além disso, estudos relacionados a diferentes prognósticos foram realizados para tentar prever quais pacientes poderiam ter um agravamento maior do caso. Assim, uma lista de comorbidades foi considerada para um risco maior de um quadro grave, como exemplo, temos o estudo de Yang et al.,⁽²⁾ o qual analisou pacientes internados no hospital da Universidade de Wuhan, e chegou a conclusão que pacientes com comorbidades cardíacas, renais ou hepáticas poderiam ter um prognóstico ruim e correndo um maior risco de morte. Além das comorbidades encontradas, outros fatores também foram observados e estudados, como a relação entre a tipagem sanguínea e a infecção ou prognóstico.

Estudo realizado na França por Guillon et al.⁽³⁾ evidenciou que a infecção pelo SARS-CoV, vírus responsável por um surto de síndrome respiratória aguda grave (SARS) ocorrido no final de 2002 na China, está diretamente relacionada ao grupo sanguíneo ABO do paciente. Nessa pesquisa, uma análise de bancada foi feita para averiguar se a adesão entre a proteína "S" do vírus em questão e o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2) que, por sua vez, é de fundamental importância para que o patógeno consiga realizar a infecção

das células do hospedeiro, poderia ser inibida por anticorpos anti-A ou anti-B. Os resultados mostraram que os anticorpos anti-A conseguiram bloquear a interação em questão e, portanto, poderiam conferir proteção àqueles que os possuíam.

Posto isso, como o SARS-CoV e o SARS-CoV-2 pertencem ao gênero *Betacoronavirus* e, portanto, apresentam características semelhantes, a presente revisão integrativa objetivou verificar a existência de associação entre o sistema ABO de grupos sanguíneos e o prognóstico da Covid-19, visando possibilitar uma melhor previsibilidade da doença em seus portadores, bem como auxiliar na definição dos critérios de uma possível revacinação contra o vírus responsável pela pandemia vigente.

MATERIAL E MÉTODOS

Tipo do estudo

Trata-se de uma revisão integrativa (RI), metodologia que integra achados de pesquisas, com a finalidade de reunir e resumir o conhecimento científico já produzido sobre o tema investigado com diferentes desenhos, permitindo a compreensão de problemas relevantes e a análise da necessidade de estudo sistemático.

Cenário: segundo Mendes, Silveira e Galvão,⁽⁴⁾ para se elaborar uma revisão integrativa necessita-se que etapas sejam seguidas: 1º Passo – Definição da pergunta da revisão. 2º Passo – Busca e seleção dos estudos primários. 3º Passo – Extração de dados dos estudos primários. 4º Passo – Avaliação crítica dos estudos. 5º Passo – Síntese dos resultados da revisão. 6º Passo – Apresentação da revisão.

Questão norteadora

Ao realizar-se a identificação da temática para a revisão integrativa, delimitou-se o seguinte tema: tipagem sanguínea de pacientes com Covid-19.

A prática baseada em evidências (PBE) propõe a decomposição dos problemas clínicos que surgem na prática, no ensino e na pesquisa e, em seguida, que sejam organizados dentro de uma pergunta focalizada (Akobeng, *apud* Santos, Pimenta e Nobre, 2007, p. 2).⁽⁵⁾

Nesse sentido, o acrônimo PICO (Quadro 1) significa (P) considerar a população, paciente ou problema alvo; (I) considerar o interesse da intervenção, interesse ou indicação; (C) comparação com procedimento padrão, placebo, intervenção de comparação ou não intervenção; (O) ("outcomes") desfecho ou resultado esperado, considerando os efeitos a serem alcançados com a intervenção.

Dentro desse contexto, a pesquisa tem como questão norteadora a seguinte indagação: Em pacientes com Covid-19, o tipo sanguíneo ABO influencia no prognóstico?

Quadro 1

Estratégia PICO para formular a questão norteadora.

P	Paciente com Covid-19
I	(Não se aplica)
C	Tipo sanguíneo A ou B ou AB ou O
O	Redução da admissão na UTI; Redução de intubação; Redução da mortalidade

Critérios de busca

Foram estabelecidos os descritores (DeCS): Coronavirus Infections, ABO Blood-Group System, Blood Group Antigens e Prognosis. A busca foi feita por mais de um revisor de modo independente, de acordo com a metodologia "peer review". As estratégias de busca estabelecidas (Quadro 2) foram baseadas em suas combinações nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola com o uso dos operadores booleanos AND e OR, buscando em título, resumo ou assunto. As fontes de informação estabelecidas foram: BVS, PubMed e Cochrane. O recorte temporal foi no ano de 2020, especificamente, até dia 14 de junho de 2021.

Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão para seleção dos artigos foram: artigos originais qualitativos ou quantitativos que analisaram e propuseram informações sobre os tipos sanguíneos A, B, AB ou O em pacientes com Covid-19, que poderiam ser relacionados à redução da admissão na UTI, de intubações, da mortalidade, de complicações e sequelas; publicados em português, inglês e espanhol; na íntegra; que retrataram a temática definida como tema central a partir de pesquisas

pelo título e resumo dos artigos; com artigos publicados até 14 de junho de 2021.

Foram excluídas as publicações que não correspondiam à temática da pesquisa; as que não apresentavam texto completo; as publicações repetidas; as que abordavam a temática de maneira tangencial em relação ao objetivo deste estudo; as publicações que abordavam relato de caso ou série de casos; as publicações não finalizadas ("preprint"); as revisões de literatura.

Resultados das buscas

A amostra final constituiu-se de 212 artigos. As bases de dados, as estratégias de busca correspondentes, as referências identificadas e os artigos selecionados estão registrados no Quadro 2.

Durante a busca de dados, realizou-se a seleção dos estudos primários, de acordo com a questão norteadora e os critérios de inclusão previamente definidos, sem necessidade de refinamento do ano de publicação, já que todos os artigos são de 2020 e 2021. Foram retiradas 96 duplicatas. A partir disso, realizou-se a leitura e análise por título e resumo, que resultou na exclusão de 73 artigos, finalizando com a leitura de texto completo dos 43 artigos selecionados e obtendo-se a exclusão de 37 artigos por abordarem o tema de forma secundária e tangencial. Essa leitura permite identificar e isolar enunciados que tangenciam o objetivo dos conteúdos proveitosos. Após isso, fez-se um tabelamento dos conteúdos. O processo de seleção dos artigos é apresentado na Figura 1. Assim, os seis artigos finais atenderam aos critérios de inclusão propostos na metodologia deste estudo, com informações imprescindíveis para elucidar a questão norteadora deste estudo. Esta análise foi realizada de forma minuciosa, buscando respostas para os resultados diferentes ou conflitantes nos estudos.

Quadro 2

Tabela de base de dados, estratégia de busca, referências identificadas, texto disponível e artigos selecionados.

Fonte de dados	Estratégia de busca	Referências identificadas	Artigos selecionados
BVS	ti:(Covid-19 OR SARS-CoV-2 OR Coronavirus OR "Coronavirus Infections" OR 2019-nCoV) AND ("Blood Grouping and Crossmatching" OR "ABO Blood-Group System" OR "Blood Grouping" OR "Blood Group" OR "Blood Group Antigens" OR "Blood Typing" OR "Blood Type" OR "ABO Blood Types" OR "ABO System" OR "ABO Blood")	105	1
PubMed	((("covid-19"[Title/Abstract]) OR ("coronavirus"[Title/Abstract]) OR ("sars-cov-2"[Title/Abstract])) AND (((("blood type"[Title/Abstract]) OR ("abo system"[Title/Abstract]) OR ("blood group"[Title/Abstract]) OR ("blood typing"[Title/Abstract]) OR ("abo blood"[Title/Abstract]) OR ("blood grouping"[Title/Abstract]))	185	5

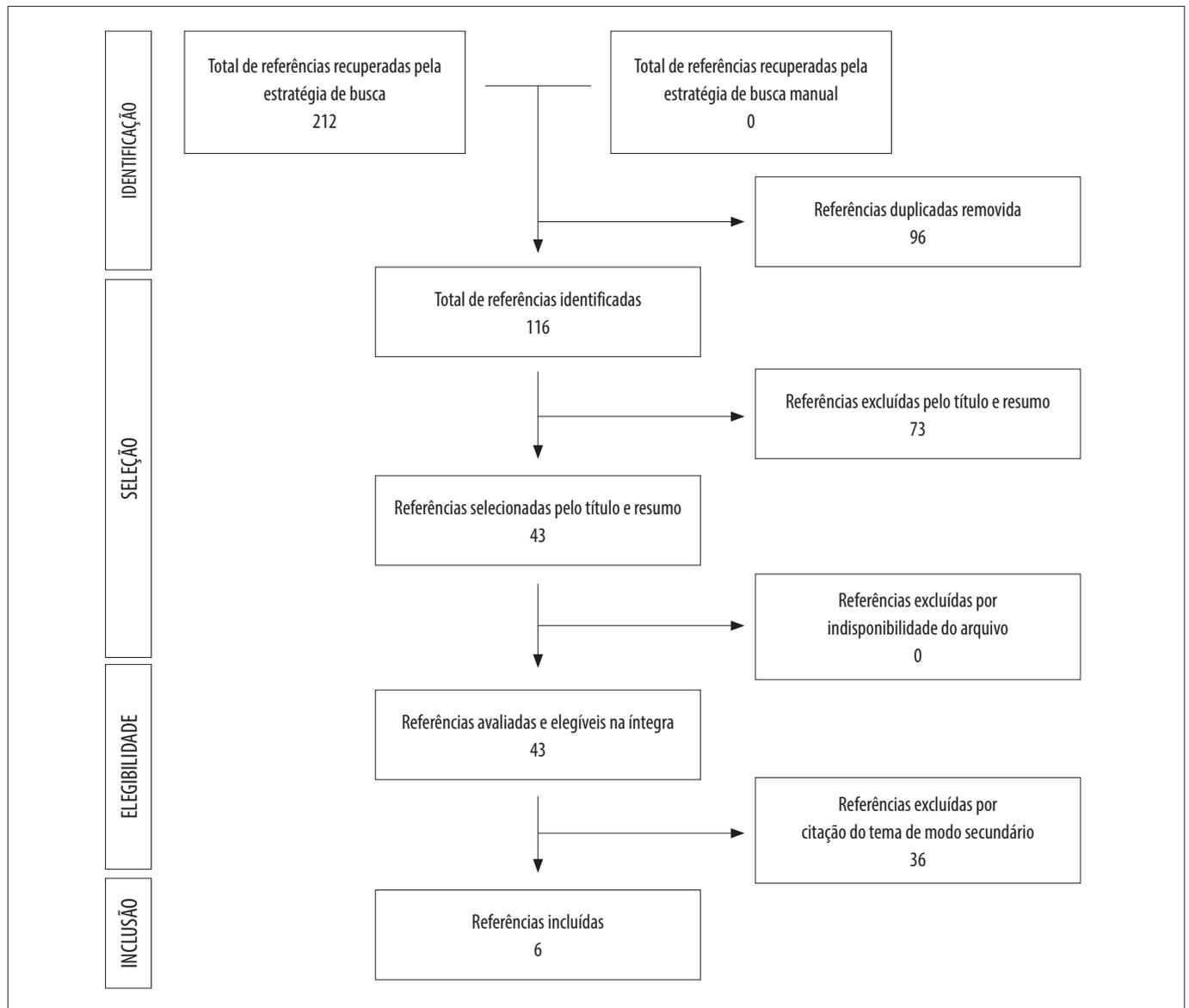


Figura 1

Fluxograma de identificação, seleção, elegibilidade e inclusão de artigos.

Ademais, o nível de evidência proposto a esse artigo de acordo com a classificação internacional Centre for Evidence-Based Medicine de Oxford (OCEBM) é 2A, visto que é uma revisão sistemática com estudos de coorte.

RESULTADOS

Dentro das análises feitas nos resultados obtidos, no estudo observacional de Al-Youha et al.,⁽⁶⁾ foram selecionadas 3.305 pessoas diagnosticadas com Covid-19 no Kuwait. Para

seleção do grupo controle, utilizou-se uma base de dados nacional, com seleção de 3.730.027 indivíduos anônimos. Dentre o grupo de pacientes com Covid-19, houve um grande número de assintomáticos (34,2%) – o que os autores trazem como uma limitação do estudo –, sendo a maior proporção de indivíduos do grupo O (36,7%). Nos indivíduos sintomáticos, a maior diferença encontrada foi acerca da manifestação de pneumonia, com maior incidência (23,3%) no grupo A. No entanto, não foi possível associar o tipo sanguíneo com um quadro de agravamento da doença e de pior diagnóstico,

sendo a necessidade de requisição de ventilação mecânica e oxigênio sem diferença estatística entre os grupos ($p=0,160$). Dentre os pacientes diagnosticados com Covid-19, foram encontradas maiores frequências de indivíduos do grupo B e grupo AB, em relação à frequência desses grupos na população geral. O estudo apresentou como limitação a ausência de dado estatístico completo.

Já no estudo observacional de Almadhi et al.,⁽⁷⁾ foram selecionadas 4.985 pessoas no grupo controle, a partir de dados de um banco de sangue da King Hamad University. Para o grupo Covid-19, foram selecionadas 2.334 pessoas, a partir de diagnóstico positivo por exame *swab* nasofarínge (PCR), sendo que as frequências de grupo sanguíneo entre os grupos foram semelhantes. Evidenciou-se, por teste de qui-quadrado, que o grupo AB estava associado a um menor risco de infecção ($p=0,001$). Além disso, na análise acerca da predisposição sanguínea a um pior prognóstico, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os diferentes grupos sanguíneos e a gravidade da doença ($X^2=1,85$; $p=0,603$).

No estudo retrospectivo de Dal et al.,⁽⁸⁾ 39.850 pessoas diagnosticadas laboratorialmente com Covid-19 participaram do estudo na Turquia, sem realização de grupo controle, com randomização pela idade, gênero e tipo sanguíneo. Notou-se que o grupo sanguíneo A está relacionado a um aumento da taxa de admissão à Unidade de Terapia Intensiva (UTI) (OR=1,216; 95% IC: 1,023-1,44). Além disso, constatou-se ausência de diferença significativa entre grupo O e grupo não O, em relação ao tempo de internação, admissão na UTI, suporte de ventilação mecânica (VM) e taxa de letalidade (CFR). Como limitação deste estudo, notou-se a ausência de grupo controle para comparação dos resultados.

Em outra análise, Leaf et al.⁽⁹⁾ abordam a mortalidade em 2.033 pacientes críticos com Covid-19, laboratorialmente diagnosticados, admitidos na UTI no seu estudo coorte multicêntrico. No artigo referido, foram utilizados dados da população de doadores de sangue dos Estados Unidos, totalizando 3,1 milhões de pessoas, como controle. Houve diferença significativa ($p=0,02$) entre a frequência observada e esperada na mortalidade entre pacientes brancos, com o tipo A apresentando maior fator de risco e o grupo O como fator protetor. Houve limitações no que se refere à ausência de acompanhamento e, por isso, de informações sobre o desfecho clínico de pacientes que permaneceram por mais de 1 mês e 7 dias na UTI. Além disso, o estudo não trouxe uma abordagem estatística completa, pois não há a presença do intervalo de confiança.

Já no estudo coorte de Ray et al.,⁽¹⁰⁾ de acordo com os critérios de inclusão, 225.556 pessoas foram incorporadas no estudo, independente do resultado do teste PCR para Covid-19. Sendo assim, em uma avaliação geral, que incluiu todos os indivíduos, a estatística apontou fator de proteção relacionado ao tipo sanguíneo O em comparação com os demais (OR=0,87; 95% IC: 0,78-0,97). Em uma análise adicional, o estudo avalia apenas os indivíduos com teste PCR positivo para Covid-19 (7.071 pessoas), o grupo sanguíneo O não se apresentou protetivo em relação à infecção pelo Sars-CoV-2 (RR=0,98; 95% IC: 0,90-1,07) e, sendo assim, não houve diferença estatística entre os grupos.

No trabalho realizado por Zietz et al.,⁽¹¹⁾ foram incluídos 14.112 indivíduos, que fizeram teste para SARS-CoV-2. Foram usadas três comparações: prevalência de infecção nos primeiros testes, sobrevivência para intubação e morte entre aqueles pacientes positivos no teste de esfregaço. Além da maior prevalência de infecção nos grupos A, B e AB em relação ao tipo O, foram analisados os dados para morte. Assim, apesar de haver um risco menor de intubação e morte no tipo A quando comparado ao tipo O, não houve significância estatística (RR=0,84; IC: 0,66-1,02). Além disso, também não foram estatisticamente relevantes: o maior risco no grupo AB (RR=1,07; IC: 0,59-1,57); o maior risco de intubação no grupo B (RR=1,12; IC: 0,89-1,40); e o menor risco de morte do grupo B quando comparado ao tipo O (RR=0,79; IC: 0,56-1,05). No geral, foi estimada uma diferença de risco absoluto entre 0,1 e 8,2% entre os grupos sanguíneos, após ajuste de covariáveis.

No total de artigos selecionados, foram incluídas seis referências listadas com seus resultados conforme descrito na Tabela 1. Houve muita heterogeneidade dos resultados, sendo que em Dal et al.,⁽⁸⁾ o grupo A teve maior risco de hospitalização na UTI. Na comparação grupo O e grupo não O, há ausência de diferença significativa na admissão na UTI e na mortalidade. No estudo de Leaf et al.,⁽⁹⁾ o grupo A também demonstrou ter maior risco de mortalidade. Em contrapartida ao estudo de Dal, o grupo O apresenta-se como um fator protetor. No estudo de Al-Youha et al.,⁽⁶⁾ houve um grande número de indivíduos assintomáticos, predominando indivíduos do grupo O, e uma predisposição do grupo A em desenvolver pneumonia, no entanto não foi possível associar, estatisticamente, grupo sanguíneo e pior prognóstico para suporte de oxigênio. No mesmo sentido, no coorte de Almadhi et al.,⁽⁷⁾ não houve relação entre tipo sanguíneo e gravidade da doença. Em contrapartida, o grupo AB foi relacionado a um menor risco de infecção. Fora

isso, no estudo de Ray et al.,⁽¹⁰⁾ houve maior probabilidade de agravamento da doença nos grupos AB e B; ao final das análises, viram que o grupo O não foi protetivo contra o agravamento da doença. Já no estudo de Zietz et al.,⁽¹¹⁾ mostrou-se que o tipo A teve um risco menor de intubação e morte quando comparado ao tipo O, além disso o grupo AB

teve um risco maior. No geral, foi estimada uma diferença de risco absoluto entre 0,1 e 8,2% entre os grupos sanguíneos. Sendo assim, é importante deixar claro que os dados publicados até o presente momento não nos permitem concluir que o sistema ABO seja considerado um fator de risco para a gravidade da Covid-19.

Tabela 1

Principais características e desfechos encontrados nos artigos incluídos.

Nº	Autores (Ano)	País	Tipo de estudo	N amostral (Covid-19/ Controle)	Crítérios de seleção do grupo Covid-19	Crítérios de seleção do grupo controle	Nível de evidência	Principais desfechos
1	Al-Youha (2021) ⁽⁶⁾	Kuwait	Estudo coorte	3.305 / 3.730.027	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19, internados no período de 24 de fevereiro a 27 de maio de 2020.	Banco de dados nacional de indivíduos anônimos.	2b	Maior frequência de assintomáticos no grupo O. Alta frequência de pneumonia, dentre os sintomáticos, no grupo A. Não houve significância estatística entre grupo sanguíneo e pior prognóstico para suporte de oxigênio.
2	Dal (2021) ⁽⁸⁾	Turquia	Caso controle	39.850 / NR	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19, maiores de 18 anos, com randomização por idade, gênero e tipo sanguíneo.	NR	3b	Aumento da admissão na UTI no grupo A (OR=1,216; 95% IC: 1,023-1,44). Não houve significância estatística na taxa de internação, UTI, ventilação mecânica e mortalidade entre grupo O e não O.
3	Leaf (2020) ⁽⁹⁾	Estados Unidos	Estudo coorte multicêntrico	2.033 / 3,1 milhões	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19, maiores de 18 anos, admitidos na UTI, no período de 4 de março a 8 de maio de 2020.	Dados de banco de sangue dos Estados Unidos.	2b	Maior fator de risco para mortalidade no grupo A. Fator protetor contra agravamento no grupo O (p=0,02).
4	Almadhi (2021) ⁽⁷⁾	Bahrein	Estudo coorte	2.334 / 4.985	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19, através de exame PCR, via <i>swab</i> de nasofaringe.	Dados do banco de sangue do King Hamad University, em um intervalo de 2 anos.	2b	Não houve significância estatística entre grupo sanguíneo e pior prognóstico.
5	Ray (2021) ⁽¹⁰⁾	Canadá	Estudo coorte	225.556 / 2.659.328	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19 no período de observação.	Pessoas que haviam realizado tipagem sanguínea entre janeiro de 2007 a dezembro de 2019.	2b	Fator protetor contra agravamento no grupo O. Não houve significância estatística entre grupo sanguíneo e pior prognóstico ou morte.
6	Zietz (2020) ⁽¹¹⁾	Estados Unidos	Estudo coorte	14.112 / NR	Pacientes com diagnóstico laboratorial de Covid-19 com um ou mais testes de esfregaço.	Banco de dados do NYP/ CUIMC EHR	2b	Menor risco de intubação e morte no grupo A em relação ao grupo O. Maior risco de intubação e morte no grupo AB em relação ao grupo O. Maior risco de intubação e menor risco de morte no grupo B.

Legenda: NR = not report.

DISCUSSÃO

Observa-se uma grande variedade de resultados a partir da análise de cada trabalho incluído, demonstrando diferenças em relação à existência ou não de associação entre grupos sanguíneos a quadros de agravamento ou de pior prognóstico após infecção por Covid-19. Isso se afirma, pois nos estudos de Al-Youha et al.⁽⁶⁾ e Almadhi et al.⁽⁷⁾ não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre a relação de grupos sanguíneos e gravidade de casos, entretanto o estudo de Dal et al.⁽⁸⁾ relata aumento de taxa de admissão em unidade de terapia intensiva (UTI) para indivíduos do grupo sanguíneo do tipo A, apesar de não serem constatadas diferenças significativas entre grupos O e não O em relação ao tempo de internação, admissão na UTI, suporte de ventilação mecânica (VM) e taxa de letalidade (CFR).

Por outro lado, o trabalho de Leaf et al.⁽⁹⁾ demonstra diferença significativa entre frequência de mortalidade observada como maior para pacientes com o tipo sanguíneo A, e menor para pacientes com o tipo sanguíneo O. Além disso, no estudo de Ray et al.⁽¹⁰⁾ também foram observadas menores taxas de infecção por Covid-19 para o grupo sanguíneo do tipo O com Rh-, e maiores taxas de infecção para o grupo B Rh+, que ressalta os efeitos protetores do grupo O especialmente aos indivíduos com idade inferior a 70 anos. Em relação aos quadros de agravamento, Ray et al.⁽¹⁰⁾ afirmam que houve maior probabilidade entre os tipos AB e B, porém o grupo O já não se demonstrava como fator protetivo contra o agravamento ou contra a evolução para morte nos casos de infecção. A análise, contudo, do trabalho de Zietz et al.⁽¹¹⁾ apresenta diferença significativa para o grupo sanguíneo e o risco de infecção como maior para os grupos A e B e menor para o grupo AB. Já em relação à possibilidade de agravamento ou morte, o trabalho de Zietz et al.⁽¹¹⁾ conclui que há menor risco de intubação e morte para indivíduos do tipo sanguíneo A e maior para indivíduos do tipo AB, quando comparados ao O. Nesse ínterim, como resultado desta revisão pode-se observar que, apesar de três dos artigos analisados não apresentarem diferenças entre grupos sanguíneos e gravidade da doença, os demais estudos apontam piores prognósticos para os tipos sanguíneos A, AB e B, com fatores Rh+, e melhores prognósticos para os tipos sanguíneos O e com fator Rh-.

Dessa forma, observa-se grande heterogeneidade de resultados que contrastam ainda com resultados obtidos a partir de outros estudos, como o estudo canadense de Latz et al.⁽¹²⁾ que aponta o tipo O como maior propensão a condições severas. É possível também realizar uma comparação

à metanálise desenvolvida por Liu et al.⁽¹³⁾ que concorda com o resultado apontado para os piores prognósticos de agravamento por Covid-19 desenvolvidos por pacientes do tipo A, e à revisão literária publicada por Zhang et al.⁽¹⁴⁾ que também apresenta grande diversidade de resultados em relação ao quadro de severidade, mas concorda com o resultado apontado para um maior fator de proteção atribuído ao tipo O Rh- contra a infecção por Covid-19.

É importante destacar ainda que os estudos oferecem justificativas plausíveis quanto aos mecanismos de suscetibilidade maior para os grupos não O: os antígenos do grupo ABO modulam a expressão de receptores contendo ácido siálico, e sua grande expressão maximizaria a capacidade de ligação entre os vírus e célula do hospedeiro, sendo que os tipos AB e B estimulam o agrupamento de carboidratos, facilitando as interações carboidrato-carboidrato, e maximiza a agregação, reconhecimento e interação celular, aumentando a probabilidade da ligação do Covid à célula do hospedeiro. Outro fator se deve aos tipos O e B apresentarem a produção de anticorpos anti-A e, portanto, serem menos suscetíveis à infecção, devido a seus efeitos inibitórios contra a proteína S do vírus, como já citado em estudo realizado por Guillon et al.⁽³⁾

Ressalta-se que algumas limitações para o estudo devem ser citadas. Dessa forma, as variáveis para avaliação do prognóstico dos pacientes de cada estudo são diferentes, como internação em UTI, necessidade de intubação, morte, entre outros. Outrossim, as amostras de populações de cada estudo são diferentes, o que dificulta a comparação de resultados.

CONCLUSÃO

Esta RI permitiu mapear a produção científica sobre a relação entre o tipo sanguíneo dentro sistema ABO de pacientes com Covid-19 e a sua influência no prognóstico desta patologia. Os resultados mostraram-se bem heterogêneos quanto à possível influência do tipo sanguíneo na probabilidade de um pior ou melhor quadro de Covid. Enquanto metade dos estudos selecionados não apresentaram diferença estatística significativa entre os diferentes grupos sanguíneos e seu prognóstico para o Covid-19, os demais apontaram melhor prognóstico para os tipos O e Rh-.

Com isso, fica evidente que os estudos existentes em relação à temática em questão não nos permitem chegar a uma conclusão clara. Posto isso, é importante ressaltar a importância da realização de mais estudos que abordem tal temática com uma maior padronização nas análises realizadas e, conseqüentemente, consigam esclarecer a existência ou

não da relação entre os tipos sanguíneos ABO e o prognóstico da infecção por SARS-CoV-2.

REFERÊNCIAS

1. Nouvellet P, et al. Reduction in mobility and Covid-19 transmission. *Nature communications*, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2021.
2. Yang R, et al. The role of essential organ-based comorbidities in the prognosis of Covid-19 infection patients. *Expert review of respiratory medicine*, v. 14, n. 8, p. 835-838, 2020.
3. Guillon P, et al. Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiology*, v. 18, p. 1085-1093, 2008.
4. Mendes KDS, Silveira RCCP, Galvão CM. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. *Texto & contexto enfermagem*, v. 17, n. 4, p. 758-764, 2008.
5. Santos CM da C, Pimenta CA de M, Nobre MRC. A estratégia PICO para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 15, n. 3, p. 508-511, 2007.
6. Al-Youha SA, et al. The impact of ABO blood groups on clinical outcomes and susceptibility to Covid-19: A retrospective study in an unselected population. *Transfusion*, v. 61, n. 5, p. 1631-1641, 2021.
7. Almadhi MA, et al. The effect of ABO blood group and antibody class on the risk of Covid-19 infection and severity of clinical outcomes. *Scientific reports*, v. 11, n. 1, p. 1-5, 2021.
8. Dal MS, et al. Covid-19 Clinical Course and Blood Groups: Turkish Population-Based Study. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2021.
9. Leaf RK, et al. ABO phenotype and death in critically ill patients with Covid-19. *British journal of haematology*, 2020.
10. Ray JG, et al. Association Between ABO and Rh Blood Groups and SARS-CoV-2 Infection or Severe Covid-19 Illness: A Population-Based Cohort Study. *Annals of Internal Medicine*, 2021.
11. Zietz M, et al. Associations between blood type and Covid-19 infection, intubation, and death. *Nature Communications*, 2020.
12. Latz CA, DeCarlo C, Boitano L, Png CYM, Patell R, Conrad MF, Eagleton M, Dua A. Blood type and outcomes in patients with COVID-19. *Ann Hematol*. 2020.
13. Liu N, et al. The impact of ABO blood group on Covid-19 infection risk and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Blood Reviews*. v. 48, 2021.
14. Zhang Y, et al. Association between ABO blood types and coronavirus disease 2019 (Covid-19), genetic associations, and underlying molecular mechanisms: a literature review of 23 studies. *Annals of Hematology*. v. 100, n. 5, p. 1123-1132, 2021.

Importância da qualidade na fase pré-analítica

Importance of quality in the pre-analytical phase

Karen Cristina Barbeiro Marques¹

¹ FHO – Fundação Herminio Ometto – (Técnica de coleta II). Araras, SP, Brasil.

Resumo

Os exames no laboratório de medicina diagnóstica auxiliam os médicos nas decisões clínicas, descobertas de doenças e por fim na verificação da evolução do paciente diante dos tratamentos, sendo de responsabilidade do laboratório a realização e entrega do resultado de forma precisa e confiável. Para isso, dividimos a análise em três fases: fase pré-analítica, englobando desde a escolha do exame pelo médico até o transporte da amostra para o local de análise; fase analítica, em que ocorre a análise propriamente dita; e, por fim, fase pós-analítica quando então são liberados e interpretados os resultados. A fase pré-analítica é a menos automatizada e conta com a participação do maior número de profissionais de áreas distintas, logo a possibilidade de erros é maior, prejudicando a qualidade da amostra e interferindo no resultado dos exames, causando grande impacto à vida do paciente. Esse estudo tem por objetivo informar aos profissionais da saúde a importância de uma fase pré-analítica bem executada, prevenindo erros futuros.

Palavras-chave: Controle analítico de qualidade; Fase pré-analítica; Técnicas de laboratório clínico

Abstract

The laboratory examinations in the diagnostic medicine assist doctors in clinical decisions, discoveries of diseases and, finally, in verifying the evolution of the patient in the face of treatments, being the responsibility of the laboratory, the performance and delivery of the result in a precise and reliable way. For this, we divided the analysis into three phases: pre-analytical phase encompassing the choice of the exam by the doctor, until the transport of the sample to the analysis site, the analytical phase where the analysis takes place and finally, the post-analytical phase where it is released and interpreted the results. The pre-analytical phase is the least automated and has the participation of the largest number of professionals from different areas, so the possibility of errors is greater, impairing the quality of the sample and interfering with the results of the exams, causing a great impact on the patient's life. This study aims to inform health professionals about the importance of a well-executed pre-analytical phase, preventing future errors.

Keywords: Pre-analytical phase; Quality control; Clinical laboratory techniques

Correspondência

Karen Cristina Barbeiro Marques

E-mail: karenbarbeiro@outlook.com

Recebido em 06/07/2020 | Aprovado em 18/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202035

INTRODUÇÃO

Os laboratórios de medicina diagnóstica têm papel importante nas decisões médicas perante o paciente. Logo, é importante estabelecer confiança e segurança diante dos laudos laboratoriais. Para a redução dos erros e aumento da segurança e confiabilidade dos processos pré-analíticos, é necessária uma série de atividades que visem à educação continuada dos profissionais envolvidos nos processos de obtenção e manipulação de amostras biológicas. Sendo assim, é exigido que os serviços de medicina diagnóstica assumam a responsabilidade por todos os testes laboratoriais e busquem a redução de erros.⁽¹⁾

Existem quatro razões para a solicitação de um teste laboratorial: suporte diagnóstico; monitoramento (p. ex., efeito medicamentoso); rastreamento e pesquisa (compreensão da doença). Em virtude disso, a quantidade de testes laboratoriais disponíveis aos médicos tem crescido desde 1920, quando Folin e Wu usaram o primeiro teste de quantificação de glicose sérica. A lista atual dos exames oferecidos por um grande laboratório excede 3.000 analitos.⁽²⁾ Um exame é apropriado quando é efetivo, devidamente indicado, pouco oneroso e disponível para a população. Na solicitação de um exame, deve-se avaliar o custo/benefício, ou seja, se o teste será benéfico para o diagnóstico, prognóstico ou tratamento. Caso contrário, o exame pode ter um custo desnecessário, e elevar o risco de resultados incorretos, fazendo assim surgirem novas investigações e gerar alterações errôneas na terapia, atraso no diagnóstico ou aumento de internação hospitalar.⁽³⁾

O treinamento correto e rotineiro dos profissionais que realizam a coleta do espécime diagnóstico sanguíneo (sangue arterial, venoso e/ou capilar), no que se refere à correta postura do paciente, hora da coleta, ao tempo de aplicação do torniquete, ao procedimento inadequado de constrição do músculo do antebraço e a correta sequência dos tubos nas coletas em sistema a vácuo, são condições primordiais para a qualidade do resultado⁽⁴⁾. Para manter essa qualidade também dividimos os procedimentos laboratoriais em três fases distintas, sendo elas: pré-analítica, analítica e pós-analítica. De todas as fases, a pré-analítica contempla maior número de erros registrados, logo é a mais depreciada pelos profissionais de saúde.⁽⁵⁾

É importante salientar que a detecção precoce dos erros evitará coletas de amostras biológicas e custos adicionais pela repetição das análises, que além de comprometer a reputação dos laboratórios, pode aparentar uma ineficácia na qualidade do serviço prestado⁽⁶⁾. Outros motivos para

os elevados índices de falhas nessa etapa laboratorial é a baixa automatização, o difícil controle dos itens dessa etapa, como as informações dadas pelos pacientes durante os questionamentos às vésperas da coleta, por exemplo, omitir se está em jejum, se tomou os medicamentos ou praticou exercícios, os quais podem comprometer a qualidade do exame. Dessa forma, ao êxito da fase pré-analítica depende não apenas do profissional de saúde, mas também da colaboração do paciente.⁽⁷⁾

Portanto, resultados equivocados podem prejudicar a interpretação de uma doença e a prescrição do tratamento. Por isso, o Controle Externo de Qualidade em laboratórios clínicos visa aumentar a qualidade dos serviços prestados em função do paciente.⁽⁸⁾ Por fim, a evolução tecnológica foi uma alavanca, que permitiu a implementação dos conceitos de qualidade no laboratório clínico. No entanto, as novas práticas causam um aumento do custo nos processos laboratoriais e nem sempre acompanham o crescimento da remuneração pelas fontes pagadoras. Pelo contrário, os laboratórios clínicos, particularmente no Brasil, passaram a sofrer pressão dos provedores de serviço de saúde suplementar, no sentido de diminuir os custos de execução dos exames.⁽³⁾

Os serviços médicos necessitam de um suporte laboratorial confiável para tomar decisões adequadas e formular políticas. O sistema de acreditação de laboratório é necessário para a aceitação dos resultados dos testes nas esferas nacional e internacional. Esse processo repercute de forma positiva na imagem da instituição, conferindo fidedignidade na qualidade dos serviços, traduzindo-se na confiança tanto dos profissionais que fazem parte das instituições quanto dos clientes e usuários desses serviços.⁽⁹⁾

REFERENCIAL TEÓRICO

O laboratório de análises clínicas

O laboratório de análises clínicas auxilia nas escolhas diagnósticas e terapêuticas, emitindo os laudos, que são documentos contendo os resultados das análises laboratoriais, validados pelo responsável técnico.⁽¹⁰⁾ Logo, é necessária a assertividade nos resultados emitidos, pois esses dados têm influência na tomada de decisão dos médicos solicitantes e no diagnóstico dos pacientes.⁽¹⁾ Na assistência à saúde, são essenciais os serviços que auxiliam na conduta médica nas situações clínicas do paciente. Neste contexto, os laboratórios de análises clínicas são fundamentais, pois contribuem na assistência e promoção da saúde através do funcionamento de diferentes setores (hematologia, bioquímica, imunologia,

bacteriologia, parasitologia e uroanálise, dentre outros) e, pelos progressos na automação, podem atuar de forma inter-relacionada na análise de diversas amostras biológicas (sangue, urina, fezes, líquor, escarro, dentre outros) e na emissão de laudos (bioquímicos, hematológicos, imunológicos, microbiológicos, de uroanálise) contendo o estado fisiológico do paciente, além de emitirem resultados de forma rápida, precisa, exata e confiável. Após a interpretação correta pelo médico, podem comprovar, estabelecer ou adicionar um diagnóstico condizente ao histórico clínico do paciente. Assim, os exames laboratoriais podem influenciar em aproximadamente 70% das decisões médicas aplicadas ao paciente.⁽⁶⁾

Para se ter uma organização de confiança, é importante ter o controle de todos os procedimentos, identificando falhas, e agir para reduzir suas consequências. Por isso, é importante o treinamento constante da equipe, desde a recepção até a liberação do laudo, mantendo-os constantemente atualizados, fornecendo o Procedimento Operacional Padrão (POP) caso haja alguma dúvida durante algum procedimento, levantando as causas de falhas e intervindo de forma efetiva antes que elas cheguem ao paciente, gerando transtornos ou comprometendo o tratamento ou, ainda, infligindo algum risco a sua saúde.⁽⁸⁾ Vale ressaltar que a liberação de um laudo de forma incorreta pode ocasionar aumento de consultas médicas e de testes laboratoriais e de imagem, elevando o custo dos serviços de saúde.⁽³⁾

Logo, as medidas de biossegurança nos laboratórios têm por objetivo reduzir ou eliminar os riscos inerentes às atividades, visando a saúde dos pacientes, a preservação do ambiente e a qualidade dos resultados, valendo ressaltar que os profissionais devem estar atentos a essas medidas e ser treinados e avaliados. Procedimentos eficazes de orientações para promover a padronização, harmonização, detecção e o manuseio de amostras realizado por pessoal competente e bem treinado são essenciais para garantir um resultado com grau de exatidão ideal, precisão e confiabilidade fornecidos pelo laboratório.⁽⁸⁾

As fases analíticas no laboratório de análises clínicas

Os testes no laboratório de análises clínicas passam por uma série de fases, que servem para obtenção de um laudo laboratorial que ajudará no diagnóstico do paciente e têm início fora do laboratório.⁽¹⁾ O processo que finaliza na execução de um exame laboratorial tem início na avaliação clínica, onde é estabelecida uma hipótese diagnóstica e ocorre a solicitação dos exames. O processo final se concretiza por meio

do médico utilizando a informação gerada pelo laboratório.⁽³⁾ Esse ciclo é composto pelas seguintes fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica, que estão sujeitas a vários possíveis erros que afetam a qualidade e confiabilidade do resultado.⁽²⁾

A fase pré-analítica é iniciada após a definição do médico sobre quais exames solicitar, levando em consideração outros exames, relatos do paciente e anamnese; prosseguindo na sua preparação para coleta, quando então é importante orientar em relação às medicações a usar ou evitar, cuidados com higiene, alimentação, dentre outros; após esta etapa inicia-se a coleta, manipulação e armazenamento do espécime antes da análise.⁽⁵⁾

Já a fase analítica ocorre a análise da amostra. Essa etapa é a mais automatizada e para seu controle existem parâmetros avaliadores, como precisão, sensibilidade, especificidade, exatidão, entre outros. Ao avaliar esses índices, é preciso atenção à calibração da aparelhagem, à conservação dos reagentes e ao uso de cálculos matemáticos, como o gráfico controle tipo Levey-Jennings, que analisa a imprecisão de determinado analito.⁽⁷⁾

Por fim, na fase pós-analítica, se dá a entrega do resultado do exame, segundo legislação vigente, considerando aspectos legais e posterior análise pelo médico, que terá como referência os dados fornecidos para concluir o diagnóstico e iniciar o procedimento adequado. Para isso é importante que nos laboratórios de análises clínicas os profissionais sigam as recomendações de forma a reduzirem erros que podem ocorrer durante as três fases. Elas também estão relacionadas com orientações aos pacientes para o procedimento de coleta, execução do material coletado e avaliação da concordância no resultado, oferecendo assim segurança no diagnóstico médico. Logo, todas as variáveis relacionadas são passíveis de erros recorrentes nas análises clínicas e devem ser avaliadas por profissionais com responsabilidade e qualificação profissional. Não é correto afirmar que só ocorrem erros na etapa extra-analítica, por envolverem pessoas, e que máquinas não erram, mas com o envolvimento de vários membros da equipe corre-se o risco de aumentar a probabilidade de falhas.⁽⁵⁾

Diante disso, os laboratórios adotam vários tipos de metodologias para assegurar a credibilidade, precisão e exatidão dos laudos emitidos. Isto inclui métodos para diminuir os erros nas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, procedimentos de controle em qualidade interno e externo, como o monitoramento das análises realizadas, acreditação laboratorial e programas de certificação laboratorial e instruções ao paciente antes da coleta do material biológico.⁽⁶⁾

A fase pré-analítica

É na fase pré-analítica que ocorre um elevado número de erros na análise de amostras biológicas, pela dificuldade em controlar as variáveis pré-analíticas, uma vez que esta fase envolve inúmeras atividades não automatizadas como a coleta, o manuseamento, o transporte e a preparação das amostras.⁽¹⁾ Estudos apontam que aproximadamente 40% a 70% dos erros ocorrem na fase pré-analítica.⁽²⁾ No Brasil, raros são os laboratórios que possuem sistemas pré-analíticos totalmente automatizados.⁽⁴⁾

Para diminuir os índices de erros é importante instruir o paciente quanto ao preparo no momento da solicitação dos testes. Conforme a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), o médico solicitante ou seus auxiliares diretos devem ser responsáveis pela primeira instrução ao paciente sobre as condições para a realização do exame, informando-o sobre a eventual necessidade de preparo, como jejum, interrupção do uso de alguma medicação, dieta específica, ou ainda a não realização de atividade física antes da coleta dos exames.

Ao flebotomista cabe, antes da coleta das amostras, o conhecimento e observação de informações relevantes, junto ao paciente, a chamada condição pré-analítica: gênero, idade, posição do corpo, atividade física, jejum, dieta e uso de drogas para fins terapêuticos, tabagismo e etilismo, pois esses dados poderão comprometer a exatidão dos resultados.

⁽¹⁾ Ainda existem as variações nos resultados laboratoriais que podem ser previstas levando-se em consideração ciclos biológicos e circadianos não modificáveis. Com o conhecimento desses ciclos e ritmos biológicos, pode-se escolher a melhor época para a coleta da amostra biológica, na qual o analito de interesse esteja dentro dos parâmetros clínicos esperados.

É importante salientar que a maioria dos analitos de interesse médico podem sofrer variações importantes decorrentes dos hábitos que antecedem a coleta da amostra biológica, comprometendo a precisão e exatidão das análises. É possível constatar que nos estudos pesquisados os parâmetros biológicos mais passíveis de alterações são as dosagens de glicose, colesterol, triglicérides, enzimas e eletrólitos.⁽⁶⁾

Para realizar uma coleta em condições adequadas, o flebotomista deve estar devidamente instruído e capacitado. Também deve respeitar as normativas de biossegurança e instruções escritas, como manuais padronizados de coleta de sangue venoso ou arterial, para que o procedimento de coleta seja seguro, tanto para o paciente como para quem está realizando a coleta.⁽¹⁾ O processo de antisepsia deve ser realizado com movimentos circulares do centro para

fora no sítio de punção, e não com movimentos lineares do sentido distal para o proximal no antebraço, a fim de induzir a estase venosa, fator que afeta a qualidade do espécime diagnóstico. Contaminações no local da punção podem ser favorecidas pela realização incorreta deste procedimento. O tempo de aplicação do torniquete não deve ultrapassar 1 minuto. A aplicação do torniquete durante a coleta aumenta significativamente a concentração de diversos analitos a partir de 1 minuto, quando em comparação com a coleta utilizando sistema de iluminação transdérmica. Para que a aplicação do torniquete não interfira na determinação quantitativa dos analitos, ele deve ser retirado quando a agulha for introduzida na veia. O ato errôneo da constrição do músculo do antebraço, representado pelo movimento de abrir e fechar a mão que muitos pacientes realizam espontaneamente ou por solicitação, deve ser monitorado, pois permite avaliar o grau de atenção e eventuais vícios do flebotomista. Estudos demonstraram que a constrição do músculo do antebraço causa elevação do potássio sérico, afetando significativamente os resultados e induzindo um falso diagnóstico.⁽⁴⁾

Em 1982, Calam e Cooper observaram que a ordem de retirada de sangue para tubos contendo aditivo pode alterar o potássio e o cálcio. Essas recomendações foram validadas pela Clínica e Laboratório Standards Institute e foram ligeiramente modificadas ao longo dos anos com a introdução de plástico em vez de tubos de vidro e o desenvolvimento do ativador de coágulos e aditivos separadores de gel.⁽¹²⁾

Também é importante salientar que de acordo com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), Organização Mundial da Saúde (OMS) e *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI), para obter uma qualidade aceitável e evitar contaminação das amostras por metais ou anticoagulantes presentes, sugere-se uma ordem específica para coleta em tubos a vácuo, sendo ela: citrato de sódio (azul-claro), soro com ou sem ativador de coágulo (vermelho), heparina (verde), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA, roxo), oxalato/fluoreto (cinza). Porém, uma pesquisa realizada na Bélgica afirmou que não existem interferências relevantes nos exames laboratoriais, independente da ordem de coleta dos tubos. No entanto, essa afirmação ainda deve ser analisada cautelosamente, pois se trata de uma contradição do senso comum existente até então sobre a importância da ordem de coleta.⁽¹⁰⁾

A observação da homogeneização correta do espécime diagnóstico permite monitorar uma etapa crítica do procedimento de flebotomia. Entende-se por uma correta

homogeneização a inversão completa do tubo seguida do retorno à posição inicial pelo número de vezes recomendado pelo fabricante.⁽⁴⁾

Para manter a segurança na identificação do paciente e das amostras, devem-se usar pelo menos duas formas de identificação dos tubos colhidos. Por exemplo, deve-se perguntar de forma clara e objetiva o nome completo e a data de nascimento do paciente, e as amostras devem ser identificadas no ato da coleta ou no da sua entrega ao laboratório clínico. As amostras biológicas dos pacientes devem ser transportadas e preservadas em recipientes isotérmicos, quando requerido, higienizável, impermeável, identificado com o símbolo de risco biológico com os dizeres “Espécimes para Diagnóstico”, e com nome do laboratório responsável pelo envio, garantindo a estabilidade da coleta até a realização do exame. Quando as amostras forem coletadas e identificadas adequadamente, deverão ser encaminhadas, o mais rápido possível, para o processamento, que poderá estar localizado na mesma estrutura física onde foi realizada a coleta, ou afastado a distâncias variadas.

Conforme a Associação Mercosul de Normalização (AMN), que elaborou a Norma Mercosul (NM311-4:2009), a qual estabelece os critérios para rejeição de amostras biológicas nos laboratórios clínicos, as amostras devem ser coletadas, identificadas, transportadas e processadas de acordo com as regras, com o intuito de diminuir os interferentes pré-analíticos. Para a exatidão dos resultados laboratoriais as amostras devem ser representativas, ou seja, deve apresentar condições homeostáticas do paciente no momento da coleta. Para isso, as amostras que apresentarem uma ou mais das características abaixo devem ser rejeitadas:

- Amostra coagulada para exames como hemograma e testes de coagulação;
- Coleta realizada com anticoagulante incorreto;
- Tubos coletados com a proporção inadequada de sangue e anticoagulante;
- Tubos contendo amostras com identificação errada;
- Tubos incorretos e sem identificação do paciente;
- Amostras de sangue hemolisadas, lipêmicas ou insuficientes;
- Amostras não transportadas de forma adequada.⁽¹⁾

Algumas publicações contêm os indicadores mais utilizados pelos laboratórios clínicos e seus limites de aceitabilidade. Esses dados possibilitam que outros laboratórios monitorem seus processos em busca de melhoria. Além disso, a escolha indevida de testes laboratoriais ou de seus painéis também

pode ser considerada como erro pré-analítico. Por todos esses motivos, durante a requisição de um exame laboratorial, o médico solicitante deve orientar de forma precisa e clara as precauções necessárias antes da coleta de amostra biológica, visto que o paciente não é um fator nulo, sendo capaz de comprometer a qualidade do serviço que lhe é prestado. Além disso, o paciente deve procurar o laboratório antes da coleta para reforçar as informações recebidas e eliminar qualquer dúvida pertinente.⁽⁶⁾

Os erros laboratoriais e impactos para os pacientes

Os erros no diagnóstico são uma grande ameaça para a segurança dos pacientes, pois podem acarretar atraso e/ou falta de diagnóstico fundamentais, especialmente quando se trata de portadores de condições clínicas graves, como doenças cardíacas, endócrinas e câncer. Estima-se que aproximadamente 70% de todos os diagnósticos são feitos embasados nos testes laboratoriais, e que seus resultados são responsáveis por afetar entre 60% a 70% das decisões sobre a admissão, alta hospitalar e regime terapêutico dos pacientes.⁽¹¹⁾

Os riscos definem indicadores laboratoriais como medidas numéricas de erros ou falhas em determinado processo em relação a seu número total (acertos e erros). São especificações da qualidade, pois o desempenho de um processo é adequado quando está dentro dos limites estabelecidos nos indicadores. Seu objetivo não é somente prover respostas, mas apontar problemas potenciais que necessitam de ações preventivas.⁽³⁾

A fase pré-analítica possui falhas de 46% a 68,2%, sendo mais comuns pela amostra insuficiente, erro na coleta, manuseio e transporte inadequado e identificação incorreta. Já na fase analítica os erros podem variar de 7% a 13%, sendo que eles podem ocorrer na troca de amostras, interferência e o mau funcionamento de equipamentos. Por fim, na fase pós-analítica, na qual ocorrem 18,5% a 47% dos erros, a grande maioria se deve à digitação incorreta de informações, dados e resultados. Geralmente, quando as falhas se iniciam na fase pré-analítica somente são corrigidas na última etapa do processo laboratorial.⁽⁸⁾

A relevância dos erros pré-analíticos como problema de saúde pública está relacionada com potenciais danos aos pacientes e custos extras para o sistema. A crescente automação nos serviços de saúde nem sempre é a melhor indicação quanto ao controle de qualidade, pois esta pode expor a riscos e a erros sistemáticos além do seu controle, o que poderia colocar em risco os pacientes e acarretar custos desnecessários.⁽¹³⁾ Devemos observar que o elemento mais

sensível na produção de erros na fase pré-analítica se dá pela atividade humana, em que múltiplos indivíduos interagem no processo do espécime diagnóstico.⁽⁵⁾ Esses problemas, geralmente, decorrem de rotatividade de pessoal, negligência, falta de entendimento sobre boas práticas em laboratório e treinamento ineficaz.^(1,2)

Atualmente, a segurança do paciente e a confiança nos resultados de análises clínicas emitidos são prioridade nos laboratórios. A ocorrência de erros também está relacionada a falhas na ação planejada, seja ela intencional ou não, ou à aplicação de um plano incorreto no procedimento.⁽⁸⁾ Para minimizar os erros pré-analíticos, é necessária a orientação correta aos pacientes em relação à necessidade de jejum prévio à coleta da amostra, a suspensão de exercícios físicos extenuantes no período que antecede a coleta, e outras informações relativas ao hábito de fumar e ao período do ciclo menstrual. É importante obter informações sobre a utilização de medicamentos e drogas terapêuticas. Os principais erros estão também na identificação das amostras, no preenchimento inadequado dos tubos, na hemólise e na falta de informações sobre o paciente.

Assim, é necessário um treinamento correto para a realização da coleta de materiais biológicos de forma invasiva (sangue arterial, venoso e/ou capilar), para evitar interferentes nos resultados laboratoriais como a postura do paciente na hora da coleta, o tempo de aplicação do torniquete, o efeito da constrição do músculo do antebraço antes da punção, a ordem correta dos tubos nas coletas em sistema a vácuo e a homogeneização. Para evitar maiores erros na fase pré-analítica, no momento da coleta não se deve realizar a punção em locais que foram realizados punções anteriores, mastectomia, infusão intravenosa, edemas, hematomas; “não aplicar taping”; pois pode ocorrer hemólise principalmente em idosos portadores de ateroma, porque poderá haver deslocamento da placa, com sérias consequências.⁽⁵⁾

Estas são as principais alterações que resultaram em erros descritos nas pesquisas:

- tempo no armazenamento (78,6%);
- tempo com o torniquete (78,6%);
- técnicas do flebotomista (64,3%);
- informação incorreta aos pacientes (64,3%);
- incorreto equilíbrio entre sangue/anticoagulante (57%);
- tubos incorretos (50%);
- amostras com algum tipo de contaminação (43%);
- medicamentos (29%);
- variações entre laboratórios (29%).

A demonstração dos erros laboratoriais varia de acordo com o laboratório e depende de um bom PGQ (Programa de Garantia de Qualidade) que seja avaliado frequentemente, de programas de aperfeiçoamento profissional ou cursos de reciclagem, nos quais o laboratorista passa pelas diversas seções laboratoriais. Um PGQ eficiente auxilia na escolha dos métodos, equipamentos, reagentes e pessoal, além de promover a observação constante de todas as atividades. Seu objetivo é elevar a segurança dos resultados e garantir efetivamente um produto final de qualidade.⁽⁷⁾

Gestão e qualidade no laboratório de análises clínicas

A qualidade é definida como a conformidade às exigências do usuário e/ou clientes, e refere-se à satisfação das necessidades e expectativas. Assim, é importante que o foco dos serviços de saúde seja nos indivíduos que os utilizam de forma direta ou indireta. Com a complexidade dos processos laboratoriais é necessária a implementação de programas de qualidade, buscando a qualidade do serviço, aumentar a produtividade e baixar o custo.⁽¹⁴⁾ Um programa de gestão da qualidade é indicado para melhorias nos processos laboratoriais utilizando uma gestão de riscos e aprimoramentos nos processos.⁽¹⁾

O gerenciamento exige organização dos principais processos laboratoriais que envolvem:

- Gestão de pessoas;
- Infraestrutura;
- Tecnologia de informação;
- Gestão de equipamentos;
- Atendimento aos clientes;
- Produção de exames laboratoriais;
- Biossegurança;
- Gestão de negócio;
- Logística;
- Gestão da qualidade;
- Gestão ambiental;
- Gestão de projetos.

