



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 55 - N 01 | Ano 2023

ISSN 2448-3877



SBAC DIGITAL

2 0 2 3

O 2º semestre
da temporada
2023 está
confirmada

DIA **23/08**

DIA **20/09**

DIA **18/10**

Conteúdos
selecionados
abordando
diversos temas
das análises
clínicas



sbacdigital.com.br



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

Volume 55 - Número 1 - 2023

Edição online - ISSN 2448-3877

Editora-chefe/Editor-in-Chief

Mauren Isfer Anghebem

Editores Eméritos/Emeritus Editors

Mateus Mandu de Souza (*in memoriam*)
Paulo Murillo Neufeld

Produção Editorial/Publisher

Editorarte Projetos de Comunicação e
Editora Ltda.

Editores Associados/Associate Editors

Bacteriologia Clínica/Clinical Bacteriology
Joseli Maria da Rocha Nogueira

Hematologia Clínica/Clinical Hematology
Marcos Kneip Fleury

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology
Lenilza Mattos Lima

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry
Mauren Isfer Anghebem

**Imunologia e Virologia Clínica/Clinical
Immunology and Virology**
Dennis Armando Bertolini

**Patologia Clínica Veterinária/Veterinary
Clinical Pathology**

Breno Fernando Martins de Almeida
Daniele Silvano Gonçalves

Citologia Clínica/Clinical Cytology
Júlio César Merlin

Micologia Clínica/Clinical Micology

Sarah Gonçalves
Paulo Murillo Neufeld

**Uroanálise e Líquidos Biológicos/
Uroanalysis and Biological Liquids**
José Antonio Poloni

**Gestão e Controle da Qualidade/Quality
Management and Control**
Flávia Martinello

Corpo Editorial/Editorial Board

Adriana Dalpicolli Rodrigues - Brasil
Adriana Medianeira Rossato - Brasil
Alceu Toledo Júnior - Brasil
Alexandre Januário da Silva - EUA
Alexandre Sherlley Casimiro Onofre - Brasil
Amadeo Sáez-Alquézar - Brasil
Ana Cristina Rivas Da Silva - Brasil
Ana Paula Giolo Franz - Brasil
Andréa Regina De Souza Baptista - Brasil
Andrea Silva - Chile
Antônio Walter Ferreira - Brasil
Carlos Alberto Mayora Aita - Brasil
Carlos Álvarez - Chile
Carmen Paz Oplustil - Brasil
Claudia Regina Bonini - Brasil
Diogo André Pilger - Brasil
Eduardo Álvarez Duarte - Chile

Eleine Kuroki Anzai - Brasil
Fabiane Gomes de Moraes Rego - Brasil
Fabrício Souza Campos - Brasil
Fernando Finoketti - Brasil
Izabella Castilho R. dos Santos Weiss - Brasil
Jaime Antônio Abrantes - Brasil
José Antonio Mainardi de Carvalho - Brasil
Juliane Araújo Greinert Goulart - Brasil
Lisiane da Luz Rocha Balsan - Brasil
Luis Conrado Zoror Cornejo - Chile
Marcos Kneip Fleury - Brasil
Maria Elizabeth Menezes - Brasil
Maria Regina Reis Amendoeira - Brasil
Marileia Scartezini - Brasil
Marilise Brittes Rott - Brasil
Neci Matos Soares - Brasil

Patrício Godoy Martinez - Brasil
Patrick Menezes Lourenço - Brasil
Pedro Alves D'azevedo - Brasil
Pedro Henrique Gazzinelli Guimarães - EUA
Raíssa Nunes dos Santos - Brasil
Raul Girardi - Argentina
Ricardo David Couto - Brasil
Ricardo Luiz Dantas Machado - Brasil
Samuel Ricardo Comar - Brasil
Sílvia Helena Rabelo dos Santos - Brasil
Simone Martins de Castro - Brasil
Tiana Tasca - Brasil
Valdiery Silva de Araújo - Brasil
Victor Silva - Chile
Viviana Galimbert Arruk - Brasil
Vladimir Vicente 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 Merlin (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

- 4** **História do Laboratório Clínico - Parte I**
Clinical Laboratory History – Part I
Neufeld PM

Artigo de revisão / Review article

- 6** **Aplicação clínica e laboratorial do teste da mistura na investigação de prolongamentos nos exames de hemostasia**
Clinical and laboratory application of the mixing test in the investigation of prolonged hemostasis testing
Vieira LA, Leite CA, Comar SR

Artigos originais / Original article

- 24** **Biomarcadores de gravidade em pacientes oncológicos hospitalizados com e sem COVID-19**
Severity biomarkers in hospitalized oncological patients with and without COVID-19
Angheben MI, Rovel IM, Vieira LC, Santos-Weiss ICR, Nardin JM, Picheth G, Rego FGM, Merlin JC
- 32** **Biochemical parameters of crack users in different therapies**
Parâmetros bioquímicos de usuários de crack em diferentes terapias
Fonseca DR, Damázio LS, Brida M, Castro AA, Canever L, Bavaresco DV, Zugno AI
- 37** **Comparison of lactate concentration in arterial and venous blood gas analysis**
Comparação da concentração de lactato em gasometria arterial e venosa
Dienstmann G, Winter LM, Antunes MD, Vieira JH, Dias TDF, Souza MLR, Ramos FWS, Nascimento IB, Oliveira LC, Comar SR
- 41** **Avaliação do desenvolvimento de anticorpos com potencial neutralizante para SARS-CoV-2 em indivíduos de uma cidade do meio-oeste catarinense**
Evaluation of the development of antibodies with neutralizing potential to SARS-CoV-2 in individuals of a city in the middlewest of Santa Catarina
Tessari FD, Girardi BA
- 53** **Frequência de lesões intraepiteliais e os principais microrganismos associados aos exames de Papanicolaou**
Frequency of intraepithelial lesions and the main microorganisms associated with in Papanicolaou screenings
Silva AE, Vieira RA, Wanderley EB, Silva IA, Peres AL, Oliveira SR
- 61** **Avaliação das relações neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos em pacientes hospitalizados com COVID-19**
Evaluation of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelets-to-lymphocyte ratio in COVID-19 hospitalized patients
Ribas-de-Souza AP, Kalva DC

- 67** Vigilância epidemiológica ambiental de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em hospital de média complexidade na cidade de Santa Maria – RS
Surveillance epidemiological environmental of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a medium complexity hospital in the city of Santa Maria – RS
Silva AC, Vizzotto BS, Santos BR

Carta ao Editor / Letter to Editor

- 74** O que é *Urbanorum* spp.?
What's Urbanorum spp.?
Gonçalves EMN, Lopes D, Avelino ALC, Santos WR, Castilho VLP
- 76** Relato da emergência de *Pseudomonas aeruginosa* KPC em um hospital de referência terciária
Report of the emergence of Pseudomonas aeruginosa KPC in a tertiary referral hospital
Soares VM

- 78** **Instruções aos autores / Instructions for authors**

História do Laboratório Clínico - Parte I

Clinical Laboratory History – Part I

Paulo Murillo Neufeld, *PhD* | Editor Emérito da RBAC

A história do cuidado entre humanos é tão antiga quanto a existência da própria humanidade. Desde os primeiros tempos, os seres humanos se preocupavam em restabelecer a saúde uns dos outros. Ter saúde era fundamental para a sobrevivência da coletividade no que tangia, principalmente, à segurança do grupo e à busca por alimentos.

Nas práticas curativas primitivas, não havia nenhum conhecimento lógico e tais práticas eram puramente instintivas, consistindo em sopros, lambidas, apertos, passagem de mão, abraços, ajuda para locomoção e companhia, banhos e ingestão de água, mastigação de folhas e ervas, entre outras formas espontâneas de alívio de dores e ferimentos.

Com o processo de hominização e aculturação, as práticas de cuidado foram também evoluindo, passando pela fase sacerdotal, pelo empirismo filosófico, e pelas fases monástica, pós-monástica e contemporânea. Dessa evolução, foi surgindo, ao mesmo tempo, a necessidade de se pesquisar as causas dos fenômenos de adoecimento. Somente a partir do momento em que o homem sente necessidade de compreender as origens dos agravos tem início, então, a história do laboratório clínico.

Importa mencionar que os arcaicos diagnósticos da época antiga eram baseados no que os médicos de então podiam observar com seus olhos, ouvidos e narizes, incluindo, eventualmente, nesse caso, sem nenhum processamento prévio, o exame daqueles espécimens clínicos que podiam ser obtidos dos pacientes de forma fácil e natural. Desse modo, como os antigos gregos consideravam que todas as doenças decorriam de distúrbios dos fluidos corporais ou humores (sangue, catarro/ fleuma, bile amarela e bile negra), um dos primeiros espécimens estudados clinicamente foi a urina.

Relativamente às práticas primitivas, na Mesopotâmia e no antigo Egito os médicos realizavam diagnósticos e recomendavam tratamentos, principalmente com base na observação de sinais e sintomas clínicos. Assim, de forma rotineira, eram realizadas palpações e auscultações nos enfermos. Empregando essas técnicas semiológicas, aqueles médicos da antiguidade foram capazes, inclusive, de descrever disfunções digestivas, cardíacas, circulatórias, hepatoesplênicas e menstruais. Com base em achados arqueológicos, datados de 4.000 aC, sabe-se que os médicos babilônicos e sumérios registravam as avaliações de urina em tabletes de argila. Os primeiros estudos de urina feitos por médicos egípcios eram também documentados em antigos pergaminhos.

Um método de diagnóstico igualmente utilizado por médicos da antiguidade, para o estabelecimento de estratégias de tratamento, incluía a adivinhação, por meio de sacrifício-ritual de animais e posterior análise de suas vísceras, para prever a evolução do quadro clínico dos pacientes. Normalmente, uma ovelha era imolada diante da estátua da divindade à qual o sacerdote solicitava a interseção.

Recebido em 01/06/2023 | Aprovado em 01/06/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300123

Ao longo do tempo, o exame místico de vísceras de animais foi perdendo importância e os médicos passaram a examinar espécimens humanos. Como mencionado anteriormente, dentre os espécimens clínicos, a urina, sem dúvida alguma, foi o primeiro material biológico a ser utilizado com fins de diagnóstico. Uma técnica realizada por médicos hindus da antiguidade (300-100 aC), empregando a urina coletada de pacientes, era o chamado derramamento, em que esses espécimens eram vertidos diretamente no chão e, desse modo, se podia observar a sua capacidade de atrair, ou não, insetos. Se os insetos fossem atraídos, era indício para diagnóstico de “furunculose”.

Por volta de 300 aC, Hipócrates (460-370 aC) estabeleceu um protocolo de diagnóstico que incluía provar a urina, auscultar os pulmões e observar a cor da pele. Esse médico relacionou também o aparecimento de bolhas na superfície dos espécimens de urina com doenças renais e doenças crônicas. Sedimentos, sangue e pus encontrados na urina foram igualmente associados por Hipócrates a alguns tipos de doença.

Num período posterior, cerca de 180 dC, Cláudio Galeno (131-201 dC) criou também um sistema de patologias que combinava as Teorias Humorais de Hipócrates com a Teoria Pitagórica, sustentando que os quatro elementos (terra, ar, fogo e água) correspondiam a várias combinações das características fisiológicas de seco, frio, quente e úmido. Essas combinações representavam aproximadamente os quatro humores do corpo humano: quente + úmido = sangue; quente + seco = bile amarela; frio + úmido = catarro/ fleuma; e frio + seco = bile negra. Ele também descreveu o diabetes como uma “diarreia de urina” e observou a relação normal entre a ingestão de líquidos e o volume de urina.

É importante reiterar que, efetivamente, a primeira “prova diagnóstica”, empregando espécimens clínicos, desenvolvida com o objetivo de se proceder avaliações *in vitro* sobre o estado de saúde dos pacientes, foi o teste de urina, representado, principalmente, pela uroscopia. Como os médicos do passado não podiam realizar procedimentos invasivos, os fluidos corporais, mais acessíveis no que se referia à sua coleta, foram os mais estudados durante todo o período antigo.

BIBLIOGRAFIA

- Berger D. A brief history of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory. Part 1- Ancient times through the 19th century. *MLO Med Lab Obs.* 1999;31(7):28-30, 32, 34-40.
- Büttner J. The origin of clinical laboratories. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1992; (30):585-593.
- Moore RE. A Historical Perspective on the Clinical Diagnostic Laboratory. In: Coleman WB, Tsongalis GJ. (eds.). *Molecular Diagnostics. For the Clinical Laboratorian.* 2. Ed. Humana Press, Totowa, NJ. 2006; 3-10.
- Robinson AT. Pathology — The Beginnings of Laboratory Medicine First in a Series. *Lab Medicine* 2021;52, e66-e82.

Aplicação clínica e laboratorial do teste da mistura na investigação de prolongamentos nos exames de hemostasia

Clinical and laboratory application of the mixing test in the investigation of prolonged hemostasis testing

Larissa Aparecida Vieira¹, Cesar Augusto Leite², Samuel Ricardo Comar³

¹ Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Residência Integrada Multiprofissional em Atenção Hospitalar – Área de Oncologia e Hematologia. Curitiba, PR, Brasil.

² Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR), Serviço de produção de hemocomponentes. Curitiba, PR, Brasil.

³ Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Laboratório de Hematologia. Curitiba, PR, Brasil.

Resumo

O teste da mistura (TM) é realizado para elucidar as possíveis causas de prolongamentos dos principais testes de triagem em hemostasia (TTH): tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), tempo de protrombina (TP) e tempo de trombina (TT). Dentre as causas, as principais são deficiência de fatores de coagulação e presença de inibidores específicos e inespecíficos contra os fatores de coagulação. Nos TM, normalmente é adicionado *pool* de plasmas normais ao plasma do paciente na proporção 50%/50% (v/v), a fim de suprir eventuais deficiências de fatores de coagulação. Teoricamente, quando ocorre correção do prolongamento do TTH, observa-se deficiência de fatores de coagulação; em caso de não correção, observa-se presença de inibidores. O objetivo deste trabalho foi compilar as informações a respeito do uso dos TM no laboratório de hemostasia de modo a auxiliar nas tomadas de decisão. A metodologia utilizada foi pesquisa bibliográfica retrospectiva. Foram elaborados cinco fluxogramas que apresentaram as sequências de passos recomendados para elucidar, por meio dos TM, as várias possibilidades de alterações nos resultados dos TTH. Os TM, quando tecnicamente bem executados, são úteis na investigação de prolongamentos dos TTH e o laboratório tem papel fundamental em estabelecer critérios confiáveis para uma correta execução e interpretação dos resultados.

Palavras-chaves: Hemostasia; Testes de Coagulação Sanguínea; Tempo de Protrombina; Tempo de Tromboplastina Parcial

Abstract

The mixing test (MT) is performed to elucidate the possible causes of prolongations of the main coagulation screening tests (CST), (activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT) and thrombin time (TT)). The main causes are clotting factors deficiency and the presence of specific and non-specific clotting factor inhibitors. In MT, a pool of normal plasmas is normally added to the patients plasma in a 50%/50% (v/v) ratio, in order to supply eventual clotting factor deficiencies. Theoretically, when correction of CST prolongation occurs, there is a clotting factor deficiency and, in the absence of correction, the presence of inhibitors is observed. This work aimed to compile information about the use of MT in the hemostasis laboratory in order to assist in decision making. The methodology used was retrospective bibliographic research. Five flowcharts were elaborated that presented the sequences of steps recommended to elucidate, through the TM, the various possibilities of alterations in CST results. MT, when technically well performed, are very useful in the investigation of CST prolongations and the laboratory has a fundamental role in establishing reliable criteria for a correct execution and interpretation of results.

Keywords: Hemostasis; Blood Coagulation; Prothrombin Time; Partial Thromboplastin Time

Correspondência

Samuel Ricardo Comar

E-mail: srcomar@ufpr.br

Recebido em 18/09/2022 | Aprovado em 08/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200072

INTRODUÇÃO

A hemostasia é um complexo e intrincado processo que impede, em tempo hábil, o surgimento demasiado de sangramentos e a formação excessiva de coágulos quando uma lesão vascular ocorre. Seu principal objetivo é selar a área lesionada enquanto ocorre a regeneração dos tecidos e vasos sanguíneos adjacentes. Para isso, requer a ação combinada de vasos, plaquetas e fatores plasmáticos da coagulação, os quais atuam por meio de três fases intimamente ligadas: (a) hemostasia primária (vasoconstrição breve e intensa dos vasos sanguíneos e formação de um tampão plaquetário via interação entre plaquetas, fator de von Willebrand (FvW) e fatores teciduais para inicialmente interromper o sangramento); (b) hemostasia secundária (coagulação do sangue por meio da formação de uma malha de fibrina polimerizada que age como uma cola para estabilizar e manter o coágulo unido); e (c) hemostasia terciária (fibrinólise do coágulo de fibrina à medida que a cicatrização e reparo se iniciam no ferimento).^(1,2)

Os testes de triagem em hemostasia mais utilizados para a avaliação da hemostasia secundária são o tempo de protrombina (TP), o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e o tempo de trombina (TT). Na perspectiva laboratorial, resultados de TP, TTPa e TT inesperadamente prolongados devem ser investigados por meio da utilização do teste da mistura (TM), o qual consiste, normalmente, na realização do respectivo teste de triagem após a mistura do plasma do paciente com um *pool* de plasmas normais (PPN) na proporção de 1:1.⁽³⁾ Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo atualizar o estado da arte a respeito do uso do TM em direcionar e elucidar as alterações hemostáticas, assim como seus benefícios para o laboratório e os clínicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia de pesquisa utilizada foi revisão bibliográfica narrativa, e as bases de dados utilizadas foram: PubMed, LILACS, BVS, SciELO, Science Direct e Portal da Capes. Também foram incluídos materiais disponíveis de forma física em bibliotecas e acervos. A busca foi realizada utilizando os seguintes termos “*mixing test*”, “*activated partial thromboplastin time*”, “*prothrombin time*”, “*lupus anticoagulant*”, “*thrombin time*”, “*anti-Xa*”, “*heparin test*”, “*pool plasma normal*”, “*fator deficiency*”, “*acquired factor deficiency*”, “*clotting assay*”, “*coagulation cascade*”, “*hemostasis assays*”, “*fibrinogen*”, “*factor II*”, “*factor V*”, “*factor VII*”, “*factor VIII*”, “*factor IX*”, “*factor X*”, “*factor XI*”, “*factor XII*”, “*disseminated intravascular coagulation*”, “*Von Willebrand*

factor”. Foram incluídos artigos e documentos escritos em português e inglês, considerados relevantes sobre o tema.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes de triagem no laboratório de hemostasia

O TP é realizado utilizando tromboplastina cálcica completa, que mimetiza a ação do fator tecidual (FT), levando à ativação da coagulação por meio da via extrínseca, principal via que o TP avalia, além da via comum da coagulação. Cabe ressaltar que, em razão da variedade de preparados de tromboplastina disponíveis comercialmente, torna-se necessária a padronização dos resultados de TP a fim de possibilitar comparações interlaboratoriais. Nesse sentido, os fabricantes de tromboplastinas submetem seus produtos a uma comparação com tromboplastinas internacionais de referência, como as do Laboratório Internacional de Produtos Biológicos da OMS para obtenção do índice de sensibilidade internacional (ISI) da tromboplastina comercial. Com o ISI é possível calcular a relação normalizada internacional (RNI), que é o parâmetro que torna possível a comparação de resultados entre diferentes laboratórios, com diferentes tromboplastinas. O RNI é especialmente útil no controle da terapia com anticoagulantes orais antagonistas da vitamina K (AVK).⁽³⁻⁷⁾

Já para a realização do TTPa, a tromboplastina parcial (denominada parcial pois não contém fator tecidual como na tromboplastina completa do TP) é utilizada como fonte de fosfolípidios que substitui as plaquetas ativadas nas reações. Também são adicionados ativadores da coagulação como o ácido elálgico, a sílica micronizada, a celite e o caulim, os quais auxiliam efetuando ativação máxima da coagulação, eliminando os efeitos variáveis do contato do sangue com as superfícies de vidro ou plástico dos tubos de coleta. O TTPa é utilizado principalmente como teste de triagem para a avaliação da via intrínseca da coagulação, mas também da via comum e os seus resultados são liberados em segundos e, assim como no TP, devem ser comparados ao valor do PPN.^(4,8)

O TT mede o tempo de coagulação do plasma após a adição de trombina, avaliando, desta forma, a via final da cascata da coagulação, sendo útil como teste de triagem para deficiências de fibrinogênio e inibidores de trombina.⁽³⁻⁸⁾

Fundamentos dos testes da mistura

Na perspectiva laboratorial, resultados de TP, TTPa e TT inesperadamente prolongados devem ser investigados por meio da utilização do TM. O TM consiste, normalmente, na realização do teste de triagem após a mistura do plasma do

paciente com o PPN na proporção de 1:1. O PPN contém todos os fatores de coagulação (FC) com atividade próxima a 100% do normal, resultando em uma mistura contendo um nível pelo menos $\geq 50\%$ de tais FC, promovendo assim, teoricamente, a correção dos valores de TP e/ou TTPa nas deficiências de FC e a não correção na presença de diferentes tipos de inibidores de fatores de coagulação (IFC) no plasma do paciente (Figura 1).⁽⁹⁻¹²⁾

Os TM apresentam limitações e geralmente não são úteis como parte do acompanhamento de um efeito conhecido decorrente de terapia anticoagulante, exceto para diferenciar a terapia com antagonistas da vitamina K (correção no TM) da terapia com outros anticoagulantes (TM normalmente não corrige no caso de inibidores diretos da trombina ou heparina, a menos que a mistura traga o nível de heparina dentro da capacidade de neutralização de um reagente em particular).^(3,11,13)

Preparo do *pool* de plasmas normais

O preparo adequado do PPN é fundamental para a interpretação dos TM e deve seguir as recomendações da International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), do *British Committee for Standards in Haematology* (BCSH) ou do Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). A ISTH, por exemplo, recomenda que sejam utilizadas pelo menos 40 amostras de indivíduos normais colhidas em tubo contendo citrato de sódio 3,2% e que a centrifugação seja realizada duas vezes para assegurar um residual mínimo de plaquetas

inferior a $10^7 \times \text{mL}^{-1}$ (10.000/ μL) e um PPN com atividade dos FC próximas a 100%. Após o preparo *in house* do PPN, deve-se alíquotá-lo em pequenas quantidades (geralmente 1 mL por tubo) e armazená-lo preferencialmente a -70°C por até 6 meses. É aceitável o armazenamento a -40°C por 3 meses e a -20°C por 2 semanas. Plasma normal liofilizado (comercial) também pode ser utilizado como PPN, contudo a vantagem de se preparar o próprio PPN consiste no fato de que este é mais representativo da população atendida pelo laboratório. Para a utilização nos TM, o PPN previamente preparado e congelado deve ser descongelado na temperatura de 37°C durante, no máximo, 5 minutos, devendo permanecer tampado para evitar evaporação. Intervalos de descongelamento maiores podem levar à inativação de FC e prejudicar a eficiência do PPN.^(7,18-20)

Interpretação da “correção” e da “não correção” dos testes da mistura

A fim de confirmar se houve ou não correção do teste de triagem após a mistura com PPN, é fundamental uma correta e adequada interpretação dos resultados dos TM, a qual pode ser realizada de várias maneiras, sem que ainda haja consenso sobre qual delas é a melhor. Desta forma, cabe aos laboratórios escolherem e padronizarem a forma mais apropriada para a interpretação dos resultados dos TM.^(3,8,11-15) Nenhuma abordagem de interpretação dos TM é 100% sensível e específica para distinguir deficiências ou inibidores de fatores de coagulação. É comum situações em que há sobreposição dos resultados dos TM de amostras com deficiência de fator *versus* inibidores, independentemente do método de interpretação utilizado.^(3,11,13) As formas de interpretação da correção para os TM estão resumidas no Quadro 1.

Existem variações da técnica padrão de realizar os TM (mistura 1:1) como, por exemplo, utilizar mistura 4:1 com quatro partes de plasma do paciente para uma parte de PPN a fim de diminuir a interferência da diluição dos fatores de coagulação do paciente nos testes. A realização de uma etapa de incubação a 37°C durante 2 horas ajuda a verificar a presença de inibidores tempo e temperatura dependentes, como o caso dos inibidores do FVIII. Os TM estão sujeitos a variáveis pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas. As pré-analíticas são punção; tipo de tubo de coleta; volume de amostra; ajuste da quantidade de citrato para hematócritos elevados ($>55\%$); transporte; centrifugação; presença de medicamentos anticoagulantes; substâncias que se ligam a fosfolípidios *in vitro* e prolongam o TTPa, como anticorpos antilúpicos e antibióticos como oritavancina; presença de

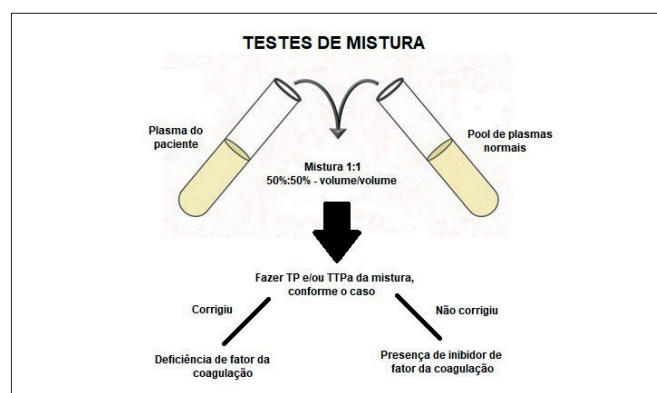


Figura 1

Execução dos testes de mistura

Notas: (i) os testes de triagem em hemostasia podem ser prolongados em razão da deficiência de fatores de coagulação ou presença de um inibidor da atividade normal de um fator de coagulação. (ii) os testes coagulométricos geralmente necessitam de uma atividade dos fatores de coagulação de 50% do normal para que o teste obtenha resultados normais. (iii) o grau de prolongamento de um TP ou TTPa depende do grau da deficiência de um determinado fator de coagulação, da força do inibidor de fator de coagulação e da sensibilidade dos reagentes à deficiência ou efeito inibidor.

microcoágulos; hemólise; icterícia; lipemia; eficiência do PPN após seu preparo, a qual, idealmente, deve ser verificada em relação à normalidade dos tempos e atividades dos principais fatores de coagulação. As analíticas são sensibilidade dos reagentes aos fatores de coagulação; erros de diluição dos

reagentes; tipo de analisador; erros de calibração; uso de diferentes lotes de PPN na mesma corrida. As pós-analíticas são realizar corretamente os cálculos e interpretações e reportar corretamente os resultados. Reconhecer e minimizar essas variáveis aumenta a confiabilidade dos resultados.^(3,8,11-17)

Quadro 1

Métodos de interpretação do Teste da Mistura

MÉTODOS	FORMA DE INTERPRETAÇÃO	
Utilizando o TC da mistura 1:1 (P/PPN)	Verificar se o TC da mistura 1:1 está acima do valor de referência estabelecido internamente para o TC do teste de triagem correspondente	Correção quando o TC da mistura está dentro dos valores de referência
	Verificar se o TC da mistura 1:1 ultrapassa o valor estabelecido pela média dos valores obtidos de plasma normal ± 2 ou 3 DP	Não correção quando o TC da mistura está acima dos valores de referência
Utilizando o TC da mistura 1:1 (P/PPN) e o TC do PPN	Calcular relação entre o TC da mistura 1:1 e o TC do PPN do teste de triagem correspondente, utilizando como valor de corte, por exemplo, 1,1 ou 1,2	Correção quando a relação está abaixo ou igual ao valor de corte preestabelecido Não correção quando a relação está acima do valor de corte preestabelecido
	Comparar a diferença entre TC da mistura 1:1 (P/PPN) e o TC do PPN do teste de triagem correspondente, considerando uma diferença preestabelecida, como por exemplo 5 segundos	Correção quando TC da mistura 1:1 varia dentro de 5 segundos em relação ao TC do PPN Não correção quando TC da mistura 1:1 é >5 segundos em relação ao TC do PPN
	Comparar TC da mistura 1:1 (P/PPN) com os valores do 99º percentil da mistura 1:1 realizada em voluntários saudáveis (SAUDÁVEL/PPN)	Correção quando o TC da mistura está \leq 99º percentil da mistura 1:1 de voluntários saudáveis Correção quando o TC da mistura está > 99º percentil da mistura 1:1 de voluntários saudáveis
Utilizando o TC da mistura 1:1, do PPN e do plasma do paciente	Calcular ICA (Índice de Rosner) ¹⁴ : $ICA = [(TC\ 1:1\ mix - TC\ do\ paciente) / TC\ do\ paciente] \times 100$ onde ICA >11% ou >12% ou >15,6% são indicativos da presença de um inibidor, enquanto níveis \leq 5% indicam deficiência	Correção quando o ICA está abaixo ou igual ao valor de corte preestabelecido Não correção quando o ICA está acima do valor de corte preestabelecido
	Calcular porcentagem de correção (%C) ¹⁵ : $\%C = [(TC\ do\ paciente - TC\ 1:1\ mix) / (TC\ do\ paciente - TC\ do\ PPN)] \times 100$ onde %C de, por exemplo, >70% ou >75% indicam correção	Correção quando a %C está abaixo ou igual ao valor de corte preestabelecido Não correção quando a %C está acima do valor de corte preestabelecido
	Verificar se TC da mistura 1:1 (P/PPN) corrige \geq 50% da diferença entre o TC do paciente e o TC do PPN ⁸	Correção eficaz quando TC da mistura 1:1 é maior que $50\% \times (TC\ do\ paciente - TC\ do\ PPN)$ Não correção quando TC da mistura 1:1 é menor que $50\% \times (TC\ do\ paciente - TC\ do\ PPN)$

Legenda: TC (tempo de coagulação em segundos para os testes de triagem de hemostasia, conforme o caso); P (plasma do paciente); PPN (pool de plasmas normais); ICA (índice de anticoagulante circulante); DP (desvio padrão).

APLICAÇÃO DOS TESTES DA MISTURA

Aplicação dos testes da mistura para verificar deficiência de fatores de coagulação

A deficiência de FC pode ser demonstrada pelos TM por meio da correção dos valores prolongados de TP e TTPa após mistura 1:1 com PPN. O prolongamento isolado do TP, seguido de correção, aponta a deficiência (quantitativa ou qualitativa) de FVII, mais frequente que deficiência de outros FC da via extrínseca. TP e TTPa prolongados, seguidos de correção, apontam para deficiência de FC da via comum ou de múltiplos FC, como ocorre em doenças hepáticas e coagulopatias de consumo. O prolongamento de TTPa, apenas, seguido de correção é sugestivo de hemofilia A ou B, não podendo descartar deficiência de outros FC da via intrínseca. Existem vários reagentes de TP e de TTPa disponíveis no mercado e cada um possui uma determinada sensibilidade frente às deficiências de FC. Isso significa que o nível abaixo do qual, por exemplo, o FVIII deve cair antes do TTPa prolongar não será o mesmo para todos os reagentes de TTPa e é provável que este nível não coincida com o limite inferior do valor de referência do laboratório. Contudo, de modo geral, os reagentes de TTPa devem ser sensíveis às deficiências de fatores VIII, IX e XI em concentrações de 35% a 40%.^(9,21)

Aplicação dos testes da mistura para verificar presença de inibidores dos fatores de coagulação

Os IFC podem ser específicos ou inespecíficos. IFC específicos correspondem a autoanticorpos ou aloanticorpos do tipo IgG, IgM ou IgA dirigidos contra um determinado FC, o qual pode ser neutralizado ou ter sua velocidade de depuração acelerada devido ao complexo antígeno anticorpo formado. O exame confirmatório para se determinar a presença de IFC específicos é realizado por meio do método de Nijmegen, uma modificação do método de Bethesda. O teste consiste no uso de diluições seriadas de plasma deficiente de determinado FC, proveniente do paciente, misturado a um PPN tamponado (com concentração normal dos FC), a fim de quantificar a inibição da atividade do FC após incubação por tempo determinado. A diluição necessária para se atingir 25% a 75% da atividade do FC em

questão, comparada ao controle, na mistura 1:1 de plasma do paciente e PPN tamponado corresponde ao título em unidades Bethesda. Quando múltiplos FC permanecem com atividade muito baixa, deve-se investigar a procedência das amostras e erros pré-analíticos, como coleta em ácido etileno-diamino tetra-acético (EDTA) ou amostra de soro, visto que a presença de múltiplos IFC é muito rara. Uma dosagem de potássio sérico pode ajudar a elucidar a presença de EDTA, enquanto uma dosagem de fibrinogênio pode identificar uma amostra de soro.^(2,12,16,22)

ABORDAGEM LABORATORIAL

Quando ocorre prolongamento isolado do TP

O prolongamento do TP associado a um resultado de TTPa normal é característico de alterações que envolvem o FVII, entretanto também pode ocorrer na deficiência congênita de FX, FV, protrombina (FII) e deficiências de fibrinogênio (FI). O prolongamento isolado de TP também pode ser provocado pela presença de IFC específicos, anticorpos do tipo IgG contra FVII. Um teste da mistura de TP pode ser utilizado para dar sequência à investigação.⁽²³⁾

Quando o teste da mistura do TP não corrige

Inibidor de FVII

A deficiência adquirida de FVII, resultante da presença de inibidores, ocorre de maneira pouco comum. Os inibidores específicos de FVII podem ser de duas naturezas e ambos se tratam de anticorpos IgG. Os anticorpos podem surgir em diferentes contextos, como sepse, doenças malignas, e relacionados ao uso de medicamentos como penicilinas, cefalosporinas, globulina antitímocitos e interleucinas. Também podem estar relacionados à presença de anticoagulante lúpico (AL). Foi reportada a presença de autoanticorpos dirigidos contra o FVII em alguns pacientes com histórico de síndrome do anticorpo antifosfolípido (SAF). O diagnóstico da presença de inibidor específico contra FVII é realizado pela avaliação dos testes de triagem, sendo observado TP prolongado que não corrige após TM e através da realização do teste de Bethesda modificado para a sua quantificação (Figura 2).⁽²²⁻²⁶⁾

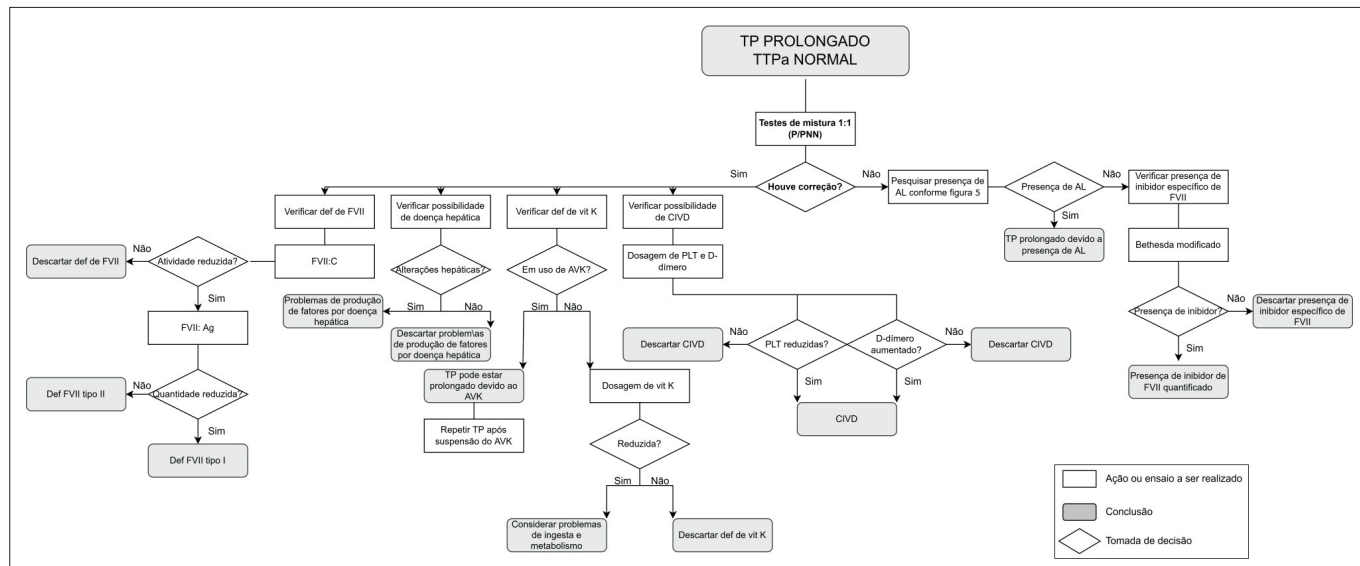


Figura 2

Prolongamento isolado de tempo de protrombina (TP)

Legenda: P/PPN (relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e o pool de plasmas normais); def (deficiência); CIVD (coagulação intravascular disseminada); vit k (vitamina K); FVII:C (atividade de FVII); FVII:Ag (pesquisa de antígeno FVII, pesquisa quantitativa por ELISA ou imunoturbidimetria); AVK (antagonista da vitamina K); PLT (plaquetas); AL (anticoagulantes lúpicos).

Quando o teste da mistura do TP corrige

Deficiência hereditária de FVII

A deficiência congênita de FVII é uma alteração rara, com prevalência global de cerca de 1:500.000, e é caracterizada pela atividade do FVII:C inferior a 70%. Frequentemente é observada história familiar de sangramento quando FVII < 30% e o diagnóstico, de modo geral, é feito ainda durante a infância. A deficiência pode ser do tipo I, na qual se observam alterações quantitativas, e do tipo II, na qual se observam alterações qualitativas. O diagnóstico consiste na avaliação do quadro clínico e laboratorial, observa-se TP prolongado, TM de TP com correção e atividade coagulante de FVII:C e antígeno FVII-Ag, alterados (Figura 2). É importante ressaltar que diferentes respostas podem ser observadas no TP devido à variedade dos preparados de tromboplastina e diferentes polimorfismos genéticos apresentados por pacientes com deficiência de FVII (FVII Padua, FVII Yamomoto). A quantificação de FVII:Ag pode ser realizada através de ensaios imunoturbidimétricos e imunoenzimáticos, contudo não deve ser utilizada como primeira escolha no diagnóstico, visto que não detecta alterações qualitativas funcionais, mas apenas quantitativas. Outro ponto a se considerar é que o FVII possui meia-vida de 4 a 6 horas, inferior aos outros fatores de

coagulação, sendo o primeiro fator a diminuir em casos de deficiências combinadas, portanto é necessário repetição do exame caso a análise ultrapasse este tempo para confirmação de deficiência única ou combinada.^(8,23,24,27)

Coagulação intravascular disseminada

A ocorrência de coagulação intravascular disseminada (CIVD) também pode levar a um aumento isolado de TP, embora seja mais comum observar o prolongamento de ambos, TP e TTPa, simultaneamente. Apesar das reduções dos outros fatores de coagulação, o FVIII pode estar aumentado na CIVD, em razão da liberação de FvW pelas células endoteliais, fato que o torna uma proteína de fase aguda. A coagulação pode ocorrer pela ativação da via do FT e FVII (extrínseca), que além de importante para a conversão de fibrinogênio em fibrina é capaz de ativar outras enzimas e cofatores, FIX e FXI, que retroalimentam a formação do coágulo. A ativação da coagulação também pode ser desencadeada por outras vias devido a expressão de fatores pró-coagulantes como a cisteína-protease ativadora de FX, em pacientes com neoplasias, ou via liberação de moléculas iniciadoras de coagulação em quadros obstétricos. O diagnóstico de CIVD é baseado em achados clínicos e laboratoriais (Figura 2).^(17,28,29)

Quando ocorre prolongamento isolado do TTPa

O prolongamento de TTPa de forma isolada aponta para alterações envolvendo a via intrínseca, especialmente FVIII e FIX, podendo estar prolongado também em alterações na via comum e, neste último caso, normalmente associado ao prolongamento de TP. Além disso, o prolongamento isolado de TTPa pode ser observado em amostras contendo heparina, pacientes com presença de AL e pacientes com hematócrito superior a 55% para os quais não foi realizada correção na coleta.⁽¹⁷⁾

Quando o teste da mistura do TTPa não corrige

A não correção do TTPa após teste da mistura, realizada de imediato ou após incubação, sugere a presença de inibidores. Nestes casos, incubação é particularmente importante devido aos inibidores de FVIII que são anticorpos que necessitam de temperatura adequada para exercer sua ação inibitória. Considerando o histórico do paciente, em casos de eventos trombóticos a presença de AL deve ser investigada.^(7,10,18,19,30,31)

Inibidores de FVIII

Pacientes portadores de hemofilia A hereditária podem desenvolver aloanticorpos ao receberem tratamento contendo FVIII exógeno que geralmente são do tipo IgG4. Cerca de 20% a 30% desses pacientes desenvolvem inibidores contra o FVIII. De forma menos comum, há relatos de pacientes sem histórico familiar de sangramentos ou diagnóstico de hemofilia, que desenvolveram autoanticorpos contra FVIII endógeno. Os anticorpos IgA ou IgM também foram descritos em pacientes com hemofilia A associada a doenças hematológicas malignas, puerpério, dentre outras situações, porém também podem ocorrer em pacientes sem doença prévia associada. A presença de inibidores de FVIII pode interferir na atividade de outros fatores da via intrínseca e esse problema pode ser solucionado através da diluição da amostra. Inicialmente é verificado um prolongamento de TTPa, que não corrige após TM (1:1, 1:4 e 4:1). A mistura deve, também, ser incubada durante 2 horas a 37°C, uma vez que os inibidores do FVIII possuem ação lenta (Figura 3). Assim como para outros inibidores, o ensaio de Bethesda é o teste de escolha para detecção de inibidores de FVIII.^(8,11,27,31-34)

Recentemente foi aprovado, pelos órgãos competentes, o uso do medicamento emicizumabe, que é projetado para mimetizar a função de cofator de FVIII, reconhecendo os FIX e FX ativados, permitindo a formação do arranjo apropriado para a ativação de FX e assim prevenir sangramentos. Desse modo, o emicizumabe se encontra como uma alternativa aos

pacientes que não são responsivos à infusão de FVIII devido a sensibilização prévia e formação de anticorpos anti-FVIII. É importante destacar que o emicizumabe altera os resultados de TTPa e de atividade de FVIII, quando analisados por método coagulométrico. Observa-se uma redução no TTPa e na dosagem de FVIII uma diminuição espúria da atividade. Isso ocorre independentemente do tipo de ativador utilizado no ensaio. A dosagem de FVIII, nestes casos, deverá ser realizada por método cromogênico e com reagentes de origem bovina.⁽³⁵⁻³⁸⁾

Inibidores de FIX

Da mesma forma que surgem anticorpos contra FVIII, anticorpos contra FIX também são encontrados e de maneira mais frequente em pacientes com doenças autoimunes, malignas e com mutações genéticas do tipo grandes deleções, em associação com casos de alergias e reações anafiláticas graves. Contudo, o surgimento de inibidores contra o FIX possui incidência de 5 a 10 vezes inferior à de inibidores de FVIII.^(12,32,33)

Inibidores de FXI, e FXIII

Casos de inibidores de FXI são raros e já foram descritos em pacientes após infecções respiratórias virais, em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) e após a infusão de hemocomponentes. Já o desenvolvimento de anticorpos (inibidores) contra FXIII (deficiência adquirida) é raro, na maioria da vezes idiopático, ocorrendo com maior frequência em idosos, gestantes, politransfundidos, pacientes com neoplasias hematológicas, tumores sólidos, doenças autoimunes e em uso de determinados medicamentos (penicilina e amiodarona). As manifestações clínicas podem ser graves e fatais. Tais inibidores podem ser neutralizantes de FXIII e não neutralizantes de FXIII.⁽³⁹⁾

Presença de anticoagulantes

A heparina é um potente anticoagulante amplamente utilizado em pacientes hospitalizados para prevenir e tratar trombose e a sua administração deve ser acompanhada de controle laboratorial pelo TTPa (heparina de alto peso molecular - não fracionada) e pelo teste anti-Xa (heparina de baixo peso molecular - fracionada). A heparina é capaz de se ligar à antitrombina e fazer com que esta exponha seu sítio ativo, inibindo a ação do FII e FXa e impedindo a formação do coágulo. No entanto, a heparina pode ser um interferente laboratorial indesejado quando sua presença na amostra é resultante de contaminação durante a coleta.

A presença de heparina, a depender da quantidade, torna a amostra incoagulável, de modo que não seja possível a realização dos exames de triagem. Existem aditivos presentes em reagentes de TTPa e de teste de veneno da víbora de Russell diluído (dRVVT) que neutralizam a heparina contaminante da amostra. Os principais aditivos são heparinases, protamina e polibreno. Neutralizantes de inibidores diretos de trombina (IDT) ou inibidores diretos do fator Xa também estão disponíveis, apesar de ainda não serem utilizados em larga escala.^(18,40,41)

A detecção de contaminação da amostra por heparina e IDT pode ser realizada pelo TT e pelo anti-Xa. O TT permite verificar a conversão de fibrinogênio em fibrina, avaliando diretamente o fibrinogênio funcional. Desta forma, é especialmente útil em casos de TTPa prolongado, pois está normalmente prolongado nos casos em que o TTPa prolongado ocorre pela presença de heparina, dabigatrana ou deficiência de fibrinogênio. Um TM do TT sem correção sugere a presença de heparina ou dabigatrana, ao passo que a correção sugere deficiência de fibrinogênio. Existem diferentes possibilidades para explicar os TC prolongados em cada situação e o resultado dos TM ajudam a direcionar quais testes adicionais podem ser úteis.⁽³⁾ Já o anti-Xa é realizado por método cromogênico, onde a antitrombina III e o FXa se encontram em excesso na reação e a taxa de inibição do FXa pelo complexo heparina-antitrombina III é diretamente proporcional aos níveis de heparina, de modo que a atividade de FXa remanescente medida em substrato cromogênico seja inversamente proporcional aos níveis de heparina. Entretanto, em indivíduos com deficiência de antitrombina III do tipo II (deficiência qualitativa) pode não ser possível a detecção de atividade anti-Xa. O paciente pode apresentar resultados de atividade indetectável, e nessa situação os testes da mistura com PPN podem ser realizados a fim de possibilitar o estabelecimento do valor de atividade, através de um ensaio cromogênico baseado em FXa. (Figura 4).^(8,17,42,43)

Presença de anticoagulante lúpico

A presença de AL, que é um anticorpo com afinidade por fosfolipídios, predispõe ao risco de trombose e complicações gestacionais, podendo levar a abortos de repetição e nascimentos prematuros. Para fins diagnósticos são avaliados três desses anticorpos: anti-β2GPI, anticorpos anticardiolipina (aCL) e AL. O AL é avaliado por sua capacidade de prolongar testes de coagulação *in vitro*. Existem três principais diretrizes

que orientam a respeito da detecção de AL: a elaborada pela ISTH em 2009, atualizada em 2020; a elaborada pelo CLSI em 2014 e a do BCSH de 2012. Os três documentos possuem em comum orientações a respeito do uso dos TM na detecção de AL. Quando o dRVVT e/ou TTPa se encontram prolongados, é recomendado prosseguir com os TM na proporção 1:1, em que a não correção indica que há presença de inibidor de coagulação que pode ou não ser o AL, a depender se há ou não correção na fase confirmatória com utilização de reagentes com elevado teor de fosfolipídios.^(7,18,30,44)

Outros testes podem ser utilizados para a triagem de AL no laboratório de hemostasia como, por exemplo, o tempo de coagulação com *kaolin* (KCT) e o tempo de protrombina diluído (dTP). O uso do KCT é desencorajado pela diretriz da ISTH devido a sua baixa reprodutibilidade, ao passo que o dTP apresenta bom desempenho quando se utiliza tromboplastina recombinante, que possui alta sensibilidade aos AL. Sabe-se que, apesar de possível, é raro o prolongamento do TP devido a presença de AL, e isso normalmente ocorre porque os reagentes de tromboplastina contêm altas concentrações de fosfolipídios, que anulam os efeitos de AL. Entretanto, quando a tromboplastina é diluída, o AL passa a interferir no tempo de coagulação (TC) do TP. Dessa forma, o dTP pode ser utilizado como triagem para AL e o teste confirmatório correspondente pode ser realizado através da utilização de uma diluição menor de tromboplastina.^(11,19,45)

A Figura 5 traz detalhes sobre as diferentes estratégias para pesquisa de AL. Idealmente, a pesquisa de AL deve ser realizada quando o paciente não está fazendo uso de terapia anticoagulante, porém muitas vezes é clinicamente inviável suspender a medicação. A presença de anticoagulantes na amostra do paciente pode ser contornada por meio de estratégias para neutralizar anticoagulantes, da mesma forma como citado para heparina. Anticoagulantes orais diretos (AOD) como os IDT ou inibidores diretos do fator Xa podem ser neutralizados por idarucizumabe, dentre outros. Não há consenso entre as principais diretrizes sobre a recomendação do uso desses neutralizantes. As heparinas exercem efeito sobre os ensaios de AL devido interferirem no TTPa e no dRVVT. Já em plasmas de pacientes em uso de AVK, que apresentem valores de RNI entre 1,5 e 3,0, é possível preparar uma diluição 1:1 de plasma do paciente e PPN, a fim de compensar a ausência de fatores dependentes de vitamina K. Já em relação aos IDT e inibidores diretos do FXa, os efeitos nos ensaios são imprevisíveis.^(18,41,44)

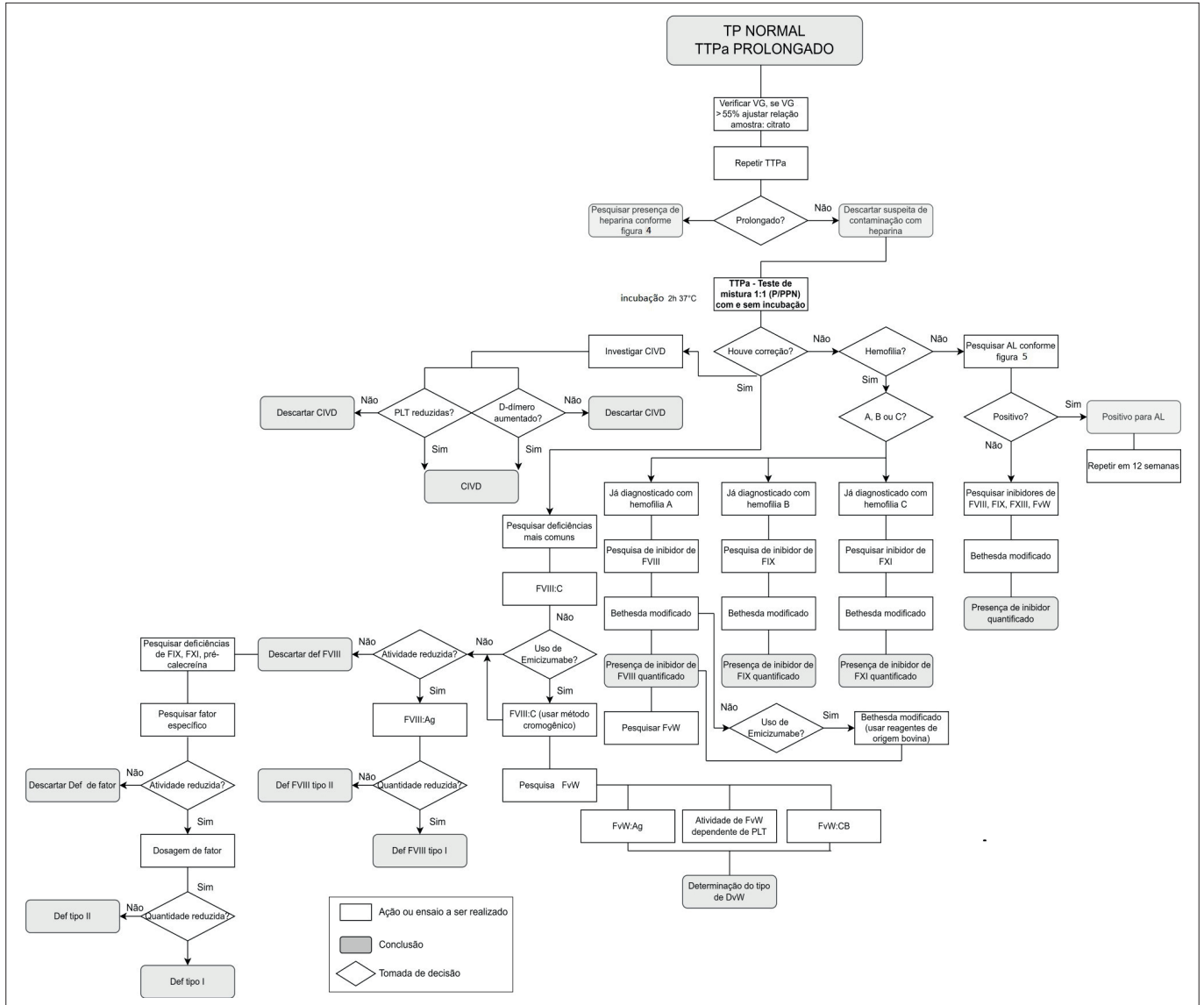


Figura 3

Prolongamento isolado de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa)

Legenda: P/PPN (relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e o pool de plasmas normais); def (deficiência); CIVD (coagulação intravascular disseminada); PLT (plaquetas); AL (anticoagulantes lúpicos); VG (volume globular); FVIII:C (pesquisa de atividade de FVIII); FVIII (pesquisa de antígeno FVIII, pesquisa quantitativa); FvW:Ag (teste de fator de von Willebrand antígeno); FvW:CB (teste de ligação do fator de von Willebrand ao colágeno).