No Brasil, a RDC (Resolução de Diretoria Colegiada), que regulariza o funcionamento de laboratórios clínicos é a nº 302/2005. Sua publicação ocorreu em 30 de outubro de 2005, e os laboratórios clínicos e postos de coleta teriam 180 dias (abril de 2006) para adequação. Essa resolução teve alguns requisitos esclarecidos por meio da Nota Técnica nº 039/2014 (GRECS/GGTES/Anvisa) e da RDC nº 30/2015. Ela é importante, pois regulamenta o funcionamento do laboratório clínico nas

condições gerais de organização, recursos humanos, infraestrutura, equipamentos e instrumentos laboratoriais, produtos para diagnóstico de uso *in vitro*, gerenciamento de resíduos e biossegurança. Organiza também os processos operacionais das fases analítica, pré e pós-analíticas, garantindo o controle da qualidade e registros para rastreabilidade laboratorial.⁽¹⁴⁾

A qualidade como modelo de gestão se iniciou no Japão e foi adotada posteriormente por empresas norte-americanas e europeias.⁽⁹⁾ Na evolução industrial em 1920, as indústrias bélicas com a Guerra Mundial precisaram de elevar a produção de armamentos. Iniciando assim a inspeção com finalidade de avaliar o produto, e separar os defeituosos, para evitar sua comercialização. A primeira fase evolutiva da qualidade foi a criação do departamento de engenharia de produção nas indústrias, instituindo instrumentos estatísticos voltados para medição e o controle da qualidade, utilizados para análise do produto.

Nas décadas seguintes, a evolução da qualidade tornou-se evidente, principalmente no Japão, visto a necessidade de se reconstruir economicamente após a guerra. Inicia-se a fase da garantia da qualidade, objetivando a prevenção. Chegando assim a preocupação com a qualidade nas empresas. Em 1950, W. Edwards Deming cria um novo conceito em qualidade denominado ciclo PDCA, cujas iniciais, em inglês, significam *plan, do, check* e *act* (planejar, executar, verificar e atuar) corretamente. Na atualidade a qualidade é importante para a sobrevivência das organizações no mercado, principalmente a satisfação do cliente. Logo, a necessidade de qualidade, o aumento da produtividade e a redução de custos tornaram-se imprescindíveis para uma empresa manter-se no mercado e ser competitiva.⁽³⁾

Os conceitos da qualidade na saúde são os mesmos das indústrias. Um produto ou serviço que esteja de acordo com as necessidades dos clientes é um princípio de qualidade aplicável aos diversos serviços de assistência à saúde. Logo, os laboratórios devem adotar um sistema de gestão de qualidade com controles para todas as fases, de forma a identificar e tratar as não conformidades, aplicando ações corretivas e preventivas, objetivando a garantia da qualidade das análises laboratoriais, o diagnóstico correto e minimizando os impactos negativos sobre a saúde dos pacientes.⁽⁹⁾

A SBPC/ML (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial) teve papel fundamental na história da qualidade e da acreditação laboratorial. Quando fundada, em 1944, já possuía em seu estatuto, como objetivo, o estabelecimento de padrões para a realização dos diferentes

exames laboratoriais. Na década de 1970, recomendou revisar e adaptar à realidade brasileira as práticas do Colégio Americano de Patologistas (CAP), com a *Revista Brasileira de Patologia Clínica*, publicação da própria SBPC/ML.

Em 1977, obteve contrato com a Control-Lab, e assim pôde instaurar o programa de controle de qualidade interno e externo, pioneiro no país, intitulado Programa de Excelência de Laboratórios Médicos (PELM), e, em 1998, criou o PALC (Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos), os quais foram revisados e atualizados nos anos 2004, 2007 e 2010. O PALC concede aos laboratórios brasileiros um norte para melhorias contínuas da qualidade, principalmente pelas auditorias feitas por pares, isto é, por laboratoristas, concedendo a troca de conhecimentos técnicos entre auditores e auditados. Recentemente, em parceria com a Control-Lab, a SPBC/ML disponibilizou o Programa de Indicadores Laboratoriais, dando aos laboratórios clínicos do Brasil a possibilidade da padronização dos indicadores, assim como a comparabilidade entre eles.

Em 1999, foi criada a ONA (Organização Nacional de Acreditação), que tinha por objetivo a implementação de melhorias na qualidade da assistência à saúde, incentivando os serviços a alcançarem altos padrões de qualidade (www.ona.org.br). Em 2001/02, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) reconheceu oficialmente o Sistema Brasileiro de Acreditação por meio da Resolução nº 921/02 e firmou um convênio com a ONA para a colaboração técnica e treinamento de pessoal, o qual contou com a participação, entre outras, da SBPC/ML.⁽³⁾

Na prestação de serviço de saúde existem dois componentes básicos da qualidade: o operacional, correspondendo ao processo, e a percepção, em que se nota a visão dos clientes sobre o serviço oferecido. Ambos são medidos por indicadores da qualidade e pelo reconhecimento obtido pelos processos de certificação ou acreditação.⁽³⁾ Os indicadores ainda permitem comparações internas e externas com outros serviços de mesmas características. São denominados, na gestão da qualidade, de itens de controle.⁽²⁾ A certificação também é importante, pois comprova que determinados produtos, processos ou serviços são realizados ou cumpridos de acordo com requisitos especificados, como é o caso das normas da *International Organization for Standardization* (ISO). Já na acreditação, os processos são avaliados com o intuito de verificar sua adequação aos serviços que estão sendo oferecidos, além do cumprimento dos requisitos exigidos em uma certificação. Por exemplo, a acreditação

da Organização Nacional de Acreditação (ONA), da *Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations* (JCAHO) e do Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).⁽³⁾

É imprescindível a qualidade na fase pré-analítica da medicina laboratorial. Assim, podemos definir indicadores que estão relacionados ao sistema global de gestão da qualidade em laboratórios, que é fundamental para reduzir as vulnerabilidades, emergência e proliferação de erros.⁽¹³⁾ Logo, é importante conciliar custo e benefício atentando-se para a qualidade no serviço. O movimento pela qualidade, conhecido como Qualidade Total – *Total Quality Management* (TQM) –, trouxe alterações práticas na gestão, tanto no setor de produção de bens quanto no de serviços. Inicialmente, este movimento teve maior foco nos padrões técnicos de qualidade definidos pelos profissionais do setor e, mais tarde, passou a contemplar e atentar para os padrões e expectativas de qualidade percebidas pelo cliente. A este respeito, a literatura indica que clientes satisfeitos trazem benefícios para as empresas, pois tendem a realizar compras repetidas do mesmo fornecedor, além de, espontaneamente, contribuir para a propaganda “boca-a-boca” da empresa.⁽¹⁵⁾

Mesmo com todo o reconhecimento da fase pré-analítica, ela carece de indicadores específicos dentro do sistema de gestão da qualidade nos laboratórios clínicos, tornando-a mais vulnerável ao aparecimento e aumento de erros. Esta constatação caracteriza o lado obscuro dos problemas associados à qualidade laboratorial.⁽⁴⁾

MATERIAL E MÉTODOS

Para a apresentação do tema proposto foram realizadas pesquisas em bases de dados científicos. Os artigos foram analisados quanto ao reconhecimento do tema. Diante das novas circunstâncias em que os exames de análises clínicas se tornaram essenciais para diagnóstico médico, o presente estudo objetivou a apresentação de ferramenta para evitar o erro na fase pré-analítica, através de revisão de literatura, com coleta de dados na National Library of Medicine (PubMed) e Scientific Eletronic Library Online (SciELO).

CONCLUSÃO

Com os estudos analisados na revisão, constata-se que os erros pré-analíticos sempre irão ocorrer, por ser uma fase

que envolve o maior número de pessoas de áreas e formações distintas. Porém eles podem ser minimizados com o apoio de estratégias de controle de qualidade, adotadas por todos que trabalham com medicina diagnóstica. Contudo, ressalta-se a importância de se manter os conhecimentos sobre as consequências dos erros laboratoriais e seu impacto na assistência à saúde, que podem significar perdas nos cofres públicos e gastos desnecessários com medicamentos e procedimentos médicos, prolongando o tempo de hospitalização, novas coletas de amostras biológicas, repetição de exames ou até mesmo demora ou não realização de uma intervenção cirúrgica. Erros durante a assistência à saúde podem causar sérias consequências ao paciente, desde uma incapacidade ou até mesmo morte.

Com esta revisão, espera-se organizar informações que serão de grande valia para alertar a todos os profissionais da importância da fase pré-analítica para o diagnóstico médico.

REFERÊNCIAS

1. Guimarães AC, Wolfart M, Brisolará MLL, Dani C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos. *Revista HCPA*. 2011;31(1): 66-72.
2. Codagnone FT, Guedes SS. Buscando a eficiência laboratorial por meio de indicadores de qualidade: ênfase na fase pré-analítica. *Revista Acreditação: ACRED*. 2014; 8(4): 27-41.
3. Vieira KF, Shitara ES, Mendes ME, Sumita NM. A utilidade dos indicadores da qualidade no gerenciamento de laboratórios clínicos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2011; 47(3): 201-210.
4. Oliveira GSL, Picheth G, Sumita NM, Scartezin M. Controle da qualidade na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo: iluminando uma fase escura de erros pré-analíticos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2009; 45(6): 441-447.
5. Fonseca EF, Fiorin LHG, Destefani AC. Avaliação dos principais erros laboratoriais na fase pré-analítica: atualização da base literária e de seu impacto na dinâmica clínica. *SAPIENTIA*. 2015; 14(7): 54-67.
6. Aragão DP, Araújo RML. Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2019; 51(2): 98-102.
7. Costa VG, Moreli ML. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2012; 48(3): 163-168.
8. Teixeira JCC, Chicote SRM, Daneza ER. Não conformidades identificadas durante as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica de um laboratório público de análises clínicas. *Revista Científica da Fundação Educacional de Ituverava - Nucleus*. 2016; 13(1): 251-26.
9. Sertão AT, Machado NFR. Controle externo da qualidade em espermograma: avaliação do desempenho de laboratórios clínicos participantes de dois provedores de ensaio de proficiência. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2019; 51(2): 120-126.
10. Abdalla DR, Resende ICS, Fedrigo FAR, Olegário JGP, Siqueira PFB, Fajardo EF. Avaliação do conhecimento de estudantes e profissionais da saúde sobre a fase pré-analítica de amostras hematológicas. *Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde*. 2016;2(2): 52-56.
11. Cardoso A, Correia H, Brito C, Clemente V, Faria AP. Auditorias na fase Pré-Analítica – Uma ferramenta para Autoavaliação do Laboratório. *Acta Farmacêutica Portuguesa*. 2016;5(1): 80-88.

12. Indevuyst C, Schuermans W, Bailleul E, Meeus P. The order of draw: Much ado about nothing? *International Journal of Laboratory Hematology*. 2015; 37(1): 50-55.
13. Costa EG, Cavalini LT, Lourenço P, Silva I, Nogueira J. Revisão sistemática como ferramenta para propor uma terminologia de erros pré-analíticos em medicina laboratorial. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2018; 50 (1): p. 9-16.
14. Lescowicz GH, Melo RF, Rateke ECM, Martinello F. Dez anos da RDC 302/2005: avaliação da implantação em laboratórios de análises clínicas do estado de Santa Catarina. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2018; 50(2): 161-170.
15. Moura GMSS, Hilleshein EF, Schardosim JM, Delgado KS. Satisfação do Paciente na Unidade de Coleta de Exames Laboratoriais. *Revista Gaúcha Enfermagem*. 2008;29(2): 269-275.

A relação dos mecanismos fisiopatológicos entre a anemia e a doença renal crônica

The relationship of physiopathological mechanisms between anemia and chronic kidney disease

Alan Marcelo de Souza Farias Filho¹, Kely Emi Hirai², Natalee Mari Lima Sekioka¹, Nicole Tavares Batista¹

¹ Biomédico(a) – Universidade da Amazônia (UNAMA). Belém, PA, Brasil.

² Biomédica – Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, PA, Brasil.

Resumo

A anemia é um processo patogênico em que há a diminuição no número de hemácias e concentração de hemoglobina, onde seu desenvolvimento decorre de perdas sanguíneas e da destruição ou redução na produção de células hematopoiéticas, e a anemia de doença crônica (ADC) é uma vertente dessa condição patológica, presente em doentes renais crônicos. A ADC compreende três mecanismos fundamentais: a limitação de ferro em seus estoques, a inibição da eritropoietina e a redução na sobrevivência dos eritrócitos. Durante a análise desses mecanismos, objetivou-se: apontar os fatores que levam ao distúrbio do metabolismo do ferro e da síntese de eritropoietina durante o processo patológico da anemia na doença renal crônica (DRC); delinear as causas relacionadas ao estresse oxidativo e à lesão renal; e, por fim, analisar a viabilidade das substâncias utilizadas para a avaliação da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) na DRC. Este estudo trata-se de uma revisão bibliográfica com caráter descritivo e exploratório, onde as referências foram pesquisadas na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), entre os anos de 2010 e 2020, em língua portuguesa, com os descritores: "insuficiência renal crônica", "anemia", "eritropoietina", "taxa de filtração glomerular" e "estresse oxidativo". A partir da pesquisa, foram utilizados 21 artigos para a discussão.

Palavras-chave: Insuficiência Renal Crônica; Anemia; Eritropoietina; Taxa de Filtração Glomerular; Estresse Oxidativo

Abstract

Anemia is a pathogenic process where there is a decrease in the number of red blood cells and hemoglobin concentration, where its development results from blood loss and the destruction or decrease in the production of hematopoietic cells, and Chronic Disease Anemia (CDA) is an aspect of this pathological condition, present in chronic renal patients. ADC comprises 3 fundamental mechanisms: limitation of iron stores, inhibition of erythropoietin, and reduction in erythrocyte survival. During the analysis of these mechanisms, the aim was: to point out the factors that lead to the disturbance of iron metabolism and erythropoietin synthesis during the pathological process of anemia in Chronic Kidney Disease (CKD); outline the causes related to oxidative stress and kidney damage; and, finally, to analyze the viability of the substances used to assess the Glomerular Filtration Rate (GFR) in the DRC. This study is a bibliographic review with a descriptive and exploratory character, where the references were searched in the Virtual Health Library (VHL), between 2010 and 2020, in Portuguese, with the descriptors: "chronic renal failure", "anemia", "erythropoietin", "glomerular filtration rate" and "oxidative stress". From the research, 21 articles were used for discussion.

Keywords: Kidney Failure, Chronic; Anemia; Erythropoietin; Glomerular Filtration Rate; Oxidative Stress

Correspondência

Alan Marcelo de Souza Farias Filho

E-mail: biomedicoalanmarcelo@gmail.com

Recebido em 20/06/2021 | Aprovado em 10/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202157

INTRODUÇÃO

Aspectos gerais da anemia

A anemia é um processo patogênico em que há redução na quantidade de hemácias por volume de sangue, ou concentração de hemoglobina (Hb) menor que a média do valor de referência entre homens, mulheres e crianças saudáveis, que é 12g/dL, segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde). Por conseguinte, a anemia se desenvolve em decorrência da perda de sangue e destruição ou redução na produção dos glóbulos vermelhos.⁽¹⁾

As concentrações de Hb variam de acordo com idade, sexo, raça, fatores genéticos e ambientais. No recém-nascido as concentrações de Hb têm seu ponto mais alto entre 17 a 21g/dL, e diminui entre o 2º e 3º mês de vida, antes de aumentar novamente na infância. Na idade adulta há uma estabilização, voltando a diminuir na idade avançada. Além de fatores fisiológicos, o comportamento e as condições ambientais, como tabagismo e altitude, respectivamente, podem afetar as concentrações de Hb, o quadro 1 descreve a classificação quanto à patogênese.⁽²⁾

Quadro 1

Classificação quanto à patogênese

Anemias	Exemplos
Relacionadas à hemorragia	Anemia ferropriva; Síndrome de <i>Plummer-Vinson</i>
Hemolíticas	Deficiência de G6PD; anemia induzida por medicamentos; anemia mediada pelo sistema imunitário
Hemoglobinopatias	Anemia falciforme; talassemia
Anemias hipoproliferativas	Deficiência de vitamina B12 e B9; anemia aplásica

Fonte: Adaptado de Rocha, 2011.⁽³⁾

Os fatores que geram essas patologias são: carência nutricional por vitaminas e minerais; baixo nível socioeconômico, que é acompanhado por problemas relacionados ao saneamento básico, provocando doenças infecto-parasitárias, causando perda de sangue e substâncias essenciais; processos inflamatórios e doenças hereditárias que afetam as hemácias, propiciando alterações em sua produção e desenvolvimento.⁽⁴⁾

Anemia de doença crônica

A anemia de doença crônica (ADC), também conhecida como anemia de inflamação crônica, é associada a pacientes hospitalizados. Desencadeia-se a partir de infecções bacterianas ou parasitárias crônicas; em inflamações provocadas por doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico (LES) e artrite reumatoide; em neoplasias e durante a progressão da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA).⁽⁵⁾

A anemia é uma das complicações associadas à sintomatologia da doença renal crônica (DRC), seu surgimento é precoce e a progressão se dá à medida que a função renal se reduz. A prevalência da deficiência de ferro (Fe) é bastante comum na DRC, cerca de 50%, em razão do estado inflamatório que aumenta a síntese de hepcidina diminuindo a absorção e o trânsito de Fe nos estoques, bem como a deficiência de eritropoietina (EPO) decorrente da perda da função renal, sendo as principais causas. Dentro da fisiopatologia da DRC, a perda da massa renal e o caráter hipoproliferativo medular (baixo estímulo da eritropoiese pela EPO) constituem a patogênese.⁽⁶⁾

A fisiopatologia da ADC compreende, no mínimo, três mecanismos fundamentais: a limitação do movimento de Fe em seu estoque, sobretudo nas células fagocitárias, como nos macrófagos, em que há a redução da absorção do mineral no intestino; inibição na produção de glóbulos vermelhos através de mediadores inflamatórios e, por fim, redução da sobrevivência dos glóbulos vermelhos.⁽⁷⁾

A produção de glóbulos vermelhos é estimulada pela eritropoietina (EPO), um hormônio glicoproteico secretado pelas células epiteliais capilares ao redor dos túbulos renais, sendo algumas quantidades produzidas nas células hepáticas. Na ausência de EPO, os precursores dos eritrócitos sofrem um processo de morte celular (apoptose). Com a perda e o lapso de tecidos ao redor dos túbulos renais, ocorre o processo de anemia.⁽⁸⁾

A ADC possui como característica células normocíticas e normocrômicas, em que se visualiza a redução da concentração de Fe sérico e da capacidade de ligação ao mineral. O desenvolvimento da doença é mediado por um conjunto de citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias, proteínas de fase aguda, radicais livres, células do sistema reticuloendotelial e por uma proteína essencial, a hepcidina. Na Figura 1, pode-se visualizar a interação entre os macrófagos, os hepatócitos e a hepcidina na geração da anemia da inflamação, também nomeada por ADC.⁽⁹⁾

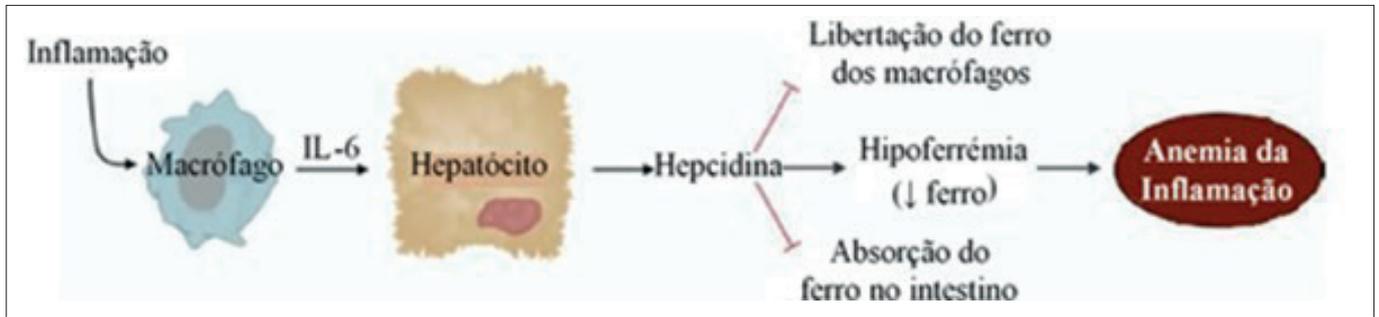


Figura 1

Papel da IL-6 e da hepcidina no desenvolvimento da anemia da inflamação.

Fonte: Lopes, 2011.⁽⁹⁾

A síntese de hepcidina é induzida por um processo inflamatório, sendo responsável pelo quadro de ADC. É mediado pela IL-6 (interleucina 6), e outras citocinas inflamatórias podem estar envolvidas, como a TNF- α (fatores de necrose tumoral-alfa). A hepcidina atua como reguladora do influxo de Fe para o plasma a partir dos tecidos, bem como aos enterócitos (absorção), macrófagos (reciclagem) e os hepatócitos (reservatório).⁽¹⁰⁾

Devido a ação regulatória no metabolismo do Fe, a hepcidina pode ser utilizada como um biomarcador para a avaliação clínica de pacientes com anemia ferropênica. Os valores do nível de hepcidina se apresentam elevados, em comparação com os níveis de saturação da transferrina e ferritina, durante suplementação de Fe em pacientes com a ADC. Entretanto, em hemoglobinopatias e anemias com eritropoiese ineficiente, há uma redução na síntese de hepcidina.⁽¹¹⁾

Doença renal crônica

A DRC é a perda permanente da função renal, e é reconhecida como um problema global de saúde pública. Nos países desenvolvidos, a prevalência de DRC está entre 10% a 13% na população adulta, e no Brasil, entre 3 a 6 milhões de indivíduos são doentes renais crônicos. A hipertensão arterial e o diabetes são as principais causas, e os distúrbios cardiovasculares constituem um dos maiores riscos de mortalidade durante o curso da DRC.⁽¹²⁾

A doença renal associada ao diabetes ocorre no contexto de hipertensão arterial como condição subjacente; os eventos hemodinâmicos iniciais de hiperperfusão, hipertensão e hiperfiltração glomerular causam extravasamento glomerular

de macromoléculas como a albumina, esses eventos são expressos clinicamente por albuminúria e diminuição da taxa de filtração glomerular.⁽¹³⁾

O aumento da dificuldade durante a filtração renal do sangue é crescente, sendo necessária hemodiálise para evitar o acúmulo de ureia no sangue (azotemia), lesões sistêmicas e a perda total das funções. Quando há a progressão das doenças subjacentes, a destruição tecidual é seguida por inflamação, onde os néfrons são substituídos por tecido cicatricial e ocorre um desequilíbrio nas citocinas, contribuindo para a diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG).⁽¹⁴⁾

Durante a DRC, é necessário avaliar a anemia regularmente, por conta de sua relação com a TFG. Leves reduções na TFG resultarão em discretas alterações na hemoglobina, as quais são desconsideradas para critérios diagnósticos, principalmente na clínica médica. O surgimento da anemia ocorre comumente à medida que a TFG alcança valores abaixo de 30mL/min. Apesar da anemia precoce encontrar-se ligada a muitas internações e óbitos, a anemia é subdiagnosticada e subtratada.⁽¹⁵⁾

O estado inflamatório crônico observado na DRC associa-se à elevação dos níveis séricos de proteínas inflamatórias de fase aguda como a proteína C-reativa (PCR) e a vários mediadores imunoinflamatórios, como citocinas, componentes do sistema complemento, prostaglandinas e leucotrienos. Os pacientes com DRC apresentam um fenótipo pró-inflamatório que se acentua à medida que a lesão renal segue rumo a seu estágio terminal.⁽¹⁶⁾

Para a classificação da DRC, a TFG é utilizada como biomarcador, ordenando-se entre 0 a 5 estágios funcionais conforme o nível de atividade renal do paciente, que é o

principal método de diagnóstico da DRC. Se a TFG está acima de 90mL/min, o grau de insuficiência renal (IR) identifica ausência de lesão ou lesão leve; se TFG de 15 a 29mL/min, o grau de IR é severo ou clínico; taxa abaixo de 15mL/min indica grau de IR terminal ou dialítica. Na Tabela 1 está discriminada a classificação dos estágios da DRC.⁽¹⁷⁾

Tabela 1

Classificação dos estágios da DRC de acordo com a atividade renal do paciente sendo influenciado pela idade, sexo e massa muscular.

Estágios	Taxa de filtração glomerular (mL/min)	Grau de insuficiência renal (IR)
0	>90	Ausência de lesão renal
1	>90	Lesão renal com função renal normal
2	60-89	IR leve ou funcional
3	30-59	IR moderada ou laboratorial
4	15-29	IR severa ou clínica
5	<15	IR terminal ou dialítica

Fonte: Adaptado de Zica et al.⁽¹⁷⁾

A avaliação da TFG é executada criteriosamente levando em consideração que o nível da filtração glomerular muda de acordo com a faixa etária, o sexo do paciente e a massa muscular do corpo. Geralmente a TFG reduz ao decorrer da idade, e dessa maneira é produto do processo natural do envelhecimento. No entanto, para definir a situação da DRC, é preciso ser analisada a TFG média estimada com base na idade para as suas devidas alterações, como nas dosagens medicamentosas.⁽¹⁸⁾

A TFG é o parâmetro mais importante para avaliar a função renal, utiliza a dosagem de substâncias que são filtradas pelos rins por determinado tempo. A creatinina sérica é a substância utilizada no cálculo, recomendado pelo “Doença Renal: Melhorando os Resultados Globais” (KDIGO-2013), em que se utiliza a equação “Colaboração em Epidemiologia da Doença Renal Crônica” (CKD-EPI). Os níveis de creatinina dependem de fatores como massa muscular, dieta, secreção tubular e eliminação extrarrenal pelo trato gastrointestinal, sendo esses fatores avaliados de acordo com os sintomas do paciente.⁽¹⁹⁾

Eritropoiese inadequada

A sobrevivência dos eritrócitos é reduzida entre os indivíduos com anemia em decorrência da doença renal crônica, em que a deficiência de Fe e a baixa síntese de eritropoietina (EPO) se

correlacionam. O estresse oxidativo é um dos fatores de progressão da doença renal, em que há um excesso na produção de substâncias derivadas da metabolização de oxigênio e a diminuição da capacidade antioxidante, causando hipóxia nos tecidos e aumentando a atividade inflamatória.⁽²⁰⁾

A eritropoiese pode ser afetada por doenças subjacentes, em que há infiltração de microrganismos ou de células tumorais na medula óssea, que produzem substâncias inflamatórias. O metabolismo do Fe sofre perturbação homeostática, onde há redução da absorção e aumento de sua retenção nas células do sistema reticuloendotelial, havendo redução da disponibilidade para as células progenitoras eritroides.⁽²¹⁾

As citocinas podem influenciar no crescimento de unidades formadoras de células eritroides e unidades formadoras de colônias eritroides, onde as IFN- γ e TNF- α danificam diretamente as células progenitoras. Com isso, há formação de radicais livres lábeis, como o óxido nítrico e o ânion superóxido, diminuindo a meia-vida dos eritrócitos e promovendo a eritrofagocitose, em que um efeito inibitório acomete a medula óssea.⁽²²⁾

A eritropoiese requer cerca de 30mg de Fe por dia, proporcionada pela reciclagem deste através dos macrófagos, que ingerem hemácias senescentes e liberam o Fe, que se liga à transferrina circulante. As alterações típicas dos parâmetros do metabolismo do Fe estão associadas à DRC, onde a baixa saturação da transferrina circulante promove a redução da disponibilidade de Fe para a eritropoiese.⁽²³⁾

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A DRC é determinada pela lesão no parênquima renal ou pela diminuição das funções renais por um período mínimo de 3 meses. Dentre as complicações da DRC, estão: acidose metabólica, desnutrição, alteração no metabolismo de minerais; e a anemia constitui o principal fator de progressão da DRC. A lesão renal prejudica a produção de EPO, que é fundamental para a diferenciação e proliferação das células-tronco hematopoiéticas, resultando em anemia.⁽²⁴⁾

A DRC apresenta anemia ferropriva, apesar de haver elevada quantidade de Fe no interior dos macrófagos. Dentre a patogênese, existem três mecanismos prevalentes: alterações na eritropoiese, diminuição da sobrevivência das hemácias e a resposta inadequada da medula óssea perante a hemólise. O distúrbio no metabolismo do Fe ocorre a partir da liberação de citocinas pró-inflamatórias, que estimulam a expressão da hepcidina, uma proteína que inibe a absorção duodenal de Fe.⁽²⁵⁾

De acordo com Antunes & Canziani,⁽²⁶⁾ como o rim é responsável pela excreção de hepcidina, há uma elevação na concentração dessa proteína em doentes renais crônicos, principalmente em estágios avançados e em tratamento dialítico. O aumento na concentração de hepcidina está vinculado à diminuição da excreção renal, porém vale ressaltar que o aumento de sua síntese ocorre também em resposta à inflamação, haja vista que a hepcidina é a ligação entre a inflamação e os distúrbios no metabolismo do Fe nos pacientes com DRC.

Bevilacqua & Canziani⁽²⁷⁾ mostram que apesar de haver uma quantidade adequada de Fe em seus estoques, há uma deficiência funcional de Fe, ou seja, a diminuição da disponibilidade do mineral para a eritropoiese. A ferritina sérica é o marcador mais utilizado para avaliação dos depósitos orgânicos de Fe. Em casos de valores de ferritina menores que 100ng/mL, há indicativo de deficiência absoluta de Fe e, por outro lado, valores superiores a 800ng/mL indicam sobrecarga do mineral.

Segundo Lacrete *et al.*,⁽²⁸⁾ a anemia na DRC é frequentemente normocítica e normocrômica, sem trombocitopenia e leucopenia, e a sobrevivência média dos glóbulos vermelhos e a sua produção sofrem alterações. A EPO participa de processos que promovem a divisão e a maturação dos eritrócitos, e na DRC vinculada à anemia os níveis séricos de EPO encontram-se, geralmente, normais ou discretamente elevados, porém são considerados excessivamente baixos em relação ao grau de anemia, pois em pacientes anêmicos com função renal preservada os valores são de 10 a 100 vezes maiores.

Um dos fatores relacionando eritropoietina à anemia na DRC, destacado por Barros *et al.*,⁽²⁹⁾ foi a redução da síntese endógena de EPO por conta da diminuição da massa renal, considerado o principal motivo. Além disso, a elevação da quantidade de hepcidina, causada pela inflamação crônica ou pelo decréscimo da depuração renal desta proteína, resulta em resistência à eritropoietina, sendo também cofatores na manutenção da anemia.

Os pacientes com DRC representam uma população propensa a inflamações e estresse oxidativo, em favor dos fatores predispostos e os desenvolvidos durante o tratamento da doença. O estresse oxidativo se descreve como o dano tecidual que resulta do desequilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e o déficit produtivo da defesa antioxidante. Devido ao estado inflamatório da DRC, as espécies reativas de oxigênio (ERO) são liberadas a partir de monócitos e células polimorfonucleares com citocinas pró-inflamatórias, que aumentam a geração de oxidantes.⁽³⁰⁾

Dessa forma, para Plastina *et al.*,⁽³¹⁾ aproximadamente 30% a 50% das pessoas com doença renal crônica exibem altos níveis de proteína C-reativa (PCR) e de citocinas pró-inflamatórias no sangue, entre essas, estão: o fator de necrose tumoral-alfa, as IL-1 e IL-6. A IL-6 proporciona a elevação da quantidade de hepcidina no sangue, no qual impossibilita a absorção e a movimentação do ferro de sua área de reserva (células do sistema reticuloendotelial), ocasionando retenção de ferro e hipoferrêmia.

Marques *et al.*⁽³²⁾ salientam a importância da dosagem da ferritina em pacientes com DRC, por se apresentar como um recurso diagnóstico dentre os distúrbios metabólicos do Fe, devido sua associação com o estoque de Fe tecidual. Entre os pacientes em hemodiálise, são relativamente frequentes achados de valores elevados de ferritina, por remeter a ações inflamatórias ou maior estoque de ferro, mas estudos afirmam que o índice elevado de ferritina pode agravar o estresse oxidativo e elevar os riscos de problemas cardiovasculares.

Pedruzzi *et al.*⁽³³⁾ exemplificam que níveis elevados de ferritina representam um alto preditor de peroxidação lipídica, que possui o malondialdeído (MDA) como biomarcador, tendo correlação positiva com as toxinas urêmicas. Em uma pesquisa com 20 pacientes com DRC em tratamento dialítico, 12 apresentaram valores de ferritina >500ng/mL, considerados elevados; os níveis de PCR, TNF e IL-6 também foram significativamente maiores, concluindo que o excesso dos estoques de Fe resulta em aumento da peroxidação lipídica, fator agravante do estresse oxidativo.

Segundo Janiques *et al.*,⁽³⁴⁾ a disparidade entre a ação antioxidante e a produção de ERO em pacientes com DRC em tratamento dialítico ocorre em consequência da ativação de monócitos e neutrófilos, a presença de endotoxinas e toxinas urêmicas na solução de diálise, bioincompatibilidade das membranas de diálise e a baixa ingestão de antioxidantes. Ademais, diversas alterações funcionais e morfológicas ocorrem nos néfrons. A lesão nessas células renais culmina em uma cascata de eventos que provocam um processo inflamatório, resultando na lesão do endotélio e do parênquima renal.

Storino *et al.*⁽³⁵⁾ citam que o acúmulo de toxinas urêmicas advindas da deficiência no metabolismo renal gera toxicidade nos pacientes renais crônicos. Foram listadas 152 toxinas pelo grupo europeu de Estudo das Toxinas Urêmicas (EUTox), classificadas em moléculas pequenas, solúveis em água, como ureia e fósforo; moléculas intermediárias, como paratormônio (PTH) e a β 2-microglobulina; moléculas ligadas à proteína, como homocisteína e indoxil sulfato (IS), que por conta do tamanho do complexo (toxina + proteína plasmática) não

consegue atravessar a membrana do dialisato, sendo difícil a remoção por hemodiálise.

Scapini *et al.*⁽³⁶⁾ revelam que o estresse oxidativo está vinculado ao envelhecimento renal, pois há um aumento na peroxidação lipídica, levando à diminuição das funções renais. A cada 10 anos ocorre uma diminuição de 10% do número de néfrons funcionais em indivíduos saudáveis, portanto, em idosos, a lesão oxidativa associada aos fatores de risco comumente visualizados, como diabetes e hipertensão, agravam drasticamente a evolução da DRC.

A doença renal crônica é definida pela disfunção renal irreversível, de progresso lento e gradativo, tanto da parte exócrina, referente à filtração, reabsorção e secreção de substâncias pela urina, como da parte endócrina, referente à produção de EPO e 1,25 - dihidroxicoalciferol, que é a forma ativa da vitamina D. Usualmente, a fase inicial da insuficiência renal é sem sintomas, na qual leva à necessidade de monitoramento e acompanhamento nas fases iniciais para prevenir e controlar a doença.⁽³⁷⁾

De acordo com Malta *et al.*,⁽³⁸⁾ a avaliação da TFG é normalmente usada como um modelo padrão, sobretudo por ser um indicador de extrema importância para detecção, avaliação e prognóstico da DRC. Manifestações como a redução progressiva da TFG e a perda irreversível dos néfrons apresentam-se, inicialmente, por uma elevação persistente dos níveis plasmáticos dos subprodutos que comumente são excretados pelos rins, por exemplo, ureia e creatinina.

Como relatado por Silva *et al.*,⁽³⁹⁾ para a mensuração da TFG é preciso o uso de marcadores, que são: inulina, ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA), iotalamato, iohexol etc. Entretanto, o uso desses marcadores é dispendioso e de complexo processamento na prática clínica. Portanto, a creatinina é o marcador endógeno mais comumente utilizado.

Desta maneira, Gabriel *et al.*⁽⁴⁰⁾ evidenciam a creatinina sérica como o marcador endógeno mais usado na atividade laboratorial, seja pela sua determinação apenas no sangue ou em combinação com a sua depuração na coleta de urina 24 horas. A quantidade de creatinina no sangue (originária da creatina muscular) é inversamente proporcional à TFG. No entanto, diversos aspectos reduzem a sua exatidão, pois sua quantidade sérica reflete a sua produção, é diretamente proporcional à massa muscular e é afetada pela faixa etária e sexo do paciente.

A leitura de Kirsztain *et al.*⁽⁴¹⁾ sobre as orientações da organização “Doença Renal: Melhorando os Resultados Globais (KDIGO)”, para avaliação e manipulação da DRC, demonstra que a determinação da TFG pela creatinina sérica

permanece como a técnica mais correta para diagnóstico, classificação e monitoramento do avanço da DRC. No que diz respeito à avaliação da atividade renal, apesar dos rins possuírem várias funções diferentes, incluindo endócrinas e metabólicas, a TFG, na qual é um componente da função excretora, é considerada a melhor indicadora de avaliação do funcionamento renal.

Conforme Ribeiro-Alves e Gordan⁽⁴²⁾ evidenciam, para avaliar a anemia é essencial considerar a fase da DRC. Geralmente, a anemia surge quando a TFG reduz para níveis abaixo de 70mL/min/1,73m² e 50mL/min/1,73m², em homens e mulheres, respectivamente, entretanto a prevalência e intensidade são inconstantes e aumentam com o agravamento do funcionamento renal. A anemia da DRC costuma ser silenciosa e de início lento, possibilitando que os pacientes se adaptem a níveis reduzidos de hemoglobina, por isso é importante a avaliação do funcionamento renal por meio da TFG, ferramenta que pode prevenir o desenvolvimento de ambas as patologias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a DRC se tornou um dos principais problemas de saúde pública, por conta de sua elevada e crescente taxa de morbimortalidade, e isso está aliado às doenças de base (hipertensão e diabetes) que promovem a evolução dos casos, levando à principal complicação que é a ADC. A condição do doente renal crônico é complexa e heterogênea, pois compreende eventos fisiopatológicos variados vinculados entre si.

Os principais fatores influenciadores no desenvolvimento da DRC são: o distúrbio no metabolismo do Fe, que engloba alterações funcionais na produção de EPO e hepcidina, participantes da estimulação na síntese hematopoiética e disponibilidade do Fe, respectivamente; e o estresse oxidativo, consequência do caráter inflamatório da DRC, em que citocinas pró-inflamatórias são liberadas gerando intenso desequilíbrio no sistema antioxidante celular, aspectos que agravam a lesão renal. Destarte, é imprescindível a compreensão dessas condições para que a terapêutica tenha êxito.

Além disso, a avaliação da função renal pela TFG é um bom preditor frente ao processo diagnóstico, pois é possível inferir, em cada paciente, o estágio patológico vivenciado. A classificação desse processo possibilita monitorar a evolução da DRC, bem como a saúde renal, sendo possível o devido controle terapêutico. Vinculado a isso, a quantificação da creatinina sérica, como um biomarcador, propicia melhor avaliação.

Em virtude das informações apresentadas, constatou-se que há intensa correlação entre a anemia e a DRC, em virtude da sequência de eventos que geram as doenças, que por ser multifatorial e depender de uma avaliação extensiva eleva a necessidade de acervo bibliográfico para maior esclarecimento do tema. Por isso, a atualização dos aspectos fisiopatológicos e casuísticos de ambas as patologias é imprescindível para mitigar o crescimento da morbimortalidade.

REFERÊNCIAS

- Borges RB, Weffort VRS. Anemia no Brasil–Revisão. *Rev Méd Minas Gerais*, v.21, n.3 Supl 1, p. S1-144, 2011.
- Chaparro CM, Suchdev PS. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low-and middle-income countries. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v.1450, n.1, p.15, 2019.
- Rocha MAA. Anemias: caracterização e implicações em Medicina Dentária. 2011. Tese de Doutorado. Repositório da Universidade de Lisboa, Faculdade de medicina dentária.
- Amarante MK, et al. Anemia Ferropriva: uma visão atualizada. *Biosaúde*, v.17, n.1, p.34-45, 2015.
- Roy CN. Anemia of inflammation. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, v.2010, n.1, p.276-280, 2010.
- Abensur H. Deficiência de ferro na doença renal crônica. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v.32, p.95-98, 2010.
- De Santis GC. Anemia: definição, epidemiologia, fisiopatologia, classificação e tratamento. *Medicina (Ribeirão Preto)*, 2019.
- Tamadon M-R, Beladi-Mousavi SS. Erythropoietin; a review on current knowledge and new concepts. *Journal of renal injury prevention*, v.2, n.4, p.119, 2013.
- Lopes AJDOC, et al. Anemia da doença crônica. 2011. Tese de Doutorado. 00500: Universidade de Coimbra.
- Porto G, Oliveira S, Pinto JP. Hepsidina: a molécula-chave na regulação do metabolismo do ferro. *Jornal Português de Gastrenterologia*, v.19, n.1, p.26-32, 2012.
- Munareto KA. Hepsidina como regulador da homeostase do ferro: uma revisão. *Brazilian Journal of Nephrology*, 2016; 38(3):351-355.
- Marinho AWGB, et al. Prevalência de doença renal crônica em adultos no Brasil: revisão sistemática da literatura. *Cadernos Saúde Coletiva*, v.25, n.3, p.379-388, 2017.
- Vieira Júnior JM, Suassuna JHR. O acometimento renal na hipertensão arterial e diabetes mellitus tipo 2: como identificar e prevenir – A visão do nefrologista. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto*, v.12, 2013.
- López-Novoa JM, et al. Common pathophysiological mechanisms of chronic kidney disease: therapeutic perspectives. *Pharmacology & therapeutics*, v.128, n.1, p.61-81, 2010.
- Gordino SM. "Epidemiologia da insuficiência renal crônica e anemia associada em adultos". 2019. Tese de Doutorado, Repositório da Universidade de Lisboa, Faculdade de ciências departamento de química e bioquímica.
- Vianna HR, et al. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.33, n.3, p.351-364, 2011.
- Zica CLA, Oliveira TS, de Gouveia IPP, de Oliveira RR, & de Oliveira Vasconcelos M. (2019). Anemia de doença crônica na doença renal crônica. *Conexão Ciências (Online)*, 14(2).
- Bastos MG, Bergman R, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.56, n.2, p.248-253, 2010.
- Oliveira SL de, Brune MFSS. Avaliação da função renal em adultos por meio da taxa de filtração glomerular e microalbuminúrica. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research*, v.19, n.3, p.62-68, 2017.
- Fernandes AMP. Eritropoiese e inflamação em doentes com insuficiência renal e/ou com diabetes Mellitus tipo 2. 2012. Tese de Doutorado, Universidade Católica Portuguesa, Instituto de Ciências da Saúde.
- Andrade ARN. Aspectos hematológicos do envelhecimento: anemia fisiológica, patológica ou ambas? 2012. Tese de mestrado, Universidade do Porto, Faculdade de Farmácia.
- Poggiali E, De Amicis MM, Motta I. Anemia of chronic disease: A unique defect of iron recycling for many different chronic diseases. *European Journal of Internal Medicine*, volume 25, issue 1, pages 12-17, 2013.
- Canavesi E, et al. Hepsidin and HFE protein: Iron metabolism as a target for the anemia of chronic kidney disease. *World Journal of Nephrology*, v.1, n.6, p.166, 2012.
- Giassi K, Pizzolatti RC. Anemia da doença renal crônica: perfil epidemiológico dos pacientes em hemodiálise em uso de eritropoetina no ano de 2012 na cidade de Criciúma. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, v.44, n.2, p.2-12, 2016.
- Oliveira Júnior WV, et al. Inflamação e má resposta ao uso de eritropoetina na doença renal crônica. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.37, n.2, p.255-263, 2015.
- Antunes, S. A., & Canziani, M. E. F. (2016). Hepsidina: um importante regulador do metabolismo de ferro na doença renal crônica. *Brazilian Journal of Nephrology*, 38, 351-355.
- Bevilacqua JL, Canziani MEF. Monitoring of hematimetric parameters. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.36, n.1, p.13-14, 2014.
- Lacreta G, et al. Pure red cell aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients on hemodialysis: a report of two cases and a literature review. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.41, n.1, p.145-151, 2019.
- Barros F, et al. Anemia na Doença Renal Crônica: da evidência à prática clínica. *Acta Médica Portuguesa*, [S.l.], v.24, p.869-74, dez. 2011. ISSN 1646-0758.
- Jaqueto M, et al. Os níveis de PTH estão relacionados com estresse oxidativo e inflamação em pacientes renais crônicos em hemodiálise? *Brazilian Journal of Nephrology*, v.38, n.3, p.288-295, 2016.
- Plastina JCR et al. Deficiência funcional de ferro em pacientes em hemodiálise: prevalência, avaliação nutricional e de biomarcadores de estresse oxidativo e de inflamação. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.41, n.4, p.472-480, 2019.
- Marques BM et al. Análise de indicadores de qualidade e características clínicas em uma unidade de terapia renal substitutiva. *CuidArte, Enferm*, p.99-105, 2019.
- Pedruzzi LM, et al. Associação entre níveis de ferritina e peroxidação lipídica em pacientes em hemodiálise. *Brazilian Journal of Nephrology*, v.37, n.2, p.171-176, 2015.
- Janiques AGDPR, et al. Compostos fenólicos: possíveis aplicações na doença renal crônica. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr*, p.322-337, 2013.
- Storino GF, et al. Mortalidade Cardiovascular em Pacientes Renais Crônicos: o Papel das Toxinas Urêmicas. *Int J Cardiovasc Sci*, v. 28, n. 4, p. 327-334, 2015.
- Scapini KB, et al. Estresse oxidativo, envelhecimento renal e doença renal crônica terminal. *Estudos Interdisciplinares sobre o Envelhecimento*, v. 15, n. 2, 2010.
- Couto KG, et al. Prevalência de casos de insuficiência renal crônica (IRC) atendidos pelo Serviço de Atendimento Móvel de Urgência de Rio Verde. Goiás. *Rev. Salusvita*, v.36, n.1, p.47-54, 2017.
- Malta DC, et al. Evaluation of renal function in the Brazilian adult population, according to laboratory criteria from the National Health Survey. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v.22, p.E190010. SUPL. 2, 2019.

39. Silva ACA, et al. Detecção de disfunção renal através da dosagem de creatinina em amostra de gota de sangue seca no papel filtro. "J. Bras. Nefrol.", São Paulo, v.38, n.1, p.15-21, Marc. 2016.
40. Gabriel IC, Nishida SK, Kirsztajn GM. Cistatina C sérica: uma alternativa prática para avaliação de função renal? J. Bras. Nefrol. São Paulo, v.33, n.2, p.261-267, June 2011.
41. Kirsztajn GM, et al. Leitura rápida do KDIGO 2012: Diretrizes para avaliação e manuseio da doença renal crônica na prática clínica. J. Bras. Nefrol. São Paulo, v.36, n.1, p.63-73, Mar. 2014.
42. Ribeiro-Alves MA, Gordan PA. 1. Diagnóstico de anemia em pacientes portadores de doença renal crônica. J. Bras. Nefrol. São Paulo, v.36, n.1, supl. 1, p.9-12, Mar. 2014.

O tratamento da anemia falciforme durante a pandemia pelo vírus SARS-CoV-2: uma mini-revisão

Treatment of sickle cell anemia during the pandemic SARS-CoV-2 virus: A mini-review

Cybelle Albuquerque de Miranda¹, Lacy Cardoso de Brito Junior²

¹ Biomédica formada pela Universidade Federal do Pará. Belém, PA, Brasil.

² Doutor / Universidade Federal do Pará – (Professor / Pesquisador). Belém, PA, Brasil.

Resumo

Introdução: O vírus SARS-CoV-2 rapidamente se tornou um problema de saúde pública mundial em função da sua rápida disseminação e do curso grave em portadores de comorbidades. Logo, grande preocupação se estabeleceu em relação aos portadores de doença falciforme (DF), visto que tanto a Covid-19 como a DF podem cursar como quadro respiratório grave. **Objetivo:** Apresentar os principais aspectos relacionados à evolução clínica e ao tratamento de portadores de DF infectados pelo vírus SARS-CoV-2. **Metodologia:** Estudo descritivo-exploratório do tipo revisão de literatura realizada no período de janeiro de 2020 a fevereiro de 2021. Como critério de inclusão foram selecionados textos em versão estendida nos idiomas português ou inglês. **Resultados:** Foram analisadas 136 publicações das quais foram selecionadas 40 para esta revisão. Dessas, foi observado que, embora não fosse o esperado, os portadores de DF em uso contínuo de hidroxiureia e infectados pelo vírus SARS-CoV-2 desenvolveram apenas quadros leves a moderados da Covid-19 e foram tratados de forma individual conforme as manifestações clínicas apresentadas. **Considerações finais:** Apesar da literatura sugerir um quadro favorável para os portadores de DF em uso contínuo de hidroxiureia, ainda são necessários mais estudos para determinar a real repercussão da Covid-19 nesses pacientes.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; Anemia falciforme; SARS-CoV-2; Pandemias; Tratamento farmacológico

Abstract

Introduction: The SARS-CoV-2 virus rapidly became a worldwide public health problem due to its rapid dissemination and serious course in patients with comorbidities. Soon, great concern was established in relation to patients with sickle cell disease (SCD) since both Covid-19 and SCD can be associated with a severe respiratory condition. **Objective:** Present the main aspects related to the clinical evolution and treatment of SCD carriers infected by the SARS-CoV-2 virus. **Methodology:** Descriptive-exploratory study of the literature review type carried out from January 2020 to February 2021. As inclusion criteria, texts in an extended version in Portuguese or English were selected. **Results:** 136 publications were analyzed, from which 40 publications were selected for this review. Of these, it was observed that, although it was not expected, patients with SCD on continuous use of hydroxyurea and infected with the SARS-CoV-2 virus developed only mild to moderate cases of Covid-19 and were treated individually according to the clinical manifestations presented. **Final Considerations:** Although the fact that the literature suggests a favorable picture for patients with SCD under continuous use of hydroxyurea, further studies are still needed to determine the real impact of Covid-19 in these patients.

Keywords: Hemoglobinopathies; Anemia Sickle Cell; SARS-CoV-2; Pandemics; Therapeutics

Correspondência

Lacy Cardoso de Brito Junior

E-mail: lcdbrito2@gmail.com

Recebido em 27/07/2021 | Aprovado em 11/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202170

INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019 surge na província de Wuhan, na China, um surto inesperado de pneumonia de etiologia desconhecida. Inicia-se, então, uma grande investigação sobre a possibilidade da existência de um novo patógeno com alta capacidade de disseminação. Hipótese essa que acabou por se concretizar em função da rápida dispersão do patógeno em todos os continentes do planeta, fato que o tornou um caso de emergência de saúde pública de âmbito internacional.⁽¹⁾

Mesmo durante a primeira fase de pandemia foi possível identificar com precisão o agente infeccioso envolvido como sendo um novo vírus pertencente à família *Coronaviridae*, que foi nomeado como SARS-CoV-2, e a doença resultante da infecção por esse vírus denominada de Doença do Coronavírus 2019 (Covid-19). Foi possível ainda identificar que alguns casos tinham evolução grave com fibrose pulmonar, pneumonia e óbito; e que o melhor método diagnóstico para o SARS-CoV-2 era, por volta do quarto dia de infecção, através da técnica de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), realizada com amostras de *swab* nasofaríngeo.⁽²⁾

Ainda em relação ao espectro clínico da Covid-19, esse incluía desde quadros assintomáticos, de leves ou moderados, com doença respiratória superior leve associada a letargia, dor de garganta, tosse seca, febre em torno de 38,5°C, a casos graves, com dor no peito, dispneia e pneumonia grave que poderia levar à síndrome respiratória aguda grave (SARS). Todos esses quadros associados a exames radiográficos pulmonares que variavam de inocentes até exame de tomografia computadorizada mostrando velamentos pulmonares difusos com o comprometimento de mais de 50% do parênquima pulmonar.⁽²⁻⁴⁾

Quanto aos achados histopatológicos observados em autópsias de alguns pacientes, até aquele momento, eram compostos de pneumócitos atípicos (atipia reativa) e trombose difusa de pequenos vasos periféricos⁴. Diante desse quadro respiratório grave da Covid-19 logo outras preocupações foram se avolumando, por exemplo, sobre como a doença se manifestaria em pacientes portadores de comorbidades e doenças crônicas graves como a anemia falciforme.

Isso porque a anemia falciforme é a doença hereditária monogênica mais comum no mundo e que ocorre quando uma mutação pontual no gene da globina beta acarreta uma substituição de ácido glutâmico por valina, modificando a estrutura da hemoglobina e permitindo sua polimerização quando em estado desoxigenado em cadeias filamentosas, as quais deformam a membrana do eritrócito conferindo a esta o formato de foice.^(5,6) Além disso, a anemia falciforme tem como manifestação clínica principal a presença de crises dolorosas resultantes da vaso-oclusão, que por sua vez decorre da adesão das células falciformes ao endotélio vascular, o que aumenta a hipóxia e a lesão tissular nesses pacientes.⁽⁶⁻⁸⁾

Assim, diante do exposto a presente mini-revisão visa apresentar os principais aspectos relacionados à evolução clínica e ao tratamento da anemia falciforme durante a pandemia pelo vírus SARS-CoV-2 disponíveis na literatura no período de janeiro 2020 a fevereiro de 2021.