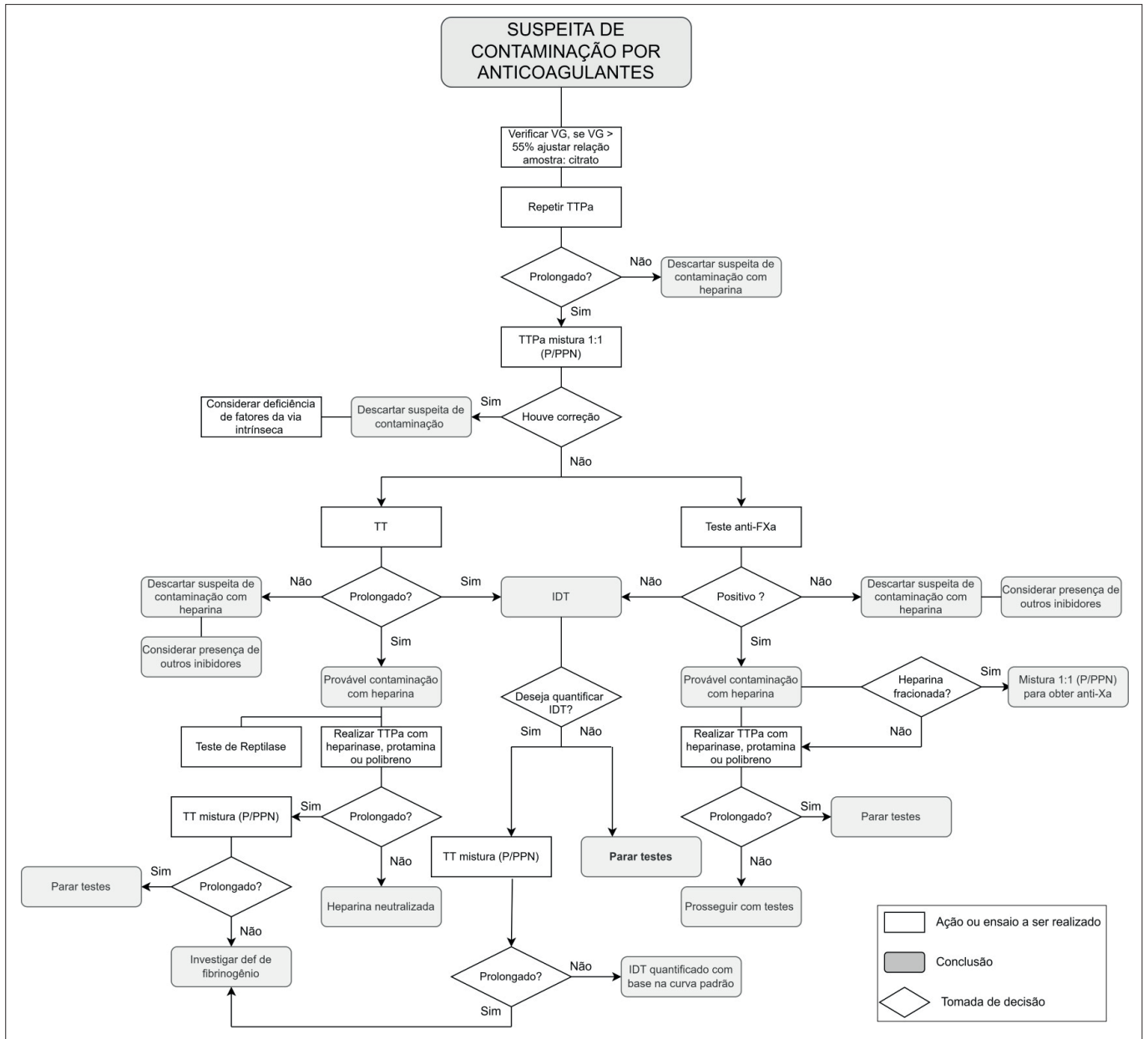


Figura 4

Pesquisa de contaminação por medicamentos anticoagulantes

Legenda: VG (volume globular); P/PPN (relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e o pool de plasmas normais); IDT (Inibidores Diretos da Trombina).

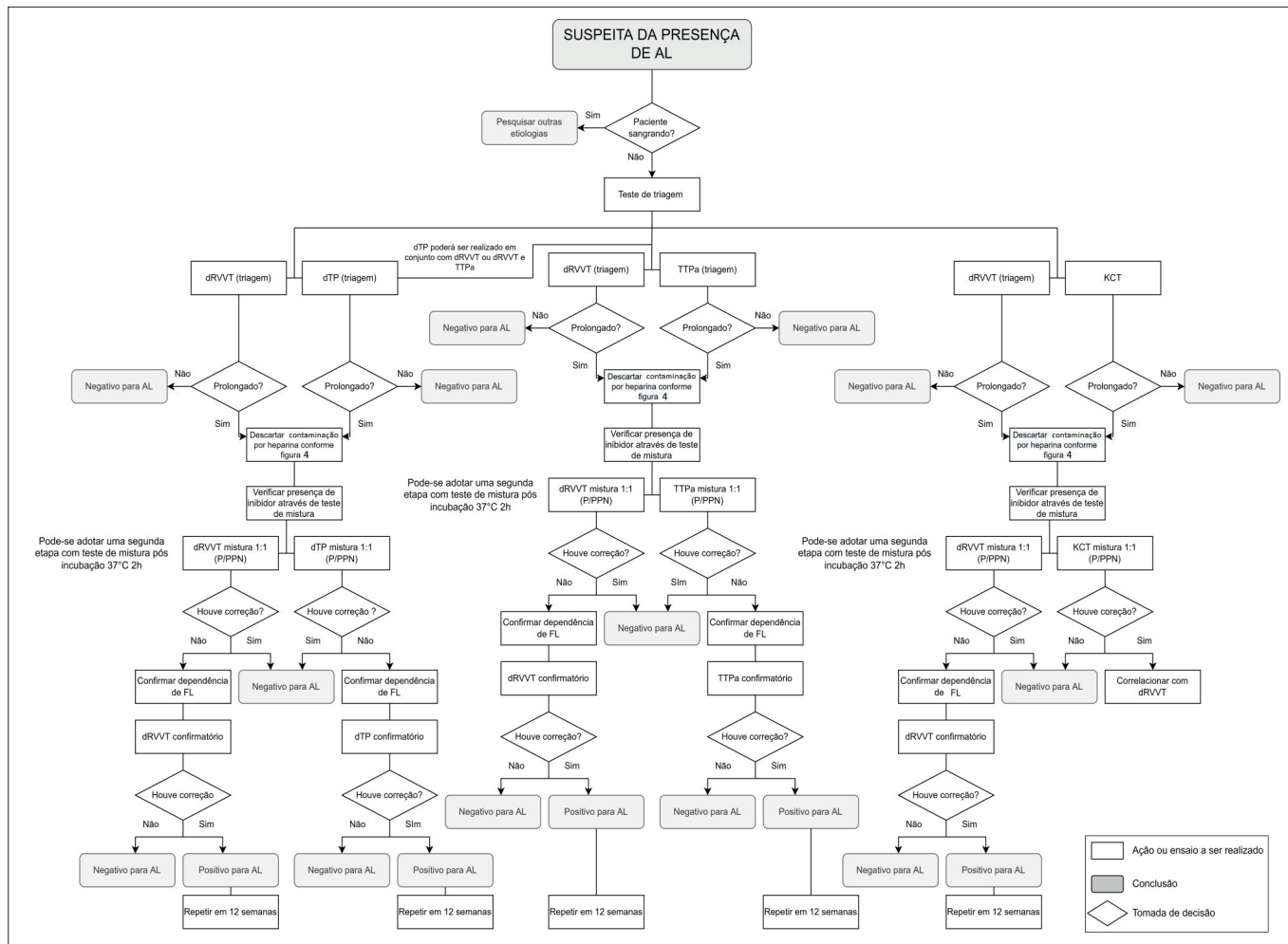


Figura 5

Pesquisa de Anticoagulantes Lúpicos (AL)

Legenda: P/PPN (relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e o pool de plasmas normais); AL (anticoagulantes lúpicos), FL (fosfolípido), dTP (teste do tempo de protrombina diluído), dRVVT (teste do veneno da víbora de Russell diluído), KCT (kaolin clotting time - tempo de coagulação pelo caulim)

Quando o teste da mistura do TTPa corrige

Situações já descritas, como CIVD e deficiência de fatores da via intrínseca, com maior frequência a deficiência congênita de FVIII, resultam na correção do TTPa após teste da mistura.

Hemofilia A – Deficiência de FVIII

A hemofilia A é uma doença hereditária de herança ligada ao X, mais frequente em homens, que se caracteriza pela deficiência de FVIII. Acomete cerca de 1:10.000 nascimentos masculinos. O quadro clínico é marcado por hemorragias recorrentes, especialmente hemartroses, e em casos mais graves hemorragias de sistema nervoso central. A doença pode ser classificada de forma grave, moderada ou leve considerando a quantidade de FVIII. A atividade de FVIII

inferior a 1% caracteriza hemofilia grave, e desse modo é desejável que os ensaios laboratoriais possuam linearidade em valores inferiores a 1%. A amostra ideal para a pesquisa de FVIII é sangue total, coletado em tubo contendo citrato, no entanto a coleta de sangue de cordão umbilical também pode ser realizada, especialmente em recém-nascidos do sexo masculino. Nestes casos, no entanto, os resultados devem ser interpretados com cautela, visto que durante o parto há ativação da cascata de coagulação e as amostras de cordão tendem a vir parcialmente coaguladas. O FVIII circula complexado ao FvW, de modo que a deficiência de FvW pode resultar em um aumento da depuração de FVIII. Ao diagnóstico se observa TTPa prolongado que corrige após o TM.^(8,12,27)

Hemofilia B – Deficiência de FIX

A hemofilia B também é uma doença hereditária ligada ao cromossomo X, que acarreta a deficiência de FIX. Apresenta uma grande variedade de variantes genéticas, o que dificulta a correlação com a clínica. Ao diagnóstico se observa TTPa prolongado que corrige após o TM.^(27,39)

Deficiência de FXI, FXII e pré-calecreína

A deficiência de FXI, também chamada de hemofilia C, é uma doença de herança autossômica e incidência rara. A relação entre os níveis de FXI e as manifestações clínicas não é linear. A deficiência de fator FXII é tipicamente autossômica recessiva, com incidência <1:1.000.000, e resulta em prolongamento mais acentuado do TTPa, porém não há manifestações clínicas envolvendo episódios de sangramento, assim como deficiência de pré-calecreína (PC). Ao diagnóstico se observa TTPa prolongado que corrige após o TM em todas essas situações. Contudo, na deficiência de PC, um TTPa prolongado pode diminuir ou até mesmo normalizar caso a amostra seja incubada por tempo suficiente para que a PC diminuída consiga ativar a via intrínseca da coagulação.⁽²⁷⁾

Deficiência de fator de von Willebrand

A doença de von Willebrand é uma doença hemorrágica hereditária que afeta cerca de 2% da população e possui herança autossômica irregular. Para estabelecer o diagnóstico é importante que se conheça o histórico familiar e de sangramentos do paciente. O diagnóstico é baseado nos testes de triagem, havendo prolongamento de TTPa, seguido da avaliação de FVIII:C (atividade), FvW:Ag (antígeno) e determinação da função do FvW através de: FvW:RCo (teste cofator de ristocetina) e/ou FvW:GPIIbM (teste de atividade de FvW de ligação de GPIIb) e FvW:CB (ligação do FvW ao colágeno). Existem inibidores de FvW que se desenvolvem em alguns pacientes com doença de von Willebrand do Tipo 3 e podem ser detectados pela inibição que provocam na atividade do cofator da ristocetina e na atividade do FVIII. Neste último caso, ocorre prolongamento do TTPa e correção do TM do TTPa.⁽³¹⁾

Quando ocorre prolongamentos simultâneos do TTPa e do TP

O prolongamento simultâneo de TTPa e TP aponta para alterações envolvendo a via comum, ou múltiplas vias. Variáveis analíticas e pré-analíticas, como volume de amostra, temperatura de armazenamento da amostra, tempo de

armazenamento da amostra antes do processamento e uso de ativadores, devem ser avaliadas, visto que podem levar ao prolongamento dos exames de triagem. Descartadas as possibilidades anteriores, deve-se prosseguir com a investigação de deficiência congênita ou adquirida de fatores da via comum.^(9,10,31)

Quando os testes da mistura do TTPa e do TP não corrigem

A não correção do TP e do TTPa, após a realização dos respectivos TM, direciona a investigação para a presença de inibidores. Investiga-se a presença de inibidores específicos para fibrinogênio, FII, FV e FX, sendo mais comumente verificada a presença de inibidores direcionados ao FV (Figura 6).^(27,34)

Inibidores de FV

Inibidores de FV são frequentemente observados em pacientes que possuem fatores de risco como intervenções cirúrgicas, uso de beta-lactâmicos, aminoglicosídeos e histórico de transfusões. Há relatos de casos de desenvolvimento de inibidores contra FV após a utilização de hemostáticos tópicos, como colas cirúrgicas, contendo trombina bovina e vestígios de FV bovino, capazes de estimular o sistema imune. Devido à similaridade estrutural entre FV e FVIII, autoanticorpos formados contra FV podem interferir na atividade de FVIII. O diagnóstico diferencial entre a presença de AL e inibidor de FV é realizado com o auxílio dos TM, onde a não correção de TTPa após a incubação com reagente rico em fosfolípido indica a presença de inibidor de FV e não de AL. Por outro lado, alguns autoanticorpos anti-FV fogem à regra, de modo que o resultado da pesquisa de AL deve ser correlacionado com a história clínica e sintomatologia, sendo verificados casos de predisposição a trombose em pacientes que possuem AL e sangramentos no caso de inibidores de FV.^(34,39,46-48)

Inibidores de FX, FII e fibrinogênio

O FX, quando ativado, catalisa a conversão de protrombina em trombina, e a deficiência adquirida de FX está associada frequentemente à amiloidose sistêmica, que provoca redução de FX na circulação. Há relatos do surgimento de autoanticorpos contra o FX em situações de infecção respiratória e leucemia mielóide aguda, apesar de não ter sido estabelecida relação de causalidade. Inibidores de FII (protrombina) podem ser observados em pacientes com síndrome antifosfolípido (SAF), LES, artrite reumatoide e em pacientes que receberam preparados de trombina de origem bovina. Parte significativa desses anticorpos não estão associados a

sangramentos, todavia episódios hemorrágicos são observados em alguns pacientes. Na SAF existe a possibilidade de desenvolvimento de síndrome de anticoagulante lúpico-hipoprotrombinêmica, que causa predisposição à trombose e a sangramentos. Anticorpos inibidores de fibrinogênio ocorrem de forma rara e são observados em pacientes que

receberam reposição de hemocomponentes. Estão associados a episódios graves de sangramento, entretanto há relatos de altos níveis de anticorpos antifibrinogênio não associados a hemorragias em gestantes e puérperas, especialmente em casos de mulheres sensibilizadas devido a diferença de fator Rh entre mãe e recém-nascido e em partos difíceis.^(22,32,39,49,50)

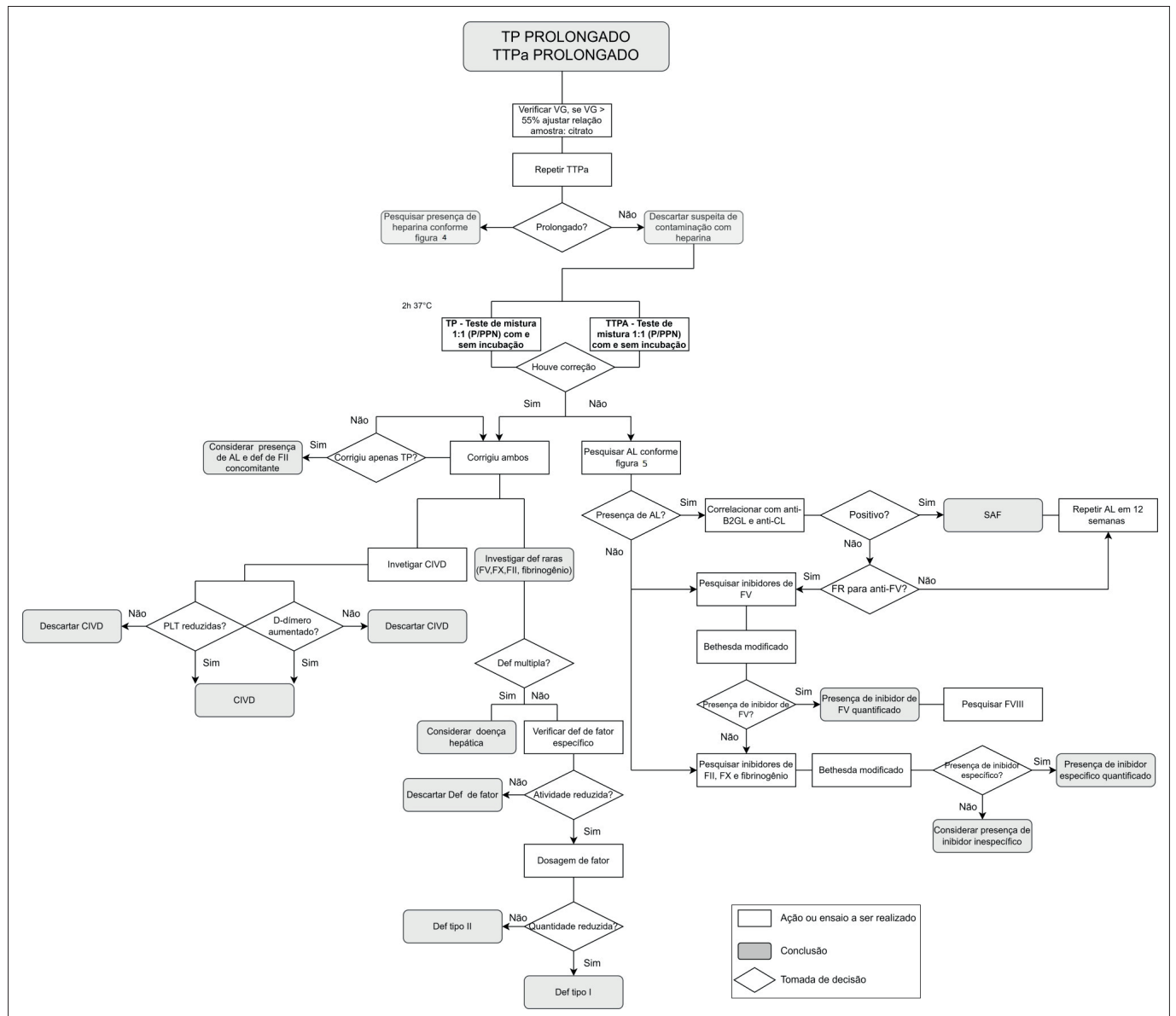


Figura 6

Prolongamentos simultâneos de TTPa e de TP

Legenda: P/PPN (relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e o tempo do pool de plasmas normais); def (deficiência); CIVD (coagulação intravascular disseminada); PLT (plaquetas); AL (anticoagulantes lúpicos); VG (volume globular); anti-B2GL (anti-beta-2-glicoproteína I); anti-CL (anti-cardiolipina); SAF (síndrome antifosfolípido); FR (fator de risco).

Quando os testes da mistura do TTPa e do TP corrigem

Como descrito anteriormente, a CIVD pode levar ao prolongamento de TP e de TTPa, devendo ser investigada. A correção após teste da mistura direciona a pesquisa para deficiência de fatores da via comum.⁽²⁷⁾

Deficiência hereditária de FV

A deficiência de FV congênita é uma doença autossômica recessiva, rara, com incidência estimada de 1:1.000.000 e caracterizada por níveis de atividade de FV baixos ou indetectáveis. Pode ser classificada em tipo I e tipo II e os pacientes apresentam uma variedade de manifestações clínicas, desde assintomáticos até epistaxe, hematomas e hemorragias intracranianas. Além de ser encontrado no plasma, o FV pode ser encontrado nos grânulos densos das plaquetas, havendo evidências de que o FV proveniente das plaquetas apresenta atividade pró-coagulante mais pronunciada, quando comparada ao fator plasmático. O papel do FV proveniente das plaquetas ainda não está bem estabelecido, no entanto há grupos de pacientes com deficiência de FV que apresentam manifestações hemorrágicas graves e atividade de FV plaquetário indetectável. Laboratorialmente, a pesquisa de deficiência de FV deve ser realizada com base nos resultados de TTPa e TP prolongados e corrigidos após teste da mistura, seguida de determinação da atividade do FV (Figura 6).^(11,27,34,47)

Deficiência hereditária de FX

A deficiência de FX é uma doença com prevalência aproximada de 1:1.000.000 e possui caráter autossômico recessivo. Os episódios de sangramento tendem a ocorrer em pacientes com níveis de FX inferiores a 10%. Os níveis fisiológicos de FX estão elevados durante a gestação em mais de 150% e no período pós-parto. Laboratorialmente, a pesquisa de deficiência de FX deve ser realizada com base nos resultados de TTPa e TP prolongados e corrigidos após teste da mistura, seguida de determinação da atividade do FX.^(25,51)

Deficiência hereditária de FII

A prevalência da deficiência hereditária de FII é de aproximadamente 1:2.000.000, sendo extremamente rara. Pode ser observada hipoprotrombinemia, ou deficiência do tipo I, na qual o diagnóstico é realizado como base nos baixos níveis de atividade do FII. A disprotrombinemia, ou deficiência do tipo II, resulta de uma síntese quase normal de protrombina circulante, porém a proteína de alguma forma é disfuncional, com atividade reduzida, mas a quantificação de antígeno se encontra dentro dos valores esperados. Em pacientes com

níveis de FII inferiores a 5% no plasma, as manifestações clínicas são sangramentos graves. Entretanto, de forma paradoxal, há relatos na literatura de casos envolvendo pacientes com deficiência conhecida de FII e desenvolvimento de trombose venosa profunda. Laboratorialmente, a pesquisa de deficiência de FII deve ser realizada com base nos resultados de TTPa e TP prolongados e corrigidos após teste da mistura, seguida de determinação da atividade do FII.⁽⁵²⁾

Deficiência de fibrinogênio

A afibrinogenemia, doença autossômica dominante, é caracterizada pela total ausência de produção de fibrinogênio, normalmente diagnosticada ao nascimento, devido ao sangramento de cordão umbilical. Nesta condição todos os testes dependentes da formação de fibrina estão prolongados e o fibrinogênio se encontra indetectável, tanto em teste funcional (Claus), quanto em ensaios antigênicos. As deficiências de fibrinogênio também podem ser classificadas em hipofibrinogenemia, na qual há produção inferior aos níveis normais e disfibrinogenemia, na qual a produção da proteína se mantém normal em níveis quantitativos, porém com alterações qualitativas.

Na hipofibrinogenemia, o TT é um ensaio muito sensível, e pode ser confirmado por um tempo de reptilase anormal e níveis de fibrinogênio inferiores ao intervalo de referência. Pode ser decorrente de doença congênita, porém deve-se investigar função hepática. O TM do TT pode ser útil no diagnóstico de disfibrinogenemia, visto que a quantificação de fibrinogênio por método imunoenzimático não avalia a quantidade de fibrinogênio funcional. No TM do TT já foi observada a correção total após mistura 1:5 (P/PPN), no entanto já foi possível observar correção de 50% dos pacientes em mistura 1:4.

A não correção indica a potencial presença de inibidor. Na disfibrinogenemia, geralmente há uma discrepância entre os testes dependentes da formação de fibrina e o fibrinogênio medido antigenicamente. Entre as vantagens do teste tempo de reptilase, destaca-se a sua insensibilidade à presença de heparina não fracionada e deficiência de FXIII, de modo que o ensaio pode ser útil na detecção de hipofibrinogenemia ou disfibrinogenemia em amostras de pacientes contendo heparina.^(8,27,53,54)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os TM são normalmente indicados na investigação de prolongamentos do TTPa ou TP, sendo também utilizados na investigação de anticoagulantes lúpicos. Não são

indicados quando o tempo de coagulação dos testes de triagem encontram-se dentro dos valores de referência e até mesmo levemente acima desse intervalo. Antes da realização de um TM, devem ser obtidas informações sobre o histórico do paciente, incluindo uso medicamentosos, assim como se a amostra foi coletada adequadamente.⁽¹³⁾

O papel fundamental dos TM pode ser simplesmente expresso como um método para distinguir deficiência de fator de coagulação de um inibidor. O principal desafio para o laboratório é estabelecer critérios confiáveis que maximizem as chances de interpretação correta do resultado do TM. Existem diversas fórmulas que os laboratórios podem escolher para a interpretação dos TM, ressaltando-se que é uma boa prática de laboratório o estabelecimento de valores de corte locais considerando o analisador, PPN e tipos de reagentes em uso.^(52,55)

Na aplicação clínica e laboratorial dos TM podemos observar três cenários básicos: apenas TP prolongado, apenas TTPa prolongado ou TP e TTPa prolongados, em que os TM são realizados apenas para o teste em que ocorreu prolongamento. Testes adicionais podem ser recomendados dependendo do

contexto clínico e a critério médico. Os vários tipos de situações envolvendo os testes de triagem em hemostasia, assim como os TM e estudos adicionais, são mostrados na Tabela 1.

A pesquisa de alterações da hemostasia no laboratório clínico deve ser realizada de forma cuidadosa e sistemática, sendo fundamental o conhecimento aprofundado do tema por parte dos analistas clínicos e dos médicos, sob o risco de gerar prejuízos no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes. A aplicação, o desempenho e a interpretação inadequadas dos testes de triagem e dos TM em hemostasia podem levar a erros diagnósticos na classificação da causa da coagulação anormal, podendo acarretar tratamento incorreto dos pacientes. Cabe aqui ressaltar que decisões clínicas não devem ser guiadas por resultados isolados de testes de triagem e dos TM e sim no contexto clínico-laboratorial.

Por fim, conclui-se que os TM oferecem benefícios substanciais, pois ajudam de fato a orientar a investigação para diferenciar deficiência de fatores de coagulação de presença de inibidor, reduzindo custos e tempo e maximizando a eficiência diagnóstica para os pacientes.

Tabela 1

Comportamento dos testes de coagulação em diversas situações clínicas

Situações	Teste de coagulação						Testes adicionais para confirmação
	TP	TTPa	TT	TP mix	TTPa mix	TT mix	
Deficiências hereditárias de fatores de coagulação							
FVIII / FIX / FXI / FXII / PC / CAPM	Normal	Prolongado	Normal	-	Corrige	-	Dosagem de FVIII, FIX, FXI, FXII, PC e CAPM
FII / FV / FX	Prolongado	Prolongado	Normal	Corrige	Corrige	-	Dosagem de FII, FV e FX
FVII	Prolongado	Normal	Normal	Corrige	-	-	Dosagem de FVII
Afibrinogenemia, disfibrinogenemia ou hipofibrinogenemia	Prolongado	Prolongado	Prolongado	Corrige	Corrige	Corrige	Dosagem de fibrinogênio
FXIII	Normal	Normal	Normal	-	-	-	Dosagem de FXIII
Doença de von Willebrand com FVIII baixo	Normal	Prolongado	Normal	-	Corrige	-	Dosagem de FVIII e FvW
Deficiências adquiridas de fatores de coagulação							
Doenças hepáticas	Prolongado	Prolongado	Normal ou Prolongado	Corrige	Corrige	Corrige	Dosagem de fatores e de enzimas hepáticas
Deficiência de vitamina K	Prolongado	Prolongado	Normal	Corrige	Corrige	-	Dosagem de FII, FVII, FIX e FX
CIVD	Prolongado	Prolongado	Prolongado	Corrige	Corrige	Corrige	Dosagem de fatores, dímero D, fibrinogênio e plaquetas
Amiloidose sistêmica com perda de FX	Prolongado	Prolongado	Normal	Corrige	Corrige	-	Dosagem de FX
Síndrome nefrótica com perda de FXII	Normal	Prolongado	-	-	Corrige	-	Dosagem de FXII
FVIII diminuído secundariamente a inibidor de FvW	Normal	Prolongado	Normal	-	Corrige	-	Dosagem de FVIII e FvW

Tabela 1 (continuação)

Situações	Teste de coagulação						
	TP	TTPa	TT	TP mix	TTPa mix	TT mix	Testes adicionais para confirmação
Inibidores de fatores de coagulação do tipo anticorpos							
Anticoagulante lúpico	Normal ou raramente aumentado	Prolongado	Normal	Variável	Não corrige	-	dRVVT
Inibidor de FVIII	Normal	Prolongado	Normal	-	Correção imediata variável e não correção tardia após incubação	-	Dosagem de FVIII e de inibidor de FVIII pelo método de Bethesda modificado
Inibidor de FIX, FXI ou FXIII	Normal	Prolongado	Normal	-	Não corrige	-	Dosagem de FIX, FXI ou FXIII e de inibidor de FIX ou FXI pelo método de Bethesda modificado ou de FXIII por teste da mistura do tipo neutralizante ou por imunoenensaio de ligação
Inibidor de FVII	Prolongado	Normal	Normal	Não corrige	-	-	Dosagem de FVII e de inibidor de FVII pelo método de Bethesda modificado
Inibidor de FII, FV ou FX	Prolongado	Prolongado	Normal	Não corrige	Não corrige	-	Dosagem de FII, FV ou FX e de inibidor de FII, FV ou FX pelo método de Bethesda modificado
Agentes terapêuticos							
Heparina não fracionada (níveis terapêuticos)	Normal desde que reagente contenha neutralizador de heparina	Prolongado	Prolongado	Corrige	Não corrige	Variável	Anti-Xa dentro dos níveis terapêuticos. TT prolongado com não correção no TT mix é sugestivo, mas também pode ocorrer com o uso de inibidores diretos da trombina
Heparina não fracionada (acima dos níveis terapêuticos)	Prolongado	Prolongado	Prolongado	Variável	Não corrige	Não corrige	Anti-Xa acima dos níveis terapêuticos. TT prolongado com não correção no TT mix é sugestivo, mas também pode ocorrer com o uso de inibidores diretos da trombina
Heparina de baixo peso molecular	Normal	Normal ou prolongado	Normal	-	-	-	Monitoramento pelo teste anti-Xa
Antagonistas da vitamina K (início da terapia onde vit. K encontra-se levemente diminuída)	Prolongado	Normal, raramente prolongado	Normal	Corrige	Corrige	-	FII, FVII, FIX e FX estarão baixos
Antagonistas da vitamina K (longos períodos em níveis terapêuticos, vit. K encontra-se bastante diminuída)	Prolongado	Prolongado	Normal	Corrige	Corrige	-	FII, FVII, FIX e FX estarão baixos
Argatrobana e Dabigatrana (inibidores diretos da trombina)	Normal ou prolongado	Prolongado, raramente normal	Prolongado	Não corrige	Não corrige	Normalmente não corrige	Dosagem de inibidor direto da trombina
Apixabana, Edoxabana e Rivaroxabana (inibidores de FXa)	Prolongado	Normal ou prolongado	Normal	Não corrige	Normalmente não corrige	-	Dosagem de inibidor de FXa

Legenda: TTPa, tempo de tromboplastina parcial ativada; PC, pré-caliceína; CAPM, cininogênio de alto peso molecular; TP, tempo de protrombina; TT, tempo de trombina; FvW, fator de von Willebrand; CIVD, coagulação intravascular disseminada; FII, fator II da coagulação; FV, fator V da coagulação; FVII, fator VII da coagulação; FVIII, fator VIII da coagulação; FIX, fator IX da coagulação; FX, fator X da coagulação; FXI, fator XI da coagulação; FXII, fator XII da coagulação; Xa, X ativado; mix, teste da mistura.

REFERÊNCIAS

- Kriz N, Rinder CS, Rinder HM. Physiology of Hemostasis: with relevance to current and future laboratory testing. *Clin Lab Med.* 2009;29(2):159-174.
- Bonar RA, Lippi G, Falavero EJ. Overview of hemostasis and thrombosis and contribution of laboratory testing to diagnosis and management of hemostasis and thrombosis disorders. In: Falavero EJ, Lippi G (Eds). *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols.* New York: Springer Nature, 2017. p. 3-27.
- Falavero EJ. Coagulation mixing studies: utility, algorithmic strategies and limitations for lupus anticoagulant testing or follow up of abnormal coagulation tests. *Am J Hematol.* 2020;95(1):117-128.
- Tripodi A, Lippi G, Plebani M. How to report results of prothrombin and activated partial thromboplastin times. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(2):215-222.
- Dorgalaleh A, Falavero EJ, Bahraini M, Rad F. Standardization of prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR). *Int J Lab Hematol.* 2021;43(1):21-28.
- Chee Y. Coagulation. *J R Coll Physicians Edinb.* 2014;44(1):42-45.
- Devreese KMJ, Groot PG, Laat B, Erkan D, Falavero EJ, Mackie I, et al. Guidance from the scientific and standardization committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost.* 2020;18(11):2828-2839.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de diagnóstico laboratorial das coagulopatias hereditárias e plaquetopatias. Brasília: Editora MS 2016, 140p.
- Benzon HT, Park M, McCarthy RJ, Kendall MC, Lindholm PF. Mixing studies in patients with prolonged activated partial thromboplastin time or prothrombin time. *Anesth Analg.* 2019;128(6):1089-1096.
- Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(7):864-873.
- Kershaw G, Orellana D. Mixing tests: diagnostic aides in the investigation of prolonged prothrombin times and activated partial thromboplastin times. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(3):283-290.
- Kershaw G, Falavero EJ. Laboratory identification of factor inhibitors: an update. *Pathology.* 2012;44(4):293-302.
- Adcock DM, Moore GW, Montalvão SL, Kershaw G, Gosselin RC. Activated partial thromboplastin time and prothrombin time mixing studies: current state of the art. *Semin Thromb Hemost.* 2022 Sep 2. doi: 10.1055/s-0042-1756196. Epub ahead of print.
- Rosner E, Puzner R, Lusky A, Modan M, Many A. Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity. *Thromb Haemost.* 1987;57(2):144-147.
- Chang SH, Tillema V, Scherr D. A "percent correction" formula for evaluation of mixing studies. *Am J Clin Pathol.* 2002;117(1):62-73.
- Kershaw G, Jayakodi D, Dunkley S. Laboratory identification of factor inhibitors: the perspective of a large tertiary hemophilia center. *Semin Thromb Hemost.* 2009 Nov; 35(08):760-8.
- Kottke-Marchant K. Algorithmic approaches to hemostasis testing. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(2):195-204.
- Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost.* 2009 Oct;7(10):1737-40.
- Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M, British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol.* 2012 Apr;157(1):47-58.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2005). Procedures for validation of INR and local calibration of PT/INR systems; approved guideline. H54-A, vol. 25, No. 23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Laffan MA, Manning RA. Investigation of haemostasis. In: Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. *Dacie and Lewis Practical Haematology.* 12th ed. London: Elsevier Limited, 2017. p. 366-409.
- Collins PW, Chalmers E, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, et al. Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia. *Br J Haematol.* 2013;160(2):153-170.
- Sevenet PO, Kaczor DA, Depasse F. Factor VII deficiency: from basics to clinical laboratory diagnosis and patient management. *Clin Appl Thromb.* 2017;23(7):703-710.
- Mariani G, Bernardi F. Factor VII deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2009;35(4):400-406.
- Kamikubo Y, Mendolicchio GL, Zampolli A, Marchese P, Rothmeier AS, Orje JN, et al. Selective factor VIII activation by the tissue factor-factor VIIa-factor Xa complex. *Blood.* 2017;130(14):1661-1670.
- Bidot CJ, JY W, Horstman LL, Huisheng H, Jimenez JJ, Yaniz M, et al. Factor VII/VIIa: a new antigen in the anti-phospholipid antibody syndrome: Anti-FVII/VIIa in APS. *Br J Haematol.* 2003;120(4):618-626.
- Wagenman BL, Townsend KT, Mathew P, Crookston KP. The laboratory approach to inherited and acquired coagulation factor deficiencies. *Clin Lab Med.* 2009;29(2):229-252.
- Levi M. Pathogenesis and management of peripartum coagulopathic calamities (disseminated intravascular coagulation and amniotic fluid embolism). *Thromb Res.* 2013;131:S32-34.
- Gando S, Levi M, Toh CH. Disseminated intravascular coagulation. *Nat Rev Dis Primer.* 2016;2(2):16037.
- Molhoek J, de Groot P, Urbanus R. The lupus anticoagulant paradox. *Semin Thromb Hemost.* 2018;44(5):445-452.
- Levy JH, Szlam F, Wolberg AS, Winkler A. Clinical use of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time for screening. *Clin Lab Med.* 2014;34(3):453-477.
- Franchini M, Veneri D. Acquired coagulation inhibitor-associated bleeding disorders: an update. *Hematology.* 2005;10(6):443-449.
- Franchini M, Lippi G, Falavero E. Acquired inhibitors of coagulation factors: part II. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38(5):447-453.
- Franchini M, Castaman G, Coppola A, Santoro C, Zanon E, Di Minno G, et al. Acquired inhibitors of clotting factors: AICE recommendations for diagnosis and management. *Blood Transfus.* 2015;13(3):498-513.
- Kitazawa T, Esaki K, Tachibana T, Ishii S, Soeda T, Muto A, et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens. *Thromb Haemost.* 2017;117(7):1348-1357.
- Tiede A, Kemkes-Matthes B, Knöbl P. Should emicizumab be used in patients with acquired hemophilia A? *J Thromb Haemost.* 2021;19(3):637-644.
- Rodriguez EC, Valentino LA. Emicizumab: review of the literature and critical appraisal. *Haemophilia.* 2019;24(1):11-20.
- Jenkins PV, Bowyer A, Burgess C, Gray E, Kitchen S, Murphy P, et al. Laboratory coagulation tests and emicizumab treatment. A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline. *Haemophilia.* 2020;26(1):151-155.
- Cugno M, Gualtierotti R, Tedeschi A, Meroni PL. Autoantibodies to coagulation factors: from pathophysiology to diagnosis and therapy. *Autoimmun Rev.* 2014;13(1):40-48.
- Winkler AM, Sheppard CA, Fantz CR. Laboratory monitoring of heparin: challenges and opportunities. *Lab Med.* 2007;38(8):499-502.
- Ozawa T, Mammen EF. LMW heparin (anti-Xa) assays for clinical monitoring and pharmacokinetic studies on the automated coagulation laboratory (ACL). *Thromb Res.* 1992;66(4):287-298.

42. Favaloro EJ, Pasalic L. Lupus anticoagulant testing during anticoagulation, including direct oral anticoagulants. *Res Pract Thromb Haemost.* 2022;6(2):e12676.
43. Bahabri A, Moffat KA, Carlino SA, Chan AKC, Bhatt MD. Mixing study to diagnose heparin-resistance caused by functional antithrombin deficiency. *Int J Lab Hematol.* 2022;44(5):e227-e229.
44. Moore GW. Commonalities and contrasts in recent guidelines for lupus anticoagulant detection. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(3):364-373.
45. Liestøl S, Jacobsen EM, Wisløff F. Dilute prothrombin time-based lupus ratio test. Integrated LA testing with recombinant tissue thromboplastin. *Thromb Res.* 2002 Jan 15;105(2):177-82.
46. Leus B, Devreese K, Van den Bossche J, Malfait R. Factor V inhibitor: case report. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2006;17(7):585-587.
47. Thalji N, Camire R. Parahemophilia: new Insights into Factor V deficiency. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39(6):607-612.
48. Olson NJ, Ornstein DL. Factor V inhibitors: a diagnostic and therapeutic challenge. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141(12):1728-1731.
49. Spada ARL, Skålhegg BS, Henderson R, Schmer G, Pierce R, Chandler W. Fatal hemorrhage in a patient with an acquired inhibitor of human thrombin. *N Engl J Med.* 1995;333(8):494-497.
50. Guddati AK, Kuter DJ. Rituximab therapy for factor II inhibitor in a patient with antiphospholipid antibody syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014;25(3):289-291.
51. Hellgren M. Hemostasis during normal pregnancy and puerperium. *Semin Thromb Hemost.* 2003;29(2):125-130.
52. Watson H, Perez A, Ayesu K, Musa F, Sarriera J, Madruga M, et al. Inherited factor II deficiency with paradoxical hypercoagulability: a case report. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2018;29(2):223-226.
53. Chandler JB, Siddon AJ, Bahel P, Torres R, Rinder HM, Tormey CA. Modified approach to fibrinogen replacement in the setting of dysfibrinogenemia. *J Clin Pathol.* 2019;72(2):177-180.
54. Miesbach W, Schenk J, Alesci S, Lindhoff-Last E. Comparison of the fibrinogen Clauss assay and the fibrinogen PT derived method in patients with dysfibrinogenemia. *Thromb Res.* 2010;126(6):e428-433.
55. Falay M, Senes M, Yücel D, Turhan T, Dagdaş S, Pekin M, et al. What should be the laboratory approach against isolated prolongation of an activated partial thromboplastin time? *J Clin Lab Anal.* 2018;32(6):e22415.

Biomarcadores de gravidade em pacientes oncológicos hospitalizados com e sem COVID-19

Severity biomarkers in hospitalized oncological patients with and without COVID-19

Mauren Isfer Anghebem^{1,2}, Isabela Markezini Rovel¹, Luma Carolina Vieira¹, Izabella Castilho Ribeiro dos Santos-Weiss², Jeanine Marie Nardin³, Geraldo Picheth³, Fabiane Gomes de Moraes Rego², Júlio Cezar Merlin¹

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Brasil., Escola de Medicina e Ciências da Vida. Curitiba, PR, Brasil.

² Universidade Federal do Paraná, Departamento de Análises Clínicas. Curitiba, PR, Brasil.

³ Hospital Erasto Gaertner. Curitiba, PR, Brasil.

Resumo

Introdução: A pandemia de COVID-19 causada pelo SARS-CoV2 atingiu todos os continentes do planeta, com mais de 761 milhões de casos confirmados e quase 6,9 milhões de mortes. Os casos de COVID-19 se apresentam, clínica e laboratorialmente, muito variados. A maioria dos infectados é assintomática ou apresentam sintomas leves e inespecíficos, sem alterações laboratoriais. Outros pacientes evoluem para quadros moderados e graves, necessitando hospitalização e cuidados intensivos. Nestes casos, as alterações laboratoriais são evidentes e bem descritas. Entre os fatores de risco para a COVID-19 grave, está o câncer. **Objetivo:** Avaliar o perfil laboratorial de pacientes oncológicos hospitalizados com e sem COVID-19, em busca de biomarcadores que identifiquem a presença de COVID-19 ou estratifiquem a gravidade da infecção. **Material e métodos:** 170 pacientes foram divididos em dois grupos, Controle (câncer sem COVID-19, n = 96) e Caso (câncer e COVID, n=74), e os resultados de marcadores laboratoriais bioquímicos e hematológicos foram comparados. **Resultados e discussão:** Os parâmetros bioquímicos e hematológicos avaliados (leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, relação neutrófilos/linfócitos, ferritina, creatinina, ureia, proteína C-reativa e lactato) não foram estatisticamente diferentes entre os grupos (P>0,05). Câncer e COVID-19 são condições patológicas com base inflamatória, o que poderia justificar os valores semelhantes dos biomarcadores de gravidade entre os grupos. O estudo não classificou a apresentação clínica da COVID-19, tampouco o tipo e estágio tumoral, o que pode ter comprometido a discriminação entre os grupos. **Conclusão:** Os biomarcadores avaliados neste estudo não diferenciaram a presença de COVID-19 em pacientes oncológicos.

Palavras-chave: COVID-19; Biomarcadores; Câncer; Gravidade.

Abstract

Introduction: COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV2 affected all continents of the planet, with more than 761 million confirmed cases and almost 6.8 million deaths. Clinically and laboratory presentation of COVID-19 varies. Most of those infected are asymptomatic or have mild and nonspecific symptoms, without laboratory changes. Others progress to moderate and severe conditions, requiring hospitalization and intensive care. In these cases, laboratory changes are evident and well described. Among the risk factors for severe COVID-19 is cancer. **Objective:** To evaluate the laboratory profile of hospitalized cancer patients with and without COVID-19, in search of biomarkers that identify the presence of COVID-19 or stratify the severity of the infection. **Material and methods:** 170 patients were divided into 2 groups, Control (cancer without COVID-19, n=96) and Case (cancer and COVID, n=74), and the results of biochemical and hematological laboratory markers were compared. **Results and discussion:** The biochemical and hematological parameters evaluated (total leukocytes, neutrophils, lymphocytes, neutrophil/lymphocyte ratio, ferritin, creatinine, urea, C-reactive protein and lactate) were not statistically different between groups (P>0.05). Both cancer and COVID-19 are pathological conditions with an inflammatory basis, which could explain the similar values of severity biomarkers between the groups. The study did not classify the clinical presentation of COVID-19, nor the tumor type and stage, which may have compromised the discrimination between the groups. **Conclusion:** The biomarkers evaluated in this study did not differentiate the presence of COVID-19 in oncological patients.

Keywords: COVID-19; Biomarkers; Cancer; Severity.

Correspondência

Júlio Cezar Merlin

E-mail: merlinjc1960@gmail.com

Recebido em 24/03/2023 | Aprovado em 24/03/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300114

INTRODUÇÃO

Em 31 de dezembro de 2019, uma pneumonia de causa não identificada foi reportada à Organização Mundial de Saúde – OMS, na China. Este foi o primeiro relato de infecção por uma nova cepa de coronavírus, denominada coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (ou SARS-CoV-2, da sigla em inglês), causadora da doença coronavírus-19, COVID-19. Menos de um mês após o primeiro caso, o número de infectados pelo COVID-19 aumentou significativamente na China e em outros países. Estes fatos levaram a OMS a declarar Emergência em Saúde Pública de Interesse Internacional, em 30 de janeiro de 2020.^(1,2)

No Brasil, o primeiro caso foi identificado em São Paulo, em 21 de fevereiro de 2020; e até 24 de março de 2023 o país acumula mais 37,2 milhões de casos e mais de 699 mil mortes por COVID-19.^(3,4)

A pandemia ocasionada pelo SARS-CoV-2 desafiou profissionais de saúde, já que a COVID-19 apresenta espectro clínico variado e desfechos incertos.^(5,6)

Acredita-se que a rápida disseminação do SARS-CoV-2 esteja associada à ligação da proteína de superfície Spike (proteína S), presente no envelope do vírus, ao receptor humano transmembrana do tipo ECA-2 (enzima conversora de angiotensina 2). Depois de ligar o receptor ECA-2, proteases do hospedeiro clivam a proteína S; a primeira clivagem é feita pela protease furina e depois a serina protease transmembrana 2 (TMPRSS2) faz a clivagem adicional da proteína S e internalização do vírion.⁽⁷⁾

ECA e ECA-2 são proteínas que, embora homólogas, exercem funções distintas no organismo. O angiotensinogênio é produzido no fígado e liberado na corrente sanguínea. A renina, secretada pelo aparelho justaglomerular, cliva o angiotensinogênio em angiotensina I (ANG I), que é posteriormente convertida à angiotensina II (ANG II) pela ECA, produzida principalmente nos pulmões. ANG II se liga aos receptores AT₁ e AT₂ para regular a pressão arterial e a inflamação.^(8,9)

Paralelamente, a ECA-2 celular é clivada pela metaloprotease ADAM17 e a forma ativa da ECA-2 é liberada no ambiente extracelular. ECA-2 converte a ANG II em ANG 1-7, que se liga ao receptor *Mas* para mediar os efeitos opostos de ANG II. ECA-2 tem também a função de degradar a ANG II em ANG 1-7, que age na via do receptor *Mas*, ocasionando respostas anti-inflamatórias.⁽⁸⁻¹⁰⁾

A Figura 1 ilustra a entrada do SARS-CoV-2 na célula humana, a interação com ECA-2 e as consequências da ativação dos receptores AT₁, AT₂ e receptor *Mas*.