METODOLOGIA

Estudo descritivo-exploratório com abordagem qualitativa do tipo revisão de literatura realizado através de pesquisa nas bases de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), PubMed e BVS (Biblioteca Virtual de Saúde), para a obtenção de artigos científicos, teses e dissertações disponíveis publicados na literatura no período de janeiro 2020 a fevereiro de 2021. Para a seleção dos textos, foram utilizadas como palavras-chave os unitermos: "Hemoglobinopatias" ("Hemoglobinopathies"), "Célula falciforme" ("Sickle Cell"), "SARS-CoV-2" ("SARS-CoV-2"), "Covid-19" ("Covid-19"), "Pandemia" ("Pandemics"). Como requisitos para a coleta de dados, foram utilizados como critério textos que estivessem escritos em sua versão estendida na língua portuguesa ou inglesa.

Diante dos critérios supracitados emergiram um total de 279 publicações e, após o descarte das duplicatas e dos estudos realizados fora do período estipulado para esta revisão, restaram 136 artigos, dos quais, após leitura minuciosa, foram selecionadas 40 bibliografias para compor a amostragem final que aborda o tema de forma relevante. Assim, no Quadro 1, estão as descrições dos 40 artigos selecionados para compor os resultados desta revisão.

Quadro 1

Identificação dos 40 artigos que versavam portadores de doença falciforme e Covid-19 quanto ao título, autores, ano, objetivo e principais resultados identificados por paciente no período de janeiro 2020 a fevereiro de 2021.

Título do Artigo	Autores/ Ano de Publicação	Objetivo	Principais Resultados (n)	
			Evolução clínica	Tratamentos
A Saudi family with sickle cell disease presented with acute crises and Covid-19 infection.	AL-HEBSHI et al., 2020 ⁽⁸⁾	Reportar 2 casos de DF e 1 de TF e Covid-19 em uma mesma família.	CVO (2), febre (2), anemia (2), hipóxia (1), lesões pulmonares características de Covid-19 (1). Os pacientes responderam ao tratamento.	Hidratação IV (1), antibióticos (2), analgésicos (2), suplementação de oxigênio (1) e troca de hemácias (1).
Red blood cell exchange to avoid intubating a Covid-19 positive patient with sickle cell disease?	ALLISON et al., 2020 ⁽⁹⁾	Reportar 1 caso de paciente de DF e Covid-19 tratado com transfusão de hemácias.	CVO, febre, dispneia, febre, calafrios, tosse, hipóxia, infiltrados alveolares. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos, imunossupressores e analgésicos, suplementação de oxigênio e troca de hemácias.
Varying presentations and favourable outcomes of Covid-19 infection in children and young adults with sickle cell disease: an additional case series with comparisons to published cases.	APPIAH-KUBI et al., 2020 ⁽¹⁰⁾	Discutir uma série de casos de Covid-19 e DF em comparação com casos previamente reportados.	Febre (5), STA (2), CVO (2), hipóxia (1), psicose (1). Os pacientes responderam ao tratamento.	Antibióticos (7), antivirais (4), anti-inflamatórios (3), transfusão ou troca de hemácias (4), suplementação de oxigênio (2), anticoagulantes (4).
Prognosis of patients with sickle cell disease and Covid-19: a French experience.	ARLET et al., 2020 ⁽¹¹⁾	Verificar os efeitos da infecção por Covid em pacientes de DF na França.	Não houve diferença significativa do risco de morbimortalidade entre este grupo de pessoas e os demais, apesar da suscetibilidade desses pacientes à STA ou CVO.	A principal abordagem terapêutica foi a transfusão simples ou de troca de hemácias.
Sickle cell disease and Covid-19: Atypical presentations and favorable outcomes.	AZERAD et al., 2020 ⁽¹²⁾	Reportar 3 casos de AF e Covid-19	CVO (3), tosse (2), vômitos (1), febre (1), dispneia (1), lesões pulmonares características de Covid-19 (2), anemia (2). Os pacientes responderam ao tratamento.	Troca de hemácias (3), antibióticos (2), hidroxiloroquina (1), anticoagulantes (1), suplementação de oxigênio (1).
Covid-19 pneumonia as a cause of acute chest syndrome in an adult sickle cell patient.	BEERKENS et al., 2020 ⁽¹³⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF e Covid-19 com desenvolvimento de STA.	Febre, tosse e hipóxia com desenvolvimento de STA. O paciente respondeu ao tratamento.	Hidroxiloroquina, suplementação de oxigênio, transfusão e troca de hemácias.
SARS-CoV-2 infection in pediatric patient with hemoglobin SC disease.	DAGALAKIS et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	Reportar o caso de 1 paciente pediátrico de DF e Covid-19.	Febre e congestão nasal. O paciente respondeu ao tratamento.	Administração IV de antibióticos.
Rapid and severe Covid-19 pneumonia with severe acute chest syndrome in a sickle cell patient successfully treated with tocilizumab.	DE LUNA et al., 2020 ⁽¹⁵⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF e Covid-19 tratado com tocilizumabe.	CVO, febre, STA e lesões pulmonares características de Covid-19 detectadas em exame de imagem. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos, tocilizumabe e transfusão de sangue.
Sickle cell anemia and Covid-19: Use of voxelotor to avoid transfusion.	ERSHLER; HOLBROOK, 2020 ⁽¹⁶⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF e Covid-19 tratado com voxelotor.	CVO, posteriormente desenvolvendo sintomas característicos de Covid-19, como febre e dispneia. O paciente respondeu ao tratamento.	Analgésicos, hidratação IV, transfusão de hemácias e suplementação de oxigênio. Para evitar mais transfusões, foi administrado voxelotor.
Patients with sickle cell disease and suspected Covid-19 in a paediatric intensive care unit.	HEILBRONNER et al., 2020 ⁽¹⁷⁾	Adicionar dados sobre infecção por Covid-19 em pacientes pediátricos de DF	CVO (4) e STA (4), febre (4) e lesões pulmonares características de Covid-19 (4). Os pacientes responderam ao tratamento.	hidratação IV (4), anticoagulantes (4), analgésicos (4), suplementação de oxigênio (4), tocilizumabe (1) e transfusão ou troca de hemácias (4).
Covid-19 infection in patients with sickle cell disease.	HUSSAIN et al., 2020 ⁽¹⁸⁾	Reportar os casos de 4 pacientes de DF com Covid-19.	CVO (4), febre (3), tosse (2), dispneia (1), náusea (1), vômitos (1), diarreia (1) congestão nasal (1). Os pacientes responderam ao tratamento.	Hidratação IV (3), analgésicos (4), antibióticos (2), suplementação de oxigênio (1), transfusão e troca de hemácias (1), hidroxiloroquina (1).
A pediatric patient with sickle cell disease presenting with severe anemia and splenic sequestration in the setting of Covid-19.	JACOB; DWORKIN; ROMANOS-SIRAKIS, 2020 ⁽¹⁹⁾	Reportar o caso de 1 paciente pediátrico de DF e Covid-19.	Febre, irritabilidade, taquicardia e esplenomegalia. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos e transfusão de hemácias.

Quadro 1 (continuação)

Título do Artigo	Autores/ Ano de Publicação	Objetivo	Principais Resultados (n)	
			Evolução clínica	Tratamentos
Covid-19 as a trigger of acute chest syndrome in a pregnant woman with sickle cell anemia.	JUSTINO et al., 2020 ⁽²⁰⁾	Reportar o caso de 1 mulher grávida com Covid-19 e DF.	Febre, mialgia, tosse, dispneia e hipóxia, com infiltrados em vidro fosco observados na tomografia computadorizada. A paciente respondeu ao tratamento.	Suplementação de oxigênio, antibióticos e transfusão de sangue.
Covid-19 infection and sickle cell disease: a UK centre experience.	MCCLOSKEY et al., 2020 ⁽²¹⁾	Reportar os casos de 10 pacientes de DF e Covid-19 em uma instituição de saúde no Reino Unido.	CVO (8), Febre (9), tosse (4), dispneia (3), hipóxia (5), lesões pulmonares características de Covid-19 (5). 9 pacientes responderam ao tratamento; 1 faleceu.	Suplementação de oxigênio (10), antibióticos (10), analgésicos (10), anticoagulantes (10) e transfusão de hemácias (3).
Acute chest syndrome in the setting of SARS-CoV-2 infections – A case series at an urban medical center in the Bronx.	MORRONE et al., 2020 ⁽²²⁾	Reportar os casos de 8 pacientes pediátricos de DF com Covid-19 e comparar os fatores ligados ao desenvolvimento de STA.	CVO (4), STA (5), Febre (7), tosse (5), hipertensão (1), hipóxia (2), dispneia (1), infecções bacterianas (2), congestão nasal (1), anemia (1). Os pacientes responderam ao tratamento.	Antibióticos (7), analgésicos (3), anticoagulantes (2), broncodilatadores (1), transfusão de hemácias (1), suplementação de oxigênio (1).
Covid-19 in benign hematology: emerging challenges and special considerations for healthcare professionals.	NOUN et al., 2020 ⁽²³⁾	Analisar casos de pacientes de distúrbios hematológicos e infecção por Covid-19 e sugerir recomendações e propostas de tratamento.	As maiores preocupações acerca dos possíveis sintomas provocados por Covid-19 em pacientes de DF são o desenvolvimento de STA e eventos trombóticos, além do risco de hipertensão pulmonar e infecções bacterianas secundária por hipofunção do baço.	Sugere-se monitoramento dos pacientes para reconhecimento precoce de sinais das complicações mencionadas e terapia profilática com anticoagulantes.
Vaso-occlusive crisis and acute chest syndrome in sickle cell disease due to 2019 novel coronavirus disease (Covid-19).	NUR et al., 2020 ⁽²⁴⁾	Reportar os casos de 2 pacientes de DF com crises vaso-occlusivas provocadas por Covid-19.	CVO (2), STA (1), febre (1), hipóxia (2), dispneia (1). Os pacientes responderam ao tratamento.	Suplementação de oxigênio (1), analgésicos (2), hidratação IV (1), antibióticos (1).
Dramatic improvement after tocilizumab of severe Covid-19 in a child with sickle cell disease and acute chest syndrome.	ODIÈVRE et al., 2020 ⁽²⁵⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF e Covid-19 tratada com tocilizumabe.	ACS, febre, hipóxia, dispneia, taquicardia, embolia pulmonar. A paciente respondeu ao tratamento.	Suplementação de oxigênio, troca e transfusão de hemácias, analgésicos, anticoagulantes, tocilizumabe.
Clinical management of a Nigerian patient affected by sickle cell disease with rare blood group and persistent SARS-CoV-2 positivity.	QUARESIMA et al., 2020 ⁽²⁶⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF com Covid-19.	CVO, febre, cefaleia, anemia. O paciente respondeu ao tratamento.	Analgésicos, antibióticos, anticoagulantes, transfusão de hemácias.
Unfolding of sickle cell trait by coronavirus disease 2019 (Covid-19) infection.	SHEHA et al., 2020 ⁽²⁷⁾	Reportar o caso de 1 paciente diagnosticado com DF a partir das manifestações clínicas provocadas por Covid-19.	CVO, febre, taquicardia, taquipneia, anemia, infecções bacterianas secundárias. A paciente respondeu ao tratamento.	Anticoagulantes, corticoides hidroxiquina, antibióticos, transfusão de hemácias e suplementação de oxigênio.
Covid-19 and the pulmonary complications of sickle cell disease.	SIVALINGAM et al., 2020 ⁽²⁸⁾	Identificar o impacto da infecção por Covid-19 nas manifestações pulmonares da DF.	A infecção por Covid-19 pode causar STA, agravando o quadro do paciente. Outra possível complicação é a maior chance de desenvolvimento de embolia pulmonar.	É importante o diagnóstico e tratamento precoce das complicações pulmonares, sendo a transfusão ou troca de hemácias e/ou a terapia com hidroxiureia, as abordagens terapêuticas recomendadas para prevenir e diminuir a falcação.
Care of patients with hemoglobin disorders during the Covid-19 pandemic: An overview of recommendations.	TAHER et al., 2020 ⁽²⁹⁾	Revisar o conhecimento acerca do tratamento de pacientes de hemoglobinopatias durante a pandemia de Covid-19.	Ao lidar com pacientes de DF e Covid-19 é importante procurar os sinais de STA, hipertensão pulmonar, seps e eventos de tromboembolismo, que são os principais agravantes do quadro do paciente relacionados à DF.	As recomendações terapêuticas incluem transfusão ou troca de hemácia e, se não estiverem disponíveis, pode ser utilizada a terapia com baixas doses de hidroxiureia. É importante também avaliar a necessidade de terapia profilática com anticoagulantes.

Quadro 1 (continuação)

Título do Artigo	Autores/ Ano de Publicação	Objetivo	Principais Resultados (n)	
			Evolução clínica	Tratamentos
Vulnerability of sickle cell disease persons to the Covid-19 in sub-Saharan Africa.	TONEN-WOLYEC et al., 2020 ⁽³⁰⁾	Discutir acerca da vulnerabilidade à infecção por Covid-19 em pacientes de DF.	Verificou-se que a maioria dos casos de Covid-19 em pacientes de DF foram brandos e não fatais, porém não é possível fazer afirmações devido à falta de evidência.	Transfusão sanguínea foi necessária na maioria dos casos, porém é uma preocupação devido a carência de bolsas.
Covid-19 Infection and Acute Pulmonary Embolism in an Adolescent Female With Sickle Cell Disease.	KASINATHAN et al., 2020 ⁽³¹⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF com Covid-19.	CVO, febre, tosse, dispneia, taquicardia, hipóxia, embolia pulmonar, lesões pulmonares características de Covid-19. A paciente respondeu ao tratamento.	Suplementação de oxigênio, antibióticos, analgésicos, anticoagulantes, hidroxcloroquina.
Covid-19 in Omani Children with Hemato-Oncology Diseases.	AL YAZIDI; WALI, 2020 ⁽³²⁾	Avaliar o impacto da Covid-19 em crianças com doenças hemato-oncológicas.	É possível que crianças com DF sejam mais suscetíveis a formas moderadas ou graves de Covid-19, devido ao risco de desenvolver STA.	Antibióticos, troca de hemácias, hidratação IV, suplementação de oxigênio.
Challenges in the Management of Sickle Cell Disease During SARS-CoV-2 Pandemic.	ALSAYEGH; MOUSA, 2020 ⁽³³⁾	Discutir a abordagem clínica em casos de DF em associação com Covid-19.	Os sintomas da infecção por Covid-19 em pacientes de DF são uma combinação dos sintomas comuns da doença viral com as complicações da DF em decorrência da baixa oxigenação e subsequente falcização.	As abordagens terapêuticas sugeridas para tratar o paciente de DF com Covid-19 são baseadas na experiência médica com o tratamento de complicações relacionadas à doença e em dados adquiridos acerca das melhores maneiras para conter a infecção por Covid-19.
Covid-19 in patients with sickle cell disease - a case series from a UK Tertiary Hospital.	SUBARNA CHAKRAVORTY et al., 2020 ⁽³⁴⁾	Reportar os casos de 10 pacientes de DF e Covid-19 em uma instituição de saúde do Reino Unido.	Febre (6), CVO (5), tosse (4), hipóxia (2). Nove pacientes responderam ao tratamento, 1 faleceu	Suplementação de oxigênio (2), transfusão de hemácias (2), antibióticos (10)
Is sickle cell disease a risk factor for severe Covid-19 outcomes in hospitalized patients? A multicenter national retrospective cohort study.	ABDULRAHMAN et al., 2021 ⁽³⁵⁾	Identificar se a DF é um fator de risco para ventilação não invasiva, ventilação mecânica ou morte em pacientes internados por Covid-19.	No estudo não foi possível identificar um risco aumentado para pacientes de DF de desenvolver as formas mais graves da Covid-19.	Não foi detectada também uma maior necessidade de intervir com suplementação de oxigênio para esses pacientes.
Presentation, management, and outcomes of Covid-19 in patients with sickle cell disease.	ANUSIM et al., 2021 ⁽³⁶⁾	Reportar os efeitos da Covid-19 em pacientes de DF nos Estados Unidos.	Febre, CVO, calafrios, dispneia e tosse foram os sintomas mais comuns. 9 pacientes responderam ao tratamento, 2 faleceram.	Analgésicos (11), hidroxcloroquina (7), antivirais (1), corticoides (2), antibióticos (11), anticoagulantes (2), anti-inflamatórios (1), transfusão ou troca de sangue (5), diálise (1).
Acute chest syndrome and Covid-19 in sickle cell disease pediatric patients.	ELIA et al., 2021 ⁽³⁷⁾	Descrever 3 casos de desenvolvimento de STA em pacientes pediátricos de DF com Covid-19	CVO (3), STA (3), anemia (3), tosse (1), hipóxia (3), febre (3), lesões pulmonares características de Covid-19 (3). Os pacientes responderam ao tratamento.	Antibióticos (3), analgésicos (3), suplementação de oxigênio (3), antipiréticos (1), anti-inflamatórios (1), anticoagulantes (1), transfusão de hemácias (3).
Clinical presentations and outcomes of Covid-19 infection in sickle cell disease patients: Case series from Komfo Anokye teaching hospital, Ghana.	HARDY et al., 2021 ⁽³⁸⁾	Descrever a evolução clínica de 3 pacientes de DF com Covid-19.	Tosse (3), febre (3), vômitos (1), dispneia (2), STA (2), CVO (2), hipóxia (1), anemia (3). As pacientes responderam ao tratamento.	Antibióticos (3), anticoagulantes (3), hidroxcloroquina (3), zinco (3), ácido fólico (3), complexo multivitamínico (3), corticoides, suplementação de oxigênio (2), transfusão de hemácias (3).
Acute hepatic encephalopathy and multiorgan failure in sickle cell disease and Covid-19.	MARTONE et al., 2021 ⁽³⁹⁾	Descrever o caso de 1 paciente de DF com Covid-19.	CVO, vômito, STA, anemia, febre. A paciente desenvolveu encefalopatia hepática e falência múltipla de órgãos após a infecção e testando negativo para SARS-CoV-2, porém eventualmente se recuperou.	Transfusão de hemácias, hidroxcloroquina e antibióticos.

Quadro 1 (continuação)

Título do Artigo	Autores/ Ano de Publicação	Objetivo	Principais Resultados (n)	
			Evolução clínica	Tratamentos
Clinical predictors of poor outcomes in patients with sickle cell disease and Covid-19 infection.	MINNITI et al., 2021 ⁽⁴⁰⁾	Identificar os sinais preditores dos efeitos do quadro clínico da Covid-19 em pacientes de DF.	CVO, febre, taquicardia, hipóxia, STA, foram os achados entre os 66 pacientes do estudo. Sete pacientes faleceram.	As terapias mais comuns utilizadas foram antibióticos, anticoagulantes, transfusão de hemácias, suplementação de oxigênio, hidroxicloraquina e hidroxiureia.
The role of red blood cell exchange in sickle cell disease in patient with Covid-19 infection and pulmonary infiltrates.	OKAR; ALDEEB; YASSIN, 2021 ⁽⁴¹⁾	Avaliar o efeito da transfusão de hemácias no tratamento de Covid-19 em 1 paciente de DF.	CVO, febre, tosse, fadiga e diminuição do apetite	Transfusão de hemácias, antivirais e anticoagulantes.
Simultaneous diagnosis of severe SARS-CoV-2 infection and sickle cell disease in two infants.	PARODI et al., 2021 ⁽⁴²⁾	Reportar o diagnóstico de DF em 2 pacientes pediátricos com manifestações clínicas provocadas por Covid-19.	Febre (2), STA (2), anemia, hipóxia (2), hipotonia (1), letargia (1), sepse (1), eventos trombóticos (1).	Antibióticos (1), corticoides (1), suplementação de oxigênio (2), antivirais (1), transfusão ou troca de hemácias (2).
Cranial polyneuropathy as the first manifestation of a severe Covid-19 in a child.	ROUSSEL et al., 2021 ⁽⁴³⁾	Reportar o caso de 1 paciente pediátrico de DF e Covid-19 com complicações neurológicas.	Febre, STA, tosse.	Suplementação de oxigênio, antivirais, tocilizumabe.
Covid-19 in patients with sickle cell disease: A single center experience from Ohio, United States.	SAHU et al., 2021 ⁽⁴⁴⁾	Reportar os casos de 5 pacientes de DF e Covid-19 em uma instituição de saúde dos Estados Unidos.	Tosse (1), CVO (4), náusea (1), vômitos (1), dispneia (1), anemia (1).	Suplementação de oxigênio (3), transfusão de hemácias (1), antivirais (1), anticoagulantes (4).
Severe Covid-19 with acute respiratory distress syndrome (ARDS) in a sickle cell disease adult patient: case report.	TEULIER et al., 2021 ⁽⁴⁵⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF com desenvolvimento de STA provocada por Covid-19	Tosse, cefaleia, febre, dispneia, STA, anemia. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos, anticoagulantes, troca de hemácias, suplementação de oxigênio.
Covid-19 pneumonia in a pediatric sickle cell patient requiring red blood cell exchange.	WALKER et al., 2021 ⁽⁴⁶⁾	Reportar o caso de 1 paciente pediátrica de DF com Covid-19 tratada com transfusão de hemácias	STA, CVO, febre, vômitos, dispneia, hipóxia, taquicardia. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos, anticoagulantes, antivirais, suplementação de oxigênio, troca de hemácias.
Severe hemolysis and vaso-occlusive crisis due to Covid-19 infection in a sickle cell disease patient improved after red blood cell exchange.	OKAR et al., 2021 ⁽⁴⁷⁾	Reportar o caso de 1 paciente de DF e Covid-19 tratado com transfusão de hemácias	CVO, infiltrados pulmonares, anemia, STA. O paciente respondeu ao tratamento.	Antibióticos, anticoagulantes, corticoides, suplementação de oxigênio, troca de hemácias.

Legenda: DF= Doença falciforme; TF= Traço falciforme; CVO= Crises vaso-oclusivas; IV= Intravenosa; STA= Síndrome torácica aguda; AF= Anemia falciforme; ACS= Síndrome torácica aguda

REFERENCIAL TEÓRICO**A pandemia pelo vírus SARS-CoV-2**

No início de janeiro de 2020, menos de um mês após o início dos casos de Covid-19 na província de Wuhan na China, o vírus SARS-CoV-2 já havia se dispersado por todos os países e territórios ao redor do globo, sendo então responsável por mais de 135 milhões de casos confirmados de Covid-19 e de mais de 2,9 milhões de óbitos.⁽¹⁾

O SARS-CoV-2, agente etiológico da Covid-19, é um vírus originalmente zoonótico que infecta principalmente mamíferos e aves. Na versão atualizada em 2019 do Comitê Internacional de Taxonomia de vírus (ICTV), os coronavírus foram classificados na ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*,

subfamília *Orthocoronavirinae*, e divididos em quatro gêneros (alfa, beta, gama e delta) de acordo com critérios filogenéticos e sorológicos. Recentemente o vírus SARS-CoV-2 foi incluído aos vírus do gênero *Betacoronavirus* da linhagem beta e com capacidade de infectar seres humanos.⁽⁴⁸⁾

A capacidade adaptativa desses coronavírus zoonóticos em infectar seres humanos há muito vem sendo estudada, e diversos são os relatos que associam a transmissão desses vírus, em algum momento, de seus hospedeiros primários (morcegos ou roedores) para um hospedeiro intermediário (dromedários, civetas ou bovinos) e posteriormente desses para os seres humanos após contato com esses animais.^(4,49-51) Essa é a hipótese mais aceita para a capacidade desses vírus em infectar células humanas e também em relação ao

surgimento dos surtos por outros coronavírus como: o vírus SARS-CoV associado à Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) de início 2002 também na China; e o vírus MERS-CoV associado à Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) que ocorreu em 2012 nos países da região.⁽⁵²⁾

Características gerais do vírus SARS-CoV-2 e da Covid-19

Os coronavírus são vírus envelopados de fita única de RNA que têm quatro proteínas estruturais essenciais: uma proteína do nucleocapsídeo (N), uma glicoproteína transmembrana de matriz (M), um canal iônico do envelope (E) e a glicoproteína Spike (S), que estão presentes em toda a membrana do vírus como projeções que tornam a superfície do vírus semelhante a uma coroa (do latim, *corona*), daí o seu nome⁵³. Contudo, os betacoronavírus, como o vírus SARS-CoV-2, podem possuir ainda uma outra proteína estrutural extra com função de hemaglutinação e esterase (HE).^(54,55)

O mecanismo de entrada desses vírus na célula humana está diretamente relacionado à glicoproteína S, que tem afinidade pelas enzimas conversoras de angiotensina 2 (ECA-2), as quais são encontradas na superfície da membrana de diversas células humanas, sendo mais frequentes nas células do pulmão, coração, íleo, dos rins e da bexiga.⁽⁵⁶⁾

Assim, é iniciado o processo de exposição do hospedeiro ao vírus SARS-CoV-2. Em cerca de 2 a 7 dias podem ou não surgir sintomas característicos da Covid-19. Caso o hospedeiro venha a ser confirmada a doença, o hospedeiro pode apresentar manifestações que variam desde sintomas associados a um resfriado comum com febre, tosse seca, dispneia leve, náusea ou diarreia, anosmia, ageusia e mialgia, até a falência de múltiplos órgãos associada a sintomas como lesões pulmonares associadas a infiltrado inflamatório e fibrose intensa, que dão o aspecto de vidro fosco às lesões pulmonares visíveis nas tomografias computadorizadas dos pacientes, como também associada à síndrome respiratória aguda grave seguida de prolongado quadro de hipóxia sistêmica. Essas são as principais causas de óbitos relacionadas ao vírus, principalmente em pacientes portadores de comorbidades.⁽⁵⁶⁾

Doença falciforme e a caracterização genética da doença

A hemoglobina (Hb) é uma metaloproteína tetramérica composta pela associação de um dímero de globinas do tipo alfa e um dímero de globinas do tipo beta associadas a um grupo heme, que tem conjuntamente a função de permitir o transporte de oxigênio. Em seres humanos, a composição de cadeias globínicas alfa e beta ao longo do seu desenvolvimento se modifica cerca de duas vezes até que as variantes adultas HbA ($\alpha_2\beta_2$), que corresponde a 95%

a 98% de toda a hemoglobina do organismo, e a HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) se tornem predominantes.^(5,57)

Em pacientes com doença falciforme (DF), contudo, ocorre uma mutação pontual com substituição do nucleotídeo adenina por uma timina (A à T). Por consequência, a substituição de aminoácidos ácido glutâmico por uma valina na sexta posição da cadeia beta da globina gera a HbS ($\alpha_2\beta_2^S$). Essa substituição influencia na estrutura quaternária da cadeia da globina onde a nova conformação do peptídeo possui um ponto de interação hidrofóbico que permite a sua polimerização quando em estado desoxigenado, formando assim cadeias filamentosas, as quais distorcem a membrana citoplasmática do eritrócito dando origem à morfologia em foice característica da doença.^(5,6)

Quando essa alteração é herdada em homozigose, a HbS causa a anemia falciforme clássica (AF), porém essa alteração pode vir por herança em heterozigose associada à HbA, o chamado traço falciforme (TF), fato que não caracteriza fenótipo clássico da doença falciforme. É possível ainda que a HbS seja herdada associada a outras mutações de hemoglobinopatias como HbC ($\alpha_2\beta_2^C$) e talassemia beta que também podem configurar o fenótipo de doença falciforme.⁽⁵⁸⁾

Na forma homozigota, ou mesmo heterozigota, da HbS em associação à HbC ou talassemia beta, as manifestações clínicas se iniciam após os seis primeiros meses da criança portadora quando as concentrações de HbF diminuem e então começam a prevalecer as formas de HbS alteradas.⁽⁸⁾ As manifestações clínicas mais importantes estão associadas às crises vaso-oclusivas (CVO), em que ocorre a adesão das hemácias falcizadas ao endotélio vascular e consequente bloqueio do fluxo sanguíneo, causando aumento da hipóxia, lesão tissular e crises dolorosas.⁽⁶⁻⁸⁾ Contudo, outros sintomas também são frequentes nesses pacientes como: anemia, síndrome torácica aguda (STA), sequestro esplênico, acidente vascular encefálico, infecções bacterianas recorrentes, hipertensão pulmonar e priapismo.^(5,7)

Epidemiologia da anemia falciforme

Historicamente, a AF tem maiores incidências em regiões onde a malária é endêmica, como na África subsaariana, na bacia Mediterrânea, no Oriente Médio e na Índia. Uma hipótese para explicar este fenômeno é a concessão de resistência que as hemácias dos portadores da HbS têm em relação a casos de infecção grave na malária, configurando uma vantagem evolutiva aos portadores de traço falciforme.^(5,59) Por sua vez, a presença de mutação em genes das cadeias beta associadas ao surgimento da HbS em outras

regiões, como no norte europeu, nas Américas, na Oceania e no leste asiático, é menos evidente e pode ser explicada, quando presente, pelo fluxo migratório de povos das regiões de maior incidência. De modo que se admite que nascem aproximadamente 300 mil crianças com anemia falciforme por ano em todo o mundo.^(5,6,59)

No Brasil, em especial, a constituição da população conta com uma forte influência dos povos africanos que foram trazidos para o trabalho escravo e acabaram por miscigenar com europeus e indígenas, fato que aumentou a incidência da mutação em genes das cadeias beta e, conseqüentemente, também aumentou o número de portadores de HbS em nosso país. Esse dado levou à incorporação, em 1992, da Triagem Neonatal ao SUS, que oferece diagnóstico precoce para doença falciforme através do teste do pezinho ainda na primeira semana de vida de cada recém-nascido. Contudo, é importante observar que mesmo a AF sendo frequente sua distribuição na população brasileira é muito heterogênea, refletindo assim a grande variação no padrão de miscigenação encontrada no país.⁽⁶⁾

Sintomatologia e evolução clínica do portador de doença falciforme e Covid-19

A literatura estudada indica que os pacientes portadores de doença falciforme e Covid-19 tiveram uma evolução clínica associada a bom prognóstico por terem apresentado apenas quadros clínicos de leves a moderados. Fato que contraria o que era esperado para essa associação de doenças, visto que a Covid 19 compromete o sistema respiratório do paciente e é exatamente essa a maior preocupação em pacientes com DF que têm aumento das complicações clínicas em função do aumento da hipóxia. O esperado então para essa associação era o aumento do desenvolvimento de eventos trombóticos, crises vaso-oclusivas e/ou síndrome torácica aguda no portador de DF com a Covid-19, contudo isso não foi observado na literatura pesquisada.^(17,28,29)

Essa divergência de achados pode ser atribuída ao baixo número de relatos disponíveis na literatura até o momento,^(11,30,32,35) que pode ser explicado também pela similaridade existente na patofisiologia dessas doenças quando relacionadas aos quadros clínicos graves ou fatais de DF.^(30,60)

Especificamente em relação aos eventos trombóticos, embora sejam observados em ambas doenças, têm seus mecanismos associados a eventos diferentes. Na AF, por exemplo, os eventos trombóticos estão relacionados ao aumento da aderência das células falciformes às células endoteliais da microcirculação, com alterações recorrentes

dos elementos da hemostasia, o que se reflete em estado de “hipercoagulabilidade” nesses pacientes.⁽⁵⁹⁾

Já nas formas mais graves da Covid 19 o vírus SARS-CoV-2 suprime os mecanismos de defesa do hospedeiro associados à ação de citocinas antivirais como os interferons (IFN tipos I e III), o que gera evasão viral e desregulação do sistema imune⁽⁶¹⁻⁶³⁾ com liberação de grande quantidade de citocinas,^(64,65) exacerbação do processo inflamatório, surgimento da SARS e dos graves danos teciduais associados aos quadros de tromboembolismo.⁽⁶⁶⁾ Esses últimos podendo ser fatais em pacientes portadores de DF que já possuem um estado basal de suscetibilidade a essa complicação.^(23,28,29)

Outra preocupação frequente no manejo de pacientes portadores de DF é a suscetibilidade destes a infecções bacterianas oportunistas em consequência da hipofunção do baço. No cenário da pandemia esse monitoramento deve ser ainda mais rigoroso para que portadores de DF e Covid-19 não venham a ter o agravamento do quadro de DF por esse mecanismo.^(23,29,67)

Tratamento do portador de doença falciforme e Covid-19

Os dados obtidos da literatura pesquisada para pacientes portadores de doença falciforme e Covid-19, de modo geral, sugerem que a conduta clínica a ser adotada deve ser individualizada e apropriada a cada apresentação dos sintomas. Assim, a antibioticoprofilaxia com ceftriaxona, azitromicina ou levofloxacina foi conduta adotada em todos os pacientes como forma de prevenir as infecções bacterianas oportunistas.^(10,22,34)

A hipoxemia está relacionada ao desenvolvimento das complicações graves em ambas doenças, Covid-19 e doença falciforme, portanto foi de suma importância a utilização da suplementação de oxigênio para a manutenção da estabilidade do quadro desses pacientes.⁽⁹⁾ Contudo, na ocorrência de hipoxemia foi realizada analgesia com opioides em associação com hidratação intravenosa como condutas clínicas de uso comum nesses pacientes para tratar as crises vaso-oclusivas dos pacientes com DF.^(17,18,37)

A tromboprofilaxia também foi adotada durante esses quadros visto que essa já é uma conduta essencial no manejo clínico dos pacientes portadores de DF e também de Covid-19, sendo nesses casos a enoxaparina o anticoagulante mais utilizado.^(21,38)

Uma das grandes dificuldades encontradas, porém, para o tratamento de pacientes portadores de DF, em meio à crise da pandemia, foi a realização de transfusão de concentrado de hemácias⁶⁸ visto que durante a pandemia, em virtude do isolamento social, ocorreu a falta de doadores de sangue para

a reposição de estoques em bancos de sangue. Nesses casos a terapia adotada foi com o voxelotor, o qual é um inibidor da polimerização da HbS, que nesses casos mostrou-se eficaz para manter o paciente estável e em processo de melhora sem a necessidade de transfusão.⁽¹⁶⁾

Dentre os artigos estudados, um achado muito interessante foi que dos 40 artigos selecionados 25 mencionavam obrigatoriamente o uso contínuo de hidroxiureia pelos pacientes, ou discutiam no corpo do texto sobre os efeitos desse fármaco no curso da infecção pelo vírus SARS-CoV-2 em pacientes com DF. Esses autores, em sua grande maioria, sugeriram que a hidroxiureia poderia ter potencial benéfico nesses pacientes, atuando como proteção contra o desenvolvimento de quadros graves de Covid-19, possivelmente por reduzir o quadro inflamatório e controlar as manifestações clínicas referentes à DF.^(22,40) Apesar disso, ainda não é possível afirmar com precisão o papel do medicamento na Covid-19 em portadores de DF visto o baixo número de casos até o momento relatados.^(23,28,29,32)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nessa mini-revisão foi observado que os pacientes portadores de doença falciforme que desenvolveram a Covid-19, em sua grande maioria, eram tratados de forma contínua com hidroxiureia e que essa poderia ter potencial benéfico nesses pacientes, atuando como proteção contra o desenvolvimento de quadros graves da doença. Sendo então tratados no curso da Covid-19, quando necessário, com suplementação de oxigênio e/ou transfusão de concentrado de hemácias, além de analgesia, antibioticoprofilaxia e trombotoprofilaxia. Contudo, os dados relatados aqui ainda são escassos em função do baixo número de artigos encontrados e de pacientes analisados, não sendo possível fazer afirmações acerca do real impacto da Covid-19 nesses pacientes.

REFERÊNCIAS

- Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, Yuen KY. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):221-236. doi: 10.1080/22221751.2020.1719902.
- Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, Rossi RS, Pellegrinelli A, Zerbi P, Rech R, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of Covid-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(10):1135-1140. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30434-5.
- Li R, Pei S, Chen B, Song Y, Zhang T, Yang W, Shaman J. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Science.* 2020;368(6490):489-493. doi: 10.1126/science.abb3221.
- Zhang H, Zhou P, Wei Y, et al. Histopathologic Changes and SARS-CoV-2 Immunostaining in the Lung of a Patient With Covid-19. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):629-632. doi:10.7326/M20-0533.
- Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet.* 2010;376(9757):2018-31. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61029-X.
- Manfredini V, Castro S, Wagner S, Benfato MS. A fisiopatologia da anemia falciforme. *Infarma-Ciências Farmacêuticas.* 2013;19(1/2):3-6.
- Inusa BPD, Hsu LL, Kohli N, Patel A, Ominu-Evbota K, Anie KA, Atoyebi W. Sickle Cell Disease-Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. *Int J Neonatal Screen.* 2019;5(2):20. doi: 10.3390/ijns5020020.
- Al-Hebshi A, Zolaly M, Alshengeti A, et al. A Saudi family with sickle cell disease presented with acute crises and Covid-19 infection. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(9):e28547. doi:10.1002/pbc.28547.
- Allison D, Campbell-Lee S, Crane J, Vidanovic V, Webb S, Fraidenburg D, Hussain F. Red blood cell exchange to avoid intubating a Covid-19 positive patient with sickle cell disease? *J Clin Apher.* 2020;35(4):378-381. doi: 10.1002/jca.21809.
- Appiah-Kubi A, Acharya S, Fein Levy C, Vlachos A, Ostovar G, Murphy K, Farrell A, et al. Varying presentations and favourable outcomes of Covid-19 infection in children and young adults with sickle cell disease: an additional case series with comparisons to published cases. *Br J Haematol.* 2020;190(4):e221-e224. doi: 10.1111/bjh.17013.
- Arlet JB, de Luna G, Khimoud D, et al. Prognosis of patients with sickle cell disease and Covid-19: a French experience [published correction appears in *Lancet Haematol.* 2020 Sep;7(9):e635]. *Lancet Haematol.* 2020;7(9):e632-e634. doi:10.1016/S2352-3026(20)30204-0.
- Azerad MA, Bayoudh F, Weber T, Minon JM, Ketelslegers O, Hoyoux M, Ren X, et al. Sickle cell disease and Covid-19: Atypical presentations and favorable outcomes. *EJHaem.* 2020;10.1002/jha2.74. doi: 10.1002/jha2.74.
- Beerens F, John M, Puliafito B, Corbett V, Edwards C, Tremblay D. Covid-19 pneumonia as a cause of acute chest syndrome in an adult sickle cell patient. *Am J Hematol.* 2020;95(7):E154-E156. doi: 10.1002/ajh.25809.
- Dagalakis U, Hammershaimb E, McArthur MA, Macatangay RA. SARS-CoV-2 infection in pediatric patient with hemoglobin SC disease. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(11):e28430. doi: 10.1002/pbc.28430.
- De Luna G, Habibi A, Deux JF, Colard M, Pham Hung d'Alexandry d'Orengiani AL, Schlemmer F, Joher N, et al. Rapid and severe Covid-19 pneumonia with severe acute chest syndrome in a sickle cell patient successfully treated with tocilizumab. *Am J Hematol.* 2020;95(7):876-878. doi: 10.1002/ajh.25833.
- Ershler WB, Holbrook ME. Sickle cell anemia and Covid-19: Use of voxelotor to avoid transfusion. *Transfusion.* 2020;60(12):3066-3067. doi: 10.1111/trf.16068.
- Heilbronner C, Berteloot L, Tremolieres P, Dupic L, de Saint Blanquat L, Lesage F, Odièvre MH, et al. Patients with sickle cell disease and suspected Covid-19 in a paediatric intensive care unit. *Br J Haematol.* 2020;190(1):e21-e24. doi: 10.1111/bjh.16802.
- Hussain FA, Njoku FU, Saraf SL, et al. Covid-19 infection in patients with sickle cell disease. *British Journal of Haematology.* 2020;189(5):851-852. doi: 10.1111/bjh.16734.
- Jacob S, Dworkin A, Romanos-Sirakis E. A pediatric patient with sickle cell disease presenting with severe anemia and splenic sequestration in the setting of Covid-19. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(12):e28511. doi: 10.1002/pbc.28511.
- Justino CC, Campanharo FF, Augusto MN, Morais SC, Figueiredo MS. Covid-19 as a trigger of acute chest syndrome in a pregnant woman with sickle cell anemia. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2020;42(3):212-214. doi: 10.1016/j.htct.2020.06.003.
- McCloskey KA, Meenan J, Hall R, Tsitsikas DA. Covid-19 infection and sickle cell disease: a UK centre experience. *Br J Haematol.* 2020;190(2):e57-e58. doi: 10.1111/bjh.16779.

22. Morrone KA, Strumph K, Liszewski MJ, Jackson J, Rinke ML, Silver EJ, Minniti C, et al. Acute chest syndrome in the setting of SARS-CoV-2 infections—A case series at an urban medical center in the Bronx. *Pediatric Blood and Cancer*. 2020;67(11):2–7. doi: <https://doi.org/10.1002/xbc.28579>.
23. Noun P, Ibrahim A, Hodroj MH, Bou-Fakhredin R, Taher AT. Covid-19 in benign hematology: emerging challenges and special considerations for healthcare professionals. *Expert Rev Hematol*. 2020;13(10):1081-1092. doi: [10.1080/17474086.2020.1819785](https://doi.org/10.1080/17474086.2020.1819785).
24. Nur E, Gaartman AE, van Tuijn CFJ, Tang MW, Biemond BJ. Vaso-occlusive crisis and acute chest syndrome in sickle cell disease due to 2019 novel coronavirus disease (Covid-19). *Am J Hematol*. 2020;95(6):725-726. doi: [10.1002/ajh.25821](https://doi.org/10.1002/ajh.25821).
25. Odièvre MH, de Marcellus C, Ducou Le Pointe H, Allali S, Romain AS, Youn J, Taytard J, et al. Dramatic improvement after tocilizumab of severe Covid-19 in a child with sickle cell disease and acute chest syndrome. *Am J Hematol*. 2020;95(8):E192-E194. doi: [10.1002/ajh.25855](https://doi.org/10.1002/ajh.25855).
26. Quaresima M, Quaresima V, Naldini MM, Cirillo DM, Ferrari A, Mazzi A, Tesini EMC, et al. Clinical management of a Nigerian patient affected by sickle cell disease with rare blood group and persistent SARS-CoV-2 positivity. *EJHaem*. 2020;10.1002/jha2.53. doi: [10.1002/jha2.53](https://doi.org/10.1002/jha2.53).
27. Sheha D, El-Shayeb M, Eid Y, Amin M, Saeed A, Abdou D, Aly T, et al. Unfolding of sickle cell trait by coronavirus disease 2019 (Covid-19) infection. *Br J Haematol*. 2020;191(2):e38-e40. doi: [10.1111/bjh.17089](https://doi.org/10.1111/bjh.17089).
28. Sivalingam T, Inusa B, Doyle P, Oteng-Ntim E. Covid-19 and the pulmonary complications of sickle cell disease. *EJHaem*. 2020;1(2):545-547. doi: [10.1002/jha2.105](https://doi.org/10.1002/jha2.105).
29. Taher AT, Bou-Fakhredin R, Kreidieh F, Motta I, De Franceschi L, Cappellini MD. Care of patients with hemoglobin disorders during the Covid-19 pandemic: An overview of recommendations. *Am J Hematol*. 2020;95(8):E208-E210. doi: [10.1002/ajh.25857](https://doi.org/10.1002/ajh.25857).
30. Tonen-Wolyec S, Marini Djang'eing'a R, Kambale-Kombi P, Tshilumba CK, Bélec L, Batina-Agasa S. Vulnerability of sickle cell disease persons to the Covid-19 in sub-Saharan Africa. *Hematology*. 2020;25(1):280-282. doi: [10.1080/16078454.2020.1790842](https://doi.org/10.1080/16078454.2020.1790842).
31. Kasinathan S, Mohammad Ashraf H, Minkowitz S, Adeyinka A, Bailey-Correa K. Covid-19 Infection and Acute Pulmonary Embolism in an Adolescent Female With Sickle Cell Disease. *Cureus*. 2020;12(12):e12348. doi: [10.7759/cureus.12348](https://doi.org/10.7759/cureus.12348).
32. Al Yazidi LS, Wali Y. Covid-19 in Omani Children with Hemato-Oncology Diseases. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2020;12(1):e2020074. doi: [10.4084/MJHD.2020.074](https://doi.org/10.4084/MJHD.2020.074).
33. Alsayegh F, Mousa SA. Challenges in the Management of Sickle Cell Disease During SARS-CoV-2 Pandemic. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020;1076029620955240. doi: [10.1177/1076029620955240](https://doi.org/10.1177/1076029620955240).
34. Chakravorty S, Padmore-Payne G, Ike F, Tshibangu V, Graham C, Rees D, Stuart-Smith S. Covid-19 in patients with sickle cell disease – a case series from a UK Tertiary Hospital. *Haematologica*. 2020;105(11):2691-2693. doi: [10.3324/haematol.2020.254250](https://doi.org/10.3324/haematol.2020.254250).
35. Abdulrahman A, Wael M, AlAmmadi F, Almosawi Z, Alsherooqi R, Abduljalil M, Kumar N, AlQahtani M. Is sickle cell disease a risk factor for severe Covid-19 outcomes in hospitalized patients? A multicenter national retrospective cohort study. *EJHaem*. 2021;10.1002/jha2.170. doi: [10.1002/jha2.170](https://doi.org/10.1002/jha2.170).
36. Anusim N, Gupta R, Ahaneku H, Franklin C, Balaraman S, Huben M, Jaiyesimi I. Presentation, management, and outcomes of Covid-19 in patients with sickle cell disease. *EJHaem*. 2021;2(1):124-127. doi: [10.1002/jha2.162](https://doi.org/10.1002/jha2.162).
37. Elia GM, Angel A, Regacini R, Nais RP, Santos ARAD, Vieira PPMG, Braga JAP. Acute chest syndrome and Covid-19 in sickle cell disease pediatric patients. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2021;43(1):104-108. doi: [10.1016/j.htct.2020.11.005](https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.11.005).
38. Hardy YO, Amenuke DAY, Abukari Y, Oti-Acheampong A, Hutton-Mensah K, Amoah-Dankwah J, Amoabeng Kontoh S, et al. Clinical presentations and outcomes of Covid-19 infection in sickle cell disease patients: Case series from Komfo Anokye teaching hospital, Ghana. *Clin Case Rep*. 2020;9(2):1018-1023. doi: [10.1002/ccr3.3719](https://doi.org/10.1002/ccr3.3719).
39. Martone GM, Nanjireddy PM, Craig RA, Prout AJ, Higman MA, Kelly KM, Ambrusko SJ. Acute hepatic encephalopathy and multiorgan failure in sickle cell disease and Covid-19. *Pediatr Blood Cancer*. 2021;68(5):e28874. doi: [10.1002/xbc.28874](https://doi.org/10.1002/xbc.28874).
40. Minniti CP, Zaidi AU, Nouraei M, Manwani D, Crouch GD, Crouch AS, Callaghan MU, et al. Clinical predictors of poor outcomes in patients with sickle cell disease and Covid-19 infection. *Blood Adv*. 2021;5(1):207-215. doi: [10.1182/bloodadvances.2020003456](https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003456).
41. Okar L, Aldeeb M, Yassin MA. The role of red blood cell exchange in sickle cell disease in patient with Covid-19 infection and pulmonary infiltrates. *Clin Case Rep*. 2020;9(1):337-44. doi: [10.1002/ccr3.3526](https://doi.org/10.1002/ccr3.3526).
42. Parodi E, Voi V, Vania B, et al. Simultaneous diagnosis of severe SARS-CoV-2 infection and sickle cell disease in two infants. *Blood Transfusion = Trasfusione del Sangue*. 2021;19(2):120-123. DOI: [10.2450/2021.0430-20](https://doi.org/10.2450/2021.0430-20).
43. Roussel A, Germanaud D, Bouchoucha Y, Ouldali N, Vedrenne-Cloquet M, Castelle M, Baruchel A. Cranial polyneuropathy as the first manifestation of a severe Covid-19 in a child. *Pediatr Blood Cancer*. 2021;68(3):e28707. doi: [10.1002/xbc.28707](https://doi.org/10.1002/xbc.28707).
44. Sahu KK, George L, Jones N, Mangla A. Covid-19 in patients with sickle cell disease: A single center experience from Ohio, United States. *J Med Virol*. 2021;93(5):2591-2594. doi: [10.1002/jmv.26816](https://doi.org/10.1002/jmv.26816).
45. Teulier M, Elabbadi A, Gerotziafas G, et al. Severe Covid-19 with acute respiratory distress syndrome (ARDS) in a sickle cell disease adult patient: case report. *BMC Pulm Med* 21,46 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12890-021-01412-x>.
46. Walker SC, Murphy ML, Hendricks H, Dulek DE, Volanakis EJ, Borinstein SC. Covid-19 pneumonia in a pediatric sickle cell patient requiring red blood cell exchange. *Clin Case Rep*. 2021;9(3):1367-1370. doi: [10.1002/ccr3.3774](https://doi.org/10.1002/ccr3.3774).
47. Okar L, Rezek M, Gameil A, Mulikandayhil Y, Yassin MA. Severe hemolysis and vaso-occlusive crisis due to Covid-19 infection in a sickle cell disease patient improved after red blood cell exchange. *Clin Case Rep*. 2021;9(4):2117-21. doi: [10.1002/ccr3.3960](https://doi.org/10.1002/ccr3.3960).
48. Gorbalenya AE, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862>.
49. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2020;26(4):450-452. doi: [10.1038/s41591-020-0820-9](https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9).
50. Duarte PM. Covid-19: Origem do novo coronavírus. *Braz J Healt Rev*. 2020;3(2):3585-3590. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n2-187>.
51. Liu YC, Kuo RL, Shih SR. Covid-19: The first documented coronavirus pandemic in history. *Biomed J*. 2020;43(4):328-333. doi: [10.1016/j.bj.2020.04.007](https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.04.007).
52. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(3):181-192. doi: [10.1038/s41579-018-0118-9](https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9).
53. Payne S. Family Coronaviridae. *Viruses*. 2017;149-158. doi: [10.1016/B978-0-12-803109-4.00017-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803109-4.00017-9).
54. Boopathi S, Poma AB, Kolandaivel P. Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment. *J Biomol Struct Dyn*. 2021;39(9):3409-3418. doi: [10.1080/07391102.2020.1758788](https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1758788).
55. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. Covid-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol*. 2020;215:108427. doi: [10.1016/j.clim.2020.108427](https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108427).
56. Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. Covid-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;53:66-70. doi: [10.1016/j.cytogfr.2020.05.002](https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.002).

57. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2017;376(16):1561-1573. doi: 10.1056/NEJMra1510865.
58. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, Smith WR, et al. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;15(4):18010. doi: 10.1038/nrdp.2018.10.
59. Stypulkowski JB, Manfredini V. Alterações hemostáticas em pacientes com doença falciforme. *Rev Bras Hemat Hemot*. 2010;32(1):56-62. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000001>.
60. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. Covid-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-1034. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.
61. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, Levantovsky R, et al. Sinai Immunology Review Project. Immunology of Covid-19: Current State of the Science. *Immunity*. 2020;16;52(6):910-941. doi: 10.1016/j.immuni.2020.05.002.
62. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (Covid-19): A Review. *JAMA*. 2020;324(8):782-793. doi:10.1001/jama.2020.12839.
63. Shah VK, Fimal P, Alam A, Ganguly D and Chattopadhyay S (2020) Overview of Immune Response During SARS-CoV-2 Infection: Lessons From the Past. *Front. Immunol*. 2020;11:1949. doi: 10.3389/fimmu.2020.01949.
64. Bordallo B, Bellas M, Cortez AF, Vieira M, Pinheiro M. Severe Covid-19: what have we learned with the immunopathogenesis? *Adv Rheumatol*. 2020;60(1):50. doi: 10.1186/s42358-020-00151-7.
65. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of Covid-19. *Front Immunol*. 2020;11:4-8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01441>
66. Sousa CP, Brites C. Immune response in SARS-CoV-2 infection: the role of interferon type I and type III. *Braz J Infect Dis*. 2020;24(5):428-433. doi: 10.1016/j.bjid.2020.07.011.
67. Brunetta DM, Clé DV, Haes TM, Roriz-Filho JS, Moriguti JC. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2010;43(3):231-7. doi: <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v43i3p231-237>.
68. Stussi G, Buser A, Holbro A: Red Blood Cells: Exchange, Transfuse, or Deplete. *Transfus Med Hemother* 2019;46:407-416. doi: 10.1159/000504144.

A qualidade em laboratório de análises clínicas para efetividade terapêutica: revisão de literatura

The quality in clinical laboratories for therapeutic effectiveness: literature review

Bianca Kirchner da Silva¹, Ana Laura Remédio Zeni Beretta²

¹ Célula de Análises Clínicas do Grupo de Saúde de Pirassununga (Academia da Força Aérea). Pirassununga, SP, Brasil.

² Doutorado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (2004). Campinas, SP, Brasil.

Resumo

A qualidade em laboratório de Análises Clínicas é prática adotada por laboratórios de saúde que visam a obtenção de resultados de exames confiáveis e seguros. O controle de qualidade laboratorial é um processo contínuo de melhoramento que passa a identificar as necessidades e as expectativas dos clientes. A importância do uso de controles de qualidade comerciais que atendam às determinações da RDC 302/2005, controles internos de qualidade usados na rotina laboratorial, que em conjunto com as amostras de pacientes avaliam se o sistema analítico apresenta resultados dentro dos intervalos preestabelecidos. Na ausência de controles comerciais, métodos alternativos de controle interno apresentam alto índice de confiabilidade; controles externos de qualidade para verificação do correto desempenho dos sistemas analíticos em que se faz o uso de ensaios de proficiência e comparações interlaboratoriais asseguram que o resultado seja verdadeiro, diminuindo os riscos e as não conformidades. O estudo tem como objetivo uma revisão bibliográfica em publicações e artigos científicos, mostrar a necessidade da qualidade em serviços de saúde que podem influenciar o diagnóstico e tratamento ao paciente. Oferecer atendimento competente utilizando recursos de gestão de qualidade em todas as fases do processo, satisfazendo as necessidades e expectativas dos clientes, justifica o interesse pelo estudo.