Os casos graves de COVID-19 parecem ter relação com comorbidades relacionadas a quadros sistêmicos de inflamação, como a hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares, embora diversos aspectos sobre a fisiopatologia da doença, a evolução clínica e o padrão de resposta imunológica ainda não tenham sido totalmente elucidados.^(11,12)

Pessoas com câncer também apresentam maior risco de infecção por COVID-19, e neste grupo a COVID-19 tem sido associada a piores desfechos.^(13,14)

Sob o ponto de vista clínico-laboratorial, os casos assintomáticos ou leves de COVID-19 se apresentam com pouca ou nenhuma alteração laboratorial. Já os marcadores hematológicos e bioquímicos dos pacientes com quadros clínicos graves apresentam alterações laboratoriais marcadas, em diversas populações. Quanto mais evidente for a alteração laboratorial, pior é o prognóstico, indicando o comprometimento multissistêmico causado pela COVID-19.^(5,6,15-20)

As evidências científicas têm destacado algumas alterações laboratoriais nos pacientes hospitalizados com COVID-19. A relação aumentada neutrófilo/linfócito, a elevação do D-dímero, a redução da albumina plasmática e o aumento de diversos marcadores bioquímicos, como a proteína C-reativa, procalcitonina, ferritina, interleucinas (IL-6 e IL-10, entre outras), LDH e transaminases são encontradas em casos graves. Além destas alterações, os marcadores cardíacos, pancreáticos e renais estão sendo considerados bons preditores de gravidade e mortalidade na COVID-19.⁽²¹⁻²⁵⁾

À medida que a pandemia de COVID-19 avança, a identificação de biomarcadores precoces de prognósticos e de gravidade em grupos de risco, como pacientes oncológicos, é uma necessidade urgente para a Saúde Pública, pois auxilia a tomada de decisão médica e direciona o manejo do paciente. Somado a isso, dados populacionais são fundamentais para a construção de bases epidemiológicas. Com base nessas premissas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil laboratorial de pacientes oncológicos com e sem COVID-19 internados em hospital de referência em câncer na Região Sul do Brasil em busca de biomarcadores que identifiquem a presença de COVID-19 neste grupo ou estratifiquem a gravidade da infecção.

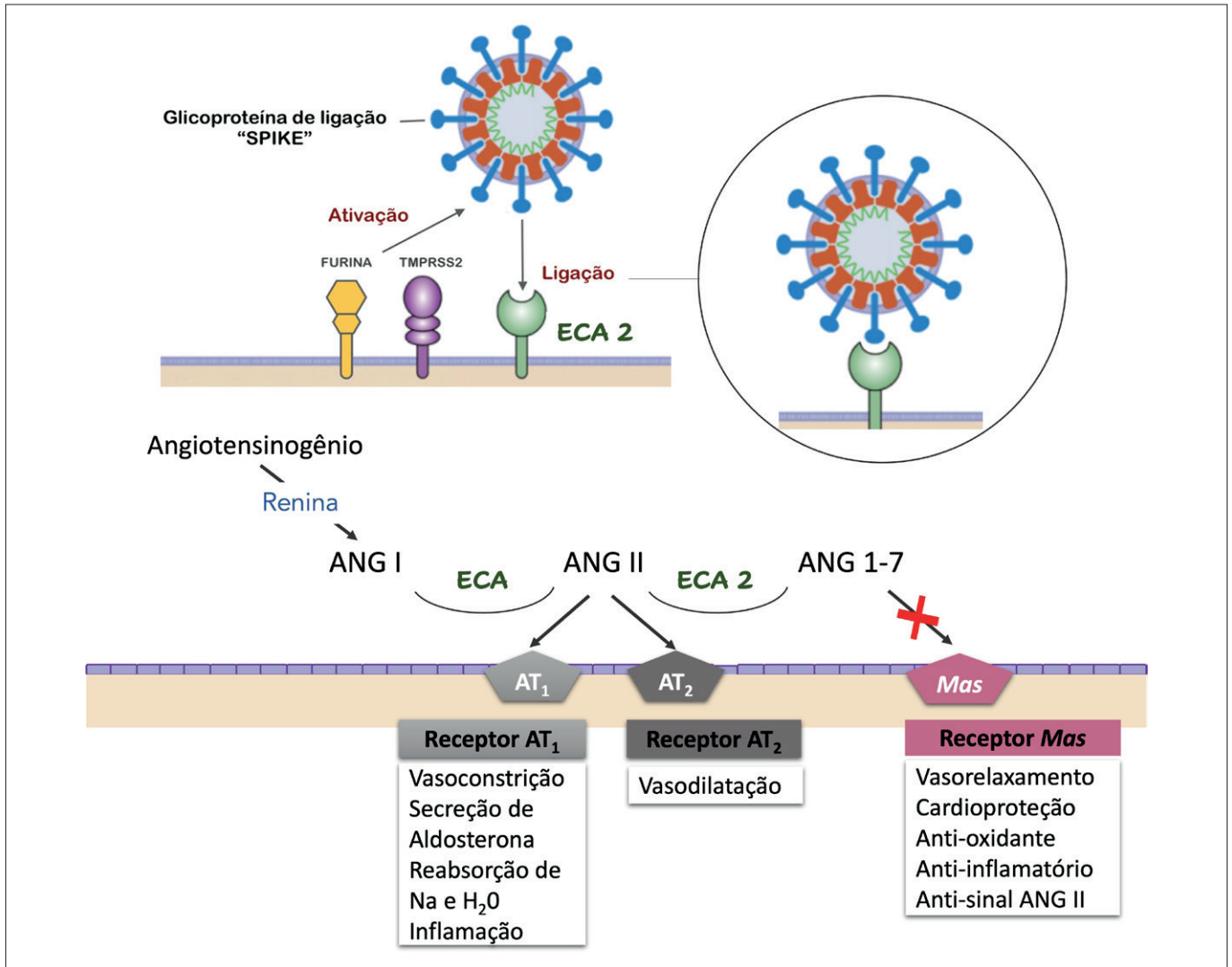


Figura 1

A entrada do vírus SARS-CoV-2 nas células humanas que expressam a ECA-2 (representada em verde) é mediada pela glicoproteína Spike (S) do envelope viral, representada em azul ao redor de todo o envelope viral. Depois de ligar o receptor ECA-2, proteases do hospedeiro clivam a proteína S. A primeira clivagem é feita pela protease furina (representada em amarelo) e, na sequência, a serina protease transmembranar 2 (TMPRSS2), representada em roxo, faz a clivagem adicional da proteína S e a internalização do vírion. Na parte inferior da imagem destacam-se as ações da angiotensina 1-7 (ANG 1-7), subproduto da angiotensina I, e as consequências do seu bloqueio, causado pela redução da atividade enzimática da ECA-2 devido a ligação da proteína S do SARS-CoV-2. AT₁ = receptor da angiotensina II tipo 1; AT₂ = receptor da angiotensina II tipo 2; Mas = receptor Mas da angiotensina 1-7. Fonte: Autores.

MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo retrospectivo e transversal com pacientes oncológicos internados com suspeita de COVID-19 em hospital de referência em câncer na Região Sul do Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Liga Paranaense de Combate ao Câncer (CAAE 31592620.4.1001.009).

Foram incluídos pacientes oncológicos com idade igual ou maior que 18 anos hospitalizados entre abril de 2020 e setembro de 2021 no Hospital Erasto Gaertner.

A infecção por SARS-CoV-2 foi confirmada laboratorialmente através de pesquisa de antígeno viral positiva

ou de teste molecular Reação em Cadeia da Polimerase da Transcrição Reversa em Tempo Real – qRT-PCR (do inglês, *Real-Time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) detectável.

Foram excluídos deste estudo, a fim de reduzir vieses metodológicos, os pacientes oncológicos com diagnóstico laboratorial de COVID-19 que apresentaram contagem total de leucócitos inferior a 1.000/mL ou superiores a 50.000/mL e contagem de plaquetas superior a 700.000/mL, uma vez que estas alterações poderiam ser decorrentes do quadro neoplásico ou do tratamento oncológico. Também foram excluídos pacientes com tumores hematológicos.

Após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados, aleatoriamente, 170 pacientes oncológicos hospitalizados, os quais foram divididos em dois grupos, conforme a presença ou não da COVID-19: Grupo Controle: pacientes com câncer e sem COVID-19, e Grupo Caso: pacientes com câncer e com COVID-19.

Os dados clínicos, antropométricos e laboratoriais foram obtidos do prontuário médico dos pacientes, após assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A escolha dos biomarcadores laboratoriais avaliados neste estudo foi baseada na característica inflamatória da COVID-19, na revisão de literatura e na disponibilidade dos resultados. Os parâmetros laboratoriais avaliados foram: contagem total de leucócitos, contagem absoluta de neutrófilos, contagem absoluta de linfócitos, relação neutrófilos/linfócitos (RNL), ferritina, creatinina e ureia, proteína C-Reativa (PC-R) e lactato.

Os ensaios laboratoriais bioquímicos foram realizados em sistema automatizado Vitros XT (Orthoclinical Diagnostics), e o hemograma, no analisador hematológico XN 2000 (Sysmex Co), empregando-se reagentes, calibradores e controles recomendados pelos fabricantes.

O tratamento estatístico foi realizado com o software Statística 8.0 (StatSoft Inc, OK, USA). A normalidade das variáveis contínuas foi determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Variáveis contínuas com distribuição normal foram expressas em média (\pm 1-desvio padrão) e os grupos comparados com o teste t de Student (independente, bidirecional). Variáveis sem normalidade foram apresentadas como mediana (intervalo interquartil; 25% a 75%) e comparadas com o teste U de Mann-Whitney.

Variáveis discretas foram comparadas com o teste do Qui-quadrado. Uma probabilidade *P* inferior a 0,05 ($P < 0,05$) foi considerada significativa em todas as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 170 pacientes oncológicos selecionados de forma randômica, 96 não tinham COVID-19 e foram classificados como Controle, e 74 tinham COVID-19, sendo classificados como Caso. A Figura 2 ilustra a caracterização da amostra estudada.

A Tabela 1 sumariza as características antropométricas e laboratoriais dos grupos em estudo.

A estratégia de levar em consideração alguma variável de confusão já no delineamento do estudo é denominada pareamento. Idade e gênero são, em geral, consideradas variáveis que estão intimamente associadas à possibilidade de exposição e desenvolvimento de doenças. O pareamento dos casos e controles por gênero e idade torna os grupos mais comparáveis e minimiza potenciais distorções dos resultados na avaliação de riscos.⁽²⁶⁾

Embora os participantes deste estudo tenham sido recrutados de forma aleatória, sem pareamento, a média da idade e a quantidade de homens e mulheres não foram diferentes entre os grupos ($P=0,442$ e $P=0,645$, respectivamente), conforme descrito na Tabela 1, indicando homogeneidade em relação a estes parâmetros.

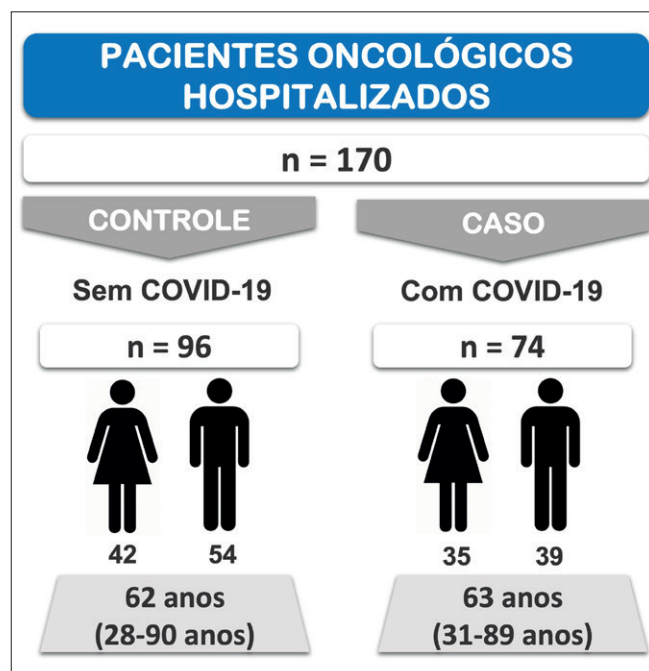


Figura 2

Caracterização da amostra estudada. Os grupos foram formados a partir da seleção aleatória de pacientes oncológicos internados em hospital de referência em câncer no Sul do Brasil. Fonte: Autores.

Tabela 1

Características antropométricas e laboratoriais dos grupos em estudo

Parâmetros	n	Controle	n	Caso	P
Gênero (Homens/Mulheres)	96	54/42	74	39/35	0,645**
Idade (anos)	96	62±13	74	63±12	0,442
Leucócitos Totais / µL	96	9,5 (6,6-13,3)	74	7,7 (5,3-13,2)	0,436*
Neutrófilos / µL	96	8.163 (4.808-11.100)	74	6.891 (4001-11811)	0,502*
Linfócitos / µL	96	757 (401-1.251)	74	799 (454-1.379)	0,858*
Neutrófilos/Linfócitos (NLR)	96	10,8 (5,0-17,8)	74	9,85 (4,7-22,5)	0,122*
Ferritina (ng/mL)	58	464 (172-998)	42	759 (382-1.440)	0,052*
Creatinina (mg/dL)	96	0,7 (0,5-1,1)	73	0,7 (0,4-1,4)	0,594*
Ureia (mg/dL)	90	50,5 (35-84)	74	54,5 (30-94)	0,880*
PCR (mg/dL)	75	16 (8,9-23,9)	59	12,7 (9,4-20,8)	0,751*
Lactato, mmol/L	71	1,8 (1,4-2,8)	58	1,7 (1,2-2,5)	0,219*

Os resultados para as variáveis são apresentados como: Média±1-DP, Mediana (intervalo interquartil, 25% a 75%) e n (número de dados). Probabilidade (P), Teste t de Student (bidirecional) para variáveis independentes; *teste U de Mann-Whitney ou **teste do Qui-quadrado. Normalidade verificada com teste de Kolmogorov-Smirnov. NLR: relação neutrófilo/linfócito. PC-R: proteína C-reativa.

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos avaliados (leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, relação neutrófilos/linfócitos, ferritina, creatinina, ureia, PC-R e lactato) não foram estatisticamente diferentes entre os grupos ($P>0,05$), conforme demonstrado na Tabela 1.

A população leucocitária (monócitos, linfócitos e neutrófilos) desempenha um papel crucial na resposta inflamatória sistêmica à infecção grave, lesão, politrauma e choque, e é utilizada como indicador de gravidade da resposta imune. Pacientes com quadros graves de COVID-19 apresentam leucocitose, neutrofilia e linfopenia mais acentuadas do que aqueles com doença leve e moderada.^(27,28)

Os dados apresentados na Tabela 1 mostram que os pacientes avaliados neste estudo apresentaram média de valores de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos dentro do valor de referência; portanto, estes parâmetros laboratoriais não foram capazes de estratificar ou diferenciar os grupos com e sem COVID-19. Uma explicação plausível para este achado é a possibilidade destes pacientes estarem em situação oncológica estável e com quadros leves de COVID-19, dados estes não disponíveis para análise.

A relação neutrófilo/linfócito (do inglês *Neutrophil Lymphocyte Ratio*) é calculada como a contagem absoluta de neutrófilos dividida pela contagem absoluta de linfócitos; e 95% dos adultos saudáveis têm uma relação entre 0,78 e 3,53.⁽²⁹⁾

A RNL tem sido apontada como um biomarcador independente para avaliar a gravidade da doença, a hospitalização e a gravidade da COVID-19,^(27,30) valendo ressaltar que a estreita associação entre a inflamação sistêmica e a progressão do câncer também destaca a RNL como um potencial biomarcador de prognóstico de câncer.⁽²⁸⁾

Por ser um marcador de disfunção endotelial, hipoteticamente a RNL poderia ser útil na identificação de pacientes oncológicos hospitalizados com COVID-19, em que a infecção pelo SARS-CoV-2, pelo seu caráter inflamatório exacerbado, seria o fator de risco para um pior prognóstico.⁽³¹⁾

Todavia, os resultados encontrados no presente estudo não demonstraram diferença entre os grupos ($P=0,122$, Tabela 1). As medianas da RNL estavam acima dos valores considerados normais em ambos os grupos. Uma possível explicação seria o fato da RNL fornecer um índice indireto do estado inflamatório do paciente, condição frequente em pacientes com COVID-19, mas também em portadores de tumores sólidos.⁽³⁰⁾

Somado a isso, o estudo não levou em consideração o tipo de tumor e o estadiamento; neoplasias em estágio avançado poderiam induzir maior processo inflamatório e camuflar uma RNL aumentada em virtude da resposta imune à COVID-19. Portanto, em pacientes oncológicos com COVID-19, a RNL pode não identificar a piora do quadro clínico decorrente da COVID-19.

As evidências acumuladas têm mostrado que a ferritina sérica é um biomarcador de gravidade nas infecções por SARS-CoV-2.⁽³²⁻³⁴⁾

A ferritina é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado para estocar o ferro dentro de células, inclusive dentro dos macrófagos. Várias citocinas, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa, do inglês *Tumor Necrosis Factor-alpha*), estimulam a liberação de ferritina na corrente sanguínea.⁽³³⁾

Com o processo inflamatório exacerbado presente na COVID-19, ocorre ativação dos macrófagos e maior captação de ferro. Por consequência, há maior síntese hepática de ferritina para que este ferro possa ser estocado nas células. De fato, pacientes com COVID-19 em estado grave apresentam concentrações plasmáticas de ferritina significativamente superiores àqueles com quadros não graves, destacando esta proteína como marcador de falência de órgãos na COVID-19.^(34,35)

Uma vez que a liberação de ferritina no plasma é estimulada por citocinas inflamatórias, explicam-se as altas concentrações observadas em condições inflamatórias variadas, inclusive em quadros cancerígenos.^(32,33)

No presente trabalho, ambos os grupos apresentaram concentrações medianas de ferritina acima do valor de referência, indicando que em quadros inflamatórios sistêmicos, como COVID-19 e câncer, há maior liberação de ferritina. Não houve diferença estatística entre os grupos, embora o valor de probabilidade tenha sido próximo da significância ($P=0,052$). Logo, a interpretação dos resultados de ferritina em pacientes com COVID-19 e outras comorbidades associadas requer cautela, mas é possível que a ferritina possa ser um biomarcador para COVID-19 promissor em pacientes oncológicos em estudos com maior tamanho amostral.

Os parâmetros creatinina e ureia são usualmente dosados como marcadores renais. No contexto da COVID-19, ambos foram apontados como biomarcadores de comprometimento renal e gravidade da doença. Pacientes com COVID-19 que apresentam valores aumentados destes marcadores na admissão hospitalar têm maior risco de mortalidade.⁽³⁶⁾

No presente estudo, as concentrações medianas de creatinina e ureia de ambos os grupos estavam dentro dos valores de referência e não diferiram entre os grupos ($P=0,594$ e $P=0,880$, respectivamente; Tabela 1).

Proteínas de fase aguda, como a proteína C-reativa (PC-R), são marcadores inespecíficos de processos inflamatórios e infecciosos. É de se esperar que em condições onde ocorra uma resposta imune acentuada, como na COVID-19 e em processos tumorais, a PC-R se encontre aumentada.^(37,38)

Os dados encontrados neste trabalho corroboram esta situação. Ambos os grupos estudados apresentaram valores de PC-R acima do valor de referência, mas sem diferença significativa entre controles e casos ($P=0,751$, Tabela 1).

O lactato é o produto final mais importante do metabolismo anaeróbico, formado na via glicolítica. A redução na oferta de oxigênio para a célula (hipóxia) normalmente leva à hiperprodução de lactato, pois o piruvato não pode mais ser oxidado no ciclo de Krebs pela falta de oxigênio, e é, portanto, convertido em lactato.⁽³⁹⁾

O aumento de lactato no sangue é denominado hiperlactatemia e tem sido associado a maior risco de morte em pacientes hospitalizados.⁽⁴⁰⁾

A COVID-19, em sua forma grave, pode culminar em síndrome do desconforto respiratório agudo grave.^(39,41)

A hipóxia ocorre também em outras condições patológicas como infecções, isquemia, inflamação e tumores.⁽⁴¹⁾

Nosso estudo não demonstrou diferença significativa na concentração do lactato entre os grupos ($P=0,219$, Tabela 1) e os valores medianos estavam dentro do valor de referência. Temos como hipótese que os pacientes estudados não apresentavam comprometimento respiratório importante e/ou tenham recebido oxigenoterapia; e, ainda, o quadro neoplásico não estava causando hipóxia suficiente para ativação da via glicolítica.

Este estudo apresenta limitações. É um estudo retrospectivo e de centro único, e não foram considerados o tipo e o estadiamento da doença oncológica. Dependendo do órgão afetado pelo tumor e do estadiamento da doença, os marcadores laboratoriais avaliados poderiam sofrer menor ou maior alteração, mesmo no grupo Controle (sem COVID-19). A classificação clínica da COVID-19 (moderada ou grave) também não foi realizada no grupo Caso. Sabe-se que pacientes com casos leves de COVID-19 geralmente não apresentam alterações laboratoriais significativas.⁽⁹⁾

A utilização de biomarcadores laboratoriais tem demonstrado relevância e objetividade na avaliação clínica de pacientes com COVID-19, tanto na determinação da gravidade da doença, quanto no monitoramento e prognóstico. Os marcadores que usualmente estratificam bem a gravidade da COVID-19, como RNL, ferritina, creatinina, ureia, PC-R e lactato, não discriminaram pacientes com câncer com e sem COVID-19. A hipótese construída com esta base factual considera que a amostra em estudo não contempla maioria de casos de COVID-19 em sua forma clínica grave, em que as alterações dos biomarcadores são exuberantes e possivelmente permitiriam uma discriminação entre os grupos em estudo.

Outro elemento a ser considerado é a complexidade das alterações dos pacientes com diferentes tipos e estágios de câncer, destacando as alterações metabólicas e respostas às terapias. Neste caso, seria relevante que novos estudos, com grupos categorizados quanto ao tipo de câncer e seu estágio para proporcionar maior homogeneidade nas análises, fossem realizados.

A busca de biomarcadores para identificar as alterações metabólicas associadas à COVID-19 é relevante e deve ser continuada. Estas moléculas têm potencial para identificar o risco aumentado da gravidade da infecção viral e, conseqüentemente, auxiliar na projeção do quadro clínico e no prognóstico evolutivo da viremia.

CONCLUSÃO

Os biomarcadores avaliados neste estudo não diferenciaram a presença de COVID-19 em pacientes com diferentes tipos de câncer.

REFERÊNCIAS

- Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
- Gralinski LE, Menachery VD. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses.* 2020;12(2):135. doi: 10.3390/v12020135.
- BRASIL. Coronavirus Brasil. [Internet]. Ministério da Saúde. 2022 [citado 5 de maio de 2022]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
- Rodriguez-Morales AJ, Gallego V, Escalera-Antezana JP, Méndez CA, Zambrano LI, Franco-Paredes C, et al. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis.* 2020; 35:101613. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101613.
- Dietrich CG, Hübner D, Marx G, Bickenbach J, Bootsvelde A. Primary presentation of COVID-19 solely with gastrointestinal symptoms: a problem for the containment of the disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2020; 32(11):1475-1478. doi: 10.1097/MEG.0000000000001922.
- Pongpirul WA, Wiboonchutikul S, Charoenpong L, Panitantum N, Vachiraphan A, Uttayamakul S, et al. Clinical course and potential predictive factors for pneumonia of adult patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A retrospective observational analysis of 193 confirmed cases in Thailand. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14(10):e0008806. doi: 10.1371/journal.pntd.0008806.
- Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, Sayer G, Griffin JM, Masoumi A, et al. COVID-19 and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2020;141(20):1648-1655. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941.
- Anghebem MI, Rego FG de M, Picheth G. COVID-19 e Diabetes: a relação entre duas pandemias distintas. *Rev Bras Análises Clínicas.* 2020;52(2):154-9. doi: 10.21877/2448-3877.20200001.
- Anghebem MI, Picheth G, Rego FG de M. Alterações em biomarcadores laboratoriais associados a COVID-19. *NewsLab.* 2020;152:16-37.
- Brandão SCS, Godoi ETAM, Ramos J de OX, Melo LMMP de, Sarinho ESC. COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. *J Vasc Bras.* 2020;19:e20200131. doi: org/10.1590/1677-5449.200131.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
- Guo W, Li M, Dong Y, Zhou H, Zhang Z, Tian C, et al. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes Metab Res Rev.* 2020;36(7):e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319.
- Lee KA, Ma W, Sikavi DR, Drew DA, Nguyen LH, et al. COPE consortium. Cancer and Risk of COVID-19 Through a General Community Survey. *Oncologist.* 2021;26(1):e182-5. doi: 10.1634/theoncologist.2020-0572.
- Grivas P, Khaki AR, Wise-Draper TM, French B, Hennessy C, Hsu CY, et al. Association of clinical factors and recent anticancer therapy with COVID-19 severity among patients with cancer: a report from the COVID-19 and Cancer Consortium. *Ann Oncol.* 2021;32(6):787-800. doi: 10.1016/j.annonc.2021.02.024.
- Bode B, Garrett V, Messler J, McFarland R, Crowe J, Booth R, et al. Glycemic Characteristics and Clinical Outcomes of COVID-19 Patients Hospitalized in the United States. *J Diabetes Sci Technol.* 2020;14(4):813-821. doi: 10.1177/1932296820924469.
- Sepulchre E, Pittie G, Stojkovic V, Haesbroek G, Crama Y, Schyns M, et al. Covid-19: contribution of clinical characteristics and laboratory features for early detection of patients with high risk of severe evolution. *Acta Clin Belg.* 2022;77(2):261-267. doi: 10.1080/17843286.2020.1822078.
- Vargas-Vargas M, Cortés-Rojo C. Ferritin levels and COVID-19. *Rev Panam Salud Publica.* 2020;44:e72. doi: 10.26633/RPSP.2020.72.
- Xiao L, Sakagami H, Miwa N. ACE2: The key Molecule for Understanding the Pathophysiology of Severe and Critical Conditions of COVID-19: Demon or Angel? *Viruses.* 2020;12(5):491. doi: 10.3390/v12050491.
- Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, et al.; Singapore 2019 Novel Coronavirus Outbreak Research Team. Epidemiological Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA.* 2020;323(15):1488-1494. doi: 10.1001/jama.2020.3204.
- Yousaf Z, Al-Shokri SD, Al-Soub H, Mohamed MFH. COVID-19-associated SIADH: a clue in the times of pandemic! *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;318(6):E882-E885. doi: 10.1152/ajpendo.00178.2020.
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1063-1069. doi: 10.1515/cclm-2020-0240.
- Bhandari S, Sharma S, Bhargava A, Keswani P, Sharma R, Shekhawat A. Inflammatory Markers in COVID-19. *Ann Acad Med Singap.* 2020;49(6):393-397.
- Perricone C, Bartoloni E, Bursi R, Cafaro G, Guidelli GM, Shoenfeld Y, et al. COVID-19 as part of the hyperferritinemic syndromes: the role of iron depletion therapy. *Immunol Res.* 2020;68(4):213-224. doi: 10.1007/s12026-020-09145-5.
- Majure DT, Gruberg L, Saba SG, Kvasnovsky C, Hirsch JS, et al; Northwell Health COVID-19 Research Consortium. Usefulness of Elevated Troponin to Predict Death in Patients With COVID-19 and Myocardial Injury. *Am J Cardiol.* 2021; 138:100-106. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.09.060.
- Kleinbaum D, Kupper L, Morgenstern H. *Epidemiologic research. Principles and quantitative methods.* Belmont CA: Lifetime Learning Publications; 1982.
- La Torre G, Marte M, Massetti AP, Carli SM, Romano F, et al; COVID-Collaborative group. The neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic factor in COVID-19 patients: a case-control study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(3):1056-1064. doi: 10.26355/eurrev_202202_28017.
- Cupp MA, Cariolou M, Tzoulaki I, Aune D, Evangelou E, Berlanga-Taylor AJ. Neutrophil to lymphocyte ratio and cancer prognosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med.* 2020;18(1):360. doi: 10.1186/s12916-020-01817-1.