Palavras-chave: Qualidade da assistência à saúde; Resultado do tratamento; Técnicas de laboratório clínico

Abstract

The quality in clinical laboratory is practice adopted by health laboratories that aim the achievement of safe and trustworthy exams results. The laboratory quality control is a continuous procedure of improvement that begins to identify the client's necessities and expectations. The importance of using commercial quality controls that answer the measures of RDC 302/2005, internal quality controls used in the laboratory routine, that together with the patients' samples, evaluate if the analytical system shows results between the pre-established range; in the absence of commercial controls, alternative methods of internal control show high number of trustworthiness; external quality controls for verification of the correct performance of the analytical systems where proficiency testing are used and inter-laboratory comparisons assure that the result be true, reducing the risks and the no conformities. The present study aims at bibliographic review in scientific papers and publications, to show the necessity of the quality in health services, that can affect the diagnosis and the treatment to the patient. Offer appropriate service using quality management resources in all of the process stages, satisfying the clients' necessities and expectations justify the interest by the study.

Keywords: Quality of health care; Treatment outcome; Clinical laboratory techniques

Correspondência

Bianca Kirchner da Silva

E-mail: b.kirchnerdasilva@yahoo.com.br

Recebido em 08/07/2020 | Aprovado em 16/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202036

INTRODUÇÃO

A qualidade em laboratório de Análises Clínicas é prática adotada por laboratórios de saúde que visam a obtenção de resultados de exames confiáveis e seguros. Os laboratórios utilizam técnicas e atividades operacionais para atender aos requisitos de qualidade.

Dentre os indicadores de qualidade para avaliar o desempenho do sistema analítico, são utilizados controles de qualidade, interno e externo, padronizados conforme a gestão do laboratório.

Segundo Weber:⁽¹⁾ “Nos laboratórios clínicos os indicadores são utilizados nas três etapas de execução de um exame: etapa ou fase pré-analítica, que corresponde ao processo anterior ao exame propriamente dito (coleta, transporte e armazenamento da amostra biológica); fase analítica, que corresponde à etapa de realização do teste; e fase pós-analítica, em que ocorre a liberação do laudo pelo profissional no laboratório e a interpretação do resultado pelo médico para que ele possa dar o diagnóstico ao paciente”.

Para o controle externo de qualidade são usados ensaios de proficiência emitidos por provedores como PNCQ e CONTROLLAB, empresas com certificado de acreditação reconhecidas pelo Sistema Nacional de Acreditação (DICQ), patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC). Mediante os controles externos, são feitas comparações interlaboratoriais no intuito de assegurar que os resultados sejam verdadeiros, diminuindo os riscos e as não conformidades. Os controles internos de qualidade são usados na rotina laboratorial, que em conjunto com as amostras de pacientes avaliam se o sistema analítico apresenta resultados dentro dos intervalos preestabelecidos; na ausência de controles comerciais, métodos alternativos de controle interno apresentam alto índice de confiabilidade.

O presente estudo mostra a importância dos benefícios da implantação da qualidade em laboratórios de análises clínicas visto as constantes mudanças de técnicas e de procedimentos analíticos, inserção de novos testes no mercado e produção de equipamentos de medição de alta tecnologia. No campo profissional, observa-se a tendência à maior utilização de medicina diagnóstica no futuro. Vale ressaltar, também, as exigências de clientes por serviços e produtos de qualidade para segurança do paciente através de exames laboratoriais confiáveis, dentre outros.

MATERIAL E MÉTODO

Esse estudo será feito por meio de revisão bibliográfica em publicações e artigos científicos, nos sites SciELO, PubMed e LILACS e outras bibliotecas virtuais, além de revistas e livros com matéria ou capítulo envolvendo o assunto, utilizando as seguintes palavras-chave: qualidade em serviços de saúde, efetividade, segurança laboratorial.

DISCUSSÃO

A Resolução da Diretoria Colegiada, a RDC nº 302 de 13 de outubro de 2005,⁽²⁾ estabelece como processos operacionais na fase pré-analítica que o laboratório de análises clínicas deve disponibilizar ao paciente instruções e orientações quanto à coleta de amostras, e que esse preparo deve ser de forma clara, com linguagem acessível e de compreensão do paciente. São coletados os dados cadastrais do paciente, assim como nome do médico solicitante e exames solicitados. Na fase analítica o laboratório de análises clínicas deve monitorar a qualidade do sistema analítico por meio de controle interno e externo de qualidade, sendo importante definir o grau de pureza da água reagente utilizada nas suas análises, a forma de obtenção, o controle de qualidade.

Todas as informações de procedimentos, instruções de uso de aparelhos, registros, emissão de laudos, controle de qualidade devem ser mantidos no laboratório de análises clínicas. Na fase pós-analítica, as informações com dados do laboratório, identificação e assinatura do profissional que liberou o exame, data da coleta, data da emissão de laudo devem constar no documento e a cópia de laudo deve ser arquivada pelo prazo de cinco anos.

Segundo o Dr. Arbol Correa, em entrevista à Fucks em 2019,⁽³⁾ a qualidade não é obrigatória, mas a sobrevivência dessa empresa também não. Se não houver qualidade de produto e de serviço, uma empresa não irá sobreviver. O autor ainda define controle de qualidade para laboratórios clínicos, tais quais: a) promoção da satisfação do cliente; b) totalidade de características de uma entidade que lhe confere a capacidade de satisfazer as necessidades; e c) (apesar de não ser uma medida absoluta) um alvo em constante deslocamento, uma vez que as necessidades e expectativas dos clientes estão em frequentes mudanças.

Chaves⁽⁴⁾ acredita que o processo de qualidade, com sua melhoria contínua se dá, particularmente, diante das exigências dos clientes.

Desta forma, o sistema de gestão da qualidade pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), citado por Dias et al,⁽⁵⁾ nas últimas décadas, alcançou avanços de modernização de metodologias mais exatas e abrangentes, assim como a disponibilização de equipamentos modernos e sofisticados aos profissionais analistas que exercem uma atividade sanitária importante, proporcionando-lhes atualização contínua no exercício de sua profissão e com a qualidade necessária às exigências dos clientes e da coletividade.

Constatou-se ainda que a implantação do sistema de gestão da qualidade em laboratório clínico requer o comprometimento da direção quanto às mudanças necessárias para tal iniciativa, pois são necessários esforços constantes para incorporar, em toda a equipe e níveis hierárquicos, os conceitos da busca de melhoria contínua.⁽⁵⁾

São consideradas responsabilidades da gestão: o planejamento da qualidade (ações para desenvolver a qualidade), o controle de qualidade (avaliação dos métodos analíticos), a garantia da qualidade (garantia que os requisitos da qualidade serão atendidos), a manutenção da qualidade (supervisão e avaliação do sistema de qualidade) e a melhoria da qualidade (resolução contínua de problemas surgidos na produção).⁽¹⁾

Fortunato⁽⁶⁾ acredita que a qualidade constitui fator estratégico de competitividade. “O aumento da competição e do nível de exigência dos clientes em termos de qualidade de produtos e serviços fomenta uma ação das empresas no sentido de dar garantias de qualidade no presente e no futuro e de maneira a que a qualidade se transforme em vantagem competitiva. A qualidade deve ser real, para acrescentar valor aos produtos e serviços e ser perceptível pelos clientes”.

As normas adotadas pelo INMETRO são: a Certificação da Organização Internacional para a Padronização (ISO) 9001 aplicável em todo tipo de organização, a ISO 17025 específica para laboratórios de ensaio e calibração e a ISO 15189 para laboratórios clínicos.⁽¹⁾

Aos laboratórios de ensaio e calibração, Fortunato⁽⁶⁾ complementa: “A certificação das empresas se tornou rapidamente parte integral das iniciativas associadas à qualidade. Contudo, a qualidade deve ser vista como um processo contínuo de melhoria, em que a norma ISO 9000 pode representar uma base a partir da qual a organização poderá desenvolver o seu sistema, base esta necessária para outras iniciativas associadas

à qualidade, como é o caso da acreditação. Só aí o laboratório clínico comprova a sua competência técnica para a realização de ensaios, com o desenvolvimento de processos capazes de proporcionar serviços fiáveis, que procuram satisfazer ou exceder as expectativas dos clientes”.

Como apoiado por Lehmann *apud* Fortunato,⁽⁶⁾ o processo de acreditação dos laboratórios clínicos é uma necessidade particularmente importante para a componente laboratorial do sistema de saúde. O autor ainda cita Slagter e Loeber (2001) que dizem ser fundamental o reconhecimento de que a responsabilidade primária pela qualidade dos cuidados prestados se encontra com aqueles que oferecem os cuidados.

É de suma importância a emissão de laudos eficientes e corretos para os pacientes, com exames laboratoriais como instrumento para a monitoração de resultados da farmacoterapia, confirmação de diagnóstico, acompanhamento de tratamento pelo corpo clínico e outras classes profissionais.

Santos e Zanusso Jr.⁽⁷⁾ afirmam que uma análise laboratorial bem realizada contribui para a preservação ou restauração da saúde do paciente, agregando elevado valor à assistência médica e otimizando a qualidade do serviço prestado.

Braga et al.⁽⁸⁾ *apud* Wallach (2009) diz que a confiabilidade no resultado do exame realizado no laboratório clínico depende da execução e do monitoramento do controle e garantia da qualidade, evitando erros em todo o processo.

Segundo Plebani (2009) *apud* Shcolnik,⁽⁹⁾ informações laboratoriais erradas, ocasionadas por falhas no processo laboratorial e transmitidas aos médicos, podem afetar diretamente os resultados da assistência e a segurança do paciente.

É definido, internacionalmente, que 70% dos diagnósticos médicos dependem do laboratório clínico.⁽³⁾ A medicina diagnóstica demonstra sua importância, pois participa das decisões médicas, absorvendo uma pequena parte dos custos em saúde (cerca de 10%).⁽¹⁰⁾

A utilização de testes laboratoriais direcionados à prevenção de doenças será cada vez maior nos laboratórios, suportada pela medicina baseada em evidências e apoiada na pressão por redução dos custos em saúde.⁽⁹⁾

Fortunato⁽⁶⁾ considera os grandes custos resultantes da perda de credibilidade nesta área da saúde e por isso os laboratórios clínicos devem optar por meios em que impere a garantia do rigor técnico, assim como um minucioso controle no seu funcionamento, de maneira a alcançar o nível ótimo da qualidade, em que de acordo com Kelemen (2003) *apud* Fortunato⁽⁶⁾ o custo total da qualidade é mínimo.

CONCLUSÃO

Com o avanço da ciência médica e a tecnologia laboratorial na história da assistência à saúde, a rotina de um laboratório clínico aumentou diante das centenas de tipos de exames. Isso interfere, e muito, nas decisões clínicas, que são baseadas em informações contidas em exames laboratoriais.⁽⁹⁾

Os laboratórios clínicos que optam por meios que priorizam a garantia do rigor técnico, com a implantação de um Sistema de Gestão de Qualidade (SGQ) vão mais longe (76,2%), pois assumem melhorias no serviço prestado.⁽⁶⁾

Segundo Dias et al.⁽⁵⁾ há benefícios que a implantação do SGQ gera aos laboratórios clínicos. Os benefícios são a confiança dos 95% dos clínicos em laboratórios clínicos providos de um Sistema de Gestão de Qualidade (67%). Além dos profissionais, 86% dos usuários pensam ser importante tomar essa existência como relevante na escolha de um laboratório clínico.⁽⁶⁾

Baseados em dados e informações selecionadas e interpretadas, conclui-se que mesmo não sendo obrigatório, a RDC 302, de 2005, estabelece aos laboratórios clínicos um processo de qualidade, com uso de controle interno e controle externo de qualidade; que na ausência desses, o uso de controles alternativos de qualidade são meios confiáveis, eficientes. Sendo que há outros indicadores de qualidade que interferem no diagnóstico e tratamento do paciente, como atraso na emissão de laudos, contaminação de uroculturas, entre outros; quando se trata de saúde, os laboratórios clínicos que buscam a acreditação e padroniza a qualidade, com melhorias contínuas, atingem em aspectos econômicos resultados positivos, gerando aos usuários do sistema de saúde e às empresas conveniadas ou públicas os benefícios para a efetividade terapêutica.

REFERÊNCIAS

1. Weber C. Garantia da Qualidade no setor de bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas de um Hospital Público de Porto Alegre [dissertação] [Internet] Ministério da Saúde, Grupo Hospitalar Conceição, Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde – Escola GHC, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde – ICICT, Porto Alegre, 2012. [acesso em 2019 dez 05]. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/6721/1/Carolina%20Weber%5b1%5d.pdf>
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 302 de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo; 14 out 2005, 16p.
3. Fucks TMP, OFAC convida e Dr. Abol Correa: palestra com um visionário das Análises Clínicas, Controle de Qualidade em laboratório e os então chamados “jovens”. In: Revista NewsLab, São Paulo, Ano 26, Edição 153, 2019. p. 102-107.
4. Chaves CD. Controle de qualidade no laboratório de análises clínicas. Transinfo [Internet]. 2010 [acesso em 2019 jul 21]; 46: 1. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442010000500002
5. Dias VS, Barquette FRS, Bello AR. Padronização da qualidade: alinhando melhorias contínuas nos laboratórios de análises clínicas [dissertação] [Internet]. Faculdade de Ciências Médicas – Disciplina de Parasitologia – Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); 2017 [acesso em 2019 jul 23]. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/padronizacao-da-qualidade-alinhando-melhorias-continuasnos-laboratorios-de-analises-clinicas/>
6. Fortunato ARA. Gestão da Qualidade em Laboratórios Clínicos [mestrado] [Internet]. Instituto Politécnico de Viana do Castelo; 2011. [acesso em 2019 mar 09]. Disponível em: http://repositorio.ipv.pt/bitstream/20.500.11960/1316/1/Ana_Fortunato.pdf
7. Santos AP, Zanusso Jr G. Controle de Qualidade em Laboratórios Clínicos. Transinfo [Internet]. 2015 [acesso em 2019 jul 21]; 45:60-67. Disponível em: [file:///C:/Users/User/Downloads/1230-1-3518-1-10-20180105%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/1230-1-3518-1-10-20180105%20(1).pdf)
8. Braga M, Marcatto LR, Santos PCJL. Importância dos exames laboratoriais na atenção farmacêutica. In: Santos PCJL. Farmácia clínica & atenção farmacêutica: contexto atual, exames laboratoriais e acompanhamento farmacoterapêutico, Rio de Janeiro, Atheneu, 2018. p. 99-108.
9. Shcolnik W. Erros laboratoriais e segurança do paciente: revisão sistemática [Dissertação Mestrado]. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2012.
10. Campana GA, Oplustil CP, Faro LB. Tendências em medicina laboratorial. Transinfo [Internet]. 2011 [acesso em 2019 jul 30]; 47: 1. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442011000400003

Utilização de machine learning em laboratórios de análises clínicas

Machine Learning utilization in Clinical Laboratory

Albert Bacelar de Sousa¹

¹ Médico/ Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP); Coordenador UTI. Salvador, BA, Brasil.

Resumo

Nos últimos anos, as publicações de pesquisa relacionadas ao Machine Learning (ML) aumentaram significativamente na área de patologia e medicina laboratorial. No entanto, apesar dos recentes avanços tecnológicos e do crescente corpo de literatura, existem poucos exemplos de ML implementados na prática clínica de rotina. A pesquisa bibliográfica ocorreu no Medline em 12 de fevereiro de 2020. O foco foi nos artigos publicados desde 2018 (entre 1º de janeiro de 2018 e 31 de janeiro de 2020) para basear a análise em estudos recentes. Concluiu-se que à medida que as ferramentas proliferam, o papel da medicina laboratorial no desenvolvimento, validação e manutenção desses modelos permanece importante, porém pouco definida.

Palavras-chave: Técnicas de Laboratório Clínico; Análise de Dados; Ciência de Dados

Abstract

In recent years, research publications related to Machine Learning (ML) have increased significantly in the field of pathology and laboratory medicine. However, despite recent technological advances and the growing body of literature, there are few examples of ML implemented in routine clinical practice. The literature search took place on Medline on February 12, 2020. The focus was on articles published since 2018 (between January 1, 2018 and January 31, 2020) to base the analysis on recent studies. It was concluded that as the tools proliferate, the role of laboratory medicine in the development, validation and maintenance of these models remains important, however little defined.

Keywords: Artificial Intelligence; Machine Learning; Decision Support Techniques; Neural Networks, Computer

Correspondência

Albert Bacelar de Sousa

E-mail: albert@abacelar.com

Recebido em 16/08/2020

Aprovado em 16/03/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202202058

INTRODUÇÃO

À medida que a demanda por assistência médica de qualidade continua a ascender exponencialmente, o mesmo ocorre com o volume de testes de laboratório. Semelhante a outros setores, as pesquisas no campo da medicina laboratorial começaram a investigar o uso do *machine learning* (ML) para gerir com sucesso o aumento da demanda por serviços e melhorar a qualidade e a segurança.⁽¹⁾

Na última década, o desempenho do ML em tarefas estatísticas de *benchmark* melhorou significativamente devido ao aumento da disponibilidade da computação de alta velocidade em unidades de processamento gráfico, integração de redes neurais convolucionais, otimização do *deep learning* e conjuntos de dados cada vez maiores.⁽²⁾

O consenso atual é que o desempenho geral do ML supervisionado, ou seja, algoritmos que dependem de conjuntos de dados rotulados, atingiu um ponto de inflexão onde os laboratórios clínicos devem procurar aplicativos de missão crítica.⁽¹⁾

Nos últimos anos, as publicações de pesquisa relacionadas ao ML aumentaram significativamente em patologia e medicina laboratorial. No entanto, apesar dos recentes avanços tecnológicos e do crescente corpo de literatura, existem poucos exemplos de ML implementados na prática clínica de rotina. De fato, alguns dos exemplos mais proeminentes de ML na prática atual foram desenvolvidos antes da inflexão recente em publicações relacionadas a ML.⁽³⁾

À medida que a medicina laboratorial continua passando pela digitalização e automação, os laboratórios clínicos provavelmente serão confrontados com os desafios associados à avaliação, implementação e validação de algoritmos de ML, dentro e fora de seus laboratórios. Compreender para que serve o ML, onde pode ser aplicado e o estado da arte e as limitações do campo do ML será útil para a prática de profissionais de laboratório. Este artigo discute as implementações atuais da tecnologia ML nos fluxos de trabalho modernos dos laboratórios clínicos, bem como as possíveis barreiras para alinhar os dois campos historicamente distantes.

Como o ML continua a ser adotado e integrado à complexa infraestrutura de tecnologia de informação em saúde (TIS), a influência do ML na prática de medicina laboratorial permanece uma questão em aberto. Em particular, é importante considerar barreiras à implementação e identificar as partes interessadas para governança, desenvolvimento, validação e manutenção. No entanto, os laboratórios clínicos

devem considerar primeiro o contexto: a aplicação de ML está dentro ou a jusante de um laboratório?

MÉTODOS

O estudo seguiu os itens de relatórios preferenciais para revisões sistemáticas e metanálise (PRISMA).⁽⁴⁾

Identificação de estudos

A pesquisa ocorreu no Medline em 12 de fevereiro de 2020. Realizada uma pesquisa sensível na literatura usando as palavras “machine learning” AND “clinical laboratory” AND “laboratory analysis”. O foco foi nos artigos publicados desde 2018 (entre 1º de janeiro de 2018 e 31 de janeiro de 2020) para basear a análise em estudos recentes.

Seleção de estudos

Todos os resumos foram selecionados, independentemente, por dois revisores; os conflitos foram resolvidos por um terceiro revisor. O texto completo dos resumos selecionados foi avaliado independentemente quanto à elegibilidade por três revisores, e os conflitos foram resolvidos por consenso.

Critérios de inclusão e exclusão

Os estudos eram elegíveis se o artigo descrevesse o desenvolvimento de um modelo de previsão de diagnóstico ou prognóstico para previsão individualizada usando dois ou mais preditores, comparando modelos de previsão com base nos algoritmos de ML; dentro da data dos últimos dois anos (01/18 – 01/2020), ensaios clínicos (*clinical trial*); em inglês, disponível na íntegra e gratuitamente (*full free text*).

Os estudos foram excluídos quando estavam fora da data, entre janeiro de 2018 a janeiro de 2020; modelos desenvolvidos para não humanos, os modelos foram simulados em vez de utilizar participantes, modelos foram desenvolvidos com base em modalidades de dados de alta dimensão; o principal interesse foi avaliar se a modelagem de previsão (ML) está influenciando no setor médico – análises clínicas.

Extração de dados

Focamos em questões metodológicas do desenvolvimento de modelos e aspectos que abordem ML nos exames e diagnósticos laboratoriais. Os itens extraídos incluíram autor, data da publicação, características gerais do estudo, amostra, objetivo, características do modelo ML e resultados do desempenho do modelo.

Análise de dados

Utilizamos análise descritiva para resumir os resultados (Quadro 1). Em cada artigo, identificamos o método de ML. Identificamos várias comparações no mesmo artigo como resultado da implementação de vários algoritmos de

ML, desenvolvendo modelos para mais de um resultado, desenvolvendo modelos baseados em diferentes conjuntos de preditores (por exemplo, uma vez com e uma vez sem medições de laboratório) ou desenvolvendo modelos para vários subgrupos separadamente.

Quadro 1

Análise dos artigos

Autor	Data	Amostra	Objetivo	Modelo ML	Resultados
Bhosale et al. ⁽⁵⁾	2018	Controle 43 Amostra 43	Para avaliar a presença de biomarcadores de proteínas séricas associados às fases iniciais da formação de placas ateroscleróticas carotídeas, foram feitas análises proteômicas quantitativas sem rótulo para amostras de soro coletadas como parte do estudo de risco cardiovascular em jovens finlandeses.	Para identificar o painel de proteínas com o mais alto desempenho discriminativo, a regressão logística penalizada por Lasso, implementada no pacote R glmnet, foi aplicada aos dados proteômicos séricos. Primeiro, todos os candidatos a preditores foram identificados pela redução dos coeficientes de preditores não informativos para zero usando Lasso com validação cruzada de três vezes, repetindo o procedimento de randomização 200 vezes. Em cada dobra, foram consideradas apenas proteínas significativamente diferenciadas em abundância (ROTS; $P < 0,05$).	Com base nisso, um painel de três proteínas, FbIn1c, ApoE e CDH13, foi observado para fornecer a melhor discriminação entre os casos e controles. Com a inclusão de ApoE e CDH13, houve uma melhora estatisticamente significativa no AUROC (0,79, IC 95%: 0,69-0,88, $p = 0,03$). Somente o FbIn1c classificou os casos de controles com um valor de AUROC de 0,67 (IC 95%: 0,56-0,79).
Ko et al. ⁽⁶⁾	2018	1742	Aplicação de algoritmo de ML validado clinicamente para a detecção de doenças residuais com análise por citometria de fluxo multicolor na leucemia mieloide aguda e síndrome mielodisplásica.	Utilizaram duas técnicas de inteligência artificial (IA) para desenvolver um algoritmo de interpretação MFC para detecção de MRD usando uma coorte no mundo real de mais de 1000 pacientes com LBC e MDS com mais de 5000 dados de MFC em amostras de medula óssea.	A alta validade clínica do algoritmo foi demonstrada, através da previsão de resultados bem-sucedidos no cenário pós-indução.
Dobaño et al. ⁽⁷⁾	2019	195	Para avaliar os fatores que afetaram o Ig em cada antígeno, foram ajustados os primeiros modelos de regressão linear multivariáveis e univariáveis (coeficiente, intervalo de confiança de 95% [IC], valores de p).	Foram realizadas análises multimarcas por análise de componentes principais (PCA), matrizes de correlação e análise discriminante de mínimos quadrados parciais de aprendizado de máquina (PLS-DA) usando os pacotes R FactoMineR, Corplot e DiscriMiner, respectivamente.	O estudo forneceu evidências de um efeito positivo de RTS, S nas respostas de anticorpos a certos antígenos que estão associados à proteção. Como os modelos de regressão logística multivariáveis nos quais as IgGs para MSP1 B12, MSP5 e SSP2 (que são aumentados pela vacinação) foram associados à proteção foram ajustados pela vacinação RTS, S, existe um efeito protetor adicional desses anticorpos além da proteção oferecida pela vacina RTS, S.
Waljee et al. ⁽⁸⁾	2019	401	Identificar características dos pacientes com doença de Crohn na linha de base e na semana 8 da terapia com ustekinumab que predizem remissão a longo prazo na terapia com ustekinumab usando proteína C-reativa (PC-R) como biomarcador da atividade da doença; avaliar a vantagem incremental do uso desses preditores em comparação com o nível do medicamento isoladamente.	Usaram a Floresta aleatória (Random forest) que é um método de previsão de aprendizado de máquina que utiliza um conjunto de árvores de decisão para classificar as observações.	A média (DP) do AUROC para o modelo da semana 8 foi de 0,78 (0,042), e o AUROC no conjunto de testes representativo foi de 0,78 (IC 95%, 0,69-0,87). Os preditores mais importantes nesse modelo foram os níveis de PC-R nas semanas 3, 6 e 8 e a proporção sérica de ustekinumab/PC-R nas semanas 3 e 6. Além da PC-R, a variável laboratorial mais importante incluída neste modelo foi a albumina medida na semana 8. A sensibilidade para o modelo da semana 8, com 120 participantes no conjunto de testes, foi de 0,79 e a especificidade, de 0,67.

RESULTADOS

Nossa pesquisa identificou 9 artigos publicados entre 1/2018 e 8/2020; sete dos artigos foram publicados em 2018, dois em 2019 e não foram publicados artigos no ano de 2020.

Com base na leitura dos títulos, foram excluídos cinco artigos, por não terem como tema central dados laboratoriais, ou de resposta clínica laboratorial no ML (Figura 1).

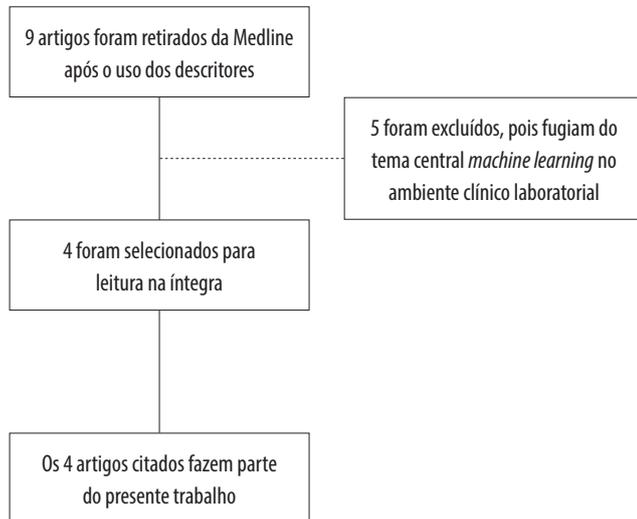


Figura 1

PRISMA flowchart (fluxograma)

DISCUSSÃO

Métodos robustos de ML, como convolução de imagem, redes neurais e aprendizagem profunda (*deep learning*), aceleraram o desempenho do ML baseada em imagem nos últimos anos. As imagens digitais, no entanto, não são tão abundantes em laboratórios clínicos quanto em outras especialidades de diagnóstico, como radiologia ou patologia anatômica, possivelmente limitando futuras aplicações do ML baseadas em imagens na medicina laboratorial.

Os próprios autores desenvolvem os vieses das pesquisas, como Waljee et al.⁽⁸⁾ que consideram o próprio teste imperfeito e assinalam que o contexto clínico deve ser considerado ao se tomar decisões sobre seu uso e interpretação.

Além do número limitado de aplicações comerciais, a pesquisa de ML em medicina laboratorial também tem

aumentado, embora o número total de publicações permaneça relativamente baixo. Nos últimos anos, os pesquisadores investigaram a utilidade do ML para uma ampla gama de conjuntos de dados, como a análise da morfologia dos eritrócitos, morfologia das colônias bacterianas, painéis da tireoide, perfis de esteroides na urina, citometria de fluxo e revisão dos relatórios de resultados dos testes para garantir a qualidade. No estudo de Bhosale et al.,⁽⁵⁾ o fenótipo foi encontrado para assinalar o grupo de risco, e utilizando análise de aprendizado de máquina, foi então identificado um painel de biomarcadores.

Por exemplo, o estudo de Ko et al.⁽⁶⁾ teve uma visão mais positiva e demonstrou que os algoritmos desenvolvidos via IA (inteligência artificial) poderiam realizar a tarefa de classificação em um tempo muito curto (apenas 7 segundos), com cerca de 90% de acurácia na detecção de doença residual em leucemia mieloide aguda e síndrome mielodisplásica. Além disso, os resultados da previsão de resultados no cenário pós-indução demonstraram alto significado prognóstico dos algoritmos de IA.

À medida que os prontuários eletrônicos de pacientes (PEPs) continuam evoluindo e acumulando mais dados, os fornecedores comerciais de PEP procuram expandir seus recursos analíticos e de acesso a dados, começando a oferecer modelos de ML projetados para uso em seus sistemas e, em alguns casos, permitindo o acesso a modelos de terceiros. Os fornecedores geralmente empacotam o *software* de ML no suporte à decisão clínica (CDS), um local cada vez mais popular para misturar ML e medicina clínica – como no caso do artigo de Dobaños et al.,⁽⁷⁾ que procurou ajuda no *machine learning* para medir os níveis de anticorpos por tecnologia quantitativa de conjuntos de suspensões e modelos de regressão aplicados, para analisar fatores que afetam seus níveis e correlatos de proteção.

CONCLUSÕES

Embora algumas instituições tenham integrado com sucesso sistemas de ML locais em seus fluxos de trabalho, poucas fizeram a transição para a prática clínica. Apesar do desenvolvimento de modelos com melhor desempenho, os pesquisadores, por várias razões, costumam encontrar dificuldades com a proverbial última milha da integração clínica. Em particular, a literatura oferece pouca ou nenhuma orientação sobre métricas de desempenho estatístico pelas quais avaliar modelos de ML, o *design* de experimentos de validação clínica

ou sobre como criar modelos de ML mais modulares que se integram às infraestruturas atuais de tecnologia da informação (TI) em medicina de laboratório e fluxos de trabalho.

Com toda a probabilidade, o motivo da lenta adoção de ML pelos laboratórios clínicos, tanto de fontes comerciais quanto de pesquisa, é multifatorial e, sem dúvida, emana de mais do que apenas as limitações intrínsecas da própria tecnologia principal. Semelhante a outras tecnologias que recebem muita atenção, como “big data” ou “blockchain”, o ML continua sendo uma ferramenta que requer uma arquitetura de sistema de suporte. Embora a tecnologia principal esteja demonstrando resultados promissores, é provável que sua prevalência na prática diária permaneça limitada até que desenvolvedores e engenheiros de *software* ofereçam sistemas clínicos de TI que permitam fácil integração com os fluxos de trabalho existentes.

Em seu estado atual, os algoritmos de ML geralmente dependem de dados estruturados para treinamento e subsequente geração de previsões. Embora uma parte significativa dos PEPs contenha dados não estruturados e semiestruturados, as informações de laboratório continuam sendo uma das maiores fontes de dados estruturados, e não é incomum que as ferramentas baseadas em ML confiem fortemente nos dados do laboratório como entrada. À medida que as

ferramentas proliferam, o papel da medicina laboratorial no desenvolvimento, validação e manutenção desses modelos permanece importante, porém pouco definido.

REFERÊNCIAS

1. Tafeit E, Reibnegger G. Artificial neural networks in laboratory medicine and medical outcome prediction. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, v. 37, n. 9, p.845-853, 1999.
2. Beam AL; Kohane IS. Big data and machine learning in health care. *JAMA*, v. 319, n. 13, p. 1317-1318, 2018.
3. Torii M, Waghlikar K, Liu H. Using machine learning for concept extraction on clinical documents from multiple data sources. *Journal of the American Medical Informatics Association*, v. 18, n. 5, p.580-587, 2011.
4. Moher D, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*, v. 4, n. 1, p.1, 2015.
5. Bhosale SD, et al. Serum proteomic profiling to identify biomarkers of premature carotid atherosclerosis. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p.1-9, 2018.
6. Ko BS, et al. Clinically validated machine learning algorithm for detecting residual diseases with multicolor flow cytometry analysis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *EBioMedicine*, v. 37, p.91-100, 2018.
7. Dobaño C, et al. RTS,S/AS01E immunization increases antibody responses to vaccine-unrelated *Plasmodium falciparum* antigens associated with protection against clinical malaria in African children: a case-control study. *BMC Medicine*, v. 17, n. 1, p.157, 2019.
8. Waljee AK, et al. Development and Validation of Machine Learning Models in Prediction of Remission in Patients with Moderate to Severe Crohn Disease. *JAMA network open*, v. 2, n. 5, p. e193721-e193721, 2019.

Relação neutrófilos/linfócitos como marcador precoce de toxicidade no tratamento de doenças onco-hematológicas

Neutrophils/lymphocytes ratio as early marker of toxicity in onco-hematologic disease treatment

Ana Carolina Dors¹, Laura Reckziegel¹, Vanderlei Biolchi¹, Geórgia Muccillo-Dexheimer¹

¹ Universidade do Vale do Taquari, Centro de Ciências da Vida. Lajeado, RS, Brasil.

Resumo

Justificativa e Objetivos: Levantamentos epidemiológicos apontam significativas taxas de doenças onco-hematológicas, sendo as populações idosas e masculinas as principais acometidas. Assim, eventos como o prognóstico e o aparecimento de efeitos adversos vêm sendo analisados com o intuito de elaborar novos mecanismos de monitoramento clínico. A pesquisa objetivou avaliar relações entre componentes sanguíneos com o prognóstico de pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas. **Métodos:** Analisou-se evoluções médicas de pacientes onco-hematológicos, submetidos a tratamento, no período de junho de 2016 a novembro de 2018. Os dados foram obtidos a partir da observação de hemogramas fornecidos pelo hospital pesquisado. Os valores das relações, tipo de malignidade sanguínea, tratamento, toxicidades e desfecho clínico, foram analisados estatisticamente e avaliados pela curva *Receiver Operating Characteristic* e pelo teste de Qui-quadrado. **Resultados:** Tratando-se do desfecho clínico, não se evidenciou diferença significativa das relações celulares sanguíneas vinculadas ao óbito, remissão da doença e doença ativa. Para as toxicidades, encontrou-se resultado significativo ($p=0,048$) para a relação neutrófilos/linfócitos, de pacientes sem efeitos tóxicos em comparação àqueles que apresentaram grau 4 de toxicidade. Estabeleceu-se um ponto de corte de 1,68, sendo que os pacientes com relação neutrófilos/linfócitos abaixo deste valor demonstraram risco de 9,7 vezes (2,3 - 41,7) de desenvolverem toxicidade grau 4 ($p=0,001$), de acordo com o teste de Qui-quadrado. **Conclusão:** A análise das relações avaliadas se apresenta como um teste barato, simples e seguro, além de apresentar significante custo-benefício, tanto para o acompanhamento do prognóstico dos pacientes quanto para a monitoração evolutiva da doença e do tratamento utilizado.

Palavras-chave: Sistema imunológico. Prognóstico. Hematologia.

Abstract

Background and Objectives: Epidemiological surveys using the rates of onco-hematological diseases, being as elderly and male sources as the main rush. Thus, events such as prognosis and the appearance of adversity are being destroyed with the intention of becoming new avenues of clinical monitoring. The study aimed at the relations between the blood systems and the prognosis of patients diagnosed with onco-hematological diseases. **Methods:** The medical evolution of the onco-hematological patients submitted to a treatment from June 2016 to November 2018 was analyzed. Data were obtained from the observation of blood counts provided by the researched hospital. The values of the relations, type of blood malignancy, treatment, toxicities and consumption were statistically consistent and were evaluated by the Receiver Operating Characteristic and the Chi-square test. **Results:** In the clinical outcome, they are not evidenced, they depend on the cellular affections related to the death, remission of the disease and the active disease. As toxicities, a significant effect ($p = 0.048$) was found for neutrophils/lymphocytes ratio from patients with toxic effects over those with grade 4 toxicity. A cut-off point of 1.68 was established, and patients with neutrophils/lymphocytes below this value demonstrated a 9.7-fold (2.3- 41.7) risk of developing grade 4 toxicity ($p = 0.001$) according to the Chi-square test. **Conclusion:** The analysis of the previous information is presented as an inexpensive, simple and safe test, besides presenting cost-benefit benefits, both for monitoring the prognosis of the patients and for an evolutionary evaluation of the disease and the treatment used.

Keywords: Immune system. Prognosis. Hematology.

Correspondência

Ana Carolina Dors

E-mail: ana.dors@universo.univates.br

Recebido em 11/02/2022 | Aprovado em 06/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200021

INTRODUÇÃO

As malignidades hematológicas são decorrentes de alterações moleculares que afetam a medula óssea e levam à falta de diferenciação e maturação celular ao longo dos processos hematopoiéticos.⁽¹⁾ No Brasil, de acordo com dados epidemiológicos, do ano de 2018, do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), se estima que anualmente a incidência de leucemias afete cerca de 5.940 homens (5,75 a cada 100 mil homens) e 4.860 mulheres (4,56 a cada 100 mil mulheres). Os linfomas de Hodgkin afetam 1.480 homens (1,43 a cada 100 mil homens) e 1.050 mulheres (0,96 a cada 100 mulheres), ao passo que os linfomas não Hodgkin acometem 5.370 homens (5,19 a cada 100 mil homens) e 4.810 mulheres (4,55 a cada 100 mil mulheres), sendo que as leucemias, linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin são as oncopatologias sanguíneas mais incidentes no Brasil.⁽²⁾

Segundo a Organização Mundial da Saúde,⁽³⁾ dentre as alterações mieloides, pode-se citar as seguintes neoplasias: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC) e síndrome mielodisplásica (SMD), ao passo que as modificações celulares dos componentes da linhagem linfoide podem se dividir em leucemia linfoide aguda (LLA), leucemia linfoide crônica (LLC), linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não Hodgkin (LNH). Além destas doenças onco-hematológicas, há o mieloma múltiplo (MM), que se caracteriza por ser uma neoplasia maligna dos plasmócitos.

O manejo terapêutico empregado para estas neoplasias visa sobretudo interferir no ciclo de divisão celular dos tecidos cancerosos evitando a expansão tumoral, sendo as sessões quimioterápicas as principais terapias com esta finalidade.⁽⁴⁾ Porém, o uso de substâncias químicas e de outros compostos, que suprimem o sistema imunológico, está diretamente associado ao aparecimento de efeitos adversos, sendo a toxicidade hematológica um deles.⁽⁵⁾ Para a avaliação da toxicidade, utilizam-se critérios estabelecidos pelo CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 4.03),⁽⁶⁾ o qual avalia a gravidade das manifestações clínicas provocadas por estes efeitos colaterais baseando-se em cinco graus, em uma escala de 1 a 5, sendo que quanto mais próximo de 5, maior será o risco de morte. Portanto, grau 1 (leve) faz relação a sintomas brandos ou assintomáticos, onde não há necessidade de intervenção médica. Grau 2 (moderado) pode sugerir intervenção clínica. Para o grau 3 (grave), indica-se hospitalização e maior monitoramento. No grau 4 (risco de morte), necessita-se de rápida intervenção e o grau 5 refere-se à morte.

Os marcadores de progressão tumoral, assim como as reações inflamatórias desencadeadas pelo sistema imunológico, auxiliam na avaliação do prognóstico de portadores de câncer. Dentre estes, estudos sugerem que a relação entre componentes sanguíneos, por exemplo, a relação entre linfócitos e monócitos, tem atuado diretamente como indicador da ação neoplásica e da qualidade de vida dos pacientes.^(7,8)

Indivíduos portadores destas malignidades comumente possuem prognósticos ruins ou pouco esperançosos devido, por exemplo, à neutropenia e demais alterações nos componentes sanguíneos.⁽⁹⁻¹²⁾ Porém, avanços nas terapias químicas, hematológicas e no manejo clínico têm proporcionado melhores condições de vida para a maioria destes indivíduos e redução das taxas de mortalidade nos últimos 20 anos.^(13,14) Portanto, torna-se importante a investigação de marcadores que possam indicar e facilitar a determinação do prognóstico do paciente, auxiliando assim no controle e manejo durante o processo terapêutico. A presente pesquisa objetivou avaliar as relações entre os componentes sanguíneos com o prognóstico de pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa caracteriza-se como quantitativa em relação ao modo de abordagem, explicativa quanto ao objetivo e utilizou como procedimento técnico a análise documental, sendo que a obtenção dos dados ocorreu de forma retrospectiva. Foram analisadas evoluções médicas de pacientes com doenças onco-hematológicas, em tratamento, do Hospital Bruno Born de Lajeado/RS, no período de junho de 2016 a novembro de 2018.

Os critérios para exclusão de participantes foram: abandono do tratamento ou transferência para outros hospitais e diagnóstico de doenças subjacentes ou quimioterapia prévia em menos de 3 meses. Os dados contidos nos hemogramas dos pacientes, referentes à contagem dos elementos figurados do sangue, foram repassados para uma planilha elaborada utilizando-se o *software Microsoft Office Excel* versão 2013 (15.0.4420.1017). Analisaram-se as relações neutrófilos/linfócitos (RNL), plaquetas/linfócitos (RPL) e linfócitos/monócitos (RLM) antes e após a exposição ao tratamento de cada paciente. O ponto de corte para as relações foi definido de acordo com os valores da população estudada e analisado com base na curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC). A sobrevida se baseou na data inicial do diagnóstico e no

desfecho do tratamento dos pacientes (remissão da doença, doença ativa ou óbito).

Além disso, a análise levou em consideração características dos pacientes e das doenças, como tipo de malignidade sanguínea, tratamento, desfecho clínico e toxicidades agudas classificadas em graus de acordo com o CTCAE.⁽⁹⁾ Realizou-se um *follow-up* de 12 meses para avaliação de toxicidades e resposta ao tratamento. A análise estatística foi realizada empregando-se o *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, IBM) versão 20.0, em que se aplicaram testes estatísticos adequados conforme a distribuição encontrada. O nível de significância adotado foi de 5%, sendo considerados significativos valores de $p \leq 0,05$.

ÉTICA

Este projeto está vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade do Vale do Taquari – Univates, intitulado “Utilização de padrões epigenéticos e imunológicos como marcadores de toxicidade e de progressão no tratamento de doenças onco-hematológicas”. Os dados foram obtidos a partir da observação de hemogramas disponibilizados pelo sistema Tasy do Hospital Bruno Born de Lajeado-RS. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) sob parecer número 1.619.803 e pelo Centro de Ensino e Pesquisa (CENEPE) do hospital.

RESULTADOS

Ao decorrer do estudo, foram avaliados 97 pacientes, portadores de doenças onco-hematológicas, como linfoma de Hodgkin (9) e linfoma não-Hodgkin (33), leucemia linfóide crônica (11), leucemia linfóide aguda (5), leucemia mieloide aguda (4) síndrome mielodisplásica (5), síndrome mieloproliferativa (19) e mieloma múltiplo (11). Estes foram analisados antes de serem submetidos ao tratamento quimioterápico, assim os valores obtidos fazem referência ao período de diagnóstico. Os pacientes também foram acompanhados ao longo do tratamento quimioterápico, durante o qual se observou a presença ou não de eventos tóxicos, os quais foram classificados dentre os graus 1 a 5 conforme as recomendações do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, acessado no CTCAE.⁽⁹⁾ Foram excluídos do estudo os indivíduos que apresentavam doenças subjacentes, história de quimioterapia prévia em menos de 3 meses e aqueles que foram transferidos ou que abandonaram o tratamento.

Primeiramente realizou-se o teste de normalidade Kolgomov-Smirnov para analisar a distribuição amostral, sendo elas consideradas não paramétricas. Desta forma, os dados são apresentados como mediana e percentil 25-75. Após foram realizadas comparações para as relações entre as células sanguíneas, obtidas através do hemograma dos pacientes antes do início do tratamento. Avaliaram-se as relações plaquetas/linfócitos, linfócitos/monócitos e neutrófilos/linfócitos, e estas foram comparadas com a presença de eventos tóxicos associados ao tratamento quimioterápico. Nesta comparação, foi encontrada diferença significativa na relação neutrófilo/linfócito prévio ao tratamento no grupo sem efeitos tóxicos em relação ao grupo com efeitos e grau 4 (Gráfico 1).

A partir da diferença significativa entre o grupo de pacientes sem efeitos adversos e os pacientes com grau 4 de toxicidade, foi realizada a Curva de ROC para a obtenção de um ponto de corte da relação neutrófilo/linfócito (Gráfico 2). O valor de corte obtido foi de 1,68.

Além disso, para a análise de risco de desenvolvimento de toxicidade foi realizado o teste de Qui-quadrado, em que se pode evidenciar que pacientes com relação neutrófilos/linfócitos abaixo de 1,68 apresentaram risco de 9,7 vezes (2,3 – 41,7) de desenvolvimento de toxicidade grau 4 ($p=0,001$) (Tabela 1).

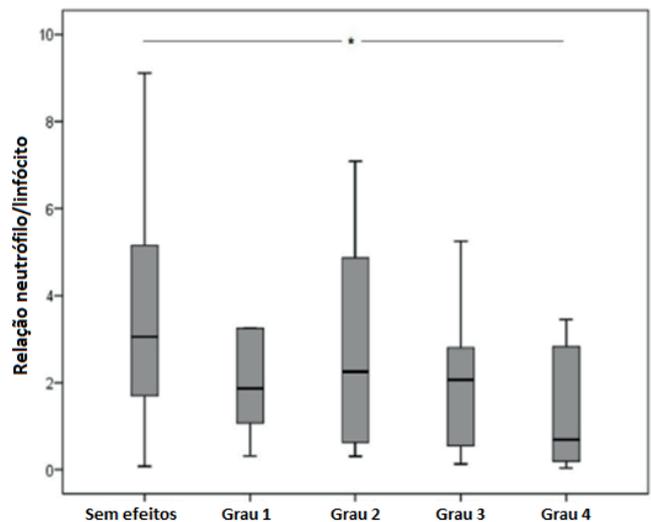
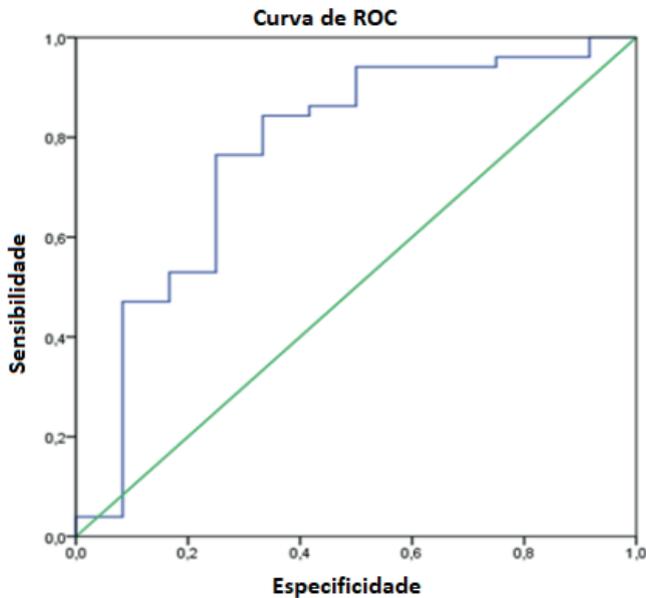


Gráfico 1

Relação de neutrófilos/linfócitos obtidos no hemograma prévio ao tratamento com as toxicidades durante o tratamento quimioterápico Kolgomov-Smirnov não paramétrico. Teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de correlações múltiplas de Dunn. *Diferença estatisticamente significativa ($p=0,048$) na comparação do grupo sem efeito tóxico com o grupo de toxicidade grau 4.

**Gráfico 2**

Ponto de corte da relação neutrófilos/linfócitos para o desenvolvimento de toxicidade grau 4. Curva Receiver Operating Characteristic (ROC).

Tabela 1

Grupos sem efeitos tóxicos e toxicidades grau 4 em relação ao ponto de corte da relação neutrófilos/linfócitos (RNL).

	Toxicidades		
	Sem efeitos	Grau 4	Total
RNL ≤ 1,68	12 (57,1%)	9 (42,9%)	21 (100%)
RNL ≥ 1,68	39 (92,9%)	3 (7,1%)	42 (100%)
	51 (81,0%)	12 (19%)	63 (100%)

Legenda: Teste de Qui-quadrado.

Dentre as malignidades hematológicas avaliadas, não se observou um comportamento padrão de uma determinada doença apresentar RNL abaixo de 1,68 e toxicidade grau 4. Para aquelas que obtiveram RNL acima de 1,68 e toxicidade grau 4, não se presenciou um comportamento único, que pudesse excluí-las do estudo. Ao analisar as doenças onco-hematológicas de forma isolada, a leucemia mieloide aguda (LMA), linfoma não Hodgkin (LNH), mieloma múltiplo (MM), leucemia linfóide aguda (LLA), linfoma de Hodgkin (LH) e leucemia linfóide crônica (LLC) de fato ficaram de acordo com os achados da pesquisa, apresentando RNL abaixo de 1,68 e toxicidade grau 4. Porém, para síndrome mieloproliferativa

(SMP) e síndrome mielodisplásica (SMD) não foi observada tal associação diretamente, visto que não havia registros de toxicidades grau 4 para estas patologias. Vale salientar que os pacientes avaliados foram acompanhados durante o período de 1 ano, sendo que alguns desfechos ainda eram de resposta mínima ou parcial, permanecendo em tratamento. Neste aspecto, os eventos tóxicos devem continuar sendo avaliados durante todo o tratamento.

Para a análise do desfecho, foram avaliados os pacientes após o período de *follow-up* de 1 ano. As relações celulares foram comparadas com os desfechos: óbito, doença ativa ou remissão. Não foram encontradas diferenças significativas.

Os valores das relações neutrófilos/linfócitos, plaquetas/linfócitos e linfócitos/monócitos durante a terapia e o tipo de tratamento utilizado também foram avaliados, porém não foram utilizados devido à variedade de fármacos administrados aos pacientes analisados, pois isto influenciaria na contagem dos componentes sanguíneos e na avaliação estatística.

DISCUSSÃO

O processo inflamatório e os elementos figurados do sangue, como neutrófilos, monócitos, linfócitos e plaquetas, assim como as relações neutrófilos/linfócitos (RNL), plaquetas/linfócitos (RPL) e linfócitos/monócitos (RLM) vêm se mostrando relacionados aos eventos cancerígenos e ao desfecho clínico, sendo que valores elevados entre estes componentes, eventualmente, têm indicado prognósticos desfavoráveis aos pacientes.⁽¹⁹⁻²¹⁾

De acordo com os resultados apresentados para as doenças onco-hematológicas, encontrou-se RNL significativa ($p=0,048$) de pacientes sem efeitos tóxicos em relação àqueles que apresentaram grau 4 de toxicidade (risco de morte), conforme critérios de classificação estabelecidos pelo CTCAE.⁽⁶⁾ Através da curva Receiver Operating Characteristic (ROC), se estabeleceu um ponto de corte de 1,68, sendo que os pacientes com RNL abaixo deste valor demonstraram risco de 9,7 vezes (2,3 – 41,7) de desenvolverem toxicidade grau 4 ($p=0,001$). Quanto ao quadro clínico, não se evidenciou diferença significativa da RNL vinculada ao óbito, remissão da doença e doença ativa. As demais relações analisadas, RPL e RLM, não apresentaram valores significativos ($p\leq 0,05$) correspondentes ao desfecho clínico e à toxicidade.

A introdução da RNL como indicador de valor prognóstico tem sido retratada em estudos recentes, principalmente associando-a às malignidades sólidas.⁽¹⁵⁾ Segundo apontamentos

de Bojaxhiu et al.,⁽¹⁶⁾ houve associação com o valor prognóstico da relação RNL e da RPL em 186 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, submetidos à quimiorradioterapia primária ou adjuvante, no período de 2007 até 2010. Neste caso, a RNL se mostrou um indicador para a mortalidade, mas não se vinculou com a toxicidade. A RPL não demonstrou associação com o desfecho e com a toxicidade. Valores aumentados da RNL, antes do tratamento quimioterápico, também demonstraram associação com um desfecho negativo em pacientes com câncer de pulmão metastático e recorrente de células não pequenas e foram descritas como um biomarcador de prognóstico rápido, acessível e útil nos estudos de Rapport et al.,⁽¹⁷⁾ o qual observou 56 portadores adequados e submetidos ao tratamento com o fármaco nivolumabe.

Para Cassidy et al.,⁽¹⁸⁾ que analisaram indivíduos com melanoma em estágio III ou IV irressecável, tratados com ipilimumab (197 pacientes) e com inibidores BRAF (65 pacientes), de 2006 até 2011, a RNL, calculada no período pré-tratamento e até 9 semanas após o início da terapia medicamentosa, não demonstrou associação com o desfecho clínico dos indivíduos tratados com inibidores da BRAF. Porém, em pacientes com estágio avançado e tratados com ipilimumab, a RNL aumentada associou-se com pior sobrevida global, sobrevida livre de progressão e resposta clínica ao tratamento, favorecendo o desenvolvimento da doença e morte. Assim, estes concluíram que uma RNL elevada contribui para a redução do benefício clínico, sendo que a RNL antes do tratamento pode auxiliar na escolha da terapia, conforme as características clínicas do paciente. Por outro lado, a RNL durante a terapia pode favorecer o monitoramento da doença e a avaliação da ação terapêutica.

As demais relações analisadas no presente estudo, plaquetas/linfócitos (RPL) e linfócitos/monócitos (RLM), não apresentaram valores significativos ($p \leq 0,05$) correspondentes ao desfecho e à toxicidade. Em Suzuki et al.,⁽¹⁹⁾ observaram-se 17 pacientes com angiossarcoma de face e de couro cabeludo, tratados com radioterapia, e 56 controles considerados normais, entre o período de 2000 até 2016. A RPL não demonstrou significância estatística, porém se demonstrou como um fator importante para a sobrevida livre de metástase em determinadas situações, como em pacientes com tumores pequenos (<10 cm).

A utilidade da RPL no prognóstico também foi demonstrada em Park et al.,⁽²⁰⁾ que estudaram 63 indivíduos com câncer metastático de células renais, em tratamento, entre 2007 e 2013, e apontaram que uma alta RPL contribuiu com

uma menor sobrevida global e sobrevida livre de progressão da doença. Em Jakubowska et al.,⁽²¹⁾ a RLM pós-operatória, analisada em 160 pacientes portadores de câncer colorretal submetidos ao processo cirúrgico e 42 controles suscetíveis, se demonstrou como um fator prognóstico independente em pacientes diagnosticados com a doença.

Valores significativos associando as relações analisadas com ocorrência, aumento ou diminuição de eventos adversos/toxicidades não foram encontrados. O mesmo foi descrito por Khoja et al.,⁽²²⁾ que analisaram a RNL, RPL e relação eosinófilos/linfócitos (REL), antes, durante e após o tratamento com ipilimumab, em pacientes com melanoma cutâneo, entre 2008 e 2015. Isto pode ser explicado devido a circunstâncias como abandono do tratamento, transferência dos pacientes para outros hospitais, óbito e falta de padronização na classificação e descrição das toxicidades.

Devido aos crescentes índices relatados de doenças onco-hematológicas, é de valia clínica que novos biomarcadores e métodos de monitoramento terapêutico, desfecho e toxicidade dos pacientes sejam difundidos e aplicados nas rotinas analíticas dos exames. Dados referentes às contagens das células sanguíneas são facilmente acessíveis, visto que eles se encontram disponíveis em hemogramas completos realizados ao longo do período de diagnóstico, tratamento e pós-tratamento. Assim, a análise das relações citadas no estudo se apresenta como um teste barato, simples e seguro, além de apresentar significativo custo-benefício, tanto para o acompanhamento do prognóstico dos pacientes quanto para a monitoração evolutiva da doença e do tratamento utilizado. Porém necessita-se que mais estudos semelhantes a este sejam realizados, com número amostral maior, para que se possa avaliar o comportamento da RNL especificamente para cada doença onco-hematológica.

AGRADECIMENTOS

A todos os mestres e colaboradores que contribuíram com a presente pesquisa. À Universidade do Vale do Taquari – Univates e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Univates, que sempre proporcionaram um excelente ensino e o desenvolvimento de projetos de pesquisa de alta qualidade, além de contribuírem para a disseminação de conhecimentos tecnológicos e científicos vinculados à área da saúde e biotecnológica. Enfim, à minha mãe Deonez pelo apoio incondicional e por nunca ter medido esforços em prol da minha educação e ensino.

REFERÊNCIAS

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May;127(20):2391-405.
- Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil [periódicos na internet]. [acesso em 03 Sep 2018]. Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2019/10/estimativa-incidencia-de-cancer-no-brasil-2018.pdf>
- Organização Mundial da Saúde (OMS). CID-O Classificação Internacional de Doenças para Oncologia. 3. ed. [periódicos na internet]. USP 2020 [acesso 08 Dez 2022]. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42344/9241545348_por.pdf?sequence=5&isAllowed=y
- Sun Y, Liu Y, Ma X, Hu H. The Influence of Cell Cycle Regulation on Chemotherapy. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul;22(13):6923.
- Muss HB, Berry DA, Cirincione C, Budman DR, Henderson IC, Citron ML, et al. Toxicity of older and younger patients treated with adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: the Cancer and Leukemia Group B Experience. *J Clin Oncol*. 2007 Aug;25(24):3699-3704.
- NCI, National Institute of Health – US Department of Health and Human Services. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0. Published 2017 v5.0: 2017 [periódicos na internet]. [acesso 08 Dez]. Disponível em: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_8.5x11.pdf
- Stefaniuk P, Szymczyk A, Podhorecka M. The Neutrophil to Lymphocyte and Lymphocyte to Monocyte Ratios as New Prognostic Factors in Hematological Malignancies – A Narrative Review. *Cancer Manag Res*. 2020 Apr;12:6719–6726.
- Wang S, Ma Y, Sun L, Shi Y, Jiang S, Yu K, Zhou S. Prognostic Significance of Pretreatment Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Platelet/Lymphocyte Ratio in Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Biomed Res Int*. 2018 Dez;2018:01-08.
- Ida N, Nakamura K, Saijo M, Kusumoto T, Masuyama H. Prognostic nutritional index as a predictor of survival in patients with recurrent cervical cancer. *Mol Clin Oncol*. 2018 Feb;8(2):257-263.
- Lopes M, Carvalho B, Vaz R, Linhares P. Influence of neutrophil-lymphocyte ratio in prognosis of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*. 2018 Jan;136(1):173-180.
- Rawson JL, Fagan FM, Burrough GC, Tang HM, Cuncannon MA, Ellen KL, et al. Intensive care unit outcomes in patients with hematological malignancy. *Blood Sci*. 2020 Jan;16;2(1):33-37.
- Park SH, Park CJ, Park BG, Bae MH, Kim BH, Cho YU. Prognostic Impact of Lymphocyte Subpopulations in Peripheral Blood after Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Hematologic Malignancies, et al. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018 Mar;94(2):210-280.
- Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Horie T, Kubota K. Inflammation-based prognostic score is a novel predictor of postoperative outcome in patients with colorectal cancer. *Ann Surg*. 2007 Dec;246(6):1047-1051.
- Pu CY, Batarse H, Zafron ML, Mador MJ, Yendamuri S, Ray AD, et al. Effects of Preoperative Breathing Exercise on Postoperative Outcomes for Patients With Lung Cancer Undergoing Curative Intent Lung Resection: A Meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil* 2021 Dez;102(12):2416-2427.
- Chowdhary M, Switchenko JM, Press RH, Jhaveri J, Buchwald ZS, Blumenfeld PA, et al. Post-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts for overall survival in brain metastases treated with stereotactic radiosurgery. *J Neurooncol*. 2018 Sep;139(3):689-697.
- Bojaxhiu B, Templeton AJ, Elicin O, Shelan M, Zaugg K, Walsler M, et al. Relation of baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio to survival and toxicity in head and neck cancer patients treated with (chemo-) radiation. *Radiat Oncol*. 2018 Nov;13(216):2-9.
- Rapport BL, Theron AJ, Vorobiof DA, Langenhoven L, Hall JM, Eeden RIV, et al. Prognostic significance of the neutrophil/lymphocyte ratio in patients undergoing treatment with nivolumab for recurrent non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer Manag*. 2020 Set;9(3):LMT37.
- Cassidy MR, Wolchok RE, Zheng J, Panageas KS, Wolchok JD, Coit D, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio is Associated With Outcome During Ipilimumab Treatment. *EBioMedicine*. 2017 Apr;18:56-61.
- Suzuki G, Yamazaki H, Aibe N, Masui K, Sasaki N, Shimizu D, et al. Clinical Usefulness of the Platelet-to Lymphocyte Ratio in Patients with Angiosarcoma of the Face and Scalp. *Int J Mol Sci*. 2017 Nov;18(11):2402.
- Park TJ, Cho YH, Chung HS, Hwang EC, Jung SH, Hwang JE, et al. Prognostic significance of platelet-lymphocyte ratio in patients receiving first-line tyrosine kinase inhibitors for metastatic renal cell cancer. *Springerplus*. 2016 Oct;5(1):1889.
- Jakubowska K, Koda M, Grudzińska M, Kańczuga-Koda L, Famulski W. Monocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2020 Aug;21(31): 4639-4655.
- Khoja L, Atenafu EG, Templeton A, Qye Y, Chappell MA, Saibil S, et al. The full blood count as a biomarker of outcome and toxicity in ipilimumab-treated cutaneous metastatic melanoma. *Cancer Med*. 2016 Oct;5(10):2792-2799.

Marcadores renais como prognóstico para Covid-19

Renal markers as a prognosis for Covid-19

Camila Cristina Sauder da Silveira¹, Matias Nunes Frizzo¹, Vitor Antunes de Oliveira¹

¹ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí, Biomedicina. Ijuí, RS, Brasil.

Resumo

Introdução: A Covid-19 é responsável pela maior crise na saúde pública dos últimos tempos. As características clínicas da infecção variam expressivamente e são classificadas desde casos assintomáticos a casos críticos. Embora os principais danos da doença estejam acometendo os alvéolos, também há o acometimento de outros órgãos, como os rins, podendo progredir para lesão renal, sendo esta uma grave complicação da Covid-19. **Objetivo:** Avaliar os resultados dos marcadores renais de pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva diagnosticados com Covid-19. **Materiais e métodos:** Esta pesquisa foi conduzida após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, com Parecer nº 5.073.813, e analisou 104 prontuários. A partir da análise dos resultados dos marcadores renais, como idade, sexo e desfecho clínico, os indivíduos foram divididos em dois grupos distintos, nomeados como alta (n=82) e óbito (n=22), a fim de compará-los. **Discussão:** No grupo óbito houve significativo aumento dos marcadores renais e diminuição de 65,3% da taxa de filtração glomerular. Esta relação foi observada, pois pacientes que evoluíram a óbito tiveram uma piora destes marcadores conforme progressão da Covid-19. **Conclusão:** Constatou-se que indivíduos internados no hospital com Covid-19 que apresentam níveis elevados de creatinina e ureia e diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) têm maior propensão ao óbito. E que o agravamento destes parâmetros renais estão diretamente relacionados com a piora da doença e, conseqüentemente, a mau prognóstico.

Palavras-chave: Coronavírus; biomarcadores; rim; diagnóstico.

Abstract

Introduction: Covid-19 is responsible for the biggest public health crisis in recent times. The clinical characteristics of the infection vary significantly and are classified from asymptomatic to critical cases. Although the main damage caused by the disease is affecting the alveoli, other organs are also affected, including the kidneys, which can progress to kidney lesion, which is a serious complication of Covid-19. **Objective:** To evaluate the results of renal markers in patients admitted to the Intensive Care Unit diagnosed with Covid-19. **Materials and methods:** This research was conducted after approval by Research Ethics Committee of the Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, with sight nº 5.073.813 and analyzed 104 medical records. From the analysis of the results of renal markers, as well as age, sex and clinical outcome, the individuals were divided into two distinct groups, named discharge (n=82) and death (n=22), in order to compare them. **Discussion:** In the death group there was a significant increase in renal markers and of 65.3% decrease in the glomerular filtration rate, this relationship was observed, because patients who died had a worsening of these markers as Covid-19 progressed. **Conclusion:** It was found that individuals admitted to the hospital with Covid-19 who present high levels of creatinine and urea and reduced glomerular filtration rate (GFR) are more likely to die. And that the worsening of these renal parameters are directly related to the worsening of the disease and, consequently, to a poor prognosis.

Keywords: Coronaviruses; biomarkers; kidney; diagnosis.

Correspondência

Vitor Antunes de Oliveira

E-mail: vitor.antunes@unijui.edu.br

Recebido em 25/04/2022 | Aprovado em 10/08/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200041

INTRODUÇÃO

A Covid-19 é a responsável pela maior crise na saúde pública dos últimos tempos. A nova patologia é uma infecção respiratória aguda potencialmente grave, com elevada transmissibilidade e distribuição global. Seu agente causador é um betacoronavírus, pertencente à família *Coronaviridae*, e é denominado SARS-CoV-2 pela Organização Mundial da Saúde. Sua descoberta ocorreu a partir de amostras de lavado broncoalveolar obtidas de pacientes com pneumonia por causa desconhecida na cidade de Wuhan, China, no final de 2019.⁽¹⁾ As características clínicas da infecção variam expressivamente e são classificadas desde casos assintomáticos a casos críticos, sendo estes últimos associados à alta mortalidade. Os casos mais críticos estão frequentemente associados à síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), caracterizada pela obstrução alveolar e diminuição do aporte de oxigênio, o que pode provocar choque séptico, e síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO). Em vista disso, pacientes internados normalmente são submetidos a ventilação mecânica e oxigenação por membrana extracorpórea (ECMO).⁽²⁾

O coronavírus tem acometido milhares de pessoas em todo o mundo, e a busca pelo tratamento correto e sua cura tem sido incansável por parte da comunidade científica. Sabe-se que o vírus atua não somente afetando o sistema respiratório, tratando-se de uma doença sistêmica. Em pesquisas publicadas recentemente observa-se uma íntima relação do agravo de lesões renais em pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2. Acredita-se que o mecanismo envolvido neste processo refere-se à alta expressão de receptores da ECA-2 (enzima conversora de angiotensina 2) nas células renais, fato que favorece a infecção deste tipo de vírus.^(3,4)

Em infecções virais são comuns alterações nos parâmetros laboratoriais dos pacientes infectados. Na Covid-19 ocorrem variações nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, marcadores de infecção, coagulação e eletrólitos, os quais variam e se intensificam conforme a progressão da doença. Embora estas alterações não sejam efetivas para estabelecer o diagnóstico, a identificação de parâmetros associados a casos graves é crucial para monitorar seu desenvolvimento e auxiliar nas intervenções necessárias.⁽⁵⁾

Os casos mais agravantes do Covid-19 em pacientes têm sido correlacionados ao tratamento precoce e à utilização incorreta de medicamentos sem evidências de comprovação científica. Muitos medicamentos utilizados incorretamente e sem prescrição médica, em uma rotina diária de consumo, podem acarretar reações colaterais indesejáveis, agressão aos

órgãos, ocasionando limitação de uso e impedindo a reação de resultados esperados.^(6,7)

Embora os principais danos da doença sejam observados nos alvéolos, também há o acometimento de outros órgãos, incluindo os rins e algumas vezes causando lesão renal grave.⁽⁸⁾ Estas lesões são caracterizadas por um declínio da taxa de filtração glomerular durante um período, perdurando de horas a dias, resultando caracteristicamente no aumento da concentração de creatinina.⁽⁹⁾ As alterações nos parâmetros laboratoriais decorrem quanto à gravidade da infecção em cada indivíduo e podem divergir dependendo da população afetada.⁽¹⁰⁾

O acompanhamento destes marcadores renais tem como principal norteador a avaliação da função renal, auxiliando no diagnóstico e tratamento correto dos pacientes. Desta forma, o objetivo do presente trabalho é avaliar e evidenciar o quanto as alterações laboratoriais destes marcadores têm se associado a casos de maior gravidade da Covid-19 e a importância do acompanhamento frequente destes marcadores durante o período de internação.

METODOLOGIA

A presente pesquisa se enquadra em um estudo epidemiológico observacional, descritivo, analítico, transversal e retrospectivo com o objetivo de reunir e analisar dados a partir do levantamento de informações quantitativas e qualitativas acerca dos resultados de exames laboratoriais em pacientes internados com Covid-19. Estes dados foram coletados de prontuário de pacientes internados no Hospital Bom Pastor de Ijuí, localizado no noroeste do estado do Rio Grande do Sul, no período entre março de 2020 e agosto de 2021. Esta pesquisa foi conduzida após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, com parecer de nº 5.073.813, seguindo os padrões éticos definidos pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

A pesquisa dispensa o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), pois a coleta de dados é somente dos prontuários dos pacientes, sem entrevista e contato direto. Foram utilizados 104 prontuários, sendo 40 mulheres e 64 homens com idade média de 54,9 anos, os quais ingressaram no Hospital Bom Pastor na ala da Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Destes, 75 apresentavam resultados de marcadores renais no desfecho final.

Foram incluídos neste estudo pacientes com Covid-19 internados na UTI, e não incluídos pacientes ambulatoriais, internados no leito clínico e aqueles que não realizaram dosagens

de marcadores renais. As variáveis de interesse para este estudo foram sexo, idade, marcadores renais (níveis de creatinina, ureia e taxa de filtração glomerular – TFG), do primeiro e último dia da internação, sendo que estes indivíduos foram divididos em dois grupos conforme o desfecho final da evolução da doença (alta ou óbito), a fim de se realizar uma comparação entre eles.

A análise estatística e os gráficos foram projetados a partir do software Prism GraphPad 7.0. Também foi realizada a análise estatística descritiva, com média e desvio padrão, bem como teste t de Student para comparação das médias. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram analisados os resultados dos marcadores renais no primeiro e no último dia de internação na UTI dos indivíduos incluídos neste estudo, que foram divididos em dois grupos conforme o desfecho: alta ou óbito. Dos 104 pacientes, 61,53% (n=64) eram do sexo masculino e 38,47% (n=40) do sexo feminino, com idade média entre 54,1 anos para os homens e 56,2 anos para as mulheres. Oitenta e dois pacientes tiveram alta (78,85%) e 22 (21,15%) foram a óbito, sendo que, destes, 12 eram homens (54,54%) e 10 eram mulheres (45,46%).

Como observado na Figura 1A, os pacientes que evoluíram para óbito, quando ingressaram no hospital, possuíam níveis de creatinina significativamente mais elevados quando comparados com os pacientes que tiveram alta. Além disso, os pacientes do grupo óbito apresentaram valores de creatinina 3,5 vezes maior que os que tiveram alta, conforme ilustrado na Figura 2A.

Os níveis de creatinina acima do valor de referência podem estar relacionados à obstrução do trato urinário, diminuição do fluxo sanguíneo renal e desidratação. Quando abaixo do valor de referência, são correlacionados a estados de debilidade física e redução da massa muscular.^(11,12)

A creatinina é utilizada para a avaliação do funcionamento renal, sendo que sua excreção é feita pelos rins constantemente, por meio da filtração glomerular e excreção tubular ativa. Dentre os marcadores renais mais utilizados na clínica laboratorial a creatinina sérica é muito específica e confiável. Os valores de creatinina sérica, quando aumentados, geralmente indicam falha na função renal, sendo que o nível deste marcador geralmente é proporcional à condição e estado da doença.⁽¹³⁾ No presente estudo, pode-se observar esta relação, uma vez que pacientes que evoluíram a óbito tiveram uma piora deste marcador conforme progressão da Covid-19.

De acordo com Kirsztajn,⁽¹⁴⁾ conforme existir o declínio da função renal, a concentração sérica dos analitos produzidos no corpo em uma taxa constante e removido exclusivamente pela filtração glomerular irá aumentar como uma função recíproca, conseqüentemente, os marcadores séricos são estimados pela medida de TFG.

Outro resultado observado foi a alteração nos níveis de ureia, conforme Figura 1B, os quais apresentaram-se elevados no grupo que viria a óbito, no momento da internação. Percebe-se também que há um aumento de aproximadamente duas vezes nos níveis desse marcador durante o percurso da doença nos pacientes que evoluíram a óbito, reforçando a hipótese de mau prognóstico (Figura 2B e Tabela 1).

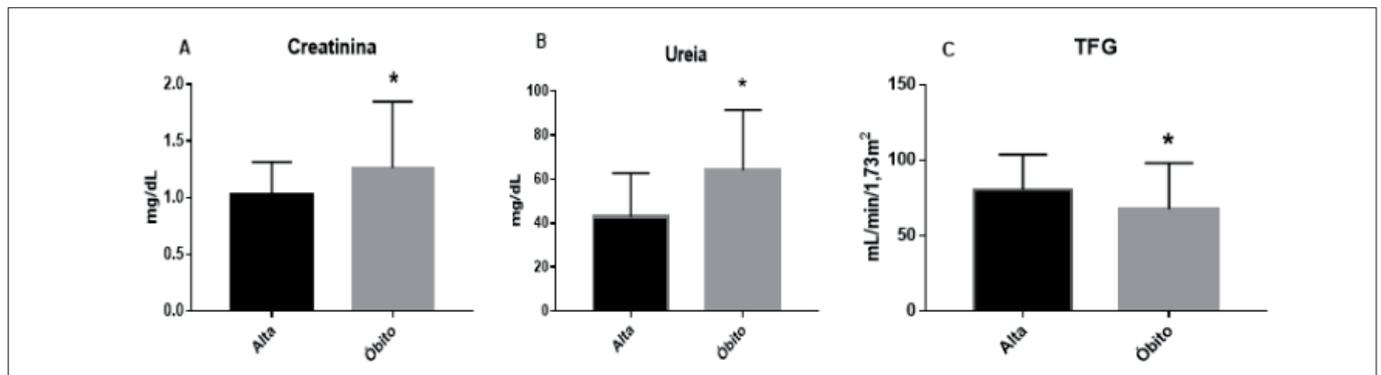


Figura 1

Valores de creatinina (A), ureia (B) e taxa de filtração glomerular – TFG (C) de pacientes com Covid-19 na admissão hospitalar. Esses pacientes foram divididos, conforme a evolução do seu quadro, em alta e óbito e comparados através do teste não paramétrico Mann-Whitney. Em todos os parâmetros analisados foi observada diferença estatística significativa entre o grupo que evoluiu para alta e o grupo que evoluiu a óbito ($p > 0,05$).

(*) indicam a diferença entre os grupos.

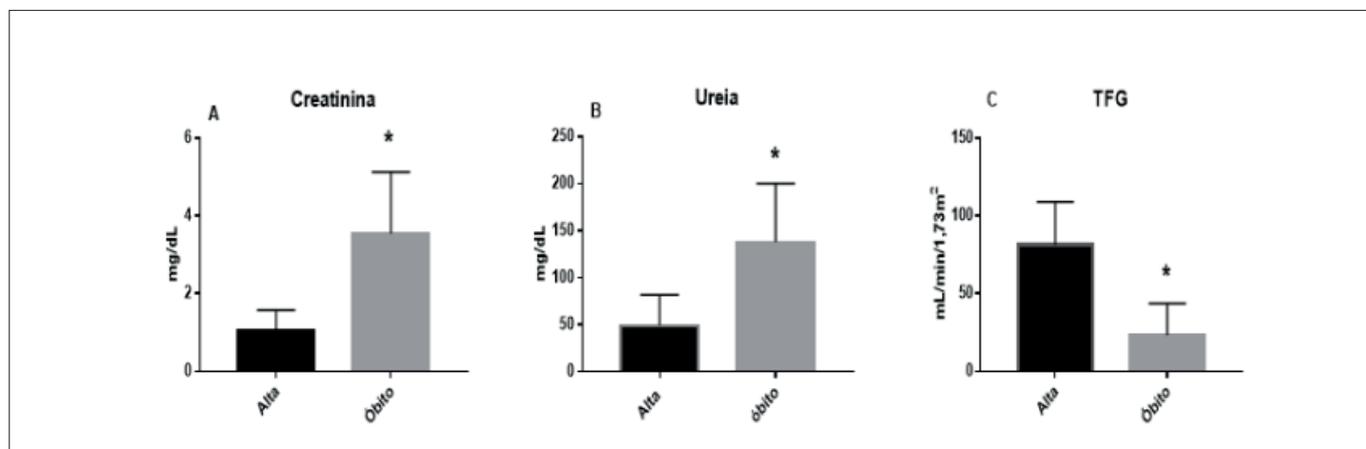


Figura 2

Valores de creatinina (A), ureia (B) e taxa de filtração glomerular – TFG (C) de pacientes com COVID-19 no desfecho final da doença. Esses pacientes foram divididos, conforme a evolução do seu quadro, em alta e óbito e comparados através do teste não paramétrico Mann-Whitney. Em todos os parâmetros analisados foi observado diferença estatística significativa entre o grupo que evoluiu para alta e o grupo que evoluiu a óbito ($p > 0,05$).

Tabela 1

Níveis de creatinina e ureia no percurso da Covid-19

	Admissão		Desfecho final	
	Alta	Óbito	Alta	Óbito
Creatina	1,02±0,03	1,26±0,12	1,06±0,07	3,53±0,40
Ureia	42,77±2,20	63,95±5,88	49,07±4,30	137,80±15,13

Legenda: Níveis de creatinina e ureia em mg/dL de paciente com Covid-19 na admissão hospitalar e no desfecho final da doença. Valores estão apresentados em média ± desvio padrão. Os resultados não foram comparados estatisticamente e estão apresentados para fins de observação da evolução destes marcadores ao longo da doença.

A ureia é uma substância produzida pelo fígado, resultante da metabolização das proteínas ingeridas na alimentação e da degradação proteica endógena. Após esse processo metabólico, a ureia circulante é filtrada pelos rins e 90% são excretados na urina, o restante é eliminado pelo trato gastrointestinal e pela pele. Desta forma, o aumento sérico de ureia pode estar associado a dano renal.^(15,16)

Apesar de existir a livre filtração pelo glomérulo, a ureia tende a ser um fraco preditor da taxa de filtração glomerular, pois cerca de 40% a 70% retornam para o plasma através da difusão passiva, que é dependente do fluxo urinário. Tal fato ocorre pois este metabólito não é reabsorvido nem secretado ativamente, no entanto a estase urinária leva a um maior retorno de ureia ainda nos túbulos renais e a uma subestimação da TFG através do cálculo pelo clearance de creatinina.^(17,18)

No presente estudo os pacientes que evoluíram a óbito apresentaram aumento na concentração plasmática de ureia conforme progressão da Covid-19, em decorrência da queda da taxa de filtração glomerular.

Conforme Azinheira et al.,⁽¹⁹⁾ o comprometimento da função biológica da enzima conversora de angiotensina 2 pode levar à redução do fluxo sanguíneo renal e da TFG, alterando a capacidade dos rins de eliminar substâncias (metabólitos) que, em excesso, são tóxicas para o organismo. Além disso, há um aumento da vasoconstrição, sobrecarregando e comprometendo a função renal.⁽¹⁹⁾

Como observado na Figura 1C, os pacientes do grupo óbito apresentavam taxa de filtração glomerular significativamente mais baixa na admissão quando comparada com a dos pacientes do grupo alta. Além disso, os pacientes do grupo óbito tiveram, em média, uma queda duas vezes maior

de suas TFG. Nesse sentido, no presente estudo observam-se TFG inferiores, em média, a 65,3% no grupo óbito, fato este que pode ser observado comparando as Figuras 1C e 2C. A TFG é a medida da depuração de uma substância que é filtrada livremente pelos glomérulos e não sofre reabsorção e secreção tubular, por isso é comumente utilizada como medida de avaliação e funcionamento da função renal, sendo um marcador de extrema importância para detecção, avaliação e tratamento de doenças renais.⁽²⁰⁾

Os dados do presente estudo evidenciam o declínio da função renal dos pacientes do grupo óbito, os quais apresentam níveis de TFG abaixo de 50mL/min/1,73m² conforme Figura 2C. Isso decorre pelo fato do SARS-CoV-2 alcançar os rins pela via hematogênica, causando danos às células renais por meio de sua ligação à ECA-2, que é expressa na borda das células tubulares proximais e, em menor grau, nos podócitos.^(21,22)

Conforme o estudo de Kunutsor e Laukkanen,⁽²³⁾ as principais alterações relatadas em pacientes internados com Covid-19 são nos marcadores renais, justificando a avaliação destes marcadores no monitoramento e prognóstico dos pacientes internados com Covid-19.

Os rins são extremamente importantes para a homeostase do organismo, possuindo funções fundamentais: eliminação de toxinas do sangue por seu sistema de filtração; regulação da produção sanguínea e dos ossos; regulação da pressão sanguínea; manutenção do equilíbrio ácido base e de líquidos do corpo.^(11,24)

A reabsorção tubular da ureia está ligada ao estado volêmico do paciente e na maioria dos laboratórios o valor normal de ureia varia de 20-40mg/dL. Já a creatinina deriva principalmente da creatina muscular e a produção ligada proporcionalmente à massa muscular, sendo que o valor de referência reportado pelos laboratórios é de 0,6mg/dL a 1,3mg/dL. A taxa de filtração glomerular (TFG) é a medida da depuração de uma substância que é filtrada livremente pelos glomérulos e não sofre reabsorção e secreção tubular, por isso é comumente utilizada como medida de avaliação e funcionamento da função renal onde o valor de referência utilizado pelos laboratórios é maior ou igual a 60mL/min/1,73m².⁽²⁰⁾

Nesta pesquisa os marcadores renais ganham protagonismo por possibilitarem um efetivo diagnóstico da disfunção renal no momento da internação permitindo, desta forma, intervenções terapêuticas e melhora na qualidade de vida dos indivíduos acometidos pela Covid-19 antes da evolução da doença renal.

CONCLUSÃO

Após análise dos dados dos 104 pacientes, constatou-se que indivíduos internados no hospital com Covid-19, com níveis elevados de creatinina e de ureia e diminuição da TFG, têm maior propensão ao óbito. Percebe-se, também, que o agravamento destes parâmetros renais estão diretamente relacionados com a piora da doença e, conseqüentemente, a um mau prognóstico.

REFERÊNCIAS

1. O que é a COVID-19? Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/o-que-e-o-coronavirus>. Acesso em: 23 abr. 2021.
2. Taneri PE, Gómez-Ochoa SA, Llanaj E, Raguindin PF, Rojas LZ, Roa-Díaz ZM, et al. Anemia and iron metabolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*. 2020 Aug;35(8):763-73.
3. Farshidpour M, Kim D, Junna S, Merchant J. A brief review of liver injury in patients with Corona Virus Disease-19 during the pandemic. *Indian Journal of Gastroenterology*. 2020 Jun;39(3):232-5.
4. Moitinho MS, Belasco AG da S, Barbosa DA, Fonseca CD da. Acute Kidney Injury by SARS-CoV-2 virus in patients with COVID-19: an integrative review. *Revista Brasileira de Enfermagem*. 2020;73
5. Moutchia J, Pokharel P, Kerri A, McGaw K, Uchai S, Nji M, et al. Clinical laboratory parameters associated with severe or critical novel coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. Simonin A, editor. *PLOS ONE*. 2020 Oct;15(10):e0239802.
6. Melo JRR, Duarte EC, Moraes MV de, Fleck K, Silva AS do N e, Arrais PSD. Reações adversas a medicamentos em pacientes com COVID-19 no Brasil: análise das notificações espontâneas do sistema de farmacovigilância brasileiro. *Cadernos de Saúde Pública*. 2021;37(1).
7. Bertolami MC. Mecanismos de hepatotoxicidade. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2005 Oct;85.
8. Poloni, JA. Insuficiência renal aguda em pacientes com COVID-19. *A Tempestade do Coronavírus*, 52(2),160-7.
9. Brito TNS, Oliveira ARS, Silva AKC. Taxa de filtração glomerular estimada em adultos: características e limitações das equações utilizadas. *RBAC* 2016; 48(1): 7-12.
10. Oliveira Junior RB; Lourenço PM. Alterações laboratoriais e a COVID-19. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2020;52(2).
11. Compreendendo os rins. Sociedade Brasileira de Nefrologia. [Internet]. Available from: <https://www.sbn.org.br/o-que-e-nefrologia/compreendendo-os-rins/>.
12. Oliveira JB, Mendes AEQ, Faria ALG, Mendonça LVP, Pinto EMH, Segati KD. Comparação entre creatinina e cistatina c para avaliação de função renal. *CIPEEX*. 2018;2:1221-2.
13. Dalton R. Creatinina sérica e taxa de filtração glomerular: percepção e realidade Serum creatinine and glomerular filtration rate: perception and reality. *J Bras Patol Med Lab*. 2011. 47.
14. Kirsztajn GM. Avaliação de Função Renal. *J Bras Nefrol* [Internet]. 2009 Mar;31(1 suppl. 1):14-20.
15. Ramos G, Marini DC. Exames bioquímicos relacionados a alterações renais. *FOCO: caderno de estudos e pesquisas* [Internet]. 2015 Oct;(6).
16. Dusse LMS, Rios DRA, Sousa LPN, Moraes RMM e S, Domingueti CP, Gomes KB. Biomarkers of renal function: what is currently available? *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2017;49(1).

17. Sodré FL, Costa JCB, Lima JCC. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2007 Oct;43(5).
18. Porto JR, Gomes KB, Fernandes AP, Domingueti CP. Evaluation of Renal Function in Chronic Kidney Disease. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2017;49(1).
19. Azinheira NCN, Gonçalves OLC, Tedesco SJH, Osmar MPJ, Casarini DE. Angiotensin-Converting Enzyme 2 in the Pathogenesis of Renal Abnormalities Observed in COVID-19 Patients. *Frontiers in Physiology*. 2021 Aug;12.
20. Abensur H. Biomarcadores na Nefrologia Editor. Sociedade Brasileira de Nefrologia. 2011. Disponível em: <https://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>
21. Carvalho IM. Avaliação da Função Renal. *petdocs.ufc.br*. Disponível em: http://petdocs.ufc.br/index_artigo_id_422_desc_Nefrologia_pagina__subtopico_31_busca_
22. Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney International*. 2020 May; 97(5):829-838.
23. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Medicine*. 2020 Jul; 52(7):345-53.
24. Lewis JL. Regulação ácido-base. *Manuais MSD edição para profissionais*. Manuais MSD; 2020. ível em: <https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/distúrbios-endócrinos-e-metabólicos/regulação-e-distúrbios-ácido-base>

Prevalência de critérios não clássicos citológicos sugestivos de HPV na presença de vaginose bacteriana

Prevalence of non-classic cytological criteria suggestive of HPV in the presence of bacterial vaginosis

Ednéia Peres Machado¹, Andrea Timóteo dos Santos Dec², Sarah Galvão de Souza³, Gabriela Livai Fagundes³, Alana Betina Schram³

¹ Universidade Estadual de Ponta Grossa – PR – Professora assistente. Ponta Grossa, PR, Brasil.

² Doutora em Medicina – Universidade Estadual de Ponta Grossa. Professora Adjunta. Ponta Grossa, PR, Brasil.

³ Graduanda em Farmácia – Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, PR, Brasil.

Resumo

Objetivo: Identificar alterações reativas celulares na citologia pelo Papanicolaou predominantes na vaginose bacteriana. **Métodos:** Foram coletados raspados cervicovaginais para pesquisa citológica e secreção de fundo de saco vaginal para pesquisa da microbiota vaginal pelo Gram. A vaginose bacteriana foi selecionada pelos critérios de Nugent (padrão ouro) e reavaliadas pelo Papanicolaou. Foram incluídas no estudo amostras satisfatórias pelo Papanicolaou. A associação entre a presença/ausência das lesões e os critérios Nugent e de Bethesda para vaginose foi realizada pelo qui-quadrado e a associação entre Nugent e Bethesda pelo Kappa, com significância para $p < 0,05$. **Resultados:** 149 amostras, todas positivas para *Gardnerella / Mobiluncus / Bacteroides* pelo Gram. A vaginose classificada pelo Nugent com escore 0 a 3, 2 (1,34%); 4 a 6, 26 (17,44%) e 7 a 10, 121 (81,20%) e por Bethesda, 60 (40,26%). As alterações reativas celulares encontradas no Papanicolaou foram binucleação em 52 (34,89%), edema nuclear em 78 (52,34%), parakeratose em 28 (18,79%), e ASC-US em 3 (2,01%). O valor de $kappa = 0,035$ e $p = 0,542$. O qui-quadrado apresentou valores próximos a $p = 0,05$ para binucleação/critérios de Nugent ($p = 0,059$) e edema nuclear/Bethesda para vaginose ($p = 0,052$). A vaginose tem sido considerada cofator de risco para câncer cervical. As alterações reativas celulares observadas são critérios não clássicos ou secundários para diagnóstico citológico sugestivos de HPV. **Conclusão:** Importante reavaliar a informação das lesões não-clássicas nos laudos de citopatologia assim como o tratamento de vaginose assintomática.

Palavras-chave: Microbiota; Vaginose Bacteriana; Teste de Papanicolaou

Abstract

Objective: To identify reactive cell alterations in Pap smear cytology or prevalent in bacterial vaginosis. **Methods:** Cervicovaginal scrapes were collected for cytological research and secretion of the vaginal sac fundus for research of the vaginal microbiota by the Gram. Bacterial vaginosis was selected using the Nugent criteria (gold standard) and reevaluated by the Papanicolaou. Thus, satisfactory Papanicolaou samples were included in the study. The association between the presence / absence of lesions and the Nugent and Bethesda criteria for vaginosis was performed using the chi-square and the association between Nugent and Bethesda by Kappa, with significance for $p < 0.05$. **Results:** 149 samples all positive for *Gardnerella / Mobiluncus / Bacteroids* by Gram. Vaginosis classified by Nugent with a score of 0 to 3, 2 (1.34%); 4 to 6, 26 (17.44%) and 7 to 10, 121 (81.20%) and Bethesda 60 (40.26%). The reactive cellular changes found in the Papanicolaou were binucleation in 52 (34.89%), nuclear edema in 78 (52.34%), parakeratosis in 28 (18.79%), and ASC-US in 3 (2.01%). $kappa$ value = 0.035 and $p = 0.542$. Chi-square showed values close to $p = 0.05$ for binucleation / Nugent criteria ($p = 0.059$) and nuclear edema / Bethesda for vaginosis ($p = 0.052$). Vaginosis has been considered a risk factor for cervical cancer. The reactive cellular changes observed are non-classic or secondary criteria for cytological diagnosis suggestive of HPV. **Conclusion:** It is important to reassess the information on non-classic lesions in cytopathology reports as well as the treatment of asymptomatic vaginosis.

Keywords: Microbiota; Vaginosis Bacterial; Papanicolaou Test

Correspondência

Ednéia Peres Machado

E-mail: edpmach@gmail.com

Recebido em 24/04/2020 | Aprovado em 08/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202201984

INTRODUÇÃO

A vaginose bacteriana (VB) é a infecção vaginal de maior prevalência em mulheres em idade reprodutiva e sexualmente ativas. Caracteriza-se por uma síndrome resultante de supercrescimento da microbiota anaeróbia obrigatória ou facultativa vaginal, como *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Prevotella sp.*, *Porphyromonas spp.*, *Bacteroides sp.*, *Peptostreptococcus spp.* e *Atopobium vaginalis*, com ausência ou diminuição de *Lactobacillus* que tem função de proteção deste ambiente.⁽¹⁾

A *Gardnerella vaginalis*, isolada com maior frequência na VB, é um cocobacilo Gram-variável, anaeróbio facultativo, que habita a mucosa vaginal e eventualmente pode ocasionar infecções no trato genitourinário, sorologicamente distinto, em virtude da ausência de células inflamatórias.⁽²⁾

A *Gardnerella vaginalis* é Gram-variável devido a uma fina camada de peptidoglicano, constituindo cerca de 20% do peso molecular da parede celular, semelhante aos 23% encontrados em *Escherichia coli* e com percentual muito menor que o observado em estafilococos, estreptococos e lactobacilos. A *Gardnerella vaginalis* não contém em sua parede celular compostos normalmente encontrados nas bactérias Gram-negativas, como ácidos micólicos e galactanas.⁽³⁾

Cerca de 50% das mulheres podem ser portadoras assintomáticas, por isso o isolamento de *Gardnerella vaginalis* não indica, necessariamente, VB. Entretanto, a ausência desta bactéria quase sempre caracteriza ausência de VB.⁽⁴⁾

A VB aumenta o pH vaginal (acima de 4,5), causando corrimento abundante acinzentado e fétido (peixe em decomposição) oriundo da produção de aminopeptidases com formação das aminas putrecina, cadaverina e trimetilamina, que rapidamente se volatilizam, e por serem citotóxicas ocasionam a esfoliação das células epiteliais e o corrimento vaginal.⁽⁵⁾

O diagnóstico laboratorial de escolha para pesquisa de VB é a bacterioscopia pelo Gram, método padronizado por Nugent,⁽⁶⁾ que classificou as bactérias em morfotipos por um sistema de escore, atribuindo um valor quantitativo por campo de microscópio a *Lactobacillus*, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus spp.*

No entanto, a VB e outras alterações relacionadas às infecções do aparelho genital feminino podem ser determinadas pela citologia cervicovaginal corada pelo Papanicolaou, observando-se os próprios agentes e/ou as alterações inflamatórias decorrentes da ação dos mesmos. Neste caso,

o diagnóstico de VB, realizado pelos critérios de Bethesda, é dado pela evidência de base nebulosa de pequenos cocobacilos, presença de *clue cells* e ausência de lactobacilos.⁽⁷⁾

O exame de Papanicolaou é o método de escolha para o rastreamento do câncer de colo do útero no Brasil e tem-se mostrado uma excelente ferramenta auxiliar no diagnóstico de vaginose.⁽⁸⁾

Em gestantes, a VB está associada a complicações obstétricas como infecções pós-operatórias, parto prematuro, doença de inflamação pélvica, cervicite e corioamnionite.⁽⁹⁾ Além disso, a VB tem sido considerada um problema de saúde pública pela associação com diversas infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus herpes simples tipo 2 (HSV-2), a *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, e papilomavírus humano (HPV) com lesões intraepiteliais cervicais.⁽¹⁰⁾

A associação da VB como fator de risco para câncer cervical tem sido relatada pela produção de nitrosaminas carcinogênicas e o estímulo da liberação de citocinas como a interleucina-1 beta (IL-1 β),⁽¹¹⁾ reduzindo a capacidade do sistema imunológico de eliminar a infecção pelo HPV.⁽¹²⁾

O método de Papanicolaou no rastreio do câncer cervical apresenta variação de sensibilidade entre 30% a 87%, com consequente emissão de resultados falsos negativos.⁽¹³⁾ A busca para melhorar a sensibilidade do teste de Papanicolaou levou à introdução de critérios morfológicos não clássicos ou secundários para diagnóstico citológico de HPV em adição aos critérios morfológicos ditos clássicos, ou seja, coilocitose e disceratose.⁽¹⁴⁾

As alterações celulares reativas não clássicas, de natureza benigna, são aumento nuclear (cariomegalia); binucleação ou multinucleação, ocasionalmente; nucléolos únicos ou múltiplos; o citoplasma pode apresentar policromasia, vacuolização ou halos perinucleares. Muitas vezes um núcleo benigno pode assumir proporções gigantescom aumento do conteúdo de cromatina, porém sem critério conspícuo de malignidade. Além desses, disceratose leve, citoplasma limpo, grânulos de cerato-hialina, condensação de filamentos no citoplasma, células fusiformes e paraceratose são relatados como critérios não clássicos citomorfológicos para HPV.^(7,14)

Este trabalho teve por objetivo identificar as alterações reativas celulares não clássicas para HPV na citologia pelo Papanicolaou, na presença de vaginose bacteriana classificada pelos critérios de Nugent pelo Gram.

MATERIAL E MÉTODOS

Este foi um estudo descritivo quantitativo, com estatística por frequência simples. As diferenças entre as variáveis foram calculadas pelos testes qui-quadrado, com significância de $p < 0,05$, e kappa. A população-alvo deste estudo retrospectivo foi representada por 477 mulheres.

Os critérios de inclusão neste estudo foram amostras positivas para *Gardnerella* e/ou *Mobiluncus* com escore de Nugent no mínimo 1, ou seja, não necessariamente com diagnóstico laboratorial de VB, seguido da exclusão das amostras insatisfatórias pelo Papanicolaou.

As amostras satisfatórias pelo Papanicolaou apresentaram no esfregaço cervical pelo menos de 8.000 a 12.000 células escamosas e, no mínimo, 10 células endocervicais e/ou metaplásicas. Foram considerados insatisfatórios esfregaços obscurecidos em mais de 75% da preparação por sobreposição de células ou obscurecidas por leucócitos e/ou hemácias.

Desta forma, este estudo abordou 149 amostras que satisfizeram os critérios de inclusão de Nugent e de exclusão pela qualidade da amostra no Papanicolaou.

Foram coletados raspados de amostras cervicovaginais com auxílio de espátula de Ayre e escovinha cervical para pesquisa citológica pelo Papanicolaou, como também secreção de fundo de saco vaginal, com o auxílio de *swab* para pesquisa da microbiota vaginal pelo método de Gram. A bacterioscopia pelo Gram foi analisada em aumento de 1.000x e a citologia pelo Papanicolaou em aumento de 400x.

A VB foi classificada pelo Gram (padrão ouro) e quantificada de 1 a 4+, conforme o número de bactérias por campo microscópico: + para 1 a 5 por campo, ++ para 6 a 15 por campo, +++ para 16 a 30 por campo e ++++ quando acima de 30 por campo. Os resultados para VB foram interpretados pelo escore de Nugent, que consiste em identificar bacilos Gram-positivos (sugestivos de lactobacilos), bacilos curtos Gram-variáveis (sugestivos de *Gardnerella vaginalis*) e bacilos curvos Gram-negativos ou variáveis (sugestivos de *Mobiluncus spp*). Conforme a ausência ou presença de cada morfotipo bacteriano, Nugent estabeleceu uma pontuação, que somada é interpretada por um escore de 0 a 3, normalidade do ecossistema vaginal; de 4 a 6, resultado intermediário para VB; e de 7 a 10, desequilíbrio da microbiota vaginal normal caracterizando resultado positivo para VB.⁽⁶⁾

Na citologia pelo Papanicolaou foram observadas as seguintes alterações reativas celulares: edema nuclear, paraceratose e binucleação, as quais foram quantificadas, em aumento de 400x, como rara diante da presença de alteração

em uma célula a cada 20 campos, como moderada quando presente uma célula em 10 campos e como acentuada se presente uma célula a cada 5 campos microscópicos analisados pelo Papanicolaou.

Morfologicamente, os critérios seguidos para relatar as alterações reativas celulares foram:

- Paraceratose em células escamosas superficiais com densas partículas alaranjadas ou eosinofílicas no citoplasma, vistas isoladamente, em folhas ou em verticilos, com formato redondo, oval, poligonal ou em forma de fuso, núcleos pequenos (aproximadamente 10µm), densos e picnóticos.
- Edema nuclear na presença de aumento nuclear moderado, em até duas vezes o tamanho de um núcleo normal, sem quaisquer anormalidades significativas da cromatina em células escamosas.
- Binucleação em células com distribuição normal de cromatina em células escamosas.
- A presença de células escamosas atípicas de significado indeterminado possivelmente não neoplásicas (ASC-US) foi considerada positiva pela observação de pelo menos uma célula no esfregaço com esta alteração.
- ASC-US, anormalidades nucleares associadas a citoplasma orangeofílico denso (paraceratose). Núcleos aproximadamente 2½ a 3 vezes o tamanho da área do núcleo de uma célula escamosa normal intermediária, binucleação e hipercromasia nuclear mínima com cromatina delicada e irregularmente distribuída.

ÉTICA

A população-alvo desta pesquisa foram mulheres que realizaram o exame preventivo do câncer de colo do útero, no ano de 2017, no projeto de pesquisa "Adequabilidade das amostras cervicovaginais de mulheres atendidas no projeto de extensão 'Prevenção e educação na atenção à saúde da mulher: coleta de exame Papanicolaou'", aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, com parecer substancial nº 1.614.753.

RESULTADOS

Foram avaliadas 149 amostras, das quais 121 (81,20%) foram diagnosticadas com VB, pelos critérios de Nugent ≥ 7 . Já pelos critérios de vaginose por Bethesda, 60 (40,26%) amostras foram diagnosticadas laboratorialmente com VB (Tabela 1).

Tabela 1

Frequências do critério de Nugent e presença de Nebulosa de acordo com as alterações reativas celulares

Alteração reativa celular		Nugent				Bethesda			
		< 7		≥ 7		Ausente		Presente	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Binucleação	Ausente	14	9,39	83	55,7	60	40,26	37	24,83
	Presente	15	10,2	37	25,2	28	19,0	24	16,3
	Escassa	14	9,5	32	21,8	25	17,0	21	14,3
	Moderada	1	0,7	5	3,4	3	2,0	3	2,0
Edema	Ausente	15	10,06	56	37,58	49	32,88	22	14,76
	Presente	14	9,5	64	43,5	39	26,5	39	26,5
	Escasso	10	6,8	29	19,7	21	14,3	18	12,2
	Moderada	4	2,7	25	17,0	15	10,2	14	9,5
	Acentuada	0	0,0	10	6,8	3	2,0	7	4,8
Paraceratose	Ausente	27	18,12	94	63,08	73	48,9	48	32,21
	Presente	2	1,34	26	17,7	15	10,2	13	8,8
	Escassa	0	0	20	13,6	11	7,5	10	6,8
	Moderada	2	1,34	6	4,1	4	2,7	3	2,0
ASC-US	Ausente	30	19	116	78,9	88	59,1	58	38,8
	Presente	0	0	3	2	1	0,7	2	1,3

Quanto às alterações reativas celulares oriundas de inflamação foram observadas pela coloração de Papanicolaou: binucleação em 52 (34,89%), edema nuclear em 78 (52,34%) e paraceratose em 28 (18,79%), quantificadas em ausente, rara, moderada e acentuada. ASC-US foram observadas em 3 (2,01%) das amostras (Quadro 1 e Figura 1).

As alterações reativas celulares (binucleação, edema nuclear e paraceratose) foram mais frequentes no escore Nugent ≥ 7 . ASC-US foram observadas apenas com Nugent ≥ 7 . Já frente aos critérios de Bethesda para VB, a frequência de binucleação e edema nuclear distribuiu-se de forma equivalente tanto na presença quanto na ausência de VB no Papanicolaou e a paraceratose foi mais frequente na ausência deste critério. ASC-US foram mais frequentes na presença dos critérios de Bethesda para VB (ver Tabela 1).

A presença de mais de um tipo de alteração reativa celular foi observada com edema nuclear e binucleação em 13 (8,72%) amostras, binucleação e paraceratose em 2 (1,34%), edema nuclear e paraceratose em 4 (2,68%) e edema nuclear, binucleação e paraceratose em 3 (2,01%) amostras.

ASC-US não se fizeram presentes de forma isolada. Em uma amostra foi observado edema nuclear e, em duas, binucleação e edema nuclear.

Quadro 1

Dados quantificados das estruturas microscópicas observadas pelo método de Gram (1000x) e Papanicolaou (400x).

Microscopia		Quantificação	
		Abs.	%
Escore de Nugent (Gram)	Normal	2	1,34
	Intermediário	26	17,44
	Vaginose bacteriana	121	81,20
Crítérios de Bethesda (Papanicolaou)	Nebulosa e <i>clue cells</i>	60	40,26
Binucleação	Ausente	97	65,1
	Rara	46	30,87
	Moderada	6	4,0
Edema nuclear	Ausente	71	47,65
	Rara	39	26,17
	Moderada	29	19,46
	Acentuada	10	6,71
Paraceratose	Ausente	121	81,20
	Rara	20	13,42
	Moderada	8	5,36
ASC-US	Ausente	146	97,98
	Presente	3	2,01

Nota: abs.= número absoluto, %= número em percentual.

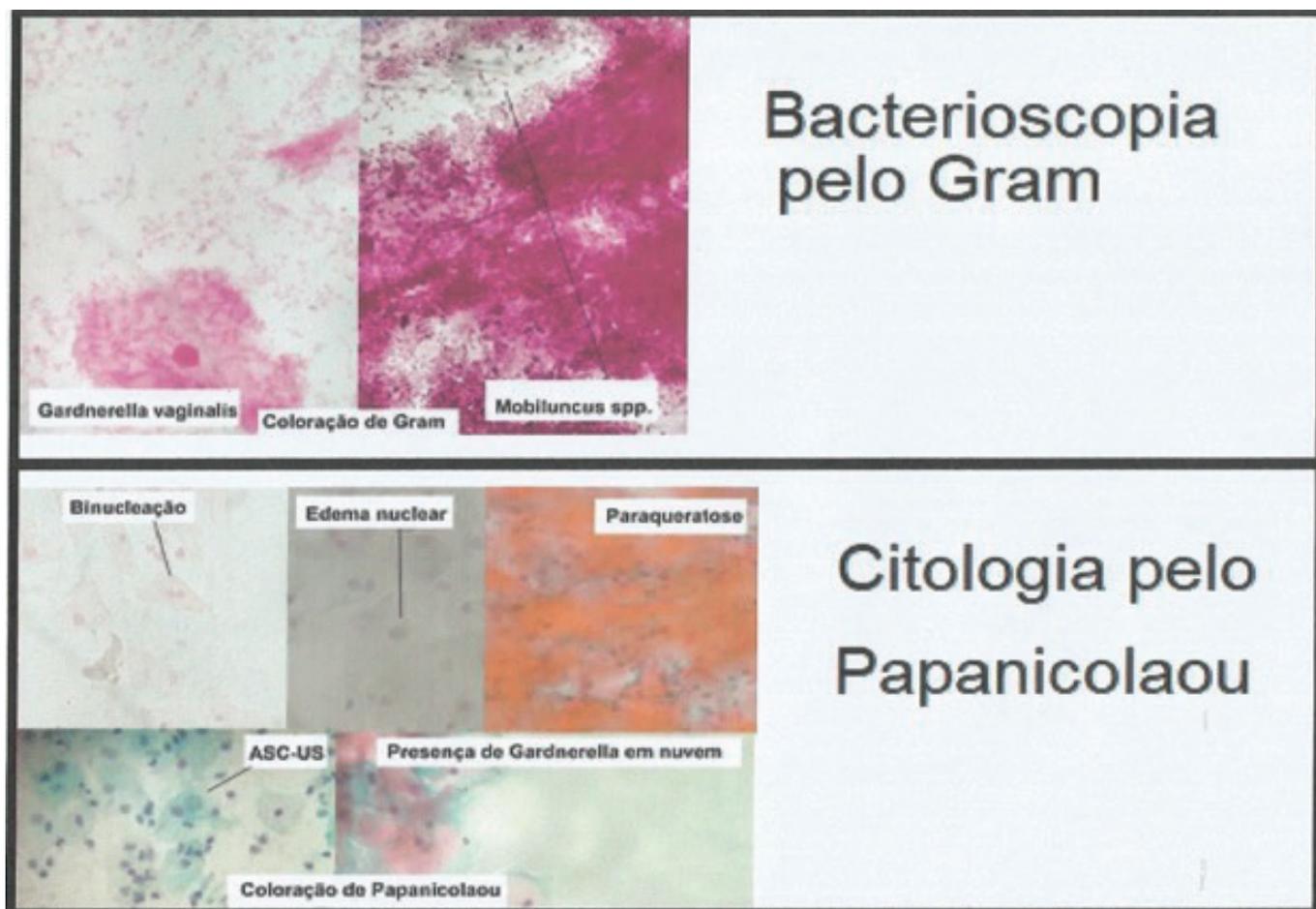


Figura 1

Alterações reativas celulares pelo método de Papanicolaou e microbiota vaginal compatível em *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus sp* pelo método de Gram.