29. Forget P, Khalifa C, Defour JP, Latinne D, Van Pel MC, De Kock M. What is the normal value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio? *BMC Res Notes*. 2017;10(1):12. doi: 10.1186/s13104-016-2335-5.
30. Şener G, Bayrak T, Coşkun C, Bayrak A. Neutrophil Lymphocyte Ratio, Monocyte Lymphocyte Ratio, Platelet Lymphocyte Ratio in Covid-19 Patients. *Clin Lab*. 2022;68(3). doi: 10.7754/Clin.Lab.2021.210639.
31. Jimeno S, Ventura PS, Castellano JM, García-Adasme SI, Miranda M, Touza P, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Eur J Clin Invest*. 2021 Jan;51(1):e13404. doi: 10.1111/eci.13404.
32. Kaushal K, Kaur H, Sarma P, Bhattacharyya A, Sharma DJ, Prajapat M, et al.. Serum ferritin as a predictive biomarker in COVID-19. A systematic review, meta-analysis and meta-regression analysis. *J Crit Care*. 2022; 67:172-181. doi: 10.1016/j.jcrc.2021.09.023.
33. Mahroum N, Alghory A, Kiyak Z, Alwani A, Seida R, Alrais M, et al. Ferritin - from iron, through inflammation and autoimmunity, to COVID-19. *J Autoimmun*. 2022; 126:102778. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102778.
34. Lin Z, Long F, Yang Y, Chen X, Xu L, Yang M. Serum ferritin as an independent risk factor for severity in COVID-19 patients. *J Infect*. 2020; 81(4):647-679. doi: 10.1016/j.jinf.2020.06.053.
35. Qeadan F, Tingey B, Gu LY, Packard AH, Erdei E, Saeed AI. Prognostic Values of Serum Ferritin and D-Dimer Trajectory in Patients with COVID-19. *Viruses*. 2021; 13(3):419. doi: 10.3390/v13030419.
36. Liu YM, Xie J, Chen MM, Zhang X, Cheng X, Li H, et al. Kidney Function Indicators Predict Adverse Outcomes of COVID-19. *Med*. 2021; 2(1):38-48.e2. doi: 10.1016/j.medj.2020.09.001.
37. Bivona G, Agnello L, Ciaccio M. Biomarkers for Prognosis and Treatment Response in COVID-19 Patients. *Ann Lab Med*. 2021; 41(6):540-548. doi: 10.3343/alm.2021.41.6.540.
38. Alshammary AF, Al-Sulaiman AM. The journey of SARS-CoV-2 in human hosts: a review of immune responses, immunosuppression, and their consequences. *Virulence*. 2021;12(1):1771-1794. doi: 10.1080/21505594.2021.1929800.
39. Carpenè G, Onorato D, Nocini R, Fortunato G, Rizk JG, Henry BM, et al. Blood lactate concentration in COVID-19: a systematic literature review. *Clin Chem Lab Med*. 2021; 60(3):332-337. doi: 10.1515/cclm-2021-1115.
40. Thomas-Rueddel DO, Poidinger B, Weiss M, Bach F, Dey K, et al.; Medical Education for Sepsis Source Control and Antibiotics Study Group. Hyperlactatemia is an independent predictor of mortality and denotes distinct subtypes of severe sepsis and septic shock. *J Crit Care*. 2015;30(2):439.e1-6. doi: 10.1016/j.jcrc.2014.10.027.
41. Eades L, Drozd M, Cubbon RM. Hypoxia signalling in the regulation of innate immune training. *Biochem Soc Trans*. 2022;50(1):413-422. doi: 10.1042/BST20210857.

Biochemical parameters of crack users in different therapies

Parâmetros bioquímicos de usuários de crack em diferentes terapias

Denilson R. Fonseca¹, Louyse Sulzbach Damázio², Mathias de Brida¹, Adalberto Alves de Castro¹, Lara Canever¹, Daniela V. Bavaresco¹, Alexandra Ioppi Zugno¹

¹ UNESC, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Criciúma, SC, Brasil.

² UNESC, Nutrição; Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Criciúma, SC, Brasil.

Abstract

Objective: This study aimed to compare two methods of treating drug misuse. **Methods:** This study compared 2 methods of treatment of crack addiction available in the public health system in Brazil: [1] Center of Psychosocial Care (CAPS), which is based on harm reduction; and [2] Therapeutic Community (CT), that is based on total abstinence. Blood samples were collected for dosing Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), Nerve Growth Factor (NGF) and Neuron Specific Enolase (NSE), after 3 months of treatment. **Results:** CAPS patients had older age and more history of depression and psychosis than CT patients. BDNF levels were decreased and NGF increased in CAPS group. CT group showed increased NSE levels. Differences in BDNF, and NGF between CAPS and CT results may have happened due to older age and higher severity of psychiatric conditions among CAPS patients. Increased NSE levels among CT patients depicts that drugs' detoxification can be a risk factor for this marker. **Conclusion:** Considering the problematic field of drugs of abuse, with an emphasis on crack, it was concluded that a methodological proposal of treatment, regardless of its approach, needs to offer care with a biopsychosocial approach and in the perspective of integrality.

Keywords: interleukins, psychiatry, mental health.

Resumo

Objetivo: O objetivo deste estudo foi comparar dois métodos de tratamento para indivíduos dependentes de drogas. **Métodos:** Este estudo comparou dois métodos de tratamento do vício em crack disponíveis no sistema público de saúde no Brasil: [1] Centro de Atenção Psicossocial (CAPS), baseado na redução de danos; e [2] Comunidade Terapêutica (CT), baseada na abstinência total. Foram utilizados a Entrevista Clínica Estruturada para Distúrbios DSM (SCID) e Teste de Triagem de Envolvimento com Álcool, Fumo e Substância (ASSIST). Foram coletadas amostras de sangue para dosagem de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), Fator de Crescimento Nervoso (NGF) e Enolase de Neurônio Específico (NSE), após 3 meses de tratamento. **Resultados:** Os pacientes do CAPS tinham idade mais avançada e mais história de depressão e psicose do que os pacientes com TC. Os níveis de BDNF diminuíram e o NGF aumentou no grupo CAPS. O grupo CT mostrou níveis aumentados de NSE. Diferenças nos resultados BDNF e NGF entre os resultados do CAPS e da TC podem ter ocorrido devido à idade avançada e maior gravidade das condições psiquiátricas entre os pacientes do CAPS. Níveis aumentados de NSE entre pacientes com TC mostram que a desintoxicação dos medicamentos pode ser um fator de risco para esse marcador. **Conclusão:** Considerando o campo problemático das drogas de abuso, com ênfase no crack, concluiu-se que uma proposta metodológica de tratamento, independentemente de sua abordagem, precisa oferecer cuidados com uma abordagem biopsicossocial e na perspectiva da integralidade.

Palavras-chave: interleucinas, psiquiatria, saúde mental.

Correspondência

Louyse Sulzbach Damázio

E-mail: louyse3@hotmail.com

Recebido em 18/02/2022 | Aprovado em 02/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200022

INTRODUCTION

In Brazil, as well as many other countries, drug misuse in general, and also crack addiction, in particular, are expanding in an alarming rate.^(1,2) All over the world, substance use disorder remains a condition of difficult approach, with a very high rate of unsuccessful treatment and severe implications on the whole society.⁽³⁾

In this context, studying the outcomes of harm reduction and abstinence approach is of great value, for improving both methods in the future. The socio-demographic profile of crack users in Brazil comprises mostly young adults with an average age of 30 years, unemployed, with low education and income, from dysfunctional families. Usually, the patient who is addicted to crack has a history of multiple substances use disorder.^(4,5) The most conventional treatment for drug users in abstinence is usually in a psychiatric sector of a hospital, including all the standard medical and psychosocial support, both public and private health systems can hardly provide access for all the population in need.⁽²⁾

The Federal Government has given priority to outpatient care and reduced the number of hospital beds in psychiatric sectors all over the country, both for financial and ideological reasons.⁽⁶⁾ Outpatient care is represented in the public health system, by the Centers of Psychosocial Care (CAPS). CAPS are defined as daycare outpatient services and are divided into care modalities, among them the CAPS ad is intended for the care of patients with disorders resulting from the use and dependence of psychoactive substances.⁽⁷⁾ The government has permitted the existence of Non-Governmental organizations that offer "inpatient" care an alternative treatment based on total isolation of the outside world in a clinic, where there is little or, more frequently, no conventional medical/psychosocial care and thus, no medication is administered to the patients.⁽⁸⁾ These places are called Therapeutic Communities (CT).

Research correlating neurobiological factors, chemical dependence, and changes in that remain scarce, thus, opening a new investigation field. It is known that psychiatric disorders are also associated with the levels of neurotrophins, a family of proteins that regulate several aspects of neuronal development and functions, including the formation of synapses and synaptic plasticity. The main neurotrophins, among mammals, are neuronal growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). The present study aimed to compare two methods of treating drug misuse: Total Abstinence, offered at a CT versus Harm Reduction, offered at CAPS.⁽⁹⁾

MATERIAL AND METHODS

This is an observational case-control study. Patients were allowed to quit the research at any time, without any loss in their treatment process or the privacy of their data. The project was approved by the Ethics Committee of *the Universidade do Extremo Sul Catarinense* (UNESC) by protocol number 208.255-28/02/2013. The groups were: CAPS and CT (Baseline, 7 days, and 3 months). To the biochemical analyzes were added the group of healthy controls from the blood collection laboratory and matched by age and gender.

The subjects of the present research were selected according to proper inclusion criteria, in two places for treatment of substance addiction in the city of Criciúma, State of Santa Catarina, Brazil. The CAPS for Alcohol and Other Drugs (CAPS-ad) was one of the places, and the other a CT.

The sample of the study was selected according to the following criteria: age 18 years or over, being in treatment in one of the institutions named above, minimum of 5 years of schooling (thus, illiteracy was a criterion of exclusion), score Alcohol, Smoking, and Substance Involvement Screening Test (ASSIST) (measuring drug use) equal or superior to 16, voluntarily accepting participating the study, and having the use of crack as the most used substance (in quantity and frequency); but the use of other substances was not an exclusion criterion.

During 18 months, the patients of the present study were selected and subjected to tests. The present study included 49 patients, being 21 in the CAPS and 28 CT group, and 16 healthy controls. The invitations were done in person by the researchers in the institutions. The individuals who fit the inclusion criteria and signed the Informed Consent were evaluated for substance misuse by applying the ASSIST (Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test) score, and the patients who reached 16 points or more were classified as possibly drug-dependent, and eligible for the study. After the inclusion, the following evaluations were proposed to the patients:

1. Evaluation of psychiatric conditions by the Structured Clinical Interview for DSM Disorders (SCID-I).⁽¹⁰⁾
2. ASSIST. A structured questionnaire containing eight questions on nine classes of psychoactive substances (tobacco, alcohol, marijuana, cocaine, and others). The questions address the frequency of use in life and the last three months, problems related to use, concern about the use by people close to the user, loss of performance of expected tasks, unsuccessful attempts to cease or reduce use, feeling of compulsion and use by injection. Each response corresponds to a score, from 0 to 4, and the total sum can

vary from 0 to 20. The score range from 0 to 3 is considered as indicative of occasional use, from 4 to 15 as indicative of abuse and >16 as suggestive of dependence.⁽¹¹⁾

- Biochemical analysis: Blood samples were collected after 3 months of treatment, to detect long term alterations of the treatments (but not short-term effects due to drug abstinence syndrome). At the end of the interviews and psychological testing, blood was collected and was centrifuged at the Laboratory of Translational Psychiatry (UNESC). Then, we performed the analysis of plasma levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), Nerve Growth Factor (NGF) and Neuron Specific Enolase (NSE), this was done analysis using kits commercially available for immunoenzymatic methods (ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay, Bioscience, San Diego, CA, USA).

For biochemical analyzes, the CAPS and CT groups stand out, had another subdivision, had better results demonstrated, and, therefore, deepened as discussions about the respect of the findings of this study. Thus, forming the crack group (CAPS plus CT) and the control group, without differentiating as treatment methods in the first stage of this assessment.

RESULTS

In this work, a total sample was 49 men, of these 21 from CAPS and 28 from CT. The mean age was 35 years, while the CAPS group had an average of 41.5 years or the CT group was 26 years old (difference $p < 0.001$). The average time of crack use was 12 years, in the CAPS group or the average time was 17 years and in the CT group 10.5 years, with no statistically significant difference ($p = 0.14$). The results of the Scoreno ASSIST for cocaine remained with an average of 29 in the general sample, without the CAPS 29 group and the CT 25.5 group ($p = 0.32$). The average value of the two groups and isolated from them exceeded 16, indicating dependence.

Results for SCID-I scores are summarized in Table 1. The present work showed no significant differences between CAPS and CT groups in time of crack abstinence, alcohol use, other addictions, current depression, Bipolar Disorder, current suicidal ideation, and past suicidal ideation. The present work found, however, that CAPS patients had significantly higher scores (compared to CT group) of psychosis ($p = 0.02^*$) and previous history of depression ($p = 0.03^*$).

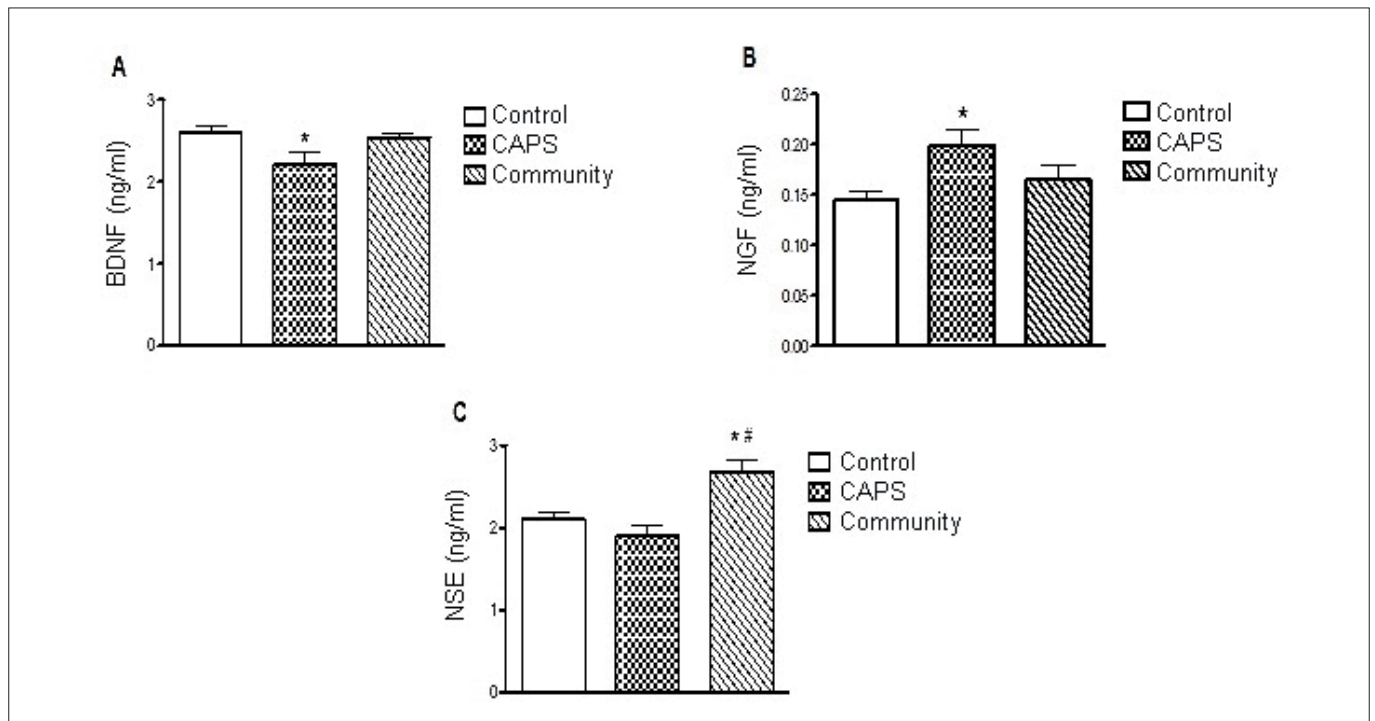


Figure 1 A, B, C

Evaluation of BDNF, NGF, and NSE levels between the control groups, CAPS - “Crack” and Therapeutic Community - “Crack” and Control Group.

* $p < 0.05$ in relation to the control group.

Table 1

Distribution of results regarding the qualitative variables of dependence and comorbidity according to SCID-I, presented in both institutions and the total sample.

		CAPS (n=21)	Therapeutic Community (n=28)	Total (n=49)	Chi-Square Test
Abstinence Time	Up to 7 days	9 (43%)	16 (57%)	25 (51%)	$\chi^2 = 0,98$
Abstinence	3 Months or +	12 (57%)	12 (43%)	24 (49%)	$p=0,32$
Alcohol Dependency	Absence	6 (29%)	14 (50%)	20 (41%)	$\chi^2 = 2,28$
	Present	15 (71%)	14 (50%)	29 (59%)	$p=0,13$
Other dependence	Absence	0 (0%)	2 (7%)	2 (4%)	$\chi^2 = 1,56$
	Present	21 (100%)	26 (93%)	47 (96%)	$p=0,50$
Current Depression	Absence	11 (52%)	21 (75%)	32 (65%)	$\chi^2 = 2,71$
	Present	10 (48%)	7 (25%)	17 (35%)	$p=0,10$
Past Depression	Absence	4 (19%)	14 (50%)	18 (37%)	$\chi^2 = 4,95$
	Present	17 (81%)	14 (50%)	31 (63%)	$p=0,03^*$
Dysthymia	Absence	15 (71%)	24 (86%)	39 (80%)	$\chi^2 = 0,22$
	Present	6 (29%)	4 (14%)	10 (20%)	$p=0,29$
Bipolar Disorder	Absence	17 (81%)	25 (89%)	41 (86%)	$\chi^2 = 0,41$
	Present	4 (19%)	3 (11%)	7 (14%)	$p=0,44$
Psychosis	Absence	3 (14%)	13 (46%)	16 (33%)	$\chi^2 = 5,64$
	Present	18 (86%)	15 (54%)	33 (67%)	$P=0,02^*$
Current	Absence	14 (67%)	20 (71%)	34 (69%)	$\chi^2 = 1,23$
Suicide Ideation	Present	7 (33%)	8 (29%)	15 (31%)	$p=0,72$
Suicidal	Absence	8 (38%)	15 (54%)	23 (47%)	$\chi^2 = 1,15$
Past Ideation	Present	13 (62%)	13 (46%)	26 (53%)	$p=0,28$

 χ^2 test and Chi-square; * statistical difference of $p < 0.05$.

DISCUSSION

CAPS patients had significantly higher scores of previous depression and psychosis. One important difference was in the age, being CAPS patients significantly older than their CT counterparts. Such differences, being CAPS patients older and previously more affected by psychiatric conditions, possibly induced long term alterations in their bodily and neuronal metabolisms, which may no longer be reversed by any treatment currently available.⁽¹²⁾

Cognitive deficit is related to alterations of neurotrophic factors level such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF). In this sense, we evaluate these neurotrophins in subjects and our results showed that BDNF levels were increased in CAPS group compared with the CT group. BDNF is a peptide whose role is pivotal in neurogenesis and cell survival. It is altered in conditions related to psychological trauma,⁽¹³⁾ major depression disorder,⁽¹⁴⁾ and

bipolar disorder.⁽¹⁵⁾ Lower BDNF levels among CAPS patients are likely to have been influenced by previous conditions like a history of depression, and current higher psychosis scores as well.⁽¹⁶⁾

However, as the amount of occasional use of alcohol, drugs, and even adhesion to prescribed medications was not monitored, it is impossible to infer which of these factors may have influenced over the lower BDNF levels verified among CAPS patients.

NGF levels were increased among CAPS patients. One plausible hypothesis is alcohol occasional use,⁽¹⁷⁾ which was present among CAPS patients and was impossible among CT patients, because of the inherent isolation and hard control of this method of treatment. Another possible cause of the increased NGF levels is the use of certain antidepressants.⁽¹⁸⁾

Our work has serious limitations, mostly the absence of a control group of healthy individuals psychiatric evaluations, and the absence of women in our sample. However, the

treatment of CT in complete isolation lacking any prescribed or illicit drugs have some of the characteristics of a “positive control” group.

An overview of our results suggests that most of them reflect, actually, the previous conditions of our patients, rather than the kind of social or professional treatment received. Interestingly, low BDNF levels, as found in the CAPS group, are also a feature of depressed patients⁽¹⁹⁾, and patients of CAPS group had higher “past depression” scores than CT patients. Differences in BDNF, and NGF between CAPS and CT results may have happened due to older age and higher severity of psychiatric conditions among CAPS patients. Increased NSE levels among CT patients support the hypothesis that total drug abstinence without medical support is a risk factor for increased NSE levels.

CONCLUSION

Considering the problematic field of drugs of abuse, with an emphasis on crack, it was concluded that a methodological proposal of treatment, regardless of its approach, needs to offer care with a biopsychosocial approach and in the perspective of integrality. In conclusion, both methods may have benefits and harms according to the patients’ profile, which must be addressed in futures studies.

FUNDING SOURCES

Universidade do Extremo Sul Catarinense.

ACKNOWLEDGEMENTS

The university, the CAPS and the entire team get involved in the study.