O diagnóstico laboratorial de VB pelos critérios de Nugent e pelos critérios de Bethesda pelo teste estatístico de kappa demonstrou não haver concordância significativa entre os dois métodos ($\text{kappa}=0,035$ e $p=0,542$).

A associação entre a presença/ausência de alterações reativas celulares classificadas pelos critérios de Nugent e Bethesda para VB foi avaliada pelo teste do qui-quadrado, a qual não demonstrou concordância em nenhum dos dois critérios. Contudo, foram observadas apenas duas associações que se aproximaram de $p < 0,05$, sendo a associação binucleação com os critérios de Nugent para VB com $p=0,059$ e edema nuclear com os critérios de Bethesda para VB com $p=0,052$ (Tabela 2).

Tabela 2

Valor de p no teste do qui-quadrado entre os critérios de Nugent e Bethesda para a vaginose bacteriana frente à presença de alterações reativas celulares

Alterações reativas Celulares	Critérios para diagnóstico laboratorial de vaginose bacteriana	
	Critérios de Nugent	Critérios de Bethesda
Binucleação	$p = 0,059$	$p = 0,326$
Edema nuclear	$p = 0,117$	$p = 0,052$
Paraqueratose	$p = 0,144$	$p = 0,779$
ASC-US	$p = 0,528$	$p = 0,355$

DISCUSSÃO

O diagnóstico de vaginose bacteriana evoluiu com o tempo. Dos critérios de Amsel que avaliam a presença de pelo menos três dos aspectos, como o corrimento branco e homogêneo, pH vaginal acima de 4,5, teste de aminas com KOH a 10% e presença de *clue cells* como a característica mais específica e sensível de vaginose bacteriana,⁽¹⁵⁾ ao escore de Nugent pela coloração de Gram, um método rápido, de baixo custo, altamente reprodutível e utilizado em muitos laboratórios, considerado como "padrão ouro" para o diagnóstico de VB bacteriana por ser mais sensível e específico.⁽⁹⁾

Já a cultura de *Gardnerella vaginalis* ou de bactérias anaeróbias não são recomendadas como método diagnóstico visto esses microrganismos serem observados em cerca de 50% de mulheres assintomáticas e pelo fato da presença de *Gardnerella vaginalis* por si só não ser uma indicação para tratamento, pois apenas as mulheres que preenchem os critérios diagnósticos para vaginose bacteriana são tratadas para essa condição.⁽¹⁶⁾

Também o método de Papanicolaou, cujo principal objetivo é o diagnóstico citológico do câncer, tem se mostrado útil na detecção de VB pela visualização de *clue cells*, alterações celulares apresentadas pela infecção e acentuada diminuição de lactobacilos.⁽¹⁷⁾

Este estudo demonstrou não haver concordância significativa entre os métodos de Gram e Papanicolaou ($\kappa=0,035$ e $p=0,542$) para o diagnóstico de VB. Provavelmente esse resultado deu-se por questões intrínsecas aos métodos, desde a técnica de coleta de material necessária para a realização do exame a que se destina cada método até o objetivo das técnicas em si. A prevalência de VB foi maior pelo método de Nugent, e possivelmente essa condição de superioridade do teste de Nugent acarretou maior prevalência das alterações reativas celulares não clássicas frente ao de Nugent (81,20%), em detrimento de Bethesda (40,26%).

A coleta de material para cada método, Gram e Papanicolaou, é distinta. Para o Gram é recomendada a coleta de secreção de fundo de saco vaginal e para o Papanicolaou é orientada a limpeza do corrimento vaginal com auxílio de gaze e pinça de Cherron para coleta do raspado cervical. Assim, o *locus* e a metodologia de coleta diferem em ambas as técnicas de coloração. Essas peculiaridades foram relatadas em outros estudos que discutem a grande variação na sensibilidade do Papanicolaou para diagnóstico de VB (43,1% a 95%) devido ao emprego de diferentes critérios morfológicos e do local

de coleta, se dupla, do colo e canal como ocorre no Brasil, ou se triplíce (canal, colo e fundo de saco vaginal).^(18,19)

Uma das relevâncias da pesquisa de agentes microbiológicos para VB está na sua implicação no favorecimento da instalação e permanência do vírus HPV, o principal fator de risco para câncer cervical, e neste caso específico a VB tem sido relatada em várias publicações como cofator de risco para HPV.⁽²⁰⁾

A patogênese da VB no câncer cervical é complexa, pois envolve crescimento excessivo de uma associação de vários microrganismos anaeróbios que causam desequilíbrio no ecossistema vaginal, com depleção de lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio, produção elevada de poliaminas e ácidos orgânicos (ácidos acético e succínico) citotóxicos para as células do epitélio escamoso vaginal, levando à esfoliação celular e produção de corrimento volátil e fétido com ausência de infiltrado inflamatório.⁽²⁰⁾

Uma das hipóteses da ação da VB como cofator para o desenvolvimento do câncer cervical apoia-se no aumento de nitrosaminas vaginais que eleva a probabilidade de danos ao DNA e a mudança nos perfis de citocinas que alteram a resposta imune, dificultando a eliminação do HPV.⁽²¹⁾

É relatado que mulheres com neoplasia intraepitelial cervical (NIC) e VB apresentaram aumento no nível de interleucinas (IL) 1, IL-6 e IL-10 e de óxido nítrico (NO), aliado ao fato de a VB produzir grande quantidade de imunomoduladores como proteases, sialidases, succinato e outros componentes indutores de inflamação, como ácido lipoteicoico (LA), peptidoglicanos (PG) e lipopolissacarídeos (LPS), substâncias que associadas promovem o crescimento de células neoplásicas tanto *in vitro* como *in vivo*. Somado a isso, a IL-6 apresenta propriedade pró-angiogênica capaz de atuar na angiogênese tumoral direcionada ao crescimento neoplásico.⁽²⁰⁾

É hipotetizada também a capacidade da VB de aumentar a degradação da mucina no fluido vaginal, impedindo a formação de gel que reveste o epitélio cervical, causando microabrasões ou alterações de células epiteliais, o que pode aumentar a suscetibilidade da infecção por HPV, facilitando a adesão, invasão e eventualmente a incorporação do HPV oncogênico no genoma de células da zona de transformação. Também é possível que a VB atue como cofator na aquisição ou reativação da infecção pelo HPV, afetando o equilíbrio dentro do tecido cervical pelo aumento dos níveis vaginais de IL-1 β , porém sem aumento nos níveis de IL-8, o que pode explicar a ausência ou diminuição de neutrófilos.⁽²⁰⁾

A imunidade vaginal em resposta a perturbações microbianas ainda é pouco compreendida e pode ser crucial na proteção contra resultados adversos associados à VB, em que os sinais inflamatórios são escassos. Bactérias anaeróbias presentes na VB são capazes de produzir muitos metabólitos, como sialidasas, que são capazes de degradar imunoglobulina A e alterar a resposta imune local.⁽²²⁾

Outro cofator adicional importante na carcinogênese cervical poderia ser a relativa ausência de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pelos lactobacilos na VB. Suspeita-se que a indução da apoptose representa o elemento-chave da intermediação lactobacilar na defesa antitumoral, assim o H_2O_2 produzido pelos lactobacilos e peroxidase vaginal com consequente geração de ácido hipocloroso (HClO) criaria um ambiente em que células transformadas na mucosa vaginal seriam impulsionadas à apoptose seletiva pela interação com o HClO pré-formado com espécies reativas de oxigênio derivadas de células-alvo (superóxido ânions), o que levaria à geração de sítios de radicais hidroxila reativos.⁽²³⁾

Contudo, a associação de VB ao HPV pode apresentar um viés de causalidade reversa que resultaria em mulheres infectadas pelo HPV que ficam mais propensas em adquirir VB, ou mesmo existir uma relação temporal, em que a VB poderá ocorrer simultaneamente com ou após a infecção pelo HPV, em vez de aquisição antes do contágio pelo HPV. Assim, talvez a infecção por HPV cervical possa favorecer mudanças no ambiente vaginal que aumentam o desenvolvimento VB.⁽²⁴⁾

Permanece a dúvida sobre a relação causal entre VB e lesões pré-cancerosas cervicais, ou se ambas as condições ocorrem em mulheres sexualmente ativas. Sabe-se que fatores sociodemográficos e comportamentais de estilo de vida influenciam risco de VB e lesões pré-cancerosas cervicais de maneira semelhante.⁽²⁴⁾

Um estudo brasileiro de coorte transversal demonstrou que mulheres com presença de 20% ou mais de *clue cells* no esfregaço cervical apresentavam 2,2 vezes mais riscos de detectar diagnóstico de HSIL em amostras positivas para HPV.⁽²⁵⁾ Na Costa Rica, pesquisa de regressão logística em pacientes com lesão de alto grau (HSIL) indicou que a VB e a cervicite estiveram fortemente associadas ao diagnóstico citológico no grupo de pacientes HPV positivo.⁽²⁶⁾

O método de Papanicolaou detecta lesões pré-cancerosas e o câncer cervical em estágio inicial ou avançado e também é importante no reconhecimento das alterações inflamatórias, designadas pelo sistema Bethesda como alterações celulares reativas,⁽⁷⁾ possibilitando avaliar a intensidade da reação inflamatória, acompanhar sua evolução e, em certos

casos, determinar o agente causal,⁽¹⁷⁾ e assim acrescenta importantes informações que em algumas circunstâncias são cruciais para o estabelecimento do diagnóstico.⁽⁵⁾

Sob o efeito persistente de infecções microbianas e reações inflamatórias, tanto as células escamosas quanto colunares podem sofrer alterações degenerativas, geralmente mudanças inespecíficas, mas que auxiliam na interpretação adequada de alterações celulares mais sérias.⁽²⁷⁾

O teste de Papanicolaou tem sido a melhor estratégia de saúde pública para a detecção de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas e na identificação de alterações citomorfológicas relacionadas ao HPV. Atualmente existe grande preocupação em torno da detecção citológica precoce desta infecção e também com a melhoria do diagnóstico citológico, pois em países em desenvolvimento a triagem citológica vem falhando em promover a redução na incidência de câncer cervical, sendo uma das causas a limitação de sensibilidade do método. Com isto, tem-se estudado a introdução de novos critérios morfológicos, denominados não clássicos ou secundários, para diagnóstico citológico de HPV.⁽⁷⁾

Vários estudos têm avaliado a sensibilidade do teste de Papanicolaou com o uso de critérios não clássicos de lesão celular para HPV comparada à do teste de biologia molecular para pesquisa de HPV (padrão ouro). A sensibilidade dos critérios não clássicos varia de estudo para estudo, provavelmente pela variação do tipo de critério morfológico não clássico usado, que vai de hiper cromasia nuclear, pleomorfismo e aumento da relação núcleo/citoplasma, ou inclusão de disceratose, discariose, binucleação e multinucleação, grânulos de cerato-hialina a paraceratose.⁽²⁸⁾

A redução de especificidade e sensibilidade dos critérios não clássicos ocorre na presença de inflamação moderada ou intensa, provavelmente pela sobreposição de efeitos citopáticos oriundos da inflamação com os critérios não clássicos relacionados ao diagnóstico do HPV.⁽²⁸⁾

Estudos também divergem quanto ao uso de critérios não clássicos para diagnóstico citológico sugestivo de HPV. Alguns preconizam que há necessidade de pelo menos dois critérios, sendo um deles clássico; outros sugerem pelo menos a observação de três critérios não clássicos e, por fim, há aqueles que reportam a necessidade de quatro ou mais dos critérios não clássicos citológicos para sugestão de HPV no mesmo esfregaço.⁽²⁹⁾

Este estudo verificou a presença dos critérios não clássicos, a binucleação, o edema nuclear e paraceratose. Amostras com escore de Nugent ≥ 7 apresentaram maior percentual de alterações reativas celulares (binucleação em 28,43%, edema

nuclear em 42,95% e paraceratose em 17,44%). Nas amostras com escore <7 foram observadas alterações reativas celulares, com menor percentual (binucleação 10,06%, edema nuclear 9,5% e paraceratose 1,34%). Amostras com dois critérios não clássicos simultâneos ocorreram em 12,7% dos casos e com três alterações simultâneas em 2,0%.

A binucleação é o resultado da divisão nuclear sem a divisão do citoplasma que pode ocorrer na regeneração tissular rápida.⁽³⁰⁾ Relacionada ao HPV, provavelmente ocorre como resultado de anormalidades mitóticas fusiformes que levam à replicação do DNA sem citocinese, seguida de heteroploidia.⁽³¹⁾

O edema nuclear apresenta-se uma a duas vezes em tamanho, porém ocasionalmente pode apresentar-se maior, geralmente observado em células escamosas do tipo superficial ou intermediária. Apesar do aumento do tamanho nuclear, a cromatina é finamente e uniformemente granular e por não se fazer acompanhar de hiper cromasia ou irregularidade da membrana nuclear não representa uma lesão escamosa significativa para a avaliação de neoplasias.⁽⁷⁾

A paraceratose é uma alteração reativa benigna causada por irritação crônica, onde as células escamosas aparecem ceratinizadas com citoplasma denso e núcleos picnóticos.⁽⁷⁾ Às vezes é observada em associação com infecções por HPV, considerado um achado importante em casos sem fundo inflamatório, caracterizado pela presença de núcleos frequentemente picnóticos e hiper cromáticos com citoplasma eosinofílico escuro, geralmente associado a um epitélio escamoso relativamente maduro. Casos de paraceratose ou hiper ceratose devem ser reexaminados, pois podem sobrepor uma alteração anormal, como displasia ou carcinoma de células escamosas.⁽³²⁾

ASC-US são alterações celulares mais pronunciadas do que as alterações reativas benignas, com marcante aumento nuclear, apresentando variação nuclear e binucleação, contudo são quantitativas e qualitativamente menos evidentes que lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) e lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL), não sendo suficientes para um diagnóstico de neoplasia intraepitelial.^(17,32)

Este trabalho comprovou que as alterações reativas celulares, consideradas critérios não clássicos para HPV, estão presentes em portadoras de VB em concordâncias com diversos estudos que relatam a presença de alterações reativas celulares como binucleação, paraceratose e edema nuclear na presença de VB. Essas alterações foram mais prevalentes na presença de VB diagnosticada pelos critérios de Nugent ≥ 7 em relação aos critérios de Bethesda pelo Papanicolaou.

CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou não haver concordância significativa, entre o escore de Nugent pelo Gram e os critérios de Bethesda pelo Papanicolaou, para o diagnóstico laboratorial de vaginose bacteriana, apresentando no escore de Nugent maior capacidade para tal diagnóstico.

As alterações reativas celulares oriundas de inflamação e/ou degeneração, como binucleação, edema nuclear e paraceratose tidas como critérios não clássicos sugestivos de infecção pelo HPV, foram mais frequentes nas amostras positivas para vaginose bacteriana pelo escore de Nugent.

Contudo o teste qui-quadrado não demonstrou concordância estatística entre as alterações reativas celulares e o escore de Nugent para vaginose bacteriana, sendo encontrado o resultado mais próximo de $p < 0,05$ na binucleação ($p < 0,059$).

Sendo o teste de Gram de baixo custo e de fácil aplicação, tornando-o favorável em localidades carentes, a inserção desta análise laboratorial durante a coleta de Papanicolaou pode ser uma grande aliada, tanto para o diagnóstico de vaginose bacteriana como no rastreamento do câncer de colo do útero, na busca de identificar e acompanhar mulheres com esse fator de risco.

REFERÊNCIAS

1. Marazzo JM. Evolving issues in understanding and treating bacterial vaginosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2004 Dec;2(6):913-922.
2. Roselletti E, Sabbatini S, Perito S, Mencacci A, Vecchiarelli A, Monari C. Apoptosis of vaginal epithelial cells in clinical samples from women with diagnosed bacterial vaginosis. *Scientific Reports*, 2020; 10:1978 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58862-2>.
3. Winn Jr W, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 6 ed., 2006.
4. Campos AAS, Leite APL, Lisboa CVF, Andrade CC, Bezerra AF, Mattar R, Souza E de. Estudo comparativo entre o teste do pH e do KOH versus escore de Nugent para diagnóstico da vaginose bacteriana em gestantes. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012; 34(5):209-214.
5. Murta EFC, Souza MAH, Junior EA, Adad SJ. Incidence of Gardnerella vaginalis, Candida sp. and human papillomavirus in cytological smears. *Rev Paulo Med.* 2000; 118(4):105-108.
6. Nugent RP. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis improved by a standardize method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991 Feb; 29(2):297-301.
7. Nayar R, Wilbur DC, Editors. *Bethesda System for reporting cervical cytology: definitions, criteria and explanatory notes.* 3 ed. Ed. Springer, 2015.
8. Moraes MF. Programa Viva Mulher. *Revista Brasileira de Cancerologia.* 1997 Ab. Mai. Jun; 43(2):1-2.
9. Newman M. Bacterial vaginosis in an inner-city obstetrical population: evaluation of a new diagnostic test versus clinical and gram-stain criteria. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Jan;178(1):211.

10. Li W, Liu LL, Luo ZZ, Han CY, Wu QH, Zhang L, et al. Associations of sexually transmitted infections and bacterial vaginosis with abnormal cervical cytology: A cross-sectional survey with 9090 community women in China. *PLoS One*. 2020 Mar 26;15(3):1-12.
11. Behbakht K, Friedman J, Heimler I, Aroutcheva A, Simoes J, Faro S. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: a case-control study. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2002; 10(4):181-186.
12. Pavic N. Is there a local production of nitrosamines by the vaginal microflora in anaerobic vaginosis/trichomoniasis? *Med Hypotheses*. 1984; 15(4):433-436.
13. Alves RRF, Teixeira TS, Netto JCA. Performance da citologia e colposcopia frente à histopatologia no rastreamento e diagnóstico das lesões precursoras do câncer do colo uterino. *DST J Bras Doenças Sex Transm* 2002; 14(6):33-8.
14. Schneider A, Meinhardt G, de Villiers EM, Gissmann L. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. *Diagn Cytopathol* 1987; 3(3):250-255.
15. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach DA, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: Diagnostic criteria and microbial epidemiologic associations. *Am J Med*. 1983 Jan; 74(1):14-22.
16. Leite SRS de F, Amorim MMR de, Calábria WB, Leita TN de F, Oliveira VS de, Ferreira Jr JAA, Ximenes RA de A. Perfil clínico e microbiológico de mulheres com vaginose bacteriana. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2010; 32(2):82-7.
17. Koss GL, Gompel C. Introdução a citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas. 1 ed. São Paulo: Rocca. 2006; 66-67.
18. Tokyol C, Aktepe OC, Cevrioglu AS, Altindis M, Dilek FH. Bacterial vaginosis: comparison of Pap smear and microbiological test results. *Mod Pathol*. 2004 Jul;17(7):857-60.
19. Greene JF, Kuehl TJ, Allen SR. The papanicolaou smear: inadequate screening test for bacterial vaginosis during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 May; 182(5):1048-1049.
- 20 - Biswal BM, Singh KKB, Ismail MB, Jalal MIBA, Safruddin EISBE. Current Concept of Bacterial Vaginosis in Cervical Cancer. *J Clin Gynecol Obstet*. 2014 Aug; 3(1):1-7.
- 21 - Pavic N. Is there a local production of nitrosamines by the vaginal microflora in anaerobic vaginosis/trichomoniasis? *Med Hypotheses*. 1984 Dec; 15(4):433-436.
22. Marconi C, Donders GGG, Bellen G, Brown DR, Parada CMGL, Silva MG. Sialidase activity in aerobic vaginitis is equal to levels during bacterial vaginosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. Irlanda. 2013 Ap; 167(2):205-209.
23. Bauer G. Lactobacilli-mediated control of vaginal cancer through specific reactive oxygen species interaction. *Med Hypotheses*. 2001 Aug; 57(2):252-257.
24. Watts DH, Fazzari M, Minkoff H, Hillier SL, Sha B, Glesby M, et al. Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J Infect Dis* 2005, 191:1129-1139.
25. Discacciati MG, Simoes JA, Lopes ES, Silva SM, Montemor EB, Rabelo-Santos SH, Westin MC. Is bacterial vaginosis associated with squamous intraepithelial lesion of the uterine cervix? *Diagn Cytopathol*. 2006 Ap; 34(5):323-325.
26. Castle PE, Hillier SL, Rabe LK, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, et. al. An Association of Cervical Inflammation with High-Grade Cervical Neoplasia in Women Infected with Oncogenic Human Papillomavirus (HPV). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001 Oct;10(10):1021-1027.
27. Cibas ES, Ducatman BS. *Cytology: diagnostic principles and clinical correlates*. 4. ed. Elsevier; 2014.
28. Etchebere RM, Almeida ECS, Còbo EC, Duque ACRD, Murta EFC, Adad SJ. Comparison of Classical and Secondary Cytologic Criteria Relative to Hybrid Capture for Diagnosing Cervical-vaginal Infection by Human Papillomavirus. *RBGO Gynecology and Obstetrics*. 2016; 38(1):41-46.
29. Cavalieri MC, Longatto Filho, Pereira GMC. Papilomavírus em saúde pública: importância da aplicação de novos critérios morfológicos para sua detecção em trato genital feminino. *Bol Inform Union*. 1990; 15(59/60): 24.
30. Jordão AV, Ruggeri LS, Chiucheta GIR, Piva S, Consolaro MEL. Importância da aplicação de critérios morfológicos não clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2003; 39(1):81-89.
31. Yamamoto LSU, Alves VAF, Maeda MYS, Longatto-Filho A, Utagawa ML e Eluf Neto J. A morphological protocol na guide-list on uterine cervix cytology associated to papilloma virus infection. *Rev Inst Med trop*. S. Paulo. 2004; 46(4):189-193.
32. Bibbo M e Wilbur DCW. *Comprehensive cytopathology*. 3º ed. Saunders e Elsevir, 3 ed. 2008.

Interferências laboratoriais: Principais fármacos que alteram o perfil glicêmico

Laboratory interferences: Main drugs that alter the glycemic profile

Carlena Sinara Martins da Silva¹, Geane Borba Althaus²

¹ Doutora em Biotecnologia/ Centro Universitário da Amazônia – UNAMA – (Docente). Santarém, PA, Brasil.

² Bacharel em Biomedicina / Centro Universitário da Amazônia – UNAMA. Santarém, PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: Investigar interferências laboratoriais dos principais fármacos que alteram o perfil glicêmico. **Métodos:** Pesquisa descritiva e analítica dos fármacos utilizados por pacientes de um laboratório de análises clínicas em Santarém/Pará. **Resultados:** Dentre os 457 cadastros, 355 foram excluídos por não apresentarem informações cadastrais completas. Das 102 fichas analisadas que estavam aptas a continuarem na pesquisa, 38 eram do sexo masculino e 64 do sexo feminino. O resultado das alterações dos testes glicêmicos indicou que das 64 pacientes do sexo feminino, 37,5% apresentaram resultados alterados para glicemia. Enquanto os pacientes do sexo masculino apontaram igualdade quanto ao número de pacientes alterados e não alterados. Um total de 53 medicamentos diferentes foram identificados nos arquivos destes pacientes. Dentre os 53 medicamentos utilizados pelos pacientes, foram selecionados os cinco mais utilizados e que possivelmente estão associados às alterações da glicemia (losartana, metformina, captopril, hidroclorotiazida e rosuvastatina). Os medicamentos ocasionariam alterações no perfil glicêmico dos pacientes foram a metformina (hipoglicemiante) e a hidroclorotiazida e rosuvastatina (aumento dos níveis glicêmicos). **Conclusão:** A disseminação de conhecimentos a respeito das interferências que os medicamentos causam em exames laboratoriais são essenciais para auxiliar na conduta médica da escolha terapêutica e monitoramento do paciente. Dessa forma, este levantamento é de grande relevância, pois promove a divulgação de informação para os profissionais da área da saúde.

Palavras-chave: Glicemia; Testes Diagnósticos de Rotina; Medicamentos

Abstract

Objective: To investigate laboratory interferences of the main drugs that alter the glycemic profile. **Methods:** Descriptive and analytical research on drugs used by patients in a clinical analysis laboratory in Santarém/Pará. **Results:** Among the 457 registrations, 355 were excluded for not having complete registration information. Of the 102 forms that were able to continue in the research, 38 were male and 64 were female. The result of changes in glycemic testicles indicated that of the 64 female patients, 37.5% had altered results for glycemia. While male patients indicated equality regarding the number of altered and non-altered patients. A total of 53 different medications were identified in these patients' files. Among the 53 drugs used by the patients, the five most used and possibly associated with changes in blood glucose were selected (losartan, metformin, captopril, hydrochlorothiazide and rosuvastatin). The medications that would cause changes in the glycemic profile of the patients were metformin (hypoglycemic agent) and hydrochlorothiazide and rosuvastatin (increase in glycemic levels). **Conclusion:** The dissemination of knowledge about the interference that drugs cause in laboratory tests is essential to assist in the medical conduct of patient choice and monitoring. Thus, this survey is highly recognized, as it promotes the dissemination of information to health professionals.

Keywords: Blood glucose; Diagnostic tests routine; Drugs

Correspondência

Carlena Sinara Martins da Silva

E-mail: karlena_sinara@hotmail.com

Recebido em 04/07/2020 | Aprovado em 15/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202034

INTRODUÇÃO

O laboratório de análises clínicas tem por finalidade realizar exames laboratoriais, avaliando as condições fisiológicas do organismo de cada indivíduo, possibilitando definir a patologia mediante os resultados encontrados.⁽¹⁾ Os laboratórios seguem normas e/ou recomendações que visam diminuir erros ou mesmo evitá-los. Portanto, é necessário que o profissional da saúde tenha consciência desses procedimentos e evite possíveis erros para não influenciar diretamente no diagnóstico por meio de resultados falsos positivos e/ou falsos negativos.⁽²⁾

A orientação ao paciente minimiza esses erros, pois a coleta das amostras biológicas é o primeiro passo para um resultado de qualidade.⁽³⁾ Esta fase, conhecida como pré-analítica, inicia com o cadastro dos pacientes onde são coletadas suas informações e repassadas orientações sobre procedimentos necessários para a realização da coleta, centrifugação e distribuição das amostras aos setores. Sendo assim, esta fase compreende todas as atividades feitas antes da realização do exame.⁽⁴⁾

Um fator importante na hora da coleta de dados do paciente é sobre o uso de fármacos, pois este aumenta a probabilidade de erros laboratoriais. A Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – SBPC⁽⁵⁾ destaca que as interferências podem ocorrer por duas ações de medicamentos: interferências *in vivo* e *in vitro*. A primeira ocorre quando o medicamento é capaz de provocar uma alteração que se expressa na modificação do resultado e a outra interferência acontece quando o uso do fármaco é capaz de produzir alterações na amostra coletada, gerando resultados que não se correlacionam com a clínica do paciente.

Diante do fato, o presente estudo teve como objetivo investigar interferências laboratoriais de medicamentos que alteram o perfil glicêmico, visto que estes podem afetar os resultados dos exames laboratoriais, gerando diagnósticos equivocados.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, usando informações retrospectivas, uma avaliação documental. O estudo foi realizado em um laboratório de análises clínicas no município de Santarém – PA. A técnica de coleta de dados foi a partir cadastros e histórico dos pacientes, através de sistema informatizado, tendo como base o mês de julho de 2018.

Foram avaliados 457 cadastros e os nomes dos pacientes foram mantidos em sigilo. A pesquisa contempla os preceitos éticos relacionados aos seres humanos, cujo Projeto está aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Campinense de Ensino Superior – (CEP/ICES UNAMA Belém) nº 3.318.610.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dentre os 457 cadastros, 355 foram excluídos por não apresentarem informações cadastrais completas, como a ausência da identificação dos fármacos em uso e ausência do uso de fármacos (Tabela 1).

Das 102 fichas analisadas que estavam aptas a continuarem na pesquisa, 38 eram do sexo masculino e 64 do sexo feminino (Tabela 2).

O resultado das alterações dos testes glicêmicos indicou que das 64 pacientes do sexo feminino, 37,5% apresentaram resultados alterados para glicemia. Enquanto os pacientes do sexo masculino apontaram igualdade quanto ao número de pacientes alterados e não alterados (Figura 1).

Tabela 1

Relação da porcentagem de pacientes em relação aos critérios de exclusão.

Critério de exclusão	Quantidade	Porcentagem (%)
Uso de fármacos sem identificação	60	16,90
Sem fármacos	295	83,10
Total	355	100

Tabela 2

Relação da porcentagem de pacientes em relação ao sexo.

Gênero	Quantidade	Porcentagem (%)
Masculino	38	37,25
Feminino	64	62,75
Total	102	100

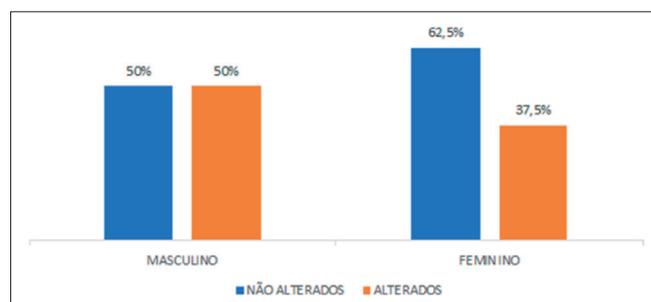


Figura 1

Alteração dos testes glicêmicos de acordo com o gênero.

A Tabela 3 mostra a distribuição das idades por faixa etária e a quantidade de fármacos utilizados por todos os pacientes, comprovando que a maioria dos pacientes faz uso de vários medicamentos. Entre as pessoas com diagnóstico de doenças crônicas, a terapia com mais de uma classe de fármacos foi necessária, ocasionando a polimedicação. Esta é definida como uso simultâneo de mais de cinco medicamentos utilizados por mais de três meses, ocorrendo em maior número nos idosos. [...] sendo a população que mais consome medicamentos.⁽⁵⁾

Um total de 53 medicamentos diferentes foram identificados nos arquivos dos pacientes, sendo que alguns destes foram relatados por mais de um paciente ou foi relatado o uso de mais de um fármaco por paciente (Figura 2).

Dentre os 53 medicamentos utilizados pelos pacientes, foram selecionados os cinco mais utilizados e que possivelmente estão associados às alterações da glicemia, são eles: losartana, metformina, captopril, hidroclorotiazida e rosuvastatina. A Tabela 4 mostra a relação dos medicamentos com a quantidade de pacientes.

Foi observado que a maioria dos pacientes apresentava problemas relacionados à pressão arterial, justificando o uso de anti-hipertensivo, sendo os mais utilizados a losartana e o captopril. A losartana foi utilizada por 31,82% dos pacientes, um bloqueador do receptor de angiotensina II, um não-peptídico do receptor desta enzima para o tratamento de hipertensão.⁽⁷⁾ Já o captopril, utilizado por 13,63% dos pacientes, um potente inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA) na qual impede a conversão de angiotensina I em angiotensina II, sendo o primeiro a ser introduzido no tratamento terapêutico.⁽⁸⁾

O uso da metformina, uma biguanida, disponibilizada pelo Sistema Único de Saúde (SUS), seguiu como segundo fármaco mais utilizado pelos pacientes (22,73%). O mecanismo de ação das biguanidas pode ocorrer por captação direta da glicose na musculatura esquelética, com a diminuição da gliconeogênese hepática e renal, a redução do nível de glicemia, de LDL e VLDL, redução de absorção de glicose pelo trato gastrointestinal, e ainda aumento da conversão da glicose em lactato pelos enterócitos e a diminuição nos níveis de glucagon.⁽⁹⁾ A metformina pode fasear o aparecimento de cetona urinária, assim como reduzir as concentrações de colesterol e dos triglicérides em exames laboratoriais.⁽¹⁰⁾

Tabela 3

Distribuição das idades por faixa etária dos pacientes e quantidades de fármacos utilizados, com suas respectivas porcentagens.

Faixa etária	Quantidade de paciente	Quantidade de fármacos	Média de medicamento por paciente
21 a 30	7	8	1,14
31 a 40	21	31	1,48
41 a 50	24	40	1,67
51 a 60	24	56	2,33
61 a 70	16	31	1,94
71 a 80	10	24	2,40
Total	102	190	1,86

Tabela 4

Medicamentos mais utilizados pelos pacientes em relação a quantidade de pacientes.

Medicamentos	Nº de pacientes	Porcentagem (%)
Losartana	7	31,82
Metformina	5	22,73
Hidroclorotiazida	4	18,18
Captopril	3	13,63
Rosuvastatina	3	13,63
Total	22	100

Os diuréticos tiazídicos, como é o caso da hidroclorotiazida, utilizados por 18,18% dos pacientes, podem causar um aumento nas dosagens de glicose e cálcio no sangue provocado por efeito fisiológico, assim como a diminuição nos valores de potássio e sódio.⁽¹⁰⁾

A rosuvastatina, usada por 13,63% dos pacientes, pode inibir a enzima HMG-CoA redutase, que é importante na fabricação do colesterol pelo organismo reduzindo os níveis de lipídios no sangue, principalmente o colesterol e os triglicérides.⁽¹¹⁾

Os medicamentos que ocasionaram alterações no perfil glicêmico dos pacientes foram a metformina (hipoglicemiante) e a hidroclorotiazida e rosuvastatina (aumento dos níveis glicêmicos).

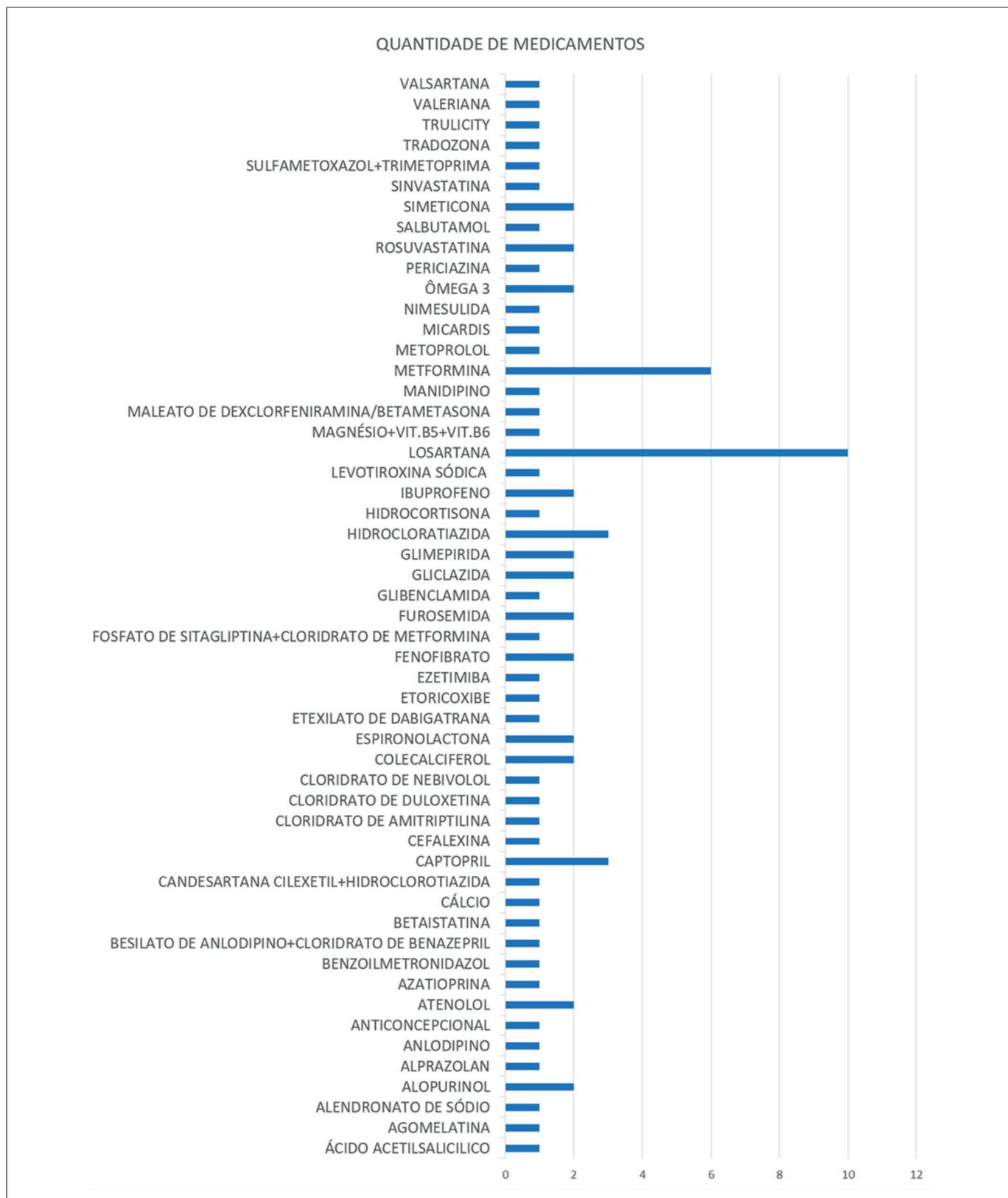


Figura 2

Medicamentos utilizados pelos pacientes

CONCLUSÃO

Neste estudo, observamos que três medicamentos interferiram no exame de glicemia. A disseminação de conhecimentos a respeito das interferências que os medicamentos causam em exames laboratoriais é essencial para auxiliar na conduta médica da escolha terapêutica e monitoramento do paciente. A fase pré-analítica incorreta pode ocasionar complicações futuras na saúde do paciente, provocando alterações em exames laboratoriais em decorrência de efeitos adversos. Dessa forma, este levantamento é de grande relevância por promover a divulgação de informações para os profissionais da área da saúde.

REFERÊNCIAS

1. Souza ABS; Barbosa EC; Rocha TRF; Fernandes T da PB. Importância e vantagens do interfaceamento em laboratório de análises clínicas. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 26, 2020. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/370>. Acesso em: 9 mar. 2023.
2. Souza RKL.; Coan EW; Anghebem MI. Não conformidades na fase pré-analítica identificadas em um laboratório de saúde pública. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 56, 2020.
3. Steckert C; Silva AP da. Aplicabilidade de ferramentas da qualidade no controle de falhas do laboratório clínico. *Inova Saúde*, v. 9, n. 1, p. 115-128, 2019.
4. Teixeira JCC; Chicote SRM; Daneze ER. Não conformidades identificadas durante as fases pré-analítica, analítica e pós-analítica de um laboratório público de análises clínicas. *Nucleus*, v. 13, n. 1, p. 251-60, 2016.
5. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML). *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Coleta e preparo da amostra biológica*. São Paulo, 2013.
6. Pereira KG et al. Polifarmácia em idosos: um estudo de base populacional. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, p. 335-344, 2017.
7. Costa JJ de L; Abreu TP de. Efeitos da terapia combinada de losartana com hidroclorotiazida em pacientes do programa farmácia popular. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, [S. l.], v. 7, n. 10, p. 1266-1275, 2021. DOI: 10.51891/rease.v7i10.2660. Disponível em: <https://www.periodicorease.pro.br/rease/article/view/2660>. Acesso em: 9 mar. 2023.
8. Dias KGM et al. Viabilidade do captopril sublingual em crises hipertensivas. *Revista Ensaios Pioneiros*, v. 4, n. 1, p. 34-40, 2020.
9. Lopes VP; Júnior MCS; Júnior AFS; Santana AIC. Farmacologia do diabetes mellitus tipo 2: antidiabéticos orais, insulina e inovações terapêuticas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 9, n. 4, p. 69-90, 2012.
10. Golan DE; Junior T; Armen H; Armstrong EJ; Armstrong AW. *Princípios de Farmacologia: A base fisiopatológica da farmacoterapia*. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
11. Silva MF do N et al. Impacto do contraste farmacocinético dos inibidores da HMG-CoA redutase: comunicação breve. *Revista de Casos e Consultoria*, v. 11, n. 1, p. e11116-e11116, 2020.

Avaliação de indicadores da qualidade da coleta de esfregaços citopatológicos cervicovaginais

Quality indicators evaluation of sample collection in positive cervical smears

Marcelo Fontana Vitto¹, Luciane Noal Cali², Lisiane Cervieri Mezzomo³

¹ Universidade Feevale – Curso de Especialização em Citopatologia Diagnóstica. Novo Hamburgo, RS, Brasil.

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises. Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Doutorado em Patologia – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Professora do curso de Especialização em Citopatologia Diagnóstica da Universidade Feevale. Novo Hamburgo, RS, Brasil.

Resumo

Objetivo: O presente estudo tem como objetivo verificar a adequabilidade das amostras cervicais coletadas por profissionais treinados por um laboratório clínico e comparar com as amostras coletadas por profissionais externos ao laboratório. **Métodos:** Foram analisados 192 laudos de amostras citopatológicas cervicovaginais positivas para lesão intraepitelial ou malignidade. Comparou-se amostras coletadas por profissionais submetidos a um treinamento padronizado pelo laboratório clínico com as amostras coletadas por profissionais externos ao laboratório, mediante a análise da representatividade dos grupos celulares e dos resultados dos exames. **Resultados:** A maioria das amostras teve presença de células glandulares e/ou metaplásicas, porém, nas amostras coletadas por profissionais que receberam treinamento houve maior percentual de representatividade da JEC. Além disso, as amostras coletadas por profissionais treinados tiveram menor percentual de fatores obscurecedores que limitaram a análise. **Conclusão:** Tendo em vista que a fase pré-analítica influencia significativamente no desempenho dos testes citopatológicos, verificou-se que o treinamento padronizado dos profissionais coletadores pode impactar nos resultados, garantindo a qualidade necessária para um exame satisfatório.

Palavras-chave: Teste de Papanicolaou; Controle de Qualidade; Lesões Intraepiteliais Escamosas Cervicais; Carcinoma de Células Escamosas; Células Escamosas Atípicas de Colo do Útero

Abstract

Objective: The present study aims to verify the adequacy of cervical samples collected by professionals trained by a clinical laboratory and to compare with samples collected by professionals outside the laboratory. **Methods:** A total of 192 reports of cervical cytopathological samples positive for atypia, intraepithelial lesion or malignancy were analyzed. Samples collected by professionals who were trained by the clinical laboratory were compared with samples collected by professionals outside the laboratory by analyzing the representativeness of the cell groups and the results of the tests. **Results:** Most samples had the presence of glandular and/or metaplastic cells, however, in samples collected by professionals who received training there was a higher percentage of representativeness of squamocolumnar junction. In addition, samples collected by trained professionals had a lower percentage of obscuring factors that limited the analysis. **Conclusion:** Considering that the pre-analytical phase significantly influences the performance of the cytopathological tests, it is argued that the improved training of the professionals can impact the results.

Keywords: Papanicolaou Test; Quality Control; Uterine Cervical Neoplasms; Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix; Atypical Squamous Cells of the Cervix

Correspondência

Lisiane Cervieri Mezzomo

E-mail: lisimezzomo@gmail.com

Recebido em 16/07/2020 | Aprovado em 09/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202043

INTRODUÇÃO

O câncer de colo do útero tem como principal causa a infecção persistente por alguns tipos oncogênicos do papiloma vírus humano (HPV). É o terceiro tumor mais frequente na população feminina e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil.⁽¹⁾

A queda da taxa de mortalidade está relacionada ao diagnóstico precoce da doença, e nesse contexto, a citologia pelo método Papanicolaou apresenta boa sensibilidade e especificidade quando utilizada como método de triagem.⁽²⁾ A principal finalidade do método citológico é o rastreamento das lesões pré-malignas e malignas, as quais são posteriormente submetidas à métodos confirmatórios para a conclusão diagnóstica.⁽³⁾

Entretanto, o teste de Papanicolaou é alvo de críticas, uma vez que o desempenho do exame está associado à variáveis como a coleta e a interpretação citomorfológica, podendo gerar com isso, resultados falso-negativos ou falso-positivos.⁽⁴⁾ Entre as causas de resultados falsos negativos estão a ausência de representatividade ou escassez de células neoplásicas e pré-neoplásicas em pacientes com lesões, fundo da lâmina necrótico ou inflamatório⁽⁵⁾ e espessura do esfregaço⁽⁶⁾, que dificultam a análise.

O relato da presença dos componentes celulares no laudo citopatológico é preconizado pelo sistema de Bethesda,⁽⁷⁾ sendo que a descrição da adequação da amostra e das células representativas da junção escamocolumnar (JEC), metaplásicas e endocervicais, se relacionam à qualidade da coleta.^(8,9)

O presente estudo tem como objetivo verificar a adequabilidade de amostras citopatológicas cervicovaginais classificadas previamente como positivas para lesões pré-malignas e comparar as amostras coletadas por profissionais que receberam treinamento padronizado no laboratório clínico com as amostras citológicas provenientes de unidades externas ao laboratório.

METODOLOGIA

Trata-se de estudo transversal realizado em laboratório privado de médio porte, a partir da análise dos resultados de exames citopatológicos cervicovaginais provenientes do banco de dados do laboratório. Foram incluídos exames com resultados positivos para lesão intraepitelial ou malignidade nos anos de 2017 e 2018.

Entre os dados avaliados estão o percentual de amostras satisfatórias, fatores obscurecedores que limitaram a análise

morfológica e a presença das células representativas da JEC (metaplásicas e endocervicais).

Além disso buscou-se comparar esses parâmetros entre o grupo de resultados provenientes das coletas realizadas por profissionais que receberam treinamento padronizado pelo laboratório clínico, com as amostras coletadas por profissionais externos ao laboratório. Para isso, dividiu-se essas amostras em dois grupos, A e B. O grupo A foi composto por amostras coletadas por coletadores do laboratório clínico que totalizaram 15 profissionais sem experiência anterior em coleta de exame citopatológico, com idade entre 23 e 35 anos. Todos os profissionais receberam treinamento teórico de quatro horas, que abordou a coleta da ectocérvice e endocérvice, bem como a confecção e a fixação da lâmina. Além disso, foi ministrado um treinamento prático assistido por um profissional especialista em citopatologia, o qual posteriormente foi o responsável pela análise das lâminas coletadas.

O Grupo B foi composto por amostras coletadas externamente ao laboratório objeto desse estudo. Essas são provenientes de pacientes que entregaram as lâminas já coletadas e fixadas para o processamento pelo laboratório. Nesse grupo, não foram identificados os coletadores das amostras ou o tipo de treinamento recebido.

A coleta citológica pelo modo convencional é realizada de acordo com o Manual Técnico do Ministério da Saúde⁽²⁾. Preconiza-se que após a introdução do espéculo seja realizada uma análise visual do colo, de modo a localizar a JEC. O procedimento de coleta deve ser realizado na ectocérvice e na endocérvice, usando a espátula de Ayre para a coleta ectocervical e a escova cervical para a coleta da endocérvice e, por último, a fixação do material. A identificação da lâmina deve ser feita com um lápis na extremidade fosca.⁽¹⁰⁾

Todos os resultados de exames incluídos nesse estudo foram classificados, segundo critérios de Bethesda:⁽⁷⁾

- 1. Satisfatório:** presença de 8.000 a 12.000 células epiteliais escamosas bem visualizadas e preservadas, presença de células endocervicais e/ou metaplásicas bem preservadas;
- 2. Satisfatório, porém apresentando fatores que prejudicam parcialmente a análise:** fatores de obscurecimento (sangue, infiltrado leucocitário, áreas espessas, dessecação, artefatos de estiramento, citólise e contaminação) que prejudicam a interpretação de 50% a 75% das células epiteliais e/ou ausência de células endocervicais ou metaplásicas.

A partir disso, as amostras incluídas no presente trabalho foram submetidas à análise de frequência, sendo então consideradas a média e o desvio padrão.

RESULTADOS

Foram analisados um total de 192 laudos de citologia convencional de pacientes com idade entre 16 e 60 anos. Destes, 108 (56,25%) foram coletados por profissionais do laboratório e 84 (43,75%) coletados por profissionais externos.

Identificou-se que o grupo que recebeu treinamento padronizado no laboratório (Grupo A) teve maior percentual de amostras satisfatórias sem fatores limitantes ou obscurecedores n=102 (94,4%) quando comparado ao grupo de amostras coletadas externamente (Grupo B) n=70 (83,3 %). (Figura 1).

Além disso, a representação dos componentes da JEC no grupo A foi superior ao grupo B. A presença de células glandulares foi identificada em 76 amostras (70,37%), e em 51 amostras (60,71%), respectivamente. Células metaplásicas também foram mais frequentes no Grupo A, com n=23 (21,30%) que no grupo B (n=14, 16,67%). (Figura 2).

Os tipos de alterações citomorfológicas encontradas nos laudos avaliados foram divididos em:

- Atípias e lesões epiteliais escamosas abrangendo células maduras, que incluem: atípias de significado indeterminado (ASC-US) e lesão Intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL);
- Atípias e lesões epiteliais escamosas abrangendo células escamosas com aparência imatura que incluíram: atípias de células escamosas, em que não se pode descartar uma lesão de alto grau (ASC-H) e lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL);
- Lesões glandulares: Célula glandular atípica (AGC) e adenocarcinoma.

O Grupo A apresentou menor percentual de lesões e atípias em células maduras, com 70,4% (n=76), média inferior ao do Grupo B, com 81% (n=68). Já as lesões em células mais imaturas corresponderam a 19,4% (n=21) no Grupo A, resultado superior ao do Grupo B, com 9,5% (n=8). Em lesões glandulares, o Grupo A, teve 10,2% (n=11), e no Grupo B, 9,5% (n=8). (Tabela 1).

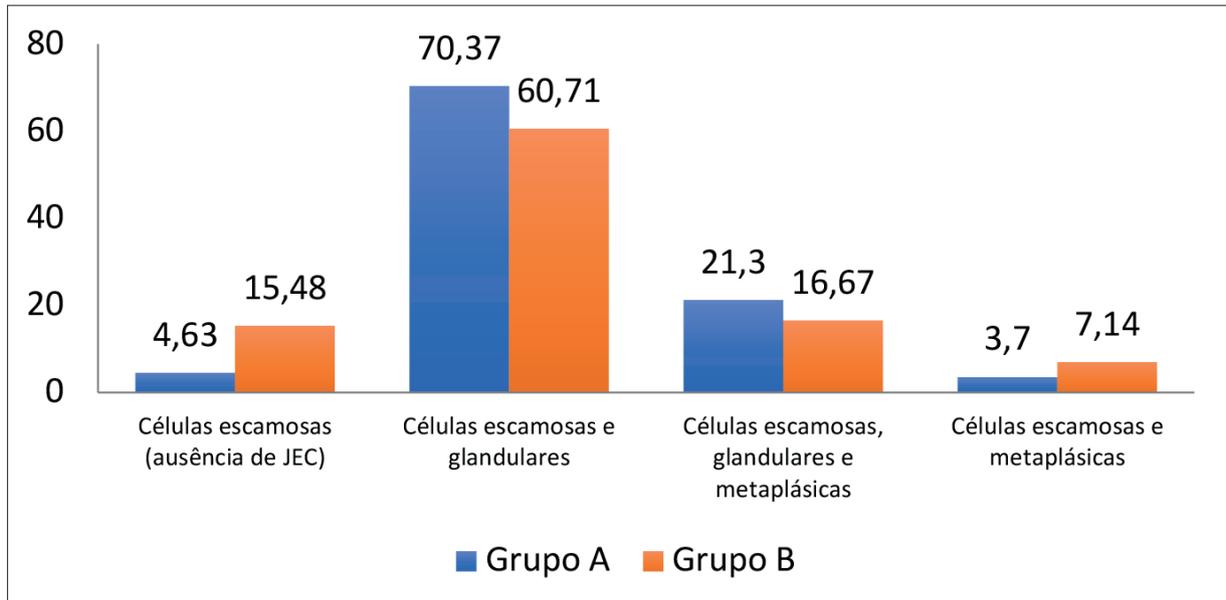


Figura 1

Distribuição celular dos laudos analisados

Legenda: Comparação das coletas realizadas pelos dois grupos para os diferentes epitélios. Grupo A: profissionais que receberam treinamento padronizado pelo laboratório. Grupo B: coletas realizadas por profissionais não treinados pelo laboratório. Dados em percentual.

Tabela 1

Tipos de lesões encontradas nos exames citopatológicos cervicovaginais

Laudos avaliados Alterações citológicas	Grupo A			Grupo B		
	%	n	Idade (DP)	%	n	Idade (DP)
ASC-US / LSIL	70,4	76	32 (10)	81	68	37 (11)
ASC-H / HSIL	19,4	21	35 (7)	9,5	8	48 (11)
AGC / Adenocarcinoma	10,2	11	37 (11)	9,5	8	39 (10)
Total	100	108	34,6	100	84	41

Legenda: ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) e LSIL (lesão intraepitelial escamosa de baixo grau); ASC-H (células escamosas atípicas, em que não se pode descartar uma lesão de alto grau) e HSIL (lesão intraepitelial escamosa de alto grau); Lesões glandulares: AGC (células glandulares atípicas) e Adenocarcinoma endocervical.