REFERENCES

1. Obot IS, Poznyak V, Monteiro M. From basic research to public health policy: WHO report on the neuroscience of substance dependence. *Addict Behav.* 2004; 29(7): 1497-502.
2. Ferreira Filho OF, Turchi MD, Laranjeira R, Castelo A. Epidemiological profile of cocaine users on treatment in psychiatrics hospitals. *Rev Saúde Pública.* 2003; 37(6):751-9.
3. Whiteford HA, Ferrari AJ, Degenhardt L, Feigin V, Vos T. Global burden of mental, neurological and substance use disorders: an analysis from the Global Burden of Disease Study. In: Patel V, Chisholm D, Dua T, Laxminarayan R, Medina-Mora ME. *Mental, Neurological, and Substance Use Disorders: Disease Control Priorities*, PLoS One. 2015;10:e0116820.
4. Cruz M, Bertoni N, Bastos FI, Burnett C, Gooch J, Fischer B. Comparing key characteristics of young adult crack users in and out-of-treatment in Rio de Janeiro, Brazil. *Subst Abuse Treat Prev Policy.* 2014; 10: 9:2.
5. Nappo SA, Galduróz JC, Raymundo M, Carlini EA. Changes in cocaine use as viewed by key informants: a qualitative study carried out in 1994 and 1999 in São Paulo, Brazil. *J Psychoactive Drugs.* 2001; 33(3): 241-53.
6. Domanico A, Malta M. Implementation of harm reduction toward crack users in Brazil: barriers and achievements. *Subst Use Misuse.* 2012; 47(5): 535-46.
7. BRASIL. Portaria nº 336, de 19 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre a proteção e os direitos das pessoas portadoras de transtornos mentais e redireciona o modelo assistencial em saúde mental. Brasília. 2002.
8. Van der Meer Sanchez Z, Nappo SA. Religious treatments for drug addiction: an exploratory study in Brazil. *Soc Sci Med.* 2008; 67(4):638-46.
9. Stone KA. Reviewing harm reduction for people who inject drugs in Asia: the necessity for growth. *Harm Reduct J.* 2015; 12:32.
10. Sanchez-Villegas A, Schlatter J, Ortuno F, Lahortiga F, Pla J, Benito S et al. Validity of a self-reported diagnosis of depression among participants in a cohort study using the Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID-I). *BMC Psychiatry.* 2008; 8:43.
11. WHO ASSIST Working Group. The Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test (ASSIST): Development, reliability, and feasibility. *Addiction.* 2002; 97(9):1183-94.
12. Kontis D, Huddy V, Reeder C, Landau S, Wykes T. Effects of age and cognitive reserve on cognitive remediation therapy outcome in patients with schizophrenia. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2013; 21(3):218-30.
13. Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, Martinotti G, Brunetti M, Sepede G et al. BDNF serum levels in subjects developing or not post-traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn.* 2014; 84(1):118-22.
14. Fiorentini A, Volonteri LS, Dragogna F, Rovera C, Maffini M, Mauri MC et al. Substance-induced psychoses: a critical review of the literature. *Curr Drug Abuse Rev.* 2011; 4(4):228-40.
15. Tunca Z, Ozerdem A, Ceylan D, Yalçın Y, Can G, Resmi H et al. Alterations in BDNF (brain derived neurotrophic factor) and GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) serum levels in bipolar disorder: The role of lithium. *J Affect Disord.* 2014;166:193-200.
16. Tan YL, Zhou DF, Cao LY, Zou YZ, Zhang XY. Decreased BDNF in serum of patients with chronic schizophrenia on long-term treatment with antipsychotics. *Neurosci Lett.* 2005; 382(1-2):27-32.
17. Kleine TO, Benes L, Zöfel P. Studies of the brain specificity of S100B and neuron-specific enolase (NSE) in blood serum of acute care patients. *Brain Res Bull.* 2003; 61(3):265-79.
18. Engel D, Zomkowski AD, Lieberknecht V, Rodrigues AL, Gabilan NH. Chronic administration of duloxetine and mirtazapine downregulates proapoptotic proteins and upregulates neurotrophin gene expression in the hippocampus and cerebral cortex of mice. *J Psychiatr Res.* 2013; 47(6):802-8.
19. Bus BA, Molendijk ML, Tendolkar I, Penninx BW, Prickaerts J, Elzinga BM et al. Chronic depression is associated with a pronounced decrease in serum brain-derived neurotrophic factor over time. *Mol Psychiatry.* 2015; 20(5):602-8.

Comparison of lactate concentration in arterial and venous blood gas analysis

Comparação da concentração de lactato em gasometria arterial e venosa

Guilherme Dienstmann¹, Leonardo Mangold Winter¹, Martina Dognini Antunes², Jaisa Helena Vieira², Thais Dayane Freudenburg Dias², Matheus Leite Ramos de Souza¹, Fernando Wagner da Silva Ramos³, Iramar Baptistella do Nascimento⁴, Larissa Cano de Oliveira¹, Samuel Ricardo Comar⁵

¹ Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), Medicine. Joinville, SC, Brasil.

² Sociedade Educacional de Santa Catarina (Unisociosc), Biomedicine. Joinville, SC, Brasil.

³ Centro Universitário Cesmac, Medicine. Maceió, AL – Brasil.

⁴ Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Health Sciences. Florianópolis, SC, Brasil.

⁵ Universidade Federal do Paraná (UFPR), Medicine – Curitiba, PR, Brasil.

Abstract

Lactate is a less complex and low-cost suggestive biomarker of sepsis, which allows the assessment of mortality risk in patients admitted to the intensive care unit (ICU). In this context, the present study aims to compare the concentration of lactate in arterial and venous whole blood gas analysis. This is a case-control study, carried out with database research based on patients treated in the emergency room of a hospital in the city of Joinville (Santa Catarina), between January 1st, 2020 and April 13, 2020. Patients of both genders, aged 18 years or over and with a request for arterial and venous blood gases in the same request were selected. All patients were identified by age, sex and lactate concentration value. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. A total of 101 patients were evaluated during the study period, without significant differences in lactate concentrations between arterial and venous whole blood samples ($p = 0.375$). Spearman's correlation analysis showed an association between arterial and venous lactate ($r = 0.939$; $p < 0.01$) and, in the Bland-Altman verification, the results showed a bias of -0.02 ± 0.24 (CI95 % from -0.67 to 0.52). Arterial and venous whole blood samples did not show significant differences in lactate concentrations in the studied population.

Keywords: Lactic Acid; Blood Gas Analysis; Sepsis.

Resumo

O lactato é um biomarcador sugestivo de sepsis de menor complexidade e baixo custo, o qual permite a avaliação do risco de mortalidade em pacientes admitidos em uma unidade de tratamento intensivo (UTI). Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo a comparação entre a concentração de lactato em sangue total arterial e venoso utilizando a análise de gasometria. Esse é um estudo de caso-controle, utilizando dados de pacientes tratados em sala de emergência de um hospital da cidade de Joinville (Santa Catarina), entre 1º de Janeiro de 2020 e 13 de Abril de 2020. Pacientes masculinos e femininos, que possuísem 18 anos ou mais e tivessem requisição médica para gasometria arterial e venosa foram selecionados. Todos os pacientes foram identificados por idade, gênero e valores de concentração de lactato. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Um total de 101 pacientes foram analisados durante o período do estudo, sem diferenças significativas entre as concentrações de lactato em sangue arterial e venoso ($p = 0,375$). A análise de correlação de Spearman mostrou uma associação entre lactato venoso e arterial ($r = 0,939$; $p < 0,01$) e, na verificação de Bland-Altman, os resultados demonstraram um viés de $-0,02 \pm 0,24$ (IC95% de $-0,67$ a $0,52$). As amostras de sangue total arterial e venoso não apresentaram diferenças significativas com relação à concentração de lactato na população estudada.

Palavras-chave: Ácido Láctico; Gasometria; Sepsis.

Correspondência

Guilherme Dienstmann

E-mail: guidbio@gmail.com

Recebido em 08/08/2022 | Aprovado em 07/11/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200056

INTRODUCTION

Gasometry is a test performed to assess the acid-base balance of the blood through the direct assessment of the potential of hydrogen (pH), the partial pressure of carbon dioxide (pCO₂) and the partial pressure of oxygen (pO₂). There are other possibilities for indirect calculations and analysis, such as bicarbonate (HCO₃⁻), base excess (EB), total carbon dioxide (TCO₂) and oxygen saturation (sO₂), which in turn represents the degree of saturation of hemoglobin by oxygen.⁽¹⁾

The analysis of these parameters is important to clinically assess acid-base balance deviations, which provides information about the patient's respiratory function and also regarding tissue perfusion conditions.⁽²⁾ Thus, lactate is cited as a suggestive biomarker for sepsis, with lower cost and which allows the assessment of mortality risk in patients hospitalized in an intensive care unit (ICU). Its concentration corresponds to the patient's mortality, that is, a relationship that presents a direct proportionality between high lactate concentration in the blood and the greater possibility of death prognosis.^(3,4)

However, the assessment of lactate in venous blood is not commonly used in clinical practice, as there is no confirming data in the literature that levels of this parameter, when compared between arterial and venous blood, remain stable in acid-base disorders.^(5,6)

Therefore, it is understood that the dynamic analysis of the lactate concentration and its duration makes it possible to elucidate diagnoses and suggests that it is directly related to patient mortality.^(7,8) Therefore, this study aims to compare the lactate concentration in arterial and venous whole blood samples.

MATERIAL AND METHODS

A case-control study was carried out with research in a database of a Laboratory and developed at the Hans Dieter Schmidt Regional Hospital in Joinville – SC, from January 1st, 2020 to April 13, 2020, after approval by the Committee of Ethics in Research of the hospital itself under the number 4.049.307.

The sample size was defined by convenience, including all patients who met inclusion criteria during the study period. Only patients treated at the Hospital emergency, of both genders, aged equal to or older than 18 years old and with a request for arterial and venous blood gases in the same

request. All patients were identified with age, gender and lactate values obtained.

Arterial and venous whole blood samples were collected sequentially, not exceeding a period of 2 minutes, at the time of patient admission, in *a-line luer lock* syringes for blood gases, 3 mL, brand BD, containing lithium heparin with calcium balanced in a proportion of 50 IU of heparin per mL of blood, according to the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), applied by spraying on the syringe wall, with an aspiration volume of 1.6 mL. Blood samples were analyzed at room temperature (25°C) immediately after collection, not exceeding 15 minutes. To maintain the sample stable, an adaptable BD Hemogard cap was used. Samples were not refrigerated.

For sample analysis, the GEM Premier 3500 gasometer was used, which provides measured and calculated results for blood gases, hematocrit, electrolytes, glucose and lactate. To measure lactate concentrations, an amperometric electrode was used.

For statistical analysis, the Statistical Package for Social Sciences software (SPSS, IBM Corp. Armonk, NY, US), version 26, was used. Initially, a descriptive analysis of the data was performed: for the quantitative variables, the means and the standard deviations and, for qualitative, absolute and relative frequencies. Association measures were subsequently evaluated using specific tests for independent samples (Mann-Whitney U test), after verifying the distribution pattern by preliminary Kolmogorov-Smirnov test. P values below 0.05 were considered statistically significant. Paired samples were analyzed using Spearman's correlation coefficient (r). The Bland-Altman test was performed to describe the agreement between quantitative measurements through the construction of agreement limits.

RESULTS

A total of 101 patients were evaluated during the study period. All underwent arterial and venous whole blood gas tests. In analyzing the data and general characteristics of the patients, the mean age of the population studied was 61 years. There was a predominance of male individuals (Table 1).

As for the results obtained from the analysis of arterial and venous whole blood gases, no significant differences were observed between the lactate concentrations (Table 2). Spearman's correlation analysis (Table 3) resulted in a strong correlation between the variables ($r=0.939$; $p<0.01$) and, in the Bland-Altman analysis, the results showed a bias of -0.02 ± 0.24 (95% CI -0.67 to 0.52).

Table 1

Population characteristics (N = 101).

Variable	Mean / Absolute number	Standard Deviation / Percentages
Age	61,27	1,469
Male	68	67,3%
Female	33	32,7%

Notes: Quantitative variables presented as mean and standard deviation (SD). Qualitative variables presented as absolute numbers and percentages (%).

Table 2

Blood gas characteristics (N = 101).

Variable	Arterial Mean (SD)	Venous Mean (SD)	p values
Lactate	2,208 (0,129)	2,286 (0,127)	0,375**

Abbreviations: Quantitative variables presented as mean and standard deviation (SD). Notes: **Mann-Whitney test.

Table 3

Correlation coefficient and agreement for arterial and venous blood samples – subgroup analysis (N = 101).

Variable	Correlation	Bias	IC 95%	p values
LacV e LacA	0,939*	0,02 ± 0,24	-0,67 a 0,52	0,375**

Abbreviations: LacV – venous lactate; LacA – arterial lactate. Notes: *Spearman's correlation. **Mann-Whitney test.

DISCUSSION

The evaluation of venous blood lactate is extremely important, as it can prevent hospital mortality and provide important prognostic information. In addition, it is a simple method to be performed, since the puncture is less invasive and painful when compared to arterial puncture. It is known that the assessment of lactate concentration has a better clinical correlation when evaluated serially, as the increase in lactate in patients with sepsis may be secondary to a pyruvate dehydrogenase dysfunction or to an increase in aerobic glycolysis.⁽⁹⁾

Different studies suggest that the plasma lactate concentration value should be obtained through arterial puncture, as venous blood only assesses the corresponding region, that is, it does not provide monitoring of global perfusion.^(8,10) However, the present study demonstrates that the concentration of lactate in the whole venous blood does not present a statistically significant difference compared to the concentration of lactate in the whole arterial blood, in addition to showing a strong correlation and an adequate agreement.

The study by Howell et al.⁽¹⁰⁾ showed that, in patients admitted with clinical suspicion of infection, the level of venous lactate predicts hospital mortality within 28 days, regardless of blood pressure, thus adding significant prognostic information to that provided by other predictors clinical trials.

The study by Cicarelli et al.⁽¹¹⁾ concluded that patients with high lactate, in the first 24 hours after the diagnosis of systemic inflammatory response syndrome (SIRS), did not have more organic dysfunction than patients with normal lactate, however, they had an increased risk of death within seven days. Likewise, researchers have shown that postoperative patients who presented lactate levels above 2 mmol/L at the time of SIRS diagnosis were four times more likely to die in seven days. Therefore, aggressive and effective treatment, with the intention of avoiding septic shock, seems to enable prevention of progression to a refractory state of shock and consequent multiple organ failure. A consistent statement, since a delay in volume resuscitation in these patients and in the institution of inotropic support for myocardial dysfunction increases the risk of death.⁽¹¹⁾

An analytical cross-sectional study, with the collection of 32 patients, found that central and not peripheral venous blood can replace arterial blood with good clinical correlation. The authors identified a good correlation and reasonable agreement between lactate levels collected from central and arterial venous blood ($r=0.84$, $p<0.0001$). However, when comparing peripheral and arterial venous blood, the correlation was moderate and the clinical agreement relatively low.⁽⁹⁾

Other research has demonstrated the effectiveness of venous lactate as a screening for patients who have suffered some trauma. Elevated venous lactate made it possible to identify a significant association between an increase in lactate and an abbreviated maximum lesion score of 4 and 5 (ANOVA, $F=8.26$, $p<0.001$). Similarly, patients with venous lactate ≥ 2 mmol/L had significantly increased relative risks of injury severity score ≥ 13 , death, admission to the Intensive Care Unit (ICU) and length of stay > 2 days. In the comparison between venous lactate and arterial lactate: in this case, for screening trauma patients, venous lactate levels were equally effective.⁽¹²⁾ Similarly, the results of a research with 64 paired samples from 48 patients indicated strong correlations between central venous and arterial lactate concentrations in the overall correlation ($r=0.962$, $p<0.0001$, $r^2=0.965$). For the results of the regression equation, arterial lactate, $(0.978 \times \text{central venous lactate}) - 0.137$; during the state of shock, ($r=0.970$, $p<0.0001$, $r^2=0.966$) and for stable hemodynamics, ($r=0.935$, $p<0.0001$, $r^2=0.962$).⁽¹³⁾

However, it is noteworthy that the analysis developed was using plasma lactate instead of whole blood, which may have interfered with the results. In the cohort study by Martin & Priestap,⁽¹⁴⁾ there was a strong correlation ($r=0.99$) between venous and arterial lactate. Even so, as they did not observe good agreement between the variables, the author's suggestion was to collect as a means of screening venous blood gases to assess the acid-base balance of critically ill patients. Subsequently, also according to the authors, arterial blood gases should be collected to confirm the diagnosis.

The study of Marti et al.⁽¹⁵⁾ with 107 paired samples from 26 patients aimed to test whether venous blood samples collected from the femoral access could be used to estimate arterial lactate levels and central venous oxygen saturation in critically ill patients. Outcomes showed a moderate correlation between central venous oxygen saturation and femoral venous oxygen saturation ($r=0.686$; $p<0.0001$), with a bias of 8.24 ± 10.44 (95% limits of agreement: -12.23 to 28.70). There was a strong correlation between femoral and arterial lactate levels ($r=0.72$, $p<0.001$) with a bias of -2.71 ± 9.86 (95% limits of agreement: -22.3 to 16.61). The presence of hypoperfusion did not significantly change the results. Another relevant factor during this study was the way in which the levels of venous and arterial lactate led to similar therapeutic approaches, which does not represent harm to the treatment and prognosis of the patients evaluated.⁽¹⁵⁾

Clinical agreement for venous saturation was inadequate, with different therapeutic decisions in 22.4% of situations; for lactate, it occurred in only 5.2% of situations. As limitations of this study, we can mention the failure to perform a serial assessment of the lactate concentration, as well as an assessment of the serum lactate concentration.

CONCLUSION

Lactate concentrations in whole blood did not show statistically significant differences between arterial and venous blood. In addition, venous and arterial blood gases showed a strong statistical correlation.

It is known that arterial blood samples for lactate measurement can be easily obtained in operating rooms, ICU and/or emergency rooms. However, when there is no clinical justification for arterial blood collection, for example, the need to assess the adequacy of O_2 exchange, the assessment of lactate concentration can be performed by venipuncture, since the arterial puncture is an invasive and painful procedure that requires experience from the

phlebotomist. However, more studies must be carried out in order to obtain standardization amongst clinical analysis laboratories, with the proposal of correct and accurate medical conduct, in addition to providing a better possible prognosis for the patient.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Hans Dieter Schmidt Regional Hospital in Joinville – SC.

REFERENCES

1. Pinto JMA, Saracini KM, Lima LCA, Souza LP, Lima, MG, Algeri, EDBO. Gasometria arterial: aplicações e implicações para a enfermagem. *Rev Amazônia Sci & Health*. 2017; 5:33-39.
2. Mota IL, Queiroz RS. "Distúrbios do equilíbrio ácido-básico e gasometria arterial: uma revisão crítica." *Rev Dig, Buenos Aires*. 2010.
3. Jordão VN, Nascimento LAP, Lima VGB, Farah MC, Guimarães HP. Sepse: uma discussão sobre as mudanças de seus critérios diagnósticos. *Brazilian J Heal Rev*. 2019;2(2):1294–312.
4. Nunes DL, Roberto G, Boas V, Guerino A, Rodrigues M, Brandt P. Estudo Comparativo dos Níveis de Lactato Sanguíneo em Ratos Após Consumo de Etanol e Induzidos ao Exercício Físico. 2018;12(26):87–91.
5. Kelly AM, McAlpine R, Kyle E. Venous pH can safely replace arterial pH in the initial evaluation of patients in the emergency department. *Emerg Med J*. 2001;18(5):340–2.
6. Santos GB. Lactato: de vilão a mocinho. *Rev Br de Nutr Func*, 2019; 42(77): 23-30.
7. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, Jacobsen G, Muzzin A, Ressler JA, et al. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2004;32(8):1637–42.
8. Revely JP, Tappy L, Martinez A, Bollmann M, Cayeux MC, Berger MM, et al. Lactate and glucose metabolism in severe sepsis and cardiogenic shock. *Crit Care Med*. 2005;33(10):2235–40.
9. Nascente APM, Assunção M, Guedes CJ, Freitas FGR, Mazza BF, Jackiu M, et al. Comparison of lactate values obtained from different sites and their clinical significance in patients with severe sepsis. *SP Med J*, 2011;129(1)
10. Howell MD, Donnino M, Clardy P, Talmor D, Shapiro NI. Occult hypoperfusion and mortality in patients with suspected infection. *Int Care Med*. 2007;33(11):1892–9.
11. Cicarelli DD, Vieira JE, Benseñor FEM. Lactato como prognóstico de mortalidade e falência orgânica em pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica. *Rev Br de Anestesiologia*, 2007;57(6).
12. Lavery RF, Livingston DH, Tortella BJ, Sambol JT, Slomovitz BM, Siegel JH. The Utility of Venous Lactate to Triage Injured Patients in the Trauma Center, *J of American College of Surgeons*, 2000;190(6).
13. Phumetham S, Kaowchaweerattanachart N, Law S, Chathong P, Pratumvinit B. Close correlation between arterial and central venous lactate concentrations of children in shock: A cross-sectional study, *Clinica Chimica Acta*, 2017;472.
14. Martin CM, Priestap F. Agreement between venous and arterial blood gas analysis of acid-base status in critical care and ward patients: a retrospective cohort study. *Can J Anaesthesia*, v. 2017;64(11):1138-43.
15. Marti YN, Freitas FGR, Azevedo RP, Leão M, Bafi AT, Machado FR, et al. O sangue venoso coletado do acesso femoral é adequado para estimar a saturação venosa central de oxigênio e os níveis de lactato arterial em pacientes graves? *Rev Br de Ter Int*, 2015;27(4).

Avaliação do desenvolvimento de anticorpos com potencial neutralizante para SARS-CoV-2 em indivíduos de uma cidade do meio-oeste catarinense

Evaluation of the development of antibodies with neutralizing potential to SARS-CoV-2 in individuals of a city in the middlewest of Santa Catarina

Flavia Debiasi Tessari¹, Bruna Amanda Girardi²

¹ Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Farmácia, Videira, SC, Brasil.

² Doutora. Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC, Videira, SC, Brasil.

Resumo

Objetivo: O presente estudo avaliou os níveis de anticorpos com potencial neutralizante (nAB) para SARS-CoV-2 em indivíduos não imunizados e sem infecção prévia, não imunizados com infecção prévia, imunizados com as vacinas CoronaVac, AstraZeneca, Janssen e Pfizer, sem infecção prévia e imunizados com infecção prévia. **Métodos:** Foi realizado um levantamento de dados de prontuário, de caráter quantitativo, em um laboratório privado de análises clínicas em uma cidade do meio-oeste de Santa Catarina, a fim de detectar qual imunizante apresentou o melhor desempenho em relação ao desenvolvimento destes anticorpos com potencial neutralizante para SARS-CoV-2 nos grupos pesquisados. **Resultados:** Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram que indivíduos com infecção prévia por SARS-CoV-2 e não imunizados possuem uma quantidade acima de 20% de anticorpos com potencial neutralizante, quando comparados a indivíduos que não relataram infecção prévia (<20%). Todas as vacinas pesquisadas mostraram uma eficiência a nível de produção nAB em indivíduos sem e com histórico prévio de infecção, entretanto o imunizante Pfizer apresentou melhor desempenho em indivíduos sem histórico de infecção, quando comparado aos imunizantes CoronaVac e AstraZeneca. Além disso, os imunizantes CoronaVac e AstraZeneca potencializam a produção nAB em indivíduos com histórico prévio de infecção pelo SARS-CoV-2 quando comparada com a do grupo que recebeu imunizante, mas não apresentava histórico prévio de infecção. **Conclusão:** Todos os imunizantes avaliados levaram à produção de valores significativos de nAB em indivíduos com e sem histórico prévio de infecção por SARS-CoV-2, podendo ser potencialmente úteis na prevenção do desenvolvimento e agravamento da infecção.

Palavras-chave: Ad26COVS1. Acesso aos Serviços de Saúde. Eficácia de Vacinas. Epidemiologia

Abstract

Objective: Evaluated the levels of antibodies with neutralizing potential (nAB) for SARS-CoV-2 in non-immunized individuals without previous infection, not immunized with previous infection, immunized with CoronaVac, AstraZeneca, Janssen and Pfizer vaccines, without previous infection and immunized with previous infection. **Methods:** A survey of data from medical records, of a quantitative nature, was carried out in a private clinical analysis laboratory in a city in the middle west of Santa Catarina, in order to detect which immunizer presented the best performance in relation to the development of these antibodies with neutralizing potential for SARS-CoV-2 in the groups surveyed. **Results:** Showed that individuals with previous SARS-CoV-2 infection and not immunized have a greater than 20% amount of antibodies with neutralizing potential, when compared to individuals who did not report previous infection (<20%). All vaccines researched showed an efficiency at the level of nAB production in individuals with and without a previous history of infection, however the immunizer Pfizer showed better performance in individuals without a history of infection, when compared to the immunizer CoronaVac and AstraZeneca. In addition, CoronaVac and AstraZeneca immunizes potentiate nAB production in individuals with a previous history of SARS-CoV-2 infection when compared to the group that received an immunization agent, but had no previous history of infection. **Conclusion:** All immunizers evaluated led to the production of significant values of nAB in individuals with and without a previous history of SARS-CoV-2 infection, which could be potentially useful in preventing the development and worsening of the infection.

Keywords: Ad26COVS1. Health Services Accessibility. Vaccine Efficacy. Epidemiology

Correspondência

Flavia Debiasi Tessari

E-mail: flaviadebiasi@hotmail.com

Recebido em 27/09/2022 | Aprovado em 19/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200075

INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, que pela primeira vez foi notificada uma pessoa com a COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, nunca detectada em humanos.⁽¹⁾ Em janeiro de 2020, a OMS (Organização Mundial de Saúde) declarou Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional e, em março de 2020, situação de pandemia causada pelo vírus.⁽²⁾ A partir destas declarações, o mundo entrou em estado de alerta, alguns países começaram a realizar planos de contingência antes mesmo de serem afetados pelo SARS-CoV-2, visto a rápida disseminação do vírus.⁽³⁾ O SARS-CoV-2 pode causar uma síndrome respiratória aguda grave e a infecção pode ter como principais sintomas: dores no corpo, na garganta, cefaleia, febre, cansaço, tosse, dispneia, congestão nasal, vômitos, náusea, diarreia, desconforto respiratório, taquipneia e hipoxemia.⁽⁴⁾ Idosos, pessoas com comorbidades ou imunossuprimidos apresentam maior probabilidade de rápida progressão da infecção, levando a uma considerável piora no quadro clínico, fazendo-se necessário urgentemente o tratamento hospitalar.⁽⁵⁾

No Brasil, poucos meses após o início da pandemia, em abril de 2020, já havia mais de 21 mil casos confirmados e 1,2 mil mortes pela COVID-19.⁽⁶⁾ Em julho de 2022, o país já contabilizava mais de 672 mil óbitos e 32 milhões de casos confirmados.⁽⁷⁾ Com mais de 5,1 milhões de lares em condições precárias, sem saneamento básico, com aglomeração de pessoas⁽⁸⁾ e sem uma estratégia pré-definida para a contingência da COVID-19, o Brasil teve ainda mais dificuldade para conter a disseminação.⁽⁹⁾ Além dos impactos econômicos, sanitários, sociais e políticos, a pandemia trouxe para o dia a dia da população algumas mudanças de vida, antes pouco conhecidas, como quarentena, isolamento social, distanciamento e vários métodos que tentavam prevenir o contágio com o vírus causador da infecção.⁽¹⁰⁾

Embora ainda não se tenha conhecimento de um medicamento eficaz contra o coronavírus, em janeiro de 2021, o Brasil iniciou a distribuição de imunizantes contra o vírus, sendo que os primeiros grupos a receberem a imunização foram os profissionais da saúde que estavam na linha de frente de combate à infecção, idosos institucionalizados (acima de 60 anos), pessoas institucionalizadas acometidas por alguma deficiência e a população indígena.⁽¹¹⁾ Atualmente, quatro imunizantes contra a COVID-19 são autorizadas pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para uso no Brasil: CoronaVac (Butantan), Oxford/Covishield (Fiocruz e AstraZeneca), Comirnaty (Pfizer/Wyeth) e Janssen Vaccine

(Janssen-Cilag).⁽¹²⁾ Neste artigo, esses imunizantes serão chamados respectivamente de: CoronaVac, AstraZeneca, Pfizer e Janssen.