*Idade média das pacientes e desvio padrão (DP)

DISCUSSÃO

É inquestionável que o exame citopatológico possui relevância significativa para o rastreamento do câncer cervical. Entretanto, discute-se sobre estratégias para aumentar a sensibilidade e diminuir as taxas de falsos negativos. Juntamente com a representatividade dos componentes da JEC, a baixa celularidade e fatores obscurecedores podem ser os principais problemas na análise citopatológica.^(7,9,11)

O presente estudo mostrou maior frequência de amostras satisfatórias com ausência de fatores obscurecedores no grupo de coletadores treinados pelo laboratório quando comparadas às amostras coletadas por profissionais externos não treinados pelo laboratório, o que demonstra a influência positiva de um treinamento dos profissionais que coletam amostras citopatológicas.

Além disso, é descrito na literatura que a eficácia da citologia cervical para a detecção de alterações pré-malignas e malignas é dependente da adequada amostragem da zona de transformação, e que a ausência de representação dessas células é o fator limitante mais frequente encontrado nos esfregaços citopatológicos cervicais.⁽¹¹⁾ Entretanto, na prática, muitas vezes as amostras citológicas não contemplam tais componentes celulares. A literatura apresenta dados bastante divergentes em relação a representatividade dos componentes da JEC: um estudo publicado por Amaral et al.⁽¹¹⁾ demonstrou a ausência de células endocervicais em 52,2% dos esfregaços, uma parcela bastante significativa de exames.

Já Ughini e Calli⁽⁹⁾ mostraram que 98,3% das amostras apresentaram ausência de componentes da JEC. Por outro lado, Ramos et al.⁽¹⁵⁾ demonstrou que em 16,81% dos casos

positivos, as amostras apresentavam ausência de células endocervicais ou metaplásicas. Embora no presente trabalho o percentual de amostras sem representatividade dos componentes da JEC seja bem inferior aos estudos supracitados, é importante destacar que obteve-se maior porcentagem de amostras que obtinham representatividade os componentes da JEC naquelas coletadas por profissionais treinados de forma padronizada pelo laboratório o que demonstra que a coleta realizada por esses profissionais foi realizada conforme preconizado pelas diretrizes, e ainda, que o treinamento sobre a coleta adequada pode ter resultados significativos nos exames.

A representatividade de células endocervicais no exame citopatológico é influenciada por diversos fatores, dentre os quais destacam-se a experiência do coletador das amostras e o instrumento utilizado para a coleta, sendo a escova endocervical a mais recomendada para citologia convencional.^(2,12,13) É necessário mencionar ainda as condições clínicas individuais das pacientes, que podem limitar ou mesmo impossibilitar o acesso às células representativas da JEC no colo do útero, como histectomia e menopausa. Na menopausa, uma condição clínica na a JEC encontra-se na camada mais interna do canal endocervical devido a ação fisiológica hormonal, a presença dos componentes da JEC são mais escassos nos esfregaços, mesmo a amostra tendo sido coletada do local adequado. Entretanto, nesse estudo, esses dados individuais das pacientes incluídas não foram avaliados.

Há relatos na literatura que demonstram que a presença de células endocervicais na amostra está relacionada ao aumento de detecção de anormalidades do colo do útero^(11, 14-16). Nesse contexto, para investigar o efeito da presença das células endocervicais, Mauney, Eide, Sotham,⁽¹⁷⁾ revisaram

36.853 exames citopatológicos, e concluíram que lesões foram detectadas 2 a 3 vezes mais frequentemente em amostras que continham células endocervicais. Esses dados são corroborados por outros estudos que demonstram que o percentual de lesões pré-malignas parece ser superior em amostras com representatividade dos componentes da JEC.^(11,12)

No presente estudo, foi possível identificar que em ambos os grupos foram identificadas lesões glandulares, embora o percentual seja ligeiramente superior no grupo A. Evidenciou-se também uma maior porcentagem de lesões e atipias escamosas como ASC-H e HSIL nas amostras coletadas pelo grupo que recebeu treinamento no laboratório (19,4%) quando comparado às coletas realizadas por profissionais externos ao laboratório (9,5%). No estudo de Amaral, et al.,⁽¹¹⁾ a frequência de lesões como ASC-H e HSIL foi três a quatro vezes maior nos casos em que a adequabilidade da amostra foi satisfatória para análise quando comparada aos esfregaços com adequabilidade da amostra apresentando algum fator limitante e ausência de células endocervicais e/ou metaplásicas. Entretanto, são necessários mais estudos com uma amostra maior para que se estabeleça correlação entre esses dados.

A partir dos dados desse estudo e dos relatos publicados na literatura, é possível mencionar que os exames citopatológicos de rastreamento para o câncer do colo do útero e suas lesões precursoras apresentam diversidade dos padrões, que podem estar associados não só à variabilidade e condições clínicas de cada paciente, mas também à coleta da amostra. Assim, a ausência da JEC é sabidamente um fator limitante para o diagnóstico das lesões,⁽³⁾ e portanto, para que seja realizada uma coleta adequada, faz-se necessário treinamento e orientação dos profissionais envolvidos com o objetivo de melhorar a qualidade e sensibilidade do exame. Dessa forma, o treinamento constante é uma ferramenta importante para uma coleta adequada, visando aumentar os índices de desempenho do exame citopatológico.

CONCLUSÃO

O câncer cervical continua com altas taxas de mortalidade em todo o mundo, apesar do progresso no diagnóstico e tratamento nas últimas décadas. Assim, é evidente a importância de qualificar e atualizar os profissionais sobre as condutas adotadas com relação à coleta do exame citopatológico para que ele continue efetivo como estratégia de rastreamento.

A coleta das amostras é um fator pré-analítico sabidamente interferente nos exames citopatológicos, e por isso os profissionais que atuam nessa área devem estar atentos às diretrizes estabelecidas para uma coleta adequada. Dessa forma, os resultados aqui descritos podem embasar futuros treinamentos dos profissionais envolvidos na coleta das amostras cervicais, com o objetivo da melhoria no desempenho da coleta e, conseqüentemente no exame.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. INCA. Colo do útero. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/definição. Acesso em 31/10/2018.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Caderno de referência 1: citopatologia ginecológica. Tiragem: 1a Edição – 2012. Brasília.
- Tuon FFB, et al. Avaliação da sensibilidade e especificidade dos exames citopatológico e colposcópico em relação ao exame histológico na identificação de lesões intraepiteliais cervicais. *Rev Assoc Med Bras*. 2002; 48(2): 140-4.
- Franco R, et al. Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006; 28(8): 479-85.
- Tavares SBN, et al. Controle da Qualidade em Citopatologia Cervical: Revisão de Literatura. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2007; 53(3): 355-364.
- Silva GPF, et al. O impacto da fase pré-analítica na qualidade dos esfregaços cervicovaginais. *RBAC*. 2017;49(2):135-40.
- Nayar R, Wibur DC. Sistema Bethesda para relato de citologia cervical. 3a ed. Rio de Janeiro: Livromed; 2015.
- Dallazem B, et al. Comparação de amostras citopatológicas cervicovaginais coletadas nas unidades básicas de saúde e em clínicas privadas no meio-oeste de Santa Catarina. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2018; 40(2): 86-91..
- Ughini FSO, Callil LN. Importância da qualidade da coleta do exame preventivo para o diagnóstico das neoplasias glandulares endocervicais e endometriais. *RBAC*. 2016;48(1):41-45.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Prevenção do colo do útero. Manual técnico para profissionais da Saúde. Brasília, 2002.
- Amaral RG, et al. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008; 30(11):556-60.
- Celasun B. Presence of endocervical cells and number of slides in cervicovaginal smears. Differences in performance between gynecologists. *Acta Cytol*. 2001; 45:730-4.
- Zambrano AS, González BM. Citología en base líquida: parámetros de eficacia. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2015; 75:187-99.
- Santos FAPS, et al. Exame Papanicolaou: avaliação da qualidade do esfregaço cervical. *Rev Rene*. 2011; 12(3): 645-8.
- Ramos NPD, Amorim JA, Lima CEQ. Câncer do colo do útero: influência da adequação da amostra cervical no resultado do exame citopatológico. *RBAC*. 2008; 40(3):215-8.
- Santos ML, Moreno MS, Pereira VM. Exame de Papanicolaou: qualidade do esfregaço realizado por alunos de enfermagem. *Rev Bras Cancerol*. 2009; 55:19-25.
- Mauney M, Eide D, Sotham J. Taxas de condiloma e displasia em Papanicolaou esfregaços com e sem células endocervicais. *Diagn Cytopathol*. 1990; 6:18-21.

Avaliação da performance do equipamento Sysmex XN em amostras liberadas sem revisão microscópica

Evaluation of Sysmex XN equipment performance on samples released without microscopic review

Luri Vicente Camargos Morkis¹, Gabriel Giron Correa¹, Fabiana Rodrigues Orso¹, Fabiane Kreutz de Oliveira Lemos¹, Suzane Dal Bo¹, Maria Carla Dania Barbosa¹, Mariane Felisberto¹, Claudia Rosa Cagliari¹, Alexandre Costa Guimarães², Liz Marina Bueno dos Passos Brum¹, Silvio Tasca¹, Luciana Scotti¹, Carine Ghem²

¹ Farmacêutico(a)-Bioquímico(a). Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

² Biomédico(a). Serviço de Diagnóstico Laboratorial, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Resumo

Introdução: A partir da evolução das automações hematológicas foi possível aumentar a produtividade laboratorial juntamente com a precisão dos resultados, diminuindo a necessidade de revisão microscópica. A revisão manual do esfregaço passou a ser indicada apenas em casos de contagens de células sanguíneas alteradas ou alarmes gerados pelo equipamento, que sinalizam possíveis alterações morfológicas dos tipos celulares. A taxa de revisão manual de lâminas afeta os custos do laboratório, a produtividade e o tempo de liberação dos laudos, sendo de grande importância a detecção da taxa de falsos negativos para avaliar a eficiência e segurança dos laudos liberados sem revisão microscópica. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o percentual de falsos negativos em hemogramas liberados sem revisão microscópica. **Métodos:** Foram selecionadas amostras liberadas sem revisão microscópica que não possuíam alarmes e estavam dentro dos critérios de liberação automática estabelecidos pelo laboratório. O esfregaço sanguíneo foi confeccionado e a revisão microscópica foi realizada. **Resultados:** Foram avaliadas 803 amostras, das quais 7,7% apresentaram resultados falsos negativos por apresentarem alguma alteração na série vermelha, branca ou plaquetária. Quando os falsos negativos foram avaliados de forma isolada quanto a sua alteração, encontramos 4,1% de falsos negativos referentes à série vermelha, 2,1% para a série leucocitária e 1,36% para a série plaquetária. **Conclusão:** O presente estudo avaliou o desempenho de três analisadores hematológicos utilizados na rotina laboratorial, não sendo evidenciada diferença significativa entre eles quanto ao número de falsos negativos, demonstrando desta forma o bom desempenho dos três analisadores.

Palavras-chave: Contagem de Células Sanguíneas; Microscopia; Equipamentos de Laboratório

Abstract

Introduction: With the evolution of hematological automation was possible to increase laboratory productivity along with the accuracy of the results, reducing the need for microscopic review. Manual smear review is indicated only in cases of altered blood cell counts or alarms generated by the equipment, showing possible morphological alterations of cell types. The manual slide review rate affects laboratory costs, productivity, and report release time, the detection of the false negative rate has a great importance to assess the efficiency and safety of reports released without microscopic review. The aim of this study was to evaluate the percentage of false negatives in blood counts released without microscopic review. **Methods:** Samples released without microscopic review, without alarms and based on automatic release criteria established by the laboratory were selected. The blood smear was taken and the microscopic review was performed. **Results:** A total of 803 samples were evaluated, 7.7% had false negative results due to some alteration in the red, white or platelet series. When false negatives are evaluated alone for their alteration, we found 4.1% of false negatives for the red series, 2.1% for the leukocyte series, and 1.36% for the platelet series. **Conclusion:** The present study evaluated the performance of three hematological analyzers used in the laboratory routine, was not observed significant difference between them regarding the number of false negatives, demonstrating the good performance of the three analyzers.

Keywords: Blood Cell Count; Microscopy; Laboratory Equipment

Correspondência

Carine Ghem

E-mail: cghem@hcpa.edu.br

Recebido em 08/06/2021 | Aprovado em 10/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202152

INTRODUÇÃO

A contagem de células sanguíneas e a contagem diferencial dos leucócitos são utilizadas para detectar anormalidades hematológicas e monitorar os pacientes em diversas condições clínicas. É um exame de urgência que deve ser rapidamente liberado para a equipe assistencial, mas que pode necessitar de avaliação microscópica quando há suspeita de alterações qualitativas ou quantitativas.⁽¹⁾ Este equilíbrio deve ser mantido pelo laboratório clínico, ao minimizar tanto os casos de falso negativos quanto revisões manuais desnecessárias.^(2,3)

A partir da automação em hematologia foi possível aumentar a produtividade laboratorial juntamente com a precisão dos resultados. Tecnologias como citometria de fluxo fluorescente melhoraram a distinção entre os tipos de leucócitos, o que diminuiu ainda mais a necessidade de revisão microscópica de amostras.^(4,5) A avaliação manual passou a ser indicada apenas em casos de contagens de células sanguíneas alteradas ou alarmes gerados pelo equipamento, que sinalizam possíveis alterações morfológicas dos tipos celulares.⁽⁶⁾

As orientações para critérios de revisão microscópica propostas pela International Society for Laboratory Hematology (ISLH) em 2004 foram avaliadas em diferentes contextos e as considerações divergiram, pois as taxas de falsos negativos e falsos positivos mostraram-se diferentes do esperado.^(3,7,8) Considera-se não aceitável uma taxa de falso negativo acima de 5%, pois amostras alteradas não seriam devidamente avaliadas e levariam a interpretações clínicas incorretas.^(3,7) Por outro lado, os critérios de revisão devem considerar também a produtividade laboratorial e o tempo de liberação dos resultados.

O analisador hematológico Sysmex XN (Sysmex, Kobe, Japan) é designado para melhorar a especificidade dos alarmes a partir de algoritmos que indicam a possibilidade de alterações na amostra analisada, além de maior sensibilidade em amostras pancitopênicas.^(3,9) A performance do analisador hematológico deve ser avaliada juntamente com os critérios de revisão manual de lâminas para a avaliação de falsos negativos, a fim de verificar quais tipos celulares estão mais sujeitos a erros na liberação dos resultados. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o percentual de falsos negativos em hemogramas liberados sem revisão microscópica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal prospectivo no período de 2017 a 2019 na unidade de Bioquímica Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Foram selecionadas 803 amostras processadas em três analisadores hematológicos Sysmex XN (Sysmex, Kobe, Japan), que não possuíam alarmes e estavam dentro dos critérios de liberação automática estabelecidos pelo laboratório (Tabela 1), ou seja, o hemograma foi liberado sem a revisão microscópica da lâmina. Para estes hemogramas foi confeccionado o esfregaço sanguíneo no equipamento Sysmex SP-10 e realizada a revisão microscópica por um profissional, no caso de discrepância nos resultados; um segundo profissional realizou a revisão microscópica para confirmação dos achados.

Os dados foram analisados utilizando o software SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences – Professional Statistics™). As variáveis numéricas estão descritas sob a forma de medianas e as variáveis categóricas estão descritas sob a forma de proporções. Os três analisadores hematológicos utilizados na rotina foram comparados utilizando o teste de Kruskal-Wallis; o teste do Qui-Quadrado foi utilizado para avaliar os falsos negativos entre os analisadores. Para todas as análises foi considerado um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). O presente estudo obteve aprovação do CEP (2017-0045).

RESULTADOS

Foram avaliadas 803 amostras, das quais 62 (7,7%) apresentaram resultados falsos negativos por apresentarem alguma alteração na série vermelha, branca ou plaquetária.

Tabela 1

Critérios numéricos utilizados para liberação sem revisão microscópica

Parâmetro	Valor Absoluto #
Leucócitos Totais	2.000 – 30.000
Hemoglobina	>7,0
VCM	>70 e <110
CHCM	30,5 - 37,5
Plaquetas	100.000 – 1.000.000
VPM	≤13,4
RDW	< 19,0
Neutrófilos	1.000 – 20.000
Monócitos	≤ 3.000
Basófilos	≤ 500
Linfócitos	≤ 5.000

Legenda: VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; VPM: volume plaquetário médio; RDW: amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos.

Observou-se maior número de falsos negativos nos pacientes internados (Tabela 2).

Quando os falsos negativos são avaliados de forma isolada quanto a sua alteração, podemos verificar que a maior parte dos achados de falsos negativos se refere à série vermelha (4,1%), sendo em sua maioria do achado de policromatofilia. Para a série leucocitária observamos um percentual de falso negativo de 2,1%, com predomínio do achado de presença de mielócitos no esfregaço sanguíneo. A série plaquetária correspondeu a 1,36% dos falsos negativos, com predomínio do achado de macroplaquetas (Tabela 3).

Tabela 2

Proporção de falsos negativos na amostra estudada.

Alterações de série branca, vermelha e plaquetária n=803		
	Verdadeiro Negativo	Falso Negativo
n (%)	741 (92,3%)	62 (7,7%)
n (%) internados/ambulatorio	392 (53%)/ 349(47%)	48 (77%)/14 (23%)

Tabela 3

Proporção de falsos negativos e achados na série vermelha, leucocitária e plaquetária.

	Verdadeiro Negativo	Falso Negativo
Série Vermelha		
n (%)	770 (95,59%)	33 (4,1%)
Policromatofilia		23 (69,69%)
Pecilocitose		7 (21,21%)
Hemácias fragmentadas		2 (6,06%)
Hemácias em alvo		6 (18,18%)
Drepanócitos		1 (3,03%)
Roleaux		2 (6,06%)
Série Leucocitária		
n (%)	786 (97,8%)	17 (2,1%)
Neutrófilo bastonado		4 (23,525%)
Mielócito		9 (52,94%)
Plasmócito		1 (5,88%)
Eosinófilo de 7%		1 (5,88%)
Linfócito com atipia nuclear		1 (5,88%)
Neutrófilo hipersegmentado		1 (5,88%)
Série Plaquetária		
n (%)	792 (98,64%)	11 (1,36%)
Macroplaquetas		9 (81,81%)
Agregação plaquetária		2 (18,18%)

Não foram observadas diferenças significativas entre leucócitos totais, hemoglobina e porcentagem de neutrófilos segmentados e o número de falsos negativos entre os três analisadores, como pode ser observado na Tabela 4.

Na Tabela 5 foi avaliado cada analisador e as suas ocorrências de falso negativo, e apesar de não haver diferença significativa entre os analisadores quanto aos falsos negativos, podemos observar um pior desempenho do analisador 2 na série branca, o que pode ser melhorado com um ajuste dos alarmes do equipamento em questão.

Tabela 4

Avaliação dos falsos negativos entre os analisadores hematológicos.

	Analisador 1 n=267	Analisador 2 n=265	Analisador 3 n=271	P
Leucócitos Totais	7,1 (5,6-10,8)	7,8 (5,9-11,5)	7,7(6,1-11,8)	*0,074
Hemoglobina	12,6(11,1-13,8)	12,1(10,7-13,3)	12,7(10,7-13,7)	*0,146
Neutrófilo Segmentado (%)	62,3(54-71)	64,8(55-74,8)	62,9 (55-73,5)	*0,137
Falso Negativo n (%)	19 (7,1%)	25 (9,4%)	19 (7,0%)	**0,501

Legenda: *Kruskal-Wallis, **Qui-quadrado

Tabela 5

Alterações encontradas nas séries vermelha, branca e plaquetária e o número de falsos negativos correspondentes por equipamento avaliado.

Série Vermelha	Série Branca	Série Plaquetária
Analisador 1		
n=20	n= 1	n=3
Policromatofilia Pecilocitose Fragmentação	Plasmócito	Agregação
Analisador 2		
n=8	n=13	n=6
Policromatofilia Eritrócitos em alvo Pecilocitose Drepanócitos Fragmentação	Bastões >10% 1% de mielócito 7% de eosinófilo Linfócito com atipia nuclear Neutrófilo hipersegmentado	Macroplaquetas Agregação
Analisador 3		
n=9	n=3	n=3
Policromatofilia Eritrócitos em alvo Roleaux	Bastões > 10% 1% de Mielócito	Macroplaquetas

DISCUSSÃO

A análise do esfregaço sanguíneo ainda se faz necessária para avaliar os achados que os algoritmos dos analisadores hematológicos não conseguem identificar, bem como para confirmar a morfologia celular quando anormalidades são detectadas, porém existe um grande interesse em reduzir o número de revisões dos esfregaços sanguíneos, sem comprometer a qualidade dos laudos liberados. A taxa de revisão manual de lâminas afeta os custos do laboratório, a produtividade e o tempo de liberação dos laudos, e nesse contexto a detecção da taxa de falsos negativos é importante para avaliar a eficiência e segurança dos laudos liberados.⁽⁶⁾

Nossos dados demonstraram um total de falsos negativos de 7,7%, devido a achados na série vermelha, branca e/ou plaquetária, valor acima do recomendado por Barnes et al.,⁽⁶⁾ que indica que o percentual de falsos negativos deve ser menor do que 5%. Uma taxa de falso negativo de 3% foi encontrada por Cui et al.⁽¹⁰⁾ e de 1,79% por Wang et al.,⁽¹¹⁾ porém essas taxas de falso negativo foram obtidas utilizando critérios de liberação e equipamentos diferentes dos utilizados em nosso estudo. Quando nossos resultados de falsos negativos são avaliados separadamente quanto às alterações encontradas, nosso estudo consegue atender a recomendação do percentual de falsos negativos inferior a 5% proposto por Barnes et al.⁽⁶⁾ Podemos verificar que a maioria dos achados de falsos negativos são referentes a série vermelha (4,1%), sendo em sua maioria o achado de policromatofilia. Uma revisão dos nossos critérios de liberação sem revisão microscópica da série vermelha poderia melhorar essa taxa de falsos negativos.

Na série leucocitária observamos um percentual de falso negativo de 2,1%, com predomínio do achado de presença de mielócitos no esfregaço sanguíneo. A série plaquetária apresentou 1,36% de falsos negativos, com predomínio do achado de macroplaquetas, estando de acordo com o recomendado por Barnes et al.,⁽⁶⁾ que indica que o percentual de falsos negativos deve ser inferior a 5%.

As limitações presentes neste estudo foram: não ser um estudo blindado, pois os profissionais tinham acesso aos dados dos analisadores, a revisão do esfregaço foi realizada somente por um profissional, no entanto todos os profissionais participantes têm extensa experiência em revisões de esfregaço sanguíneo, o que nos garante resultados consistentes.

CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou o desempenho de três analisadores hematológicos utilizados na rotina laboratorial buscando encontrar alguma discrepância entre eles quanto ao número de falsos negativos, o que poderia sugerir um possível ajuste em cada equipamento. Esses analisadores foram comparados frente ao número de leucócitos totais, hemoglobina e percentual de neutrófilos segmentados, não havendo diferença significativa entre eles para as dosagens e contagem e também quanto ao número de falsos negativos. Nosso percentual de falsos negativos encontra-se de acordo com demais estudos publicados, quando as alterações de série branca, vermelha e plaquetária são avaliadas de forma isolada, demonstrando desta forma o bom desempenho dos três analisadores hematológicos.

REFERÊNCIAS

1. Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med*. 2005;353(5):498-507.
2. Novis DA, Walsh M, Wilkinson D, St Louis M, Ben-Ezra J. Laboratory productivity and the rate of manual peripheral blood smear review: a College of American Pathologists Q-Probes study of 95,141 complete blood count determinations performed in 263 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130(5):596-601.
3. Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R. Evaluation of criteria of manual blood smear review following automated complete blood counts in a large university hospital. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2017;39(4):306-17.
4. Arnetz BM, Menschikowki M. Technology and new fluorescence flow cytometry parameters in hematological analyzers. *J Clin Lab Anal*. 2015;29(3):175-83.
5. Kweon OJ, Lee MK, Kim HR. Evaluation of the Flagging Performance of the Hematology Analyzer Sysmex XN Series on the Basis of "Q Values". *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(1):83-8.
6. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E, hematology icgf. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol*. 2005;11(2):83-90.
7. Pipitone S, Germagnoli L, Da Rin G, Di Fabio A, Fanelli A, Fiorini F, et al. Comparing the performance of three panels rules of blood smear review criteria on an Italian multicenter evaluation. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(6):645-52.
8. Gulati G, Song J, Florea AD, Gong J. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med*. 2013;33(1):1-7.
9. Furundarena JR, Sainz M, Uranga A, Cuevas L, Lopez I, Zubicaray J, et al. Comparison of abnormal cell flagging of the hematology analyzers Sysmex XN and Sysmex XE-5000 in oncohematologic patients. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(1):58-67.
10. Cui W, Wu W, Wang X, Wang G, Hao YY, Chen Y, et al. Development of the personalized criteria for microscopic review following four different series of hematology analyzer in a Chinese large scale hospital. *Chin Med J (Engl)*. 2010;123(22):3231-7.
11. Wang X, Ge P, Zhao X, Chen C, Hu S, Ren L. Establishment of improved review criteria for hematology analyzers in cancer hospitals. *J Clin Lab Anal*. 2021;35(2):e23638.

Practice patterns of the use of antimicrobial agents in an Intensive Care Unit

Estudo do padrão das práticas de uso de antimicrobianos em Unidade de Terapia Intensiva

Guilherme Eduardo da Silva Ribeiro¹, Analucia Rampazzo Xavier², Salim Kanaan², Jocemir Ronaldo Lugon³

¹ Post-graduation program of Medical Sciences of the Medical School of Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

² Department of Pathology, Medical School of Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

³ Nephrology Division, Department of Medicine, Medical School of Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil.

Abstract

What is known and objective. The rational use of antimicrobials is part of good clinical practice and can maximize therapeutic efficacy and reduce the selection of resistant pathogens. We aimed to describe the patterns of antimicrobial use in an intensive care unit (ICU) of a public hospital. *METHODS.* A descriptive, observational, retrospective study of antimicrobial use patterns in the twenty-four months prior to the covid-19 pandemic. Data were collected from patients' charts in a public state hospital, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Patients of both sexes (18-65 years) were included, and cases under immunosuppression were excluded. *Results and Discussion.* One hundred sixty-five patients were enrolled (46±14 years, 69.7% male). Stroke was the most prevalent cause of admission (24.8%), and the most frequent comorbidity, hypertension (59.3%). Clinical specimens for culture were collected from 71 patients, with 74.6% positivity. Gram- microorganisms accounted for 76.6% of isolates from the first specimens collected and multiresistant germs, for 41.5%. Monotherapy, as an initial antimicrobial regimen, was used in 69% of cases. Cephalosporins (29.7%) and penicillins with inhibitors of β -lactamases (25.4%) were the most used. Exposure to a previous antimicrobial regime did not influence the resistance profile of the isolated microorganisms. The death rate was 43.6%. The APACHE II score and exchange of the antimicrobial regimen in less than 96 hours were factors independently associated with increased mortality. In contrast, C-reactive protein decrease correlated with reduced mortality. *What is new and conclusion.* Our findings suggest that the more rational use of antimicrobials, based on the knowledge of the local microbiota, can be a valuable tool for optimizing costs and reducing mortality in intensive care.

Keywords: Intensive care unit; antimicrobials; Bacterial resistance; clinical pharmacy.

Resumo

Objetivo: Descrever o padrão de uso dos antimicrobianos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) de um hospital público. *Métodos:* Estudo descritivo, observacional, retrospectivo dos padrões de uso de antimicrobianos, nos últimos 24 (vinte e quatro) meses anteriores a pandemia de covid-19, com coleta de dados dos prontuários dos pacientes na UTI do Hospital Estadual Getúlio Vargas, Rio de Janeiro-RJ, de 37 leitos. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, de 18 a 65 anos, e excluídos os casos com imunossupressão. *Resultados:* Foram arrolados 165 pacientes. A mediana de idade foi 47 anos e homens representaram 69,7%. A enfermidade mais prevalente na admissão foi o acidente vascular cerebral (24,8%) e a comorbidade, a hipertensão arterial (59,3%). Gram-negativos representaram 76,6% na primeira amostra coletada; germes multirresistentes, 41,5%. Monoterapia, como esquema antimicrobiano inicial foi usada em 69% dos casos; cefalosporinas (29,7%) e penicilinas com inibidores de β -lactamases (25,4%), os mais utilizados. Espécimes clínicos para cultura foram coletadas em 71 pacientes, com 74,6% de positividade. Exposição a um regime antimicrobiano prévio não teve influência sobre o perfil de resistência dos microrganismos isolados. No geral, a terapia antimicrobiana empírica inicial proporcionou cobertura completa dos microrganismos isolados em 42% dos casos. A taxa de óbitos na UTI foi 43,6%. APACHE II, variação da proteína c-reativa, e troca do regime antimicrobiano em menos que 96h foram fatores independentemente associados com a mortalidade na UTI. *Conclusão:* Nossos achados sugerem que o uso mais racional de antimicrobianos, com base no conhecimento da microbiota local possa ser um importante instrumento para otimização dos custos e redução da mortalidade em terapia intensiva.

Palavras-chave: Unidade de terapia intensiva; antimicrobianos; resistência bacteriana; farmácia clínica.

Correspondência

Guilherme Eduardo da Silva Ribeiro

E-mail: guilhermeeduardo@id.uff.br

Recebido em 14/07/2022

Aprovado em 23/11/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202300097

INTRODUCTION

Judicious, careful, and rational use of antimicrobials is an integral part of good clinical practice. This attitude maximizes the utility and therapeutic efficacy of treatment by minimizing both the risks associated with emerging infections and the selection of resistant pathogens. The indiscriminate and excessive use of antimicrobials seems to be the most significant factor in the emergence of resistant microorganisms in recent years,⁽¹⁾ endangering one of the pillars of modern medicine, antibiotic therapy, and the sustainability of an effective response to treatment.

In terms of nosocomial infection, the problem is more relevant in the intensive care unit (ICU).⁽²⁾ In this environment, the patient is exposed to the risk of infection, given his clinical condition and the coexistent comorbidities. Recent data suggest that 51% of patients admitted to an intensive care unit are infected, and 70% receive antimicrobial therapy.⁽²⁾ Also, 30% to 60% of antimicrobials prescribed in intensive care units may be unnecessary, inappropriate, or not optimized.⁽³⁾ In a hospital environment, antimicrobials affect not only the patient but also the hospital's environmental microbiota. Decreased resistance rates accompany the use of measures to reduce the use of antimicrobials. The primary difficulty in implementing these measures is to promote changes in prescribing practices.⁽⁴⁾ Intensive care units are often considered as the epicenter of antimicrobial resistance.

In this regard, detailed reports about the practice patterns of antimicrobial use in Brazilian health institutions are scarce. In the present study, we evaluated the patterns of antimicrobial use in an intensive care unit of a state public hospital in the city of Rio de Janeiro, focusing on the drugs used, microbiological aspects, and its relationship with death in the unit.

METHODS

This is a descriptive, observational, retrospective study addressing patterns of antimicrobial use in the intensive care unit (ICU) of a tertiary public state hospital located in the capital of the state of Rio de Janeiro. The ICU of the hospital has 37 beds attending a great variety of conditions, including cerebrovascular diseases, trauma, neurosurgery disorders, and other postoperative states, and complications of clinical or surgical disorders affecting hospitalized patients. Data were collected from the medical records in the documentation section. Consecutive adult patients (from

18 to 65 years) admitted to the ICU in the twenty-four months prior to the COVID-19 pandemic were enrolled to avoid non-adults and elderly individuals legally, according to the World Health Organization precepts.⁽⁵⁾ Patients seropositive for human immunodeficiency virus (HIV) or in the use of immunosuppressive agents were excluded. The Research Ethics Committee of the Medical School under CAAE number 23737713.7.0000.5243 approved the project.

The following data were collected: gender, age, diagnosis of admission and comorbidities, first therapeutic choice of antimicrobials, change of antimicrobial regimen in less than 96 hours, prior use of antimicrobials in a hospital environment within the last three months before ICU admission, and results of bacterioscopy and culture (Genus and species of the isolated microorganisms were determined). Also collected were the APACHE II prognostic index, patients' outcome (discharge or death), and selected laboratory information by the time of ICU admission (serum levels of urea, creatinine, and C-reactive protein).

Their pharmacological class classified antimicrobials used in clinical practice. Multiple drug resistance (MDR) was defined as no-susceptibility to at least one antimicrobial of three or more groups of antimicrobial agents.⁽⁶⁾ The variation in the serum levels of C-reactive protein was calculated as the difference between the value of the last ICU determination and the first value obtained at ICU entrance.

STATISTICAL ANALYSIS

Continuous variables were expressed as median and range. Categorical variables were expressed as frequencies. Differences between frequencies were analyzed by the chi-square test. Associations were tested in a logistic regression model using the "Enter" method in which the predictive variables were selected on clinical grounds. P values <0.05 were considered significant. Statistical analyses were performed using SPSS, version 18.0 for Windows (Chicago, IL, USA).

RESULTS

Of 369 patients initially enrolled, 165 met the inclusion criteria. The exclusion was due to age over 65 years (134), age under 18 years (25), medical records with insufficient information (28), HIV positive (11), and other diseases associated with immunosuppression (6). Table 1 contains the general characteristics of the population selected for the study.

Table 1

General characteristics of the population (N=165)

Male gender, f (%)	115 (69.7)
Age (years)	47 (18 – 65) ^a
Admission diagnosis, f (%)	
Stroke	41 (24.8)
Accute breathing insufficiency	9 (5.5)
Gunshot wounds	13 (7.9)
Community Acquired Pneumonia	6 (3.6)
Polytrauma	11 (6.7)
Postoperative	14 (8.5)
Sepsis	13 (7.9)
Head injury	12 (7.3)
Head injury + Polytrauma	33 (20.0)
Others	13 (7.9)
Comorbidities / risk factors, f (%)	
Heart disease	6 (5.3)
<i>Diabetes mellitus</i>	33 (29.2)
Chronic kidney disease	29 (25.7)
Ethylism	17 (15.0)
Arterial hypertension	67 (59.3)
Obesity	5 (4.4)
Smoking	9 (8.0)
Illicit drug use	3 (2.7)
Use of antimicrobials before admission	133 (80.6)
Urea ^b (mg/dL)	49.0 (12.0 – 245.0)
Creatinine ^b (mg/dL)	1.10 (0.30 – 9.50)
CRP ^b (mg/L)	165.7 (3.0 – 486.3)
Axillary temperature ^b (°C)	37.3 (34.8 – 39.5)
Apache II ^b	20 (5 – 41)
Death in intensive care unit, f (%)	72 (43.6)

^a Median (range); ^b On admission.

CRP = C-reactive protein.

Approximately 70% of the cases were male. The median age was 47 years. Stroke and traumatic brain injury in association with polytrauma were the two major causes of admission to the intensive care unit. Among the comorbidities/risk factors, we found a higher prevalence of hypertension and diabetes. The use of antimicrobials before admission was approximately 80%. The median serum levels of creatinine and urea at admission were close to normal, but the range of values was wide for both parameters. The median C-reactive

protein was substantially elevated at admission. At the end of the observation period, the values of this variable were high in 31.5% of patients (data not shown in the table). The median APACHE II score at admission was 20. The death rate in the intensive care unit was 43.6%.

The highest death rates were observed in firearm-related injuries (69.2%) and postoperative cases (64.3%), mostly exploratory laparotomy in cases of trauma or firearm-related injuries; in contrast, the lowest death rates were recorded in cases of polytrauma (18.2%) and traumatic brain injury (16.7%) (data not shown in the table).

Clinical specimens were collected from 71 patients (43%), with the recovery of microorganisms from 53 ones (~75%), and a total of isolated strains of seventy-seven. One microorganism was isolated in 56.6% of the specimens, two in 41.5%, and three in 1.9%. The isolated microorganisms, as well as the specimen collection and the positivity in the first seventy-one samples, are detailed in Table 2. Tracheal secretion was the most common clinical specimen (n = 33), with growth in 94% of the samples; blood cultures (n = 17) were positive in 59% of cases. Gram-negative germs accounted for 77% of isolates in the first collected samples. *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* were the most frequent isolates. Among the Gram-positive microorganisms, *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus sp* predominate. When cultures of the 22 samples with two microbial strains growing were examined, 2 Gram-negative strains grew in 72.7%, one Gram-negative and one Gram-positive in 18.2%, and 2 Gram-positive ones in 9.1% (data not in the table).

Table 3 shows the initial antimicrobial regimens in the studied cases. Twenty different drugs were used. Antimicrobials belonging to cephalosporin and penicillin groups associated with β -lactamase inhibitors were the most used as the first choice. Antimicrobials were prescribed as monotherapy in 69% of the cases. When a combination therapy was used, a carbapenem in association with a glycopeptide was the first choice.

Among the studied subjects with a positive growth of microorganisms in the collected specimen, most (62%) had used some antimicrobial regimen in a hospital setting within ninety days before admission, Table 4. The resistance profile of patients with prior antibiotic therapy was not different from the ones not exposed to such drugs.

The resistance patterns of the most frequently isolated germs in the unit are shown in Figure 1. The adequacy of the first antimicrobial regimen prescribed according to the admission

diagnosis is shown in Table 5. Overall, complete coverage of isolated microorganisms was only seen in 42% of cases.

Finally, a multivariate logistic regression analysis was performed to determine the factors associated with mortality

in the intensive care unit, Table 6. Of the factors analyzed, only APACHE II scores, early antimicrobial regimen replacement or suspension, and elevated CRP were found to be factors independently associated with death in the ICU.

Table 2

Microorganism isolates in the various clinical specimens collected for culture (N=71).

Clinical specimen	Tracheal	Blood	CVC	Urine	CSF	Peritoneal	Skin swab
	33 / 94 ^a	17 / 59	12 / 67	5 / 40	2 / 0	1 / 100	1 / 100
<i>Acinetobacter</i> sp	6 (13) ^b	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7 (15)	2 (13)	4 (36)	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i> sp	-	-	1 (9)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	3 (7)	1 (7)	-	1 (50)	-	1 (50)	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6 (13)	-	2 (18)	-	-	1 (50)	-
<i>Proteus penneri</i>	1 (2)	-	1 (9)	-	-	-	-
<i>Proteus</i> sp	-	-	1 (9)	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 (33)	-	2 (18)	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	2 (4)	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i> sp (CNS)	-	8 (53)	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (9)	4 (27)	-	1 (50)	-	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2 (4)	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	1 (100)

CVC= Central venous catheter; CSF= Cerebrospinal fluid; ^a n collected / % of positivity; ^b n (%) of the isolates. The number of isolated germs exceeds that of samples due to polymicrobial growth in some trachea, blood and peritoneal samples.

Table 3

Initial antimicrobial agents in the 165 cases studied

	n(%)
Monotherapy, 69%	
Cephalosporins	49(30)
Cefazolin / Cefepime / Ceftriaxone /	23(47) / 22(45) / 4(8)
Penicillin / β-Lactamase I	42(25)
Pipe-tazo / Amoxi-clavu	30(71) / 12(29)
Carbapenems	11(5)
Meropenem / Imipe-cilast / Ertapenem	6(55) / 3(27) / 2(18)
Fluoroquinolones	8(5)
Levofloxacin / Cipro	5(62) / 3(38)
Macrolids , Azithromycin	1(1)
Glycopeptides , Vancomycin	1(1)
Nitroimidazoles , Metronidazole	1(1)
Polymyxins , Polymyxin B	1(1)

Table 2 (continuation)

	n(%)
Combination Therapy, 31%	
Carbapenems + Glycopeptides	11(7)
Meropenem + Vancomycin / Imipe-cilast + Vancomycin	8(73) / 3(27)
Cephalosporins + Lincosamides	7(4)
Ceftriaxone + Clindamycin / Cefepime + Clindamycin	3(43) / 4(57)
Fluoroquinolones + Nitroimidazoles, Cipro + Metronidazole	6(4)
Penicillin Antibiotic / β-Lactamase I + Glycopeptides	5(3)
Pipe-tazo + Vancomycin	5(100)
Penicillin / β-Lactamase I + Aminoglyc	4(2)
Pipe-tazo + Amikacin	4 (100)
Carbapenems + Glycopeptides + Triazolics	4(2)
Meropenem + Vancomycin + Fluconazole	2(50)
Imipe-cilast + Vancomycin + Fluconazole	2(50)
Cephalosporins + Macrolides	3(2)
Cefepime + Azithromycin / Ceftriaxone + Clarithromycin /	1(33) / 1(33) /
Cefepime + Clarithromycin	1(33)
Glycopeptides + Aminoglyc	2(1)
Vancomycin + Amikacin	2(100)
Cephalosporins + Aminoglyc	2(1)
Cefazolin + Gentamicin	1(50)
Ceftazidime + Amikacin	1(50)
Cephalosporins + Glycopeptides, Cefepime + Vancomycin	2(1)
Penicillins + Nitroimidazoles, Oxacillin + Metronidazole	1(1)
Penicillin / β-Lactamase I + Cephalosporins	1(1)
Pipe-tazo + Cefepime	1(100)
Carbapenems + Triazoles, Meropenem + Fluconazole	1(1)
Carbapenems + Glycopeptides + Aminoglyc	1(1)
Imipe-cilast + Vancomycin + Amikacin	1(100)
Carbapenems + Glycopeptides + Aminoglyc + Triazolics	1(1)
Imipe-cilast + Vancomycin + Amikacin + Fluconazole	1(100)

I= inhibitor; Pipe-tazo= piperacillin-tazobactam; Amoxi-clavu= amoxicillin clavulanate;

Imipe-cilast=Imipenem-cilastatin; Cipro=ciprofloxacin; Aminoglyc=Aminoglycosides

Table 4

Resistance patterns of 77 isolated germs in the first specimen collected from patients taking into consideration the prior use of antimicrobial agents in a hospital setting within the last 90 days prior to admission.

Resistance	Antimicrobial agents prior to admission			
	No		Yes	
	n	%	n	%
Without resistance	7	47	34	55
Resistance to up to 2 groups	3	20	6	10
Resistance to > 2 up to 7 groups	5	33	22	35
Resistance to 8 or more groups	-	-	-	-
Total	15	100	62	100

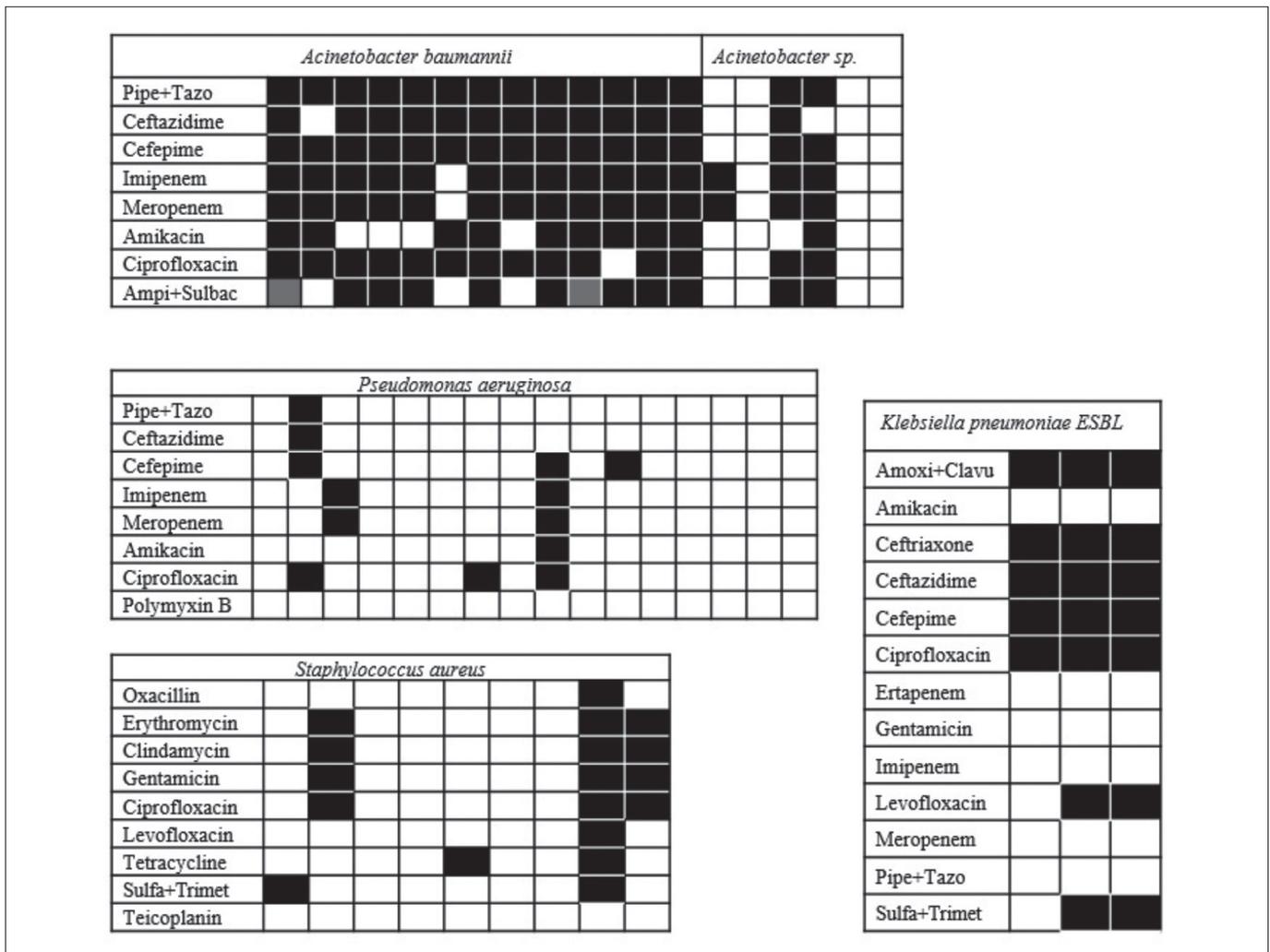


Figure 1

Resistance profile of the most frequently isolated germs in the unit. Pipe + Tazo = Piperacillin + Tazobactam; Ampicillin + Sulbac = Ampicillin + sulbactam; Sulfa + Trimet = Sulfamethoxazole + trimethoprim; K.pneumoniae ESBL = extended spectrum beta-lactamase producing Klebsiella pneumoniae; Amoxy + Clavu = Amoxicillin + Clavulanate. Black square = resistant; Empty square = sensitive; gray square = partially sensitive.

Table 5

Adequacy of the first antimicrobial scheme prescribed, according to the admission diagnosis.

Admission diagnosis	N	Full coverage	
		f	f%
Stroke	14	6	43
Firearm projectile injuries	5	3	60
Accute breathing insufficiency	2	2	100
Others*	6	-	-
Community pneumonia	1	1	100
Polytrauma	3	-	-
Postoperative	2	2	100
Sepsis	3	-	-
Head injury	3	-	-
Head injury + polytrauma	14	8	57
All	53	22	42%

* Exogenous poisoning (n = 3), Tetanus (n = 1), Drowning (n = 1), and Acute myocardial infarction (n = 1).

Table 6

Multivariate logistic regression model to test association of selected variables with mortality in intensive care unit

	OR	CI 95%	P
Male gender	0.79	0.33 - 1.85	0.588
APACHE II (on admission)	1.11	1.03 - 1.19	0.005
Admission diagnosis	0.94	0.85 - 1.13	0.380
Antimicrobial regime change in < 96 h	2.69	1.30 - 6.55	0.012
Previous use of antimicrobial agents	0.92	0.34 - 2.63	0.859
C-reactive protein elevation, 10 x mg / l	3.27	1.04 - 1.14	0.005

The MDR variable did not enter the logistic regression model because this information was only available in the 53 cases (the ones in which there was microorganism growing in the specimen collected). In a univariate analysis, however, no difference was found in the death rate between patients with and without MDR germs (31.8% vs. 32.3%, $P = 0.923$) (data not in table).

DISCUSSION

The rational use of antimicrobials should be an integral part of good clinical practice. To better understanding the practice patterns of the use of antimicrobial agents in our health care system, we decided to study the use of this class

of drugs in an intensive care unit of a public state hospital in Rio de Janeiro. Through the review of the medical records, we obtained data from the last two years of operation of the unit and extended the information collection to include microbiological studies and mortality data.

Our sample consisted predominantly of men (~ 70%), with a median age of 47 years (18-65 years). This demographic profile, with a predominance of relatively young men, is different from that reported in developed countries^(7,8) and even in some Brazilian studies^(9,10) and is probably due to the characteristics of the studied hospital that mainly deals with trauma and firearm accidents, besides being a reference for cases of complex neurological disorders. Thus, admissions for stroke and traumatic brain injury were the most prevalent. The most frequent comorbidity was hypertension that was present in ~60% of patients, a number considerably higher than the 28.7% cited in a systematic review published in 2012.⁽¹¹⁾ The use of antimicrobials before admission was high (81%) and can be accounted for in part by the nature of the disorders that mainly included incidents related to urban violence. The markedly high levels of C-reactive protein found on admission (greater than ten times the upper limit of the reference values) directly reflect the intensity of the inflammatory processes usually associated with severe infection conditions.^(12,13) The median APACHE II was 20, in line with the severity of the patients included in the study.

In the present study, the death rate found was 43.6%. Numbers about this parameter in intensive care units vary according to the nature of the hospital unit, but the values of our study are comparable to the ones reported in some parts of Brazil and Europe.^(14,15) The highest death rates were found in patients admitted for injuries caused by firearm projectiles (69.2%) and postoperatively (64.3%) that mostly corresponded to exploratory laparotomies addressing injuries related to traffic accidents and firearms. This context is primarily due to urban violence in the city of Rio de Janeiro, especially in the neighborhoods adjacent to the location of the hospital in question.

Tracheal secretion was the most frequently collected sample with a high percentage of microbiological growth. Due to the severity of the patients, invasive ventilatory support was widely used, favoring contamination of the respiratory tract. The second more frequent specimen, blood culture, showed a 59% positivity, a percent relatively high, compared to a similar study that reported 26.3%.⁽¹⁶⁾

In the processing of samples for microbiological identification, there was a high prevalence of Gram-negative

germs (77%), in line with the literature.⁽¹⁷⁾ In this group, non-fermenting bacilli (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter sp.*) accounted for 61% of the isolated germs. Among the Gram-positive microorganisms (23%), *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus sp. negative coagulase* were the most isolates.

Regarding the first-choice antibiotics, monotherapy regimens (69%) prevailed upon the polytherapy ones (31%). In a recent study using mathematical modeling, the superiority of the combined antimicrobial regimen against monotherapy was reported.⁽¹⁸⁾ Our study showed that the most prescribed antimicrobial groups as the first choice of treatment were cephalosporins (49%) and penicillins in combination with β -lactamases inhibitors (42%). In a study published in 2012, conducted at a public university hospital in the state of Paraíba, there was also a predominance of cephalosporins.⁽¹⁹⁾ A carbapenem plus glycopeptide association was the most commonly prescribed. Noteworthy is the multiplicity of therapeutic options adopted as the first-choice treatment, which included 20 different drugs, probably due to the lack of an antibiotic protocol in the intensive care unit.

Prior use of antimicrobials is thought to have a substantial effect on the patient's microbiota ecology, which can lead to infection by high-risk resistant strains.⁽²⁰⁾ In the present study, however, the resistance profile of isolated microorganisms was not statistically different between the group that did and did not use antimicrobials within the last ninety days before ICU admission. Our findings contrast with the results of a study from 2017, in which multiresistant microorganisms were more frequent in the group of patients who used previous antimicrobial regimen.⁽²¹⁾ We could not find a definitive explanation for this incongruity, but some factors may have contributed to the observed differences. Firstly, due to the severity of cases admitted to the hospital emergency, patients often required intensive treatment soon after antibiotic therapy was started, reducing the exposure time and the chance of selection of resistant strains. Secondly, the information provided by patients or close relatives about the use of antimicrobials in the period mentioned above was incomplete. Finally, an interconnected electronic medical record in the public health network that could provide more reliable information regarding past events was not available.

In the present study, the most frequently isolates exhibited high resistance profiles. All isolates of *Acinetobacter baumannii* expressed a multi-resistance phenotype (MDR), in line with a 2017 report, in which 97.8% of clinical isolates of this microorganism had such profile.⁽²²⁾ Perhaps more

important, it was found that 4 of the strains (31%) were resistant to all antimicrobials tested, a finding that approaches the 29% reported by other authors in 2016.⁽²³⁾ The pattern of resistance of the strains of *Acinetobacter sp.* was slightly better with 33% MDR. Of the sixteen isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, two had a multidrug resistance profile; of the nine isolates of *Klebsiella pneumoniae*, three strains (33.3%) expressed a multi-resistance phenotype (extended-spectrum β -lactamases - ESBL producers). In a study published in 2016, 36% of patients admitted to emergency departments at two university hospitals in the city of Singapore were colonized with ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* strains.⁽²⁴⁾ Carbapenems are the therapy of choice for the treatment of serious infections caused by these microorganisms;⁽²⁵⁾ however, piperacillin-tazobactam may be an effective alternative antimicrobial, allowing to reduce selective pressure.⁽²⁶⁾ Consistent with this observation, all extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in the present study were sensitive to piperacillin-tazobactam. For the nine isolates of *Staphylococcus aureus*, only one showed oxacillin resistance (MRSA). This result allows us to calculate that the prevalence of MRSA in the intensive care unit studied was 1.3%, well below the 4.1% cited in a meta-analysis of international data.⁽²⁷⁾

Overall, the percentage of adequate coverage of the first antimicrobial regimen (based on the result of the antimicrobial susceptibility testing - AST) was 42%. Importantly, in admissions for sepsis, polytrauma, traumatic brain injury, polytrauma, and "others", complete coverage of microorganisms by the empirical antimicrobial scheme was null. In a study published in 2012, an even higher percentage of inappropriate initial antimicrobial therapy was reported in patients with polymicrobial infection.⁽²⁸⁾ This same trend was observed in our study, but statistical significance was not achieved (46.7% vs. 34.8%, $P = 0.384$), perhaps due to the small size of our sample.

In the present study, the death rates in the intensive care unit were not different among patients infected or not with multidrug-resistant microorganisms. The severity of the patients included in the study may have been a confounding factor leading to this result. In a previous study, it was concluded that the impact of multidrug-resistant microorganism infection might vary according to the population studied, the type of infection, and the appropriateness of therapy. Authors comment that conclusions made before considering potential confounders can be premature and potentially mistaken.⁽²⁹⁾

In the multivariate logistic regression model, the patients with the highest probability of ICU death were those with the highest APACHE II score, those who underwent an antimicrobial regime change in less than 96h and those with the highest variation between the final and initial values of C-reactive protein. The APACHE II score is widely used in intensive care units as a means to assess and classify disease severity and is consolidated as a tool for estimating the likelihood of death.⁽³⁰⁾ The positive association of the APACHE II score and death in the present study indicates that, despite the difficulties encountered in collecting data from medical records, we were able to obtain consistent information.

C-reactive protein is perhaps the most commonly used biomarker of infection in critically ill patients and has been studied in adults and children.⁽³¹⁾ In line with our findings, a previous study reported that elevated serum c-reactive protein concentrations were correlated with an increased risk of organ failure and death.⁽³²⁾ Appropriate initial empirical antimicrobial regimen influences morbidity and mortality of hospitalized patients.⁽²⁰⁾ Early change of antimicrobial regimen, possibly due to the recognition of inadequate initial empirical regimen, had a significant impact on mortality in the present study and was associated with an almost 3-fold increased risk of death. In 2016, when the authors studied a subgroup of patients with candidemia, the probability of death was three times higher among those who started an inadequate empirical antimicrobial regimen.⁽³³⁾ Our data reinforce the concept that more rational antibiotic therapy, based on knowledge of the local microbiota, can be a valuable tool for reducing intensive care mortality.

Our study has limitations among them, a relatively small sample derived from a single-center, which recommends caution in interpreting negative data and makes it difficult to generalize the conclusions.

CONCLUSION

The present study analyzed the practice patterns of use of antimicrobials in a public hospital intensive care unit in Rio de Janeiro. The initial prescription depended on the clinical experience of the attending physicians - there was no standardization for requesting cultures of the clinical specimens. Noteworthy is the wide variety of drugs used and inadequate initial antimicrobial coverage in 58% of cases. The MDR profile was present in 41.5% of the isolates, including *Acinetobacter baumannii*. The APACHE II score, C-reactive

protein variation, and antimicrobial regimen change within a time interval of less than 96h were factors independently associated with intensive care unit mortality. Our findings suggest that more rational use of antimicrobials based on knowledge of the local microbiota may be a valuable tool for cost optimization and mortality reduction in intensive care.

REFERENCES

1. Cook MA, Wright GD. The past, present, and future of antibiotics. *Science Translational Medicine*. p. eabo7793, 2022;657(14):1-2.
2. Roberts JA, Paul SK, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, Dimopoulos G, et al. DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin Infect Dis*. 2014;58(8):1072-1083.
3. Luyt CE, Bréchet N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Crit Care*. 2014;18(5):480.
4. Vitrat V, Hautefeuille S, Janssen C, Bougon D, Sirodot M, Pagani L. Optimizing antimicrobial therapy in critically ill patients. *Infect Drug Resist*. 2014;7:261-271.
5. World Health Organization. Promoting rational use of medicines: Core components. In WHO policy perspectives on medicines, 5. Geneva: WHO; 2002.
6. Šámal V, Paldus V, Fáčková D, Mečl J, Šrám J. The prevalence of antibiotic-resistant and multidrug-resistant bacteria in urine cultures from inpatients with spinal cord injuries and disorders: an 8-year, single-center study. *BMC Infect Dis*. 2022;22(1):239.
7. Girardis M, Busani S, Damiani E, Donati A, Rinaldi L, Marudi A, et al. Effect of Conservative vs Conventional Oxygen Therapy on Mortality Among Patients in an Intensive Care Unit: The Oxygen-ICU Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016;316(15):1583-1589.
8. Casamento A, Bailey M, Robbins R, Pilcher D, Warrillow S, Ghosh A, et al. Patient characteristics, incidence, technique, outcomes and early prediction of tracheostomy in the state of Victoria, Australia. *J Crit Care*. 2018;44:278-284.
9. Zampieri FG, Soares M, Borges LP, Salluh JIF, Ranzani OT. The Epimed Monitor ICU Database®: a cloud-based national registry for adult intensive care unit patients in Brazil. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2017; 29(4):418-426.
10. Pereira BM, Pereira RG, Wise R, Sugrue G, Zachrisson TL, Dorigatti AE, et al. The role of point-of-care ultrasound in intra-abdominal hypertension management. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2017;49(5):373-381.
11. Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(10):e48255.
12. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-1812.
13. Landry A, Docherty P, Ouellette S, Cartier LJ. Causes and outcomes of markedly elevated C-reactive protein levels. *Can Fam Physician*. 2017; 63(6):e316-e323.
14. França CDM, Albuquerque PR, Santos ACBC. Perfil epidemiológico da unidade de terapia intensiva de um Hospital Universitário. *Revista InterScientia [S.l.]*. 2013;1(2):72-82.
15. Weigl W, Adamski J, Goryński P, Kański A, Hultström M. Mortality rate is higher in Polish intensive care units than in other European countries. *Intensive Care Med*. 2017; 43(9):1430-1432.
16. Moraes RB, Guillén JAV, Zabaleta WJC, Borges FK. Descalonamento, adequação antimicrobiana e positividade de culturas em pacientes sépticos: estudo observacional. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2016;28(3):315-322.

17. Chelazzi C, Pettini E, Villa G, De Gaudio AR. Epidemiology, associated factors and outcomes of ICU-acquired infections caused by Gram-negative bacteria in critically ill patients: an observational, retrospective study. *BMC Anesthesiol.* 2015;15:125.
18. Tepekule B, Uecker H, Derungs I, Frenoy A, Bonhoeffer S. Modeling antibiotic treatment in hospitals: A systematic approach shows benefits of combination therapy over cycling, mixing, and mono-drug therapies. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(9):e1005745.
19. Nóbrega RC, Batista LM, Ribeiro NKR. Perfil de utilização de anti-infecciosos e interações medicamentosas potenciais em unidade de terapia intensiva. *Rev Bras Farm Hosp Serv Saúde.* 2012;3(3):28-32.
20. Ulldemolins M, Nuvials X, Palomar M, Masclans JR, Rello J. Appropriateness is critical. *Crit Care Clin.* 2011;27(1):35-51.
21. Ishida T, Ito A, Washio Y, Yamazaki A, Noyama M, Tokioka F, et al. Risk factors for drug-resistant pathogens in immunocompetent patients with pneumonia: Evaluation of PES pathogens. *J Infect Chemother.* 2017;23(1):23-28.
22. Raro OHF, Gallo SW, Ferreira CAS, Oliveira SD. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* contamination in an intensive care medicine. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2017;50(2):167-172.
23. Rivera G, Bulnes J, Castillo C, Ajenjo MC, Garcia P, Labarca J. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in a university hospital: role of inter-hospital transmission. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10(1):96-99.
24. Ng TM, Khong WX, Harris PNA, De PP, Chow A, Tambyah PA, et al. Empiric piperacillin-tazobactam versus carbapenems in the treatment of bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *PLoS ONE.* 2016;11(4):e0153696.
25. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, et al. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis.* 2004;39(1):31-37.
26. Vardakas KZ, Tansarli GS, Rafailidis PI, Falagas ME. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(12):2793-2803.
27. Ziakas PD, Anagnostou T, Mylonakis E. The prevalence and significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at admission in the general ICU setting: a meta-analysis of published studies. *Crit Care Med.* 2014;42(2):433-444.
28. Afshari A, Pagani L, Harbarth S. Year in review 2011: Critical Care – infection. *Crit Care.* 2012;16(6):242.
29. Blot S, Depuydt P, Vandewoude K, De Bacquer D. Measuring the impact of multidrug resistance in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20(4):391-396.
30. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818-829.
31. Vincent JL, Donadello K, Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein. *Crit Care Clin.* 2011;27(2):241-251.
32. Lobo SM, Lobo FR, Bota DP, Lopes-Ferreira F, Soliman HM, Mélot C, et al. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest.* 2003;123(6):2043-2049.
33. Savage RD, Fowler RA, Rishu AH, Bagshaw SM, Cook D, Dodek P, et al. The effect of inadequate initial empiric antimicrobial treatment on mortality in critically ill patients with bloodstream infections: a multi-centre retrospective cohort study. *PLoS One.* 2016;11(5):e0154944.

Inclusões citoplasmáticas semelhantes a bastonetes de Auer em plasmócitos: um achado morfológico pouco frequente

Auer rod-like cytoplasmic inclusions in plasma cells: an infrequent morphological finding

Perla Vicari¹, Vitor de Carvalho Queiroz¹

¹ Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo – IAMSPE, Serviço de Hematologia. São Paulo, SP, Brasil.

Resumo

Inclusões semelhantes a bastões de Auer em células plasmáticas são um achado raro no mieloma múltiplo (MM). Os bastonetes de Auer são compostos de inclusões de peroxidase lisossômica fundida, comumente observadas em leucemias mielóides agudas. O objetivo deste relato é demonstrar alteração interessante e incomum na morfologia hematológica. Homem de 74 anos com fraqueza e dor óssea há cerca de 5 meses apresentava Hemoglobina 9,2 g/dL, creatinina 1,4 mg/dL, cálcio ionizado 1,14 mmol/L, 2 microglobulinas 5,4mg/L, pico beta monoclonal (5,4g de proteína M), IGG 4.530 mg/dL-Kappa e sem lesões líticas. A medula óssea apresentou 74% de plasmócitos pleomórficos com inclusões citoplasmáticas azurófilas em forma de agulha, como bastonetes de Auer e células de Faggot. A citometria de fluxo confirmou células plasmáticas com imunofenótipo CD56+/CD19-/CD138+/CD45-/Kappa+. Os cristais semelhantes a bastões de Auer são formados por depósitos de enzimas lisossômicas cristalizadas (fosfatase ácida, a-N-esterase ou β-glucuronidase) e, particularmente, observados no MM com paraproteínas do tipo kappa, mas não é um achado patognomônico. Apesar dos avanços no diagnóstico de doenças hematológicas, reconhecer as diferentes características morfológicas e peculiaridades dessas células ainda pode ser um desafio.

Palavras-chave: Mieloma múltiplo. /citologia. Hematologia

Abstract

Auer rod-like inclusions in plasma cells is a rare finding in multiple myeloma (MM). Auers rods are composed of fused lysosomal peroxidase inclusions that are commonly seen in acute myeloid leukemias. The purpose of this image is to demonstrate this interesting and unusual change in hematological morphology. A 74-year-old man with bone weakness and pain for about 5 months presented Hemoglobin 9.2g/dL, creatinine 1.4 mg/dl, ionized calcium 1.14 mmol/L, 2 microglobulins 5.4mg/L, monoclonal beta peak (5.4g of M protein), IGG 4,530 mg/dL-Kappa and without lytic lesions. Bone marrow showed 74% of pleomorphic plasma cells with needle-like azurophilic cytoplasmic inclusions, such as Auer rods and Faggot cells. Flow cytometry confirmed plasma cells with CD56+/CD19-/CD138+/CD45-/ Kappa+ immunophenotype. Auer rod-like crystals are formed by deposits of crystallized lysosomal enzymes (acid phosphatase, a-N-esterase or β-glucuronidase). It is particularly observed in MM with kappa-like paraproteins, but it is not pathognomonic. Despite advances in the diagnosis of hematological diseases, recognizing the different morphological characteristics and peculiarities of these cells can still be a challenge. However, due to the rarity of this finding, its real prognosis is still uncertain.

Keywords: multiple myeloma. /cytology. Hematology

Correspondência

Perla Vicari

E-mail: vicarp03@gmail.com

Recebido em 10/04/2022 | Aprovado em 22/03/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300112

INTRODUÇÃO

Os plasmócitos são células B linfóides diferenciados terminalmente, localizadas dentro da medula óssea (MO). Sua implicação no processo imunológico se deve à imunoglobulina (Ig) que sintetiza e atua como anticorpo contra antígenos. Em várias circunstâncias, denominadas distúrbios reativos, pode ocorrer expansão limitada de plasmócitos policlonais dentro da MO, levando (ou não) ao aumento da quantidade de Ig no plasma. Em contraste, vários mecanismos genéticos são responsáveis pela expansão clonal plasmocitária, levando à síntese descontrolada de uma Ig monoclonal. Em condições normais, bem como reativas e malignas, a morfologia do plasmócito é fácil de determinar em esfregaços de MO.

O mieloma múltiplo (MM), neoplasia de células plasmáticas (plasmócitos) monoclonais que se acumulam na medula óssea e produzem proteína M (também conhecida como imunoglobulina monoclonal ou paraproteína), representa 1% das doenças neoplásicas e é a segunda malignidade hematológica mais comum em países de alta renda, com uma incidência de 4,5 a 6 por 100.000 por ano. O MM pode evoluir com disfunção orgânica: hipercalcemia, insuficiência renal, anemia e destruição óssea (conhecidos como critérios CRAB).⁽¹⁾

Assim, a identificação morfológica e a determinação precisa da porcentagem de plasmócitos na medula óssea permanecem critérios auxiliares importantes para o

diagnóstico de MM. Inclusões semelhantes a bastonetes de Auer em células plasmáticas são um achado raro no MM e podem ser alvo de confusão na análise do aspirado de medula óssea.⁽²⁻⁴⁾

OBJETIVOS

O objetivo deste relato é demonstrar essa mudança interessante e incomum na morfologia plasmócito em um paciente com MM.

RELATO DE CASO

Homem de 74 anos com fraqueza óssea e dor há cerca de 5 meses. Laboratório apresentou: Hb 9,2g/dL, com o esfregaço de sangue periférico demonstrando presença de *rouleaux* eritrocitário, creatinina 1,4mg/dL, cálcio ionizado 1,14 mmol/L, 2 microglobulinas 5,4mg/L, pico beta monoclonal (5,4g de proteína M), IGG 4.530mg/dL-Kappa e sem lesões líticas. A medula óssea apresentou 74% de plasmócitos pleomórficos, com contornos mal definidos e inclusões citoplasmáticas azurofílicas em forma de agulha, como cristais morfologicamente semelhantes a bastonetes de Auer e células de Faggot (Figura 1). A citometria de fluxo confirmou plasmócitos com imunofenótipo CD56+/CD19-/CD138+/CD45-/Kappa+.

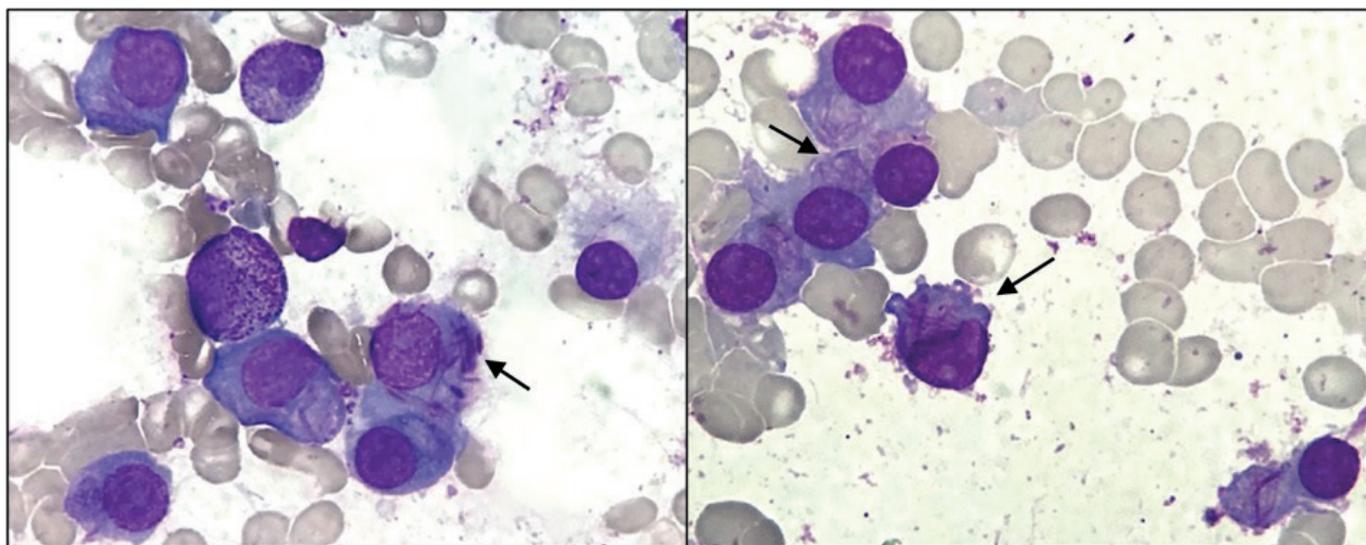


Figura 1

Esfregaço de medula óssea mostrou plasmócitos pleomórficos com inclusões citoplasmáticas azurofílicas em forma de agulha, como bastonetes de Auer com a presença de formas como células de Faggot (setas).

DISCUSSÃO

O conhecimento da morfologia do plasmócito da MO normal é útil para classificar e seguir as várias alterações morfológicas observadas em distúrbios reativos e neoplásicos.

Plasmócitos possuem pequeno núcleo de aparência madura e grande citoplasma, este último geralmente azul profundo após coloração com Giemsa. O citoplasma é preenchido por longos filamentos de retículo endoplasmático rugoso e um grande aparelho de Golgi, demonstrando que os plasmócitos estão associados à síntese e excreção de proteínas (imunoglobulinas). A desregulação do genoma pode induzir expansão clonal que levará à superprodução de imunoglobulinas e, eventualmente, a uma das chamadas neoplasias plasmocitárias.⁽⁵⁾

As alterações morfológicas dos plasmócitos podem ser divididas em duas categorias: 1) alterações relacionadas ao núcleo, correspondendo a rede de cromatina anormal, um nucléolo evidente ou contorno nuclear irregular, e estão relacionadas, na maioria das vezes, à malignidade; 2) alterações do citoplasma, incluindo coloração e inclusões de origens diversas, embora observadas tanto em distúrbios reativos quanto em neoplásicos, correspondem principalmente à Ig anormal sintetizada pelo plasmócito.^(5,6)

No MM, o diagnóstico requer $\geq 10\%$ de células plasmáticas clonais da medula óssea ou um plasmocitoma comprovado por biópsia mais evidência de um ou mais eventos definidores de mieloma múltiplo, ou seja, CRAB (hipercalcemia, insuficiência renal, anemia ou lesões ósseas líticas). As alterações na morfologia dos plasmócitos no MM podem ser imperceptíveis em comparação com plasmócitos normais (30% a 50% dos pacientes) ou apresentar alterações morfológicas, tais como: alta relação núcleo-citoplasma; assincronia núcleo-citoplasmática com presença de nucléolo; cromatina finamente dispersa e/ou contorno nuclear irregular com citoplasma ainda grande e basofílico (maduro); presença de formas imaturas (plasmablastos); coloração citoplasmática acidofílica (células flamejantes); aumento dos corpúsculos de Russell (aspecto de cacho de uva: célula de Mott) e inclusões cristalinas.^(5,6)

Os bastonetes de Auer são compostos de inclusões de peroxidase lisossomal fundidas que são comumente observadas em leucemias mieloides agudas. Possuem coloração

azurófila, em formato de agulha ou bastão e podem ser visualizados como inclusão única ou múltiplas formando feixes. Por outro lado, inclusões semelhantes a bastonetes de Auer (*Auer-like* ou *Auer simile*) em células plasmáticas, como descrito no presente relato, são um achado raro no MM e podem estar presentes, também, na gamopatia monoclonal de significado indeterminado e às vezes em distúrbios reativos. Além disso, a ocorrência de inclusões cristalinas nos plasmócitos pode ser a primeira alteração que leva ao diagnóstico de síndrome de Fanconi no adulto.⁽²⁻⁴⁾

A natureza destas inclusões nos plasmócitos ainda não é totalmente esclarecida, entretanto acredita-se que são formados por depósitos de enzimas lisossômicas cristalizadas (fosfatase ácida, α -N-esterase ou β -glucuronidase). É particularmente observada em MM com paraproteínas kappa-like, mas não é patognomônica.⁽²⁻⁴⁾

Atualmente, a morfologia isoladamente não deve ser usada como informação prognóstica. Juntamente com a percentagem de plasmócitos encontrados, algumas alterações morfológicas peculiares, como a descrita neste relato, podem auxiliar no raciocínio clínico e estarem relacionadas ao diagnóstico de estas doenças raras. Entretanto, estes achados nunca devem ser analisados isoladamente, evitando erros de interpretação e diagnóstico.

Apesar dos avanços no diagnóstico de doenças hematológicas, reconhecer as diferentes características morfológicas e peculiaridades dessas células ainda pode ser um desafio. No entanto, devido à raridade deste achado, seu real prognóstico ainda é incerto.

REFERÊNCIAS

1. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2022 Aug;97(8):1086-1107.
2. Dass J, Kotwal J. Plasma cells with Auer rod-like inclusions in a patient with myeloma. *Blood Res*. 2018 Mar;53(1):7.
3. Sharma P, Sachdeva MUS, Ahluwalia J, Malhotra P. Plasma cells with hairy projections and Auer rod-like inclusions in a patient with multiple myeloma. *BMJ Case Rep*. 2017 Aug 3;2017:bcr2017221315.
4. Mansukhani D, Padate B, Bapat K, Desai N, Khodaiji S. Auer Rod-Like Inclusions in Light Chain Myeloma: A Rare Morphological Feature. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2020 Jan;36(1):225-226.
5. Ribourtout B, Zandecki M. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. *Morphologie*. 2015 Jun;99(325):38-62.
6. El Hussein S, Medeiros LJ, Hu S, Lin P, Wang W. The many faces of plasma cell neoplasms: morphological and immunophenotypic variants of the great imitator. *Pathology*. 2022 Feb;54(1):32-42.

Células uroteliais no esfregaço citopatológico cervicovaginal: Relato de caso com revisão de literatura

Urothelial cells in cytopathological cervical smear: Case report with literature review

Kelly Belini Rodrigues¹, Luciane Noal Calil², Lisiane Cervieri Mezzomo³

¹ Farmacêutica. Aluna do Curso de Especialização em Análises Clínicas da UFRGS. Porto Alegre, RS, Brasil.

² Farmacêutica. Docente do Departamento de Análises e do Curso de Especialização em Análises Clínicas da UFRGS. Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Farmacêutica-Bioquímica. Docente do Curso de Especialização em Análises Clínicas da UFRGS. Porto Alegre, RS, Brasil.

Resumo

A presença de células uroteliais no esfregaço citopatológico cervicovaginal é um achado raro, com escassas descrições na literatura até o momento. **Objetivo:** Relatar o achado de células uroteliais no esfregaço citológico cervical e descrever os critérios citomorfológicos para a sua correta identificação. **Relato de Caso:** Paciente feminina pós-menopausada, sem histórico de anormalidades cervicais ou queixas clínicas, foi submetida ao exame citopatológico de rotina. O esfregaço cervicovaginal mostrou a presença de células uroteliais das três camadas do epitélio de transição, em meio às células escamosas e glandulares cervicais. As células da camada mais superficial (células guarda-chuva) foram encontradas em número significativo no esfregaço. **Discussão:** A correta caracterização citomorfológica das células uroteliais permite que não sejam erroneamente descritas como lesões pré-neoplásicas, especialmente lesões de baixo grau, com as quais podem ser facilmente confundidas. Seu correto diagnóstico é de suma importância para que as pacientes não sejam submetidas a procedimentos invasivos e desnecessários. **Conclusão:** Células extrauterinas podem ser encontradas no esfregaço cervical. As células uroteliais maduras podem ser confundidas com células displásicas, especialmente com as alterações relacionadas a LSIL ou ASC-US, enquanto as células uroteliais imaturas podem induzir ao diagnóstico de HSIL se não forem corretamente identificadas.

Palavras-chave: Teste de Papanicolaou; Citologia; Atrofia; Lesões pré-cancerosas; Lesões intraepiteliais escamosas

Abstract

The presence of urothelial cells in the cervical-vaginal cytopathological smear is a rare finding, with scarce descriptions in the literature so far. **Objective:** the report of the finding of urothelial cells in the cervical cytological smear and describes the cytomorphological criteria for its correct identification. **Case Report:** A post-menopausal female patient, with no history of cervical abnormalities or clinical complaints, underwent routine cytopathological examination. The cervical-vaginal smear detected the presence of urothelial cells from the three layers of the transition epithelium, in a medium such as squamous cells and cervical glandular cells. The cells of the most superficial layer (umbrella cells) were found in a significant number in the smear. **Discussion:** The correct cytomorphological characterization of urothelial cells allows them not to be erroneously incorrect as pre-neoplastic lesions, especially low-grade lesions, with which they can be easily confused. Its correct diagnosis is of paramount importance so that patients are not subjected to invasive and unnecessary procedures. **Conclusion:** Extrauterine cells can be found in the cervical smear. Mature urothelial cells can be confused with dysplastic cells, especially with changes related to LSIL or ASC-US, while immature urothelial cells can induce the diagnosis of HSIL if not correctly identified.

Keywords: Papanicolaou test; Atrophy; Cytology; Squamous intraepithelial lesions of the Cervix

Correspondência

Lisiane Cervieri Mezzomo

E-mail: lisimezzomo@gmail.com

Recebido em 20/05/2021

Aprovado em 10/03/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202202148

INTRODUÇÃO

O exame citopatológico cervicovaginal consiste na análise microscópica de amostras obtidas das regiões da ectocérvice e endocérvice e visa a detecção de neoplasias do colo do útero e suas lesões precursoras. Além disso, o teste pode ser útil para o diagnóstico de diversas condições não neoplásicas, como a alteração da microbiota vaginal, incluindo achados raros como a presença de células não ginecológicas. A presença dessas células chamadas extrauterinas no esfregaço citopatológico cervicovaginal, apesar de condição rara, já é descrita no Sistema Bethesda 2001.⁽¹⁻⁴⁾

Entretanto, raras publicações descrevem a presença e as características citomorfológicas das células uroteliais no esfregaço citológico.⁽⁵⁾ Apesar de raramente encontradas, a falta de critérios para a identificação dessas células em esfregaços citopatológicos cervicovaginais e a escassez de trabalhos sobre o assunto podem gerar desafios de interpretação e resultar em armadilhas de diagnóstico, uma vez que as características dessas células se sobrepõem a algumas lesões pré-neoplásicas cervicais, podendo ser facilmente confundidas.^(5,6)

O objetivo deste trabalho é relatar um caso do achado das células uroteliais no esfregaço citopatológico cervicovaginal de forma a estabelecer critérios citomorfológicos para correta identificação dessas células e evitar erros de interpretação no diagnóstico citológico.

RELATO DE CASO

Paciente feminina, pós-menopausada, com 86 anos no momento da coleta, sem histórico de anormalidades cervicais e sem queixas clínicas, foi submetida a exame citopatológico de rotina. A coleta foi realizada conforme preconizado,⁽⁴⁾ com amostragem da ectocérvice e da endocérvice. No momento da coleta não foram observadas características clínicas relevantes pelo médico assistente. A amostra foi processada de acordo com preconizado pela técnica de Papanicolaou, e o diagnóstico citológico foi liberado conforme o Sistema Bethesda 2015.⁽⁴⁾

RESULTADOS

Achados citológicos

O esfregaço citológico corado pela técnica de Papanicolaou mostrou a presença de células uroteliais das três camadas do epitélio de transição: profunda, intermediária e superficial (células guarda-chuva), bem como algumas células escamosas e colunares. As células uroteliais da camada mais superficial eram as maiores, frequentemente binucleadas e com menos frequência multinucleadas, com nucléolos únicos ou múltiplos e um citoplasma "espumoso" típico (vacúolos citoplasmáticos) (Figuras 1, 2, 3, 4, 6 e 9).

As células da camada intermediária apresentaram formato clássico. Algumas células uroteliais, quando comparadas às células escamosas, apresentaram características citomorfológicas, como aumento nuclear, bi e multinucleação, se assemelhando às células características de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), podendo ocasionar erros na identificação laboratorial e, conseqüentemente, no diagnóstico clínico (Figuras 2, 4, 5, 6, 7 e 9).

As células das camadas mais profundas eram pequenas, poligonais ou redondas, e estavam frequentemente agrupadas, com alta relação núcleo/citoplasmática, leve hiperchromatismo e, em alguns casos, com caudas citoplasmáticas (Figuras 2, 5, 6, 7 e 8).

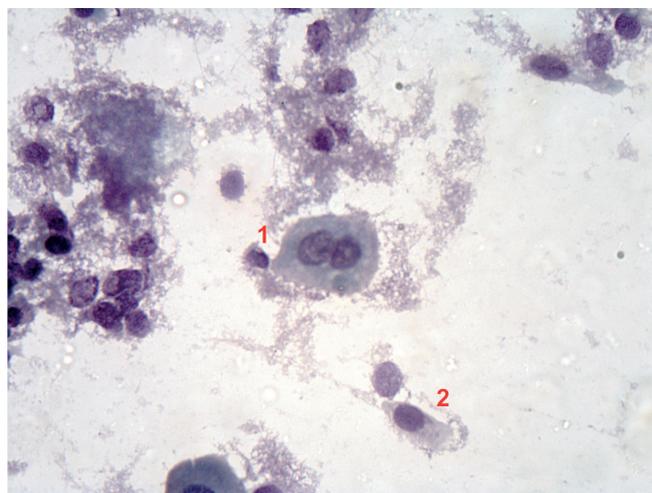


Figura 1

Esfregaço citopatológico cervical. 1. Presença de célula urotelial madura, binucleada, com núcleos levemente hiperchromáticos. 2. Célula em formato colunar. O achado ocasional desse tipo de célula no esfregaço citopatológico pode ser confundido com alterações escamosas como ASC ou LSIL. Coloração de Papanicolaou, 400x.

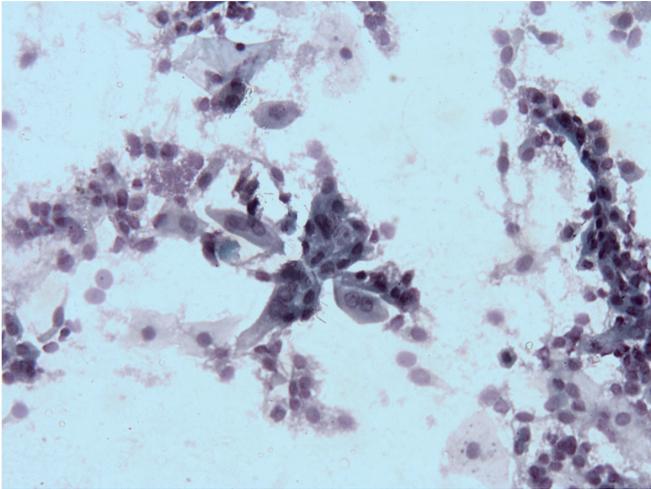


Figura 2

Esfregaço citopatológico cervical. Presença de algumas células uroteliais binucleadas compondo a maior parte do esfregaço, com núcleos levemente hiper cromáticos. Algumas células apresentam maior grau de maturação, enquanto outras são mais imaturas (menores). Fundo da lâmina inflamatório com polimorfonucleares. Coloração de Papanicolaou, 400x.

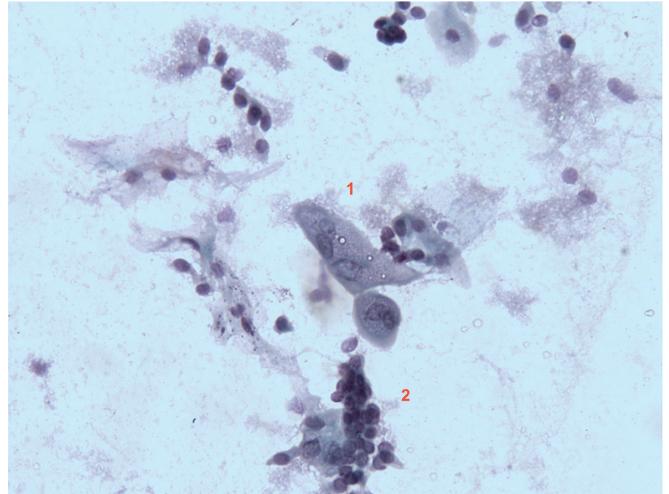


Figura 4

Esfregaço citopatológico cervical. 1 Presença de uma célula urotelial madura (guarda-chuva) binucleada ao centro da imagem, com uma célula urotelial em menor grau de maturação ao lado, também binucleada. 2. Grupo de células uroteliais da camada mais profunda. Fundo da lâmina inflamatório com polimorfonucleares. Coloração de Papanicolaou, 400x.

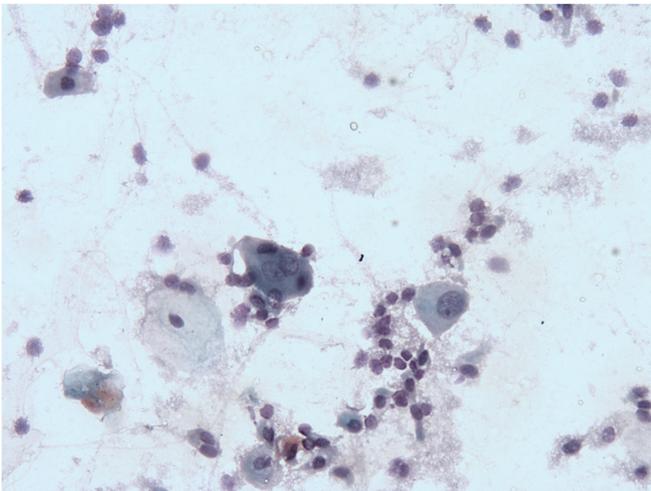


Figura 3

Esfregaço citopatológico cervical. Presença de uma célula urotelial binucleada ao centro da imagem, com citoplasma denso. Uma célula escamosa madura. Fundo da lâmina inflamatório com polimorfonucleares. Coloração de Papanicolaou, 400x.

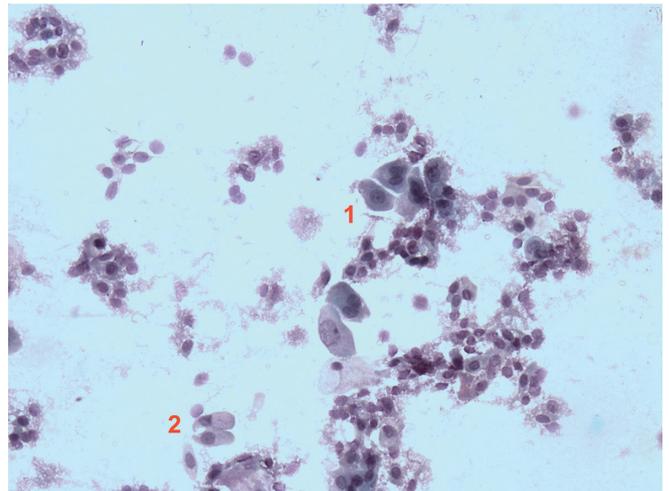


Figura 5

Esfregaço citopatológico cervical. 1. Nessa imagem há células das camadas intermediárias e profundas, algumas binucleadas com citoplasma denso. 2. Células colunares, do epitélio de transição. Coloração de Papanicolaou, 400x.

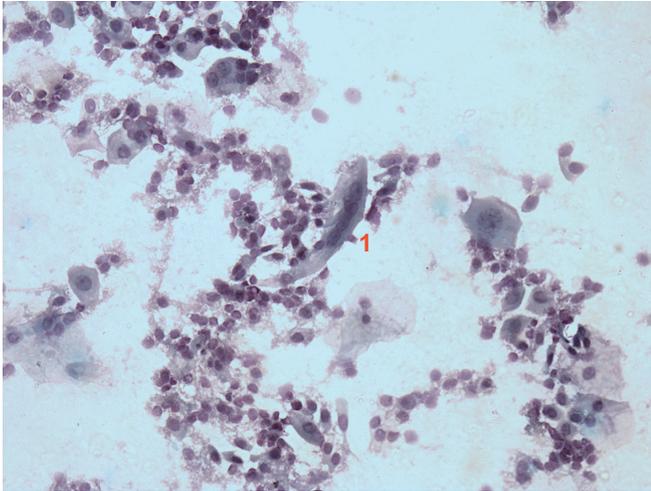


Figura 6

Esfregaço citopatológico cervical. 1. Presença de uma célula urotelial multinucleada ao centro da imagem (célula guarda-chuva). Células escamosas e células uroteliais com diferentes graus de maturação também são vistas juntamente com fundo inflamatório de polimorfonucleares. Coloração de Papanicolaou, 400x.

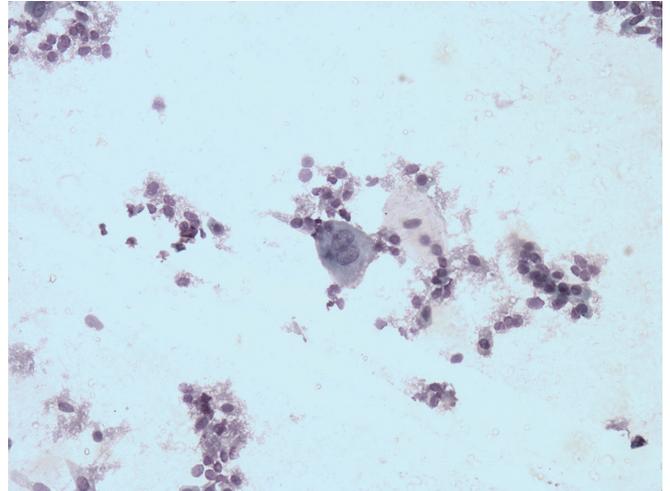


Figura 8

Esfregaço citopatológico cervical. Célula urotelial binucleada. Presença de células glandulares e fundo com polimorfonucleares leucócitos. Coloração de Papanicolaou, 400x.

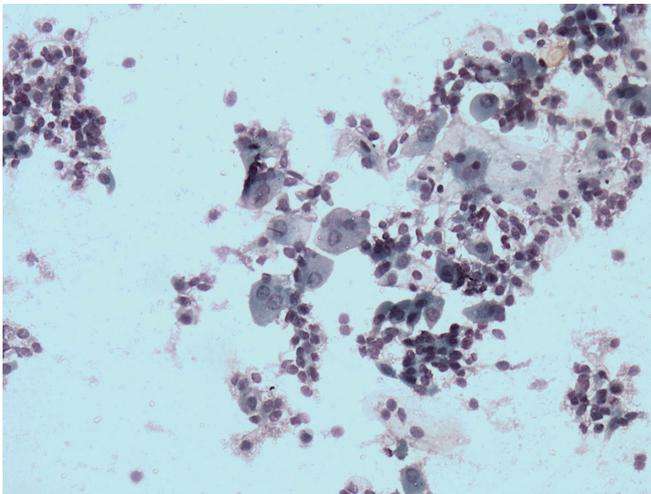


Figura 7

Esfregaço citopatológico cervical. Presença de diversas células uroteliais binucleadas maduras juntamente com células uroteliais em diferentes graus de maturação. O achado de grande quantidade dessas células confirma a suspeita de material urotelial no esfregaço cervical. Presença de células colunares do epitélio de transição entre o fundo inflamatório com polimorfonucleares. Coloração de Papanicolaou, 400x.

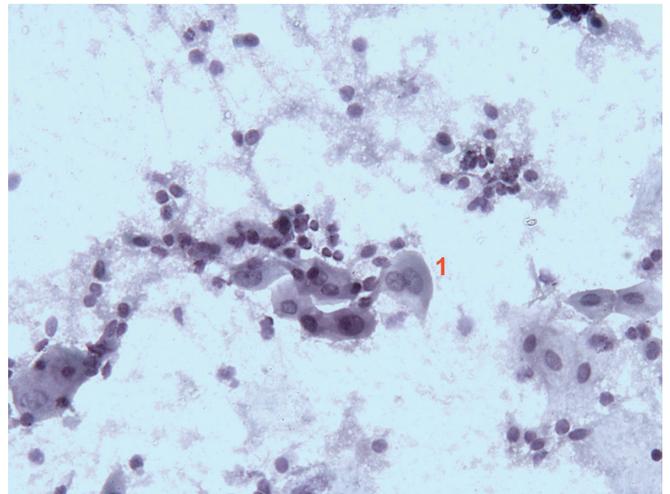


Figura 9

Esfregaço citopatológico cervical. Células uroteliais binucleadas juntamente com células uroteliais com discreto hiper Cromatismo. Os contornos nucleares estão lisos, mostrando ausência de alterações malignas. Coloração de Papanicolaou, 400x.

DISCUSSÃO

A presença de células uroteliais no esfregaço citológico é um achado raro, e da mesma forma a literatura científica é escassa em trabalhos publicados com essa abordagem.⁽⁵⁾ A correta caracterização citomorfológica dessas células permite que não sejam erroneamente descritas como lesões pré-neoplásicas, com as quais podem ser facilmente confundidas. Seu correto diagnóstico é de suma importância para que pacientes não sejam submetidos à procedimentos invasivos e desnecessários.⁽⁷⁻⁹⁾

As células uroteliais compõem grande parte do urotélio, também chamado epitélio de transição, que reveste o interior do trato urinário, partes dos rins, ureteres, bexiga e uretra. O urotélio é um epitélio estratificado altamente especializado e apresenta características únicas como a formação de barreira entre a urina tóxica e a parede da bexiga, previne escapes e tem a capacidade de expansão e retração que acompanham a fisiologia da bexiga. Assim, as células podem ficar mais achatadas quando a bexiga estiver cheia, porém, quando vazia, as células parecem globosas, com aspecto semelhante ao colunar⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

As células epiteliais mais próximas à membrana basal são pequenas e, à medida que originam outras células, aumentam de tamanho conforme migram para a superfície. As células uroteliais localizadas na camada superficial são também chamadas de células “guarda-chuva”. Essas células apresentam tamanho variável, são geralmente grandes, possuem forma poligonal, citoplasma abundante, fino e finamente vacuolizado. Podem apresentar-se contendo muco ou gordura, possuem baixa relação núcleo/citoplasma, podem ser bi ou multinucleadas e ainda apresentar numerosos núcleos da forma esférica à oval, com cromatina finamente granular. Já as células epiteliais que estão mais próximo à membrana basal são pequenas e aumentam seu tamanho conforme migram para a superfície.⁽¹⁰⁻¹²⁾

O estudo publicado por Palaoro e colaboradores⁽⁵⁾ é um dos únicos relatos na literatura encontrados até o momento, que descrevem a presença e a morfologia das células uroteliais no esfregaço cervical. Os autores buscaram estabelecer critérios citomorfológicos para a identificação das células uroteliais em esfregaço cervical e evidenciar a relevância em se estabelecer tais critérios, a fim de auxiliar a correta identificação dessas células, evitando possíveis erros nesse processo. O estudo sugere que há maior probabilidade de mulheres em pós-menopausa apresentarem células uroteliais em amostra de esfregaço cervical, possivelmente em virtude

das alterações hormonais decorrentes da idade. Além disso, algumas possíveis patologias estariam associadas à presença de células uroteliais no esfregaço, como fístula vesicovaginal, prolapso avançado de bexiga e líquen plano erosivo genital que apresentam, como sintomatologia em comum, a incontinência urinária, promovendo a possível contaminação do canal vaginal no momento da coleta do material. Nos esfregaços do grupo de pacientes com quadro clínico em que a incontinência urinária é uma sintomatologia comum, foi possível observar a presença das células do epitélio de transição. Os autores descrevem ainda que as células da camada mais profunda eram menores, poligonais ou redondas, grande parte agrupadas, com alta relação núcleo/citoplasma e leve hipocromatismo; as células da camada intermediária apresentaram o formato piriforme clássico e as células da camada superficial (células guarda-chuva) eram maiores, grande parte delas multinucleadas com nucléolos únicos ou múltiplos e um citoplasma vacuolizado. Em alguns esfregaços as células guarda-chuva, quando isoladas, apresentaram semelhança com as células LSIL, evidenciando a relevância em elucidar as diferenças citomorfológicas entre os tipos celulares. Esse estudo corrobora esses dados, uma vez que se evidenciaram células com as mesmas características relatadas.

Um aspecto que auxilia no diagnóstico e que favorece a identificação das células uroteliais em detrimento das lesões escamosas é que as células LSIL são comumente associadas a pacientes mais jovens e, portanto, nas mulheres na pós-menopausa, a sua presença bem como uma infecção pelo HPV, é menos provável. Isso é corroborado por dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), que descreve que a LSIL representa a manifestação citológica da infecção causada pelo HPV com maior prevalência em mulheres com idade inferior a 30 anos.⁽¹³⁾

No presente relato de caso não houve associação com as possíveis patologias já descritas na literatura com o achado das células uroteliais no esfregaço cervical, uma vez que a paciente não apresentou história clínica de quaisquer quadros relatados como provável causa do aparecimento dessas células. Entretanto, como se trata de paciente pós-menopausa, o raro surgimento das células uroteliais em exame citopatológico cervicovaginal pode estar também relacionado às alterações hormonais, conforme descreve Palaoro e colaboradores⁽⁵⁾.

Carcinoma Urotelial (UC) versus Carcinoma Cervical

O carcinoma urotelial é originado das células epiteliais do urotélio. É um tumor raro que corresponde a uma pequena

parcela das neoplasias do trato genitourinário, com maior incidência em homens. É classificado conforme o tipo celular afetado, são eles: carcinoma de células de transição em que as células atingidas são as células do tecido mais interno da bexiga; carcinoma de células escamosas, que compromete as células delgadas e planas; as quais podem surgir na bexiga depois de infecção ou irritação prolongadas; e o adenocarcinoma, o qual atinge as células glandulares (secretoras) que podem se formar na bexiga depois de um longo tempo de irritação ou inflamação⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

A disseminação do carcinoma urotelial para o trato genital feminino ocorre em um pequeno subconjunto de mulheres.⁽¹⁴⁾ Um estudo publicado por Reyes e colaboradores⁽¹⁵⁾ avaliou pacientes com idade entre 50 e 83 anos, que apresentaram comprometimento de diversos sítios ginecológicos e identificou que uma vez que há semelhança morfológica entre o carcinoma urotelial e carcinoma escamoso primário, a imuno-histoquímica configura-se como ferramenta auxiliar no diagnóstico dos diferentes carcinomas uroteliais. Proteínas como CK7 e CK20 estavam expressas em 50% a 80% dos casos, e com a adição do marcador p63 a sensibilidade e especificidade para a identificação de neoplasias de origem urotelial é aumentada. Um outro exemplo é o p16^{INK4a} investigado como um marcador útil para as lesões cervicais pelo HPV de alto risco.⁽¹⁵⁾

CONCLUSÃO

Esse relato de caso é uma das raras publicações na literatura que descrevem o achado das células uroteliais no esfregaço cervicovaginal juntamente com a descrição de seus critérios citomorfológicos. A escassez de publicações acerca da identificação das células uroteliais em esfregaços cervicovaginais mostra o quão raro é a sua presença neste tipo de amostra. No entanto, elas representam um desafio para os profissionais da área que se deparam com essas células. A fim de evitar erros de interpretação, é de suma importância a padronização dos critérios de diagnóstico, de forma que o achado inequívoco de sua presença em um esfregaço citopatológico possibilite um correto diagnóstico e, como consequência, o correto manejo da paciente.

REFERÊNCIAS

1. Moreira AS, Andrade EGS. A importância do exame Papanicolaou na saúde da mulher. *Rev Inic Cient Ext.* 2018; 1(Esp.3): 267-271.
2. Rodrigues AMX, Barbosa ML, Matos MDLP. Importância do exame Papanicolaou no diagnóstico precoce de câncer do colo do útero. *Rev Multiprofissional em saúde do hospital São Marcos.* 2013; 1(1):58-65.
3. Ughini SFO, Calil LN. Importância da qualidade da coleta do exame preventivo para o diagnóstico das neoplasias glandulares endocervicais e endometriais. *Rev Bras de Anal Clin.* 2016; 48(1):41-45.
4. Nayar R, Wilbur DC. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes.* 3 ed. Springer; 2015.
5. Palaoro LA, Guerra F, Angeleri A, Palamas M, Melba SS, Rocher AE. Urothelial cells in smears from cervix uteri. *Jornal of Cytology.* 2012 Jan-Mar; 29(1):41-44.
6. Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. – 2 ed. rev. atual. Rio de Janeiro: INCA, 2016.
7. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK (for the Bladder Consensus Conference Committee). The World Health Organization/International Society of Urological Pathology Consensus Classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 1998; 22:1435-1448.
8. Lucena LT, Zân DG, Crispim PTB, Ferrari JO. Fatores que influenciam a realização do exame preventivo do câncer cérvico-uterino em Porto Velho, Estado de Rondônia, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude.* 2011; 2(2):45-50.
9. Wünsch S, Oliveira SG, Garcia RP, Domingues IB. Coleta de citopatológico de colo uterino: saberes e percepções de mulheres que realizam o exame. *R. Enferm. UFSM* 2011 Set/Dez; 1(3):360-368.
10. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica.* 12. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2013.
11. Tone K, Kojima K, Hoshiai K, Kumagai N, Kijima H, Kurose A. An ancillary method in urine cytology: Nucleolar/nuclear volume ratio for discrimination between benign and malignant urothelial cells. *Diagnostic Cytopathology.* June 2016; 44(6): 459-558.
12. Toledo LGM, Santos VE, Maron PEG, Vedovato BC, Perez MDC. Fístula vesicovaginal continente. *Einstein.* 2013; 11(1):119-21.
13. BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes Brasileiras para Rastreamento do Câncer do Colo do Útero. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). 2016; 2 Ed[KBR1] [KBR2]. Disponível em: http://www.citologiaclinica.org.br/site/pdf/documentos/diretrizes-para-o-rastreamento-do-cancer-do-colo-do-utero_2016.pdf. Acesso em: julho de 2020.
14. Lambis JR, Herrera SL, Ballestas CA, Mendoza AL, Montenegro SC, González AP. Carcinoma urotelial de tracto urinario superior: reporte de un caso. *Rev Ciencias Biomédicas.* 2015; 6(2):364-368.
15. Reyes MC, Park KJ, Lin O, Ioffe O, Isacson C, Soslow R A, Reuter VE et al. Urothelial carcinoma involving the gynecologic tract: a morphologic and immunohistochemical study of 6 cases. *Am J Surg Pathol.* 2012 Jul;36(7):1058-65.
16. Schwartz LE, Khani F, Bishop JA, Vang R, Epstein JI. Carcinoma of the Uterine Cervix Involving the Genitourinary Tract: A Potential Diagnostic Dilemma. 2016 Jan;40(1):27-35.



Instruções aos autores/Instructions for authors

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 Trial 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", ".tif" ou ".png" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da Revista Brasileira de Análises Clínicas. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A Revista Brasileira de Análises Clínicas avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e de preferência, familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title <i>Incluir versão em Português</i>
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title <i>Incluir versão em Português</i>
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Abstract <i>Incluir versão em Português</i>
Palavras-chave <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords <i>Incluir versão em Português</i>
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-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".

SUORTE 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", ".tif" ou ".png" 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 Biomédica] pelo International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE] (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.scielo.br/pdf/rcbc/v35n6/v35n6a14.pdf (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em List of Journals Indexed in Index Medicus [National Library For Medicine] (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chamada 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 deverá ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";
- Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;
- Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.

Alguns exemplos de citações:

- **Um/duos autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.
- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.
- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome

exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁹⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.
- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.
- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilize: 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. 2011 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:** Dettenkofer 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, Szecs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. Espécies de *Candida* isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

- **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.
- **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Relatório de atividades: 2006. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

- **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.
- **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.
- **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expedite 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, Niéro-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/pgpr/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.
- **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brígido 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 **GNPapers**, no endereço: www.gnpapers.com.br/rbac/. 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 GNPapers, 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 GNPapers 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: ____/____/____.

O PNCQ ESTÁ PRESENTE EM 16 PAÍSES E 3 CONTINENTES

Faça parte do maior
programa de controle
de qualidade para
laboratórios clínicos da
América Latina



PRO-EX Controle Externo da Qualidade

Os Laboratórios Participantes contam com um robusto programa de Ensaio de Proficiência, contemplando as mais diversas áreas das Análises Clínicas.

PRO-IN Controle Interno da Qualidade

Facilite a implantação do Controle Interno de Qualidade no seu Laboratório. Fornecemos um amplo menu de amostras controle com qualidade certificada.

PNCQ GESTOR

Curso Preparação do Laboratório para Implantação de um Sistema de Gestão da Qualidade PNCQ Gestor e Formação de Auditores Internos.

MRC-PNCQ Material de Referência Certificado

Parâmetros de bioquímica disponíveis: cálcio, creatinina, ácido úrico, glicose, sódio, potássio e magnésio.



CADASTRE SEU
LABORATÓRIO

Os Laboratórios Participantes garantem gratuitamente:

- PRO-IN em tempo real
- Indicadores de desempenho
- Gráfico de tendência e DRM



Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



@pncqoficial



@PNCQoficial



/pncq-oficial



(21) 3172-7100 | 2569-6867



pncq@pncq.org.br

pncq.org.br