Cada imunizante tem uma tecnologia diferente, mas todos têm a mesma função: instigar o sistema imune inato e a produção de anticorpos (ou imunoglobulinas) contra a SARS-CoV-2.⁽¹³⁾ Sendo assim, o imunizante CoronaVac tem como antígeno o vírus inativado, o da AstraZeneca tem como tecnologia de antígeno o vetor adenovírus recombinante, o imunizante da Pfizer faz uso da tecnologia RNA mensageiro sintético e o da Janssen utiliza vetores de adenovírus sorotipo 26 (Ad26), um vírus que foi alterado geneticamente, com a intenção de que ele leve o gene da proteína Spike, encontrada na porção exterior do SARS-CoV-2, a qual concede o acesso do vírus nas células humanas.⁽¹⁴⁾

Apesar de alguns imunizantes não apresentarem seu principal mecanismo de indução de defesa contra o vírus através da produção de anticorpos, estes são os principais mediadores do processo de defesa pela maior parte dos imunizantes disponíveis.⁽¹³⁾ Popularmente, a produção do anticorpo IgM indica que há uma infecção na fase aguda; IgG positivo significa que já houve contato prévio com o vírus em algum momento, mas o vírus não está mais ativo, restando apenas esta imunoglobulina que carrega a memória imunológica e é capaz de identificar o vírus se houver um novo contato.⁽¹⁵⁾ Já os anticorpos com potencial neutralizante (nAB) são imunoglobulinas da classe das IgG capazes de neutralizar ou bloquear a entrada do SARS-CoV-2 na célula humana.⁽¹⁶⁾ Na COVID-19, eles bloqueiam a interação entre o domínio receptor obrigatório (RBD) da proteína Spike (S) e a proteína ECA-2 (do inglês, *angiotensin-converting enzyme 2*), que dependendo da quantidade disponível na superfície da célula pode aumentar o risco de infecção e até mesmo colaborar para um pior prognóstico da doença.⁽¹⁷⁾

Entretanto, os testes detecção de IgG e IgM atuais (mesmo os que usam as proteínas S1, RBD e S2 como alvo) não pesquisam a eficácia da função neutralizante destes anticorpos.⁽¹⁸⁾ Portanto, a presença desses anticorpos não necessariamente garante a neutralização do vírus, pois a sua existência não significa a presença da eficácia da função neutralizante.⁽¹⁹⁾ Khoury e colaboradores⁽²⁰⁾ demonstraram que o nível de anticorpos neutralizantes produzidos por sete imunizantes disponíveis no mercado mundial (Moderna, Novavax, Pfizer-BioNTech, Sputnik, AstraZeneca, Jonhson & Jonhson e CoronaVac) pode predizer proteção imunológica contra infecções sintomáticas pelo SARS-CoV-2, além de proteger contra o agravamento da COVID-19.

Portanto, no intuito de fornecer dados clínicos acerca dos níveis de anticorpos com potencial neutralizante induzidos por imunizantes ou pelo contato com o vírus SARS-CoV-2, o objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis desses anticorpos em indivíduos não imunizados e sem infecção prévia, não imunizados com infecção prévia, imunizados com CoronaVac, AstraZeneca, Pfizer e Janssen sem infecção prévia e imunizados com infecção prévia em uma cidade do meio-oeste de Santa Catarina, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento de dados de prontuário, de caráter quantitativo, em um laboratório privado de análises clínicas em uma cidade do meio-oeste de Santa Catarina, com o objetivo de avaliar os níveis de anticorpos com potencial neutralizante para SARS-CoV-2, a fim de detectar qual imunizante apresentou o melhor desempenho em relação ao desenvolvimento destes anticorpos nos grupos pesquisados (não imunizados e sem infecção prévia; não imunizados com infecção prévia; imunizados com as vacinas CoronaVac, AstraZeneca, Pfizer e Janssen sem infecção prévia; e imunizados com infecção prévia).

O laboratório que forneceu os dados realiza o exame de imunoensaio fluorescente para determinação quantitativa de anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras de soro e registra os dados de todos os pacientes testados, com autorização dos pacientes através de um termo titulado como “Termo de autorização para realização do teste de COVID-19 – anticorpos neutralizantes”. Neste Termo eram preenchidos dados pessoais do paciente como sexo, idade, nome da vacina administrada na primeira e na segunda dose, as respectivas datas de cada dose, quantos dias após a administração da última dose da vacina o paciente estava coletando o exame, se o paciente já havia testado positivo para COVID-19 e, se sim, há quanto tempo, bem como o resultado obtido de anticorpos neutralizantes após a execução do exame. Todos esses dados foram inseridos em uma planilha de Excel e posteriormente tratados através do programa de estatística GraphPad-Prism (versão 7.0).

As tabelas 1, 2, 3, 4 e 5 demonstram os dados levantados dos prontuários dos pacientes, categorizando se o indivíduo foi vacinado ou não e, se sim, com qual vacina, se apresentou histórico anterior para SARS-CoV-2, qual o sexo, qual a faixa etária (dividida em 0-18 anos, 19-40 anos, 41-60 anos e mais de 60 anos). Também a quantidade de indivíduos e a média de anticorpos com potencial neutralizante para cada subgrupo.

Tabela 1

Indivíduos não vacinados, com e sem histórico para SARS-CoV-2, dos sexos feminino e masculino, subdivididos em categorias de idade de 0-18, 19-40, 41-60 e mais de 60 anos, bem como a quantidade de indivíduos testados e a porcentagem (%) de anticorpos com potencial neutralizante obtido por cada grupo.

Sem vacina					
Vacinado ou não?	Histórico de SARS-Cov-2?	Sexo	Idade	Indivíduos testados	Média de % de nAB
Não vacinado	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	10	0%
Não vacinado	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	06	3%
Não vacinado	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	02	23%
Não vacinado	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Não vacinado	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	06	14%
Não vacinado	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	05	14%
Não vacinado	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	05	35%
Não vacinado	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	02	24%
Não vacinado	Com histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	X
Não vacinado	Com histórico	Feminino	19 - 40 anos	0	X
Não vacinado	Com histórico	Feminino	41 - 60 anos	01	51%
Não vacinado	Com histórico	Feminino	> 60 anos	0	X
Não vacinado	Com histórico	Masculino	0 - 18 anos	02	6%
Não vacinado	Com histórico	Masculino	19 - 40 anos	0	x
Não vacinado	Com histórico	Masculino	41 - 60 anos	07	45%
Não vacinado	Com histórico	Masculino	> 60 anos	0	x

Tabela 2

Indivíduos imunizados com CoronaVac, com uma a três doses, com e sem histórico para SARS-CoV-2, dos sexos feminino e masculino, subdivididos em categorias de idade de 0-18, 19-40, 41-60 e mais de 60 anos, bem como a quantidade de indivíduos testados e a porcentagem (%) de anticorpos com potencial neutralizante obtido por cada grupo.

Coronavac						
Vacinado ou não?	Quantas doses?	Histórico de SARS-Cov-2?	Sexo	Idade	Indivíduos testados	Média de % de nAB
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	01	98,80%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	20	78%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	08	75,84%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	33	50,93%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	01	99,90%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	05	33%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	08	44%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	14	34,74%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	09	96,12%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	06	96,20%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	02	89,10%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	01	99,50%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	05	94,10%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	02	99,55%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	01	90,90%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	19 - 40 anos	32	89,15%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	41 - 60 anos	10	94,07%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	> 60 anos	08	91,89%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	0 - 18 anos	01	99,80%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	19 - 40 anos	05	84,78%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	> 60 anos	05	68,42%

Tabela 3

Indivíduos imunizados com AstraZeneca, com uma a três doses, com e sem histórico para SARS-CoV-2, dos sexos feminino e masculino, subdivididos em categorias de idade de 0-18, 19-40, 41-60 e mais de 60 anos, bem como a quantidade de indivíduos testados e a porcentagem (%) de anticorpos com potencial neutralizante obtido por cada grupo.

AstraZeneca						
Vacinado ou não?	Quantas doses?	Histórico de SARS-Cov-2?	Sexo	Idade	Indivíduos testados	Média de % de nAB
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	05	27,98%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	02	3,75%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	02	5,35%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	02	60,85%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	01	98,90%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	01	0%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	01	0%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	05	86,14%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	11	74,63%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	04	45,15%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	06	53,10%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	02	32%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	05	45,76%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	12	81%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	07	92,31%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	03	72,23%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	02	99,30%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	05	66,80%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	02	68,50%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	X
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	19 - 40 anos	06	97,15%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	41 - 60 anos	13	85,08%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	> 60 anos	05	95,71%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	X
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	19 - 40 anos	06	97,15%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	41 - 60 anos	11	90,81%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	> 60 anos	02	99%

Tabela 4

Indivíduos imunizados com Pfizer, com uma a três doses, com e sem histórico para SARS-CoV-2, dos sexos feminino e masculino, subdivididos em categorias de idade de 0-18, 19-40, 41-60 e mais de 60 anos, bem como a quantidade de indivíduos testados e a porcentagem (%) de anticorpos com potencial neutralizante obtido por cada grupo.

Pfizer						
Vacinado ou não?	Quantas doses?	Histórico de SARS-Cov-2?	Sexo	Idade	Indivíduos testados	Média de % de nAB
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	01	0%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	01	99,80%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	11	75,73%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	06	72,93%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	05	98,69%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	01	99,80%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	10	76%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	03	82,53%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	01	61,90%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	09	94,97%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	01	96%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	01	66%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	02	99,35%
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	0 - 18 anos	02	97,80%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	19 - 40 anos	14	95,60%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	41 - 60 anos	03	99%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	> 60 anos	01	99,70%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	19 - 40 anos	10	95,37%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	41 - 60 anos	03	99,50%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	> 60 anos	01	99,70%

Tabela 5

Indivíduos imunizados com Janssen, com uma a três doses, com e sem histórico para SARS-CoV-2, dos sexos feminino e masculino, subdivididos em categorias de idade de 0-18, 19-40, 41-60 e mais de 60 anos, bem como a quantidade de indivíduos testados e a porcentagem (%) de anticorpos com potencial neutralizante obtido por cada grupo.

Janssen						
Vacinado ou não?	Quantas doses?	Histórico de SARS-Cov-2?	Sexo	Idade	Indivíduos testados	Média de % de nAB
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	04	56,63%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	04	56,60%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	04	57%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	40 - 60 anos	04	53,10%
Vacinado	1 dose	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	02	64,30%
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	2 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	41 - 60 anos	0	x
Vacinado	3 doses	Sem histórico	Masculino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	19 - 40 anos	01	99,10%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	41 - 60 anos	05	86,28%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Feminino	> 60 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	0 - 18 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	19 - 40 anos	0	x
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	41 - 60 anos	02	80,80%
Vacinado	1 dose ou mais	Com histórico	Masculino	> 60 anos	0	x

Os dados referentes às datas de administração da dose de cada vacina (para os grupos vacinados) e os dados referentes à data de positivação para COVID-19 (para os grupos com histórico) foram preenchidos de forma incompleta pelos pacientes no termo disponibilizado pelo laboratório. Isso impossibilitou o levantamento desses dados para a utilização com fidedignidade no artigo.

Foram preservados nomes dos pacientes que tiveram os prontuários analisados, visto que essa pesquisa teve caráter retrospectivo por se tratar de levantamento de dados prontuários/laudos/exames ou similar, os quais foram mantidos sob sigilo, em conformidade com o que prevê os termos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. O presente estudo foi autorizado pelo CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) da Fundação Universidade do Oeste de Santa Catarina, sob o CAAE: 53144421.6.0000.5367, Parecer nº 5.134.503.

RESULTADOS

Os resultados obtidos foram separados por vacinas, não considerando nesse estudo a quantidade de doses, o sexo e a idade dos pacientes.

A análise estatística da Figura 1, Mann-Whitney test, mostrou um aumento na porcentagem de detecção de anticorpos neutralizantes ($P=0,0008$) em pacientes com histórico de infecção prévia pela COVID-19 e sem imunização ($n=10$) em comparação com o grupo controle sem histórico e sem imunização ($n=36$).

A análise estatística da Figura 2, ANOVA de uma via, demonstrou que todos os imunizantes aumentaram a expressão de anticorpos neutralizantes detectados em indivíduos vacinados e sem histórico prévio de infecção pela COVID-19 [$F(5,300) = 69,08$; $P = 0,0001$]. A análise *post-hoc* (Dunn's) revelou que os grupos imunizados com CoronaVac e AstraZeneca apresentaram menor porcentagem de anticorpos neutralizantes quando comparados aos imunizados com Pfizer.

A análise estatística da Figura 3, ANOVA de uma via, demonstrou que todos os imunizantes aumentaram a expressão de anticorpos neutralizantes detectados em indivíduos vacinados e com histórico prévio de infecção pela COVID-19 [$F(5,166) = 27,25$; $P=0,0001$].

A análise estatística da Figura 4, Mann-Whitney test, mostrou que há uma potencialização da produção de anticorpos neutralizantes em pacientes com histórico de infecção prévia pela COVID-19 e vacinados com os imunizantes CoronaVac e AstraZeneca em comparação com o grupo controle sem histórico de infecção pela COVID-19 e vacinados.

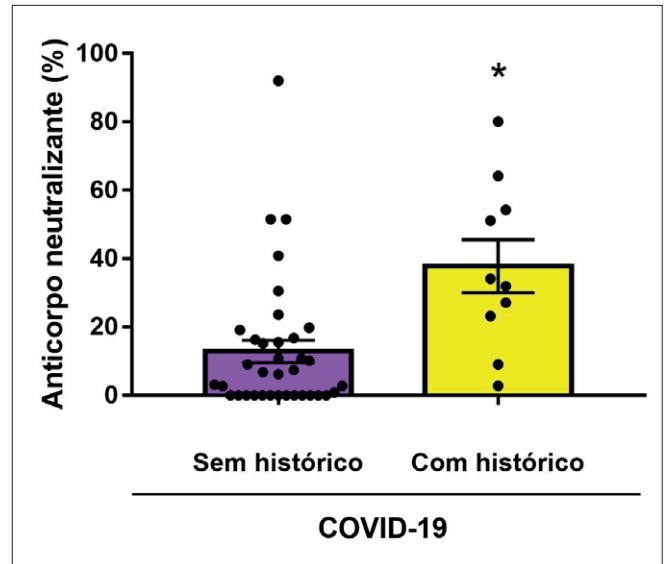


Figura 1

Níveis de anticorpos neutralizantes (%) para indivíduos não imunizados sem e com histórico de COVID-19. * $p<0,05$ comparado com o grupo controle (sem histórico de COVID-19).

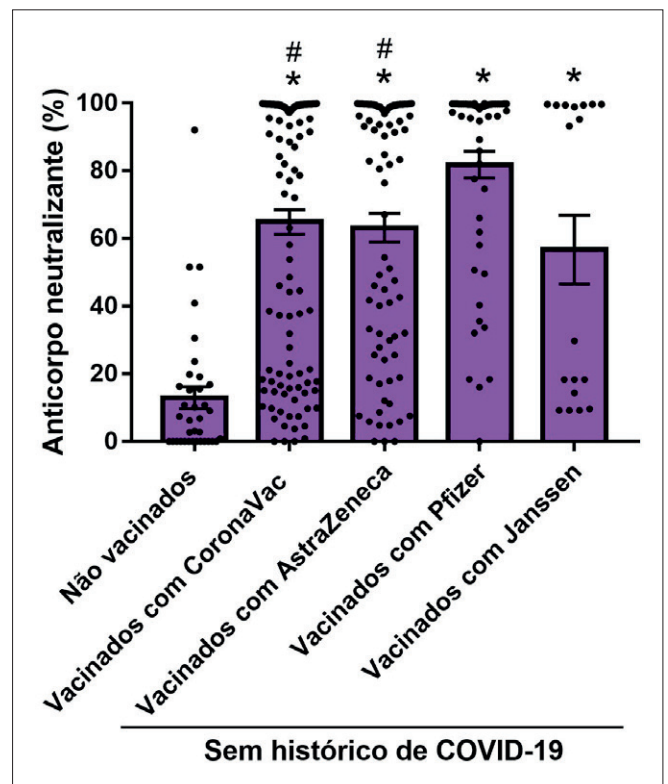


Figura 2

Níveis de anticorpos neutralizantes (%) para indivíduos vacinados e sem histórico de COVID-19. * $p<0,05$ comparado com grupo controle (sem histórico de COVID-19 e não vacinados); # $p<0,05$ comparado com o grupo sem histórico de COVID-19 e vacinados com Pfizer.

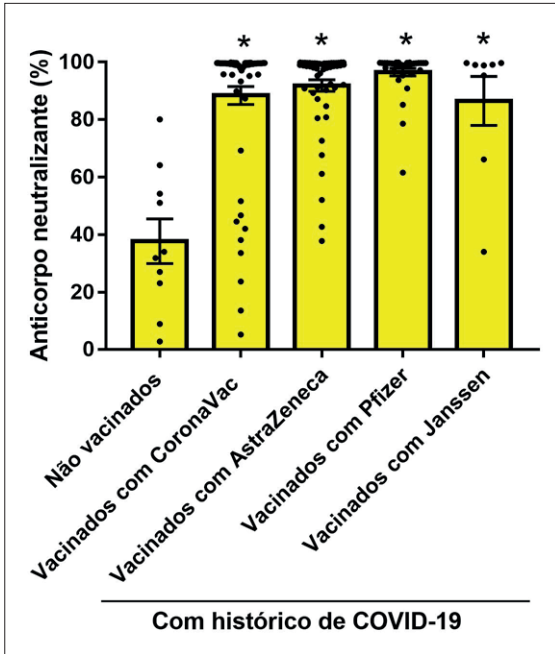


Figura 3

Níveis de anticorpos neutralizantes (%) para indivíduos com histórico de infecção prévia pela COVID-19 e que receberam imunização. * $p < 0,05$ comparado com o grupo controle (com histórico de COVID-19 e não vacinados).

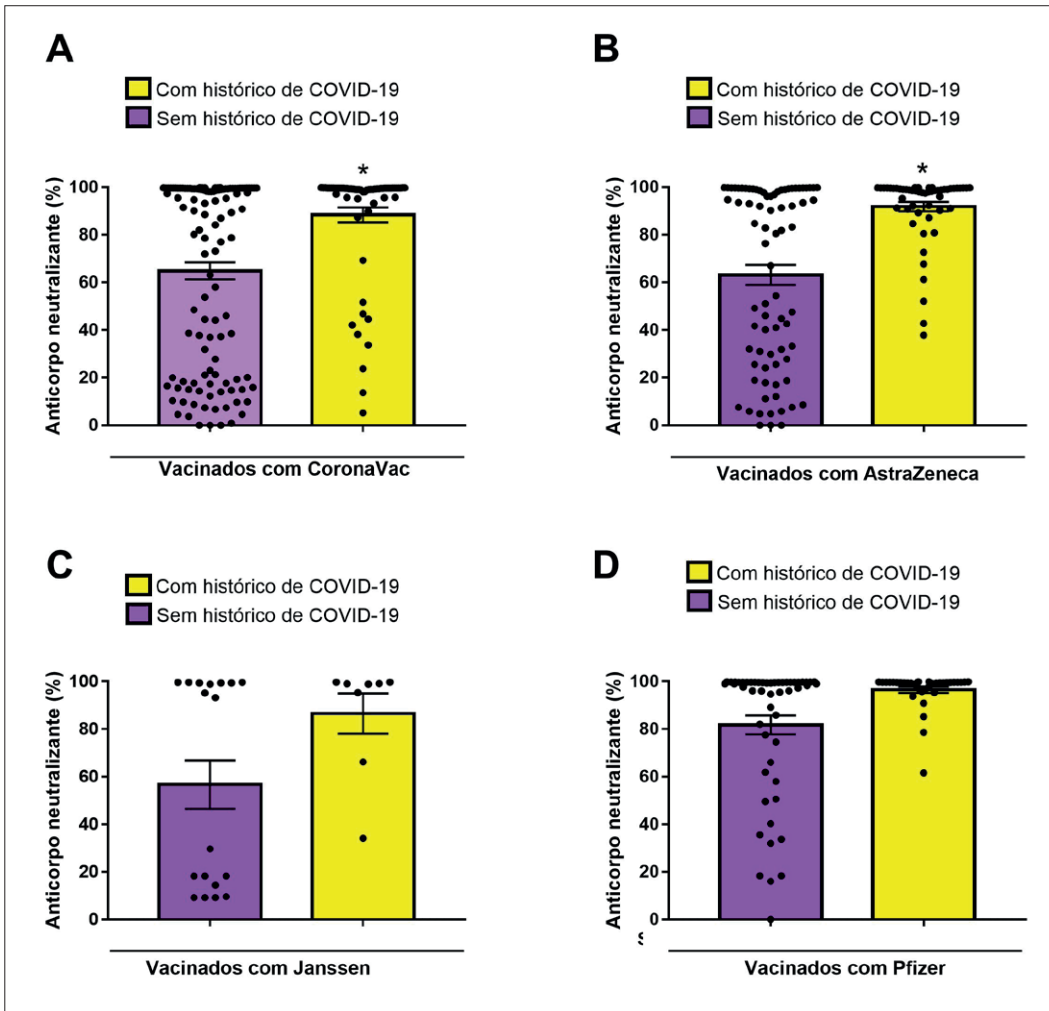


Figura 4

Níveis de anticorpos neutralizantes (%) para indivíduos sem e com histórico de COVID-19 vacinados com os imunizantes CoronaVac (A), AstraZeneca (B), Janssen (C) e Pfizer (D). * $p < 0,05$ comparado com o grupo sem histórico de COVID-19.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a produção de nAB para o vírus SARS-CoV-2 através da análise de prontuários de 466 indivíduos que realizaram o teste para detecção em um laboratório privado de uma cidade do meio-oeste de Santa Catarina, Brasil. Sabe-se que é possível induzir a formação de anticorpos de defesa através da imunização ou pela infecção ocasionada pelo contato com o vírus, sendo que estes anticorpos têm papel importante principalmente no que diz respeito à prevenção e/ou minimização dos sintomas em uma nova infecção.⁽¹³⁾

A Figura 1 demonstra que indivíduos não imunizados, que se infectaram pelo SARS-CoV-2 e apresentaram a COVID-19 desenvolveram nAB, de acordo com os níveis considerados positivos (>20%) pela bula do teste de detecção (ECO Diagnóstica LTDA-F COVID nAB-FA 0057), em comparação com o grupo controle (indivíduos sem histórico de COVID-19 e não imunizados). Nesse sentido, estudos prévios corroboram nossos achados e demonstram que a COVID-19 ocasionada pela infecção prévia por SARS-CoV-2 leva ao desenvolvimento de anticorpos com potencial neutralizante na maioria dos indivíduos, visto que existem pessoas que não produzem os mesmos.⁽²¹⁾

Além disso, similaridades genéticas que promovem a síntese de proteínas comuns podem ser encontradas dentro da classe dos Sarbecovírus (classe a que pertence o SARS-CoV-2 e permitir que uma pessoa que entre em contato com algum vírus desta classe venha a desenvolver anticorpos com potencial neutralizante para o vírus e para outros vírus da mesma classe, caracterizando o que podemos chamar de reação cruzada.⁽¹⁶⁾ Este fato pode explicar que indivíduos que não relatam infecção prévia pelo vírus apresentem algum nível de anticorpo detectado no teste conforme observamos nos resultados da Figura 1, mas não são considerados positivos pelo teste. Entretanto, também devemos considerar que a presença destes anticorpos pode ser observada pela exposição ao vírus SARS-CoV-2 que não chegou a levar ao desenvolvimento de uma infecção sintomática.^(21,22)

O histórico de infecção pelo vírus SARS-CoV-2 apresenta muita relevância quanto ao total de anticorpos com potencial neutralizante produzidos.⁽²¹⁾ Estudos demonstram que os anticorpos produzidos pela infecção natural têm uma maior vida útil no organismo, podendo ser detectados por até 1 ano e meio oferecendo proteção duradoura aos indivíduos contra uma nova infecção ou contra o agravamento dos sintomas em uma nova exposição.⁽²³⁾ Esse fato pode ser explicado, pois na infecção natural o sistema imune entra em contato com

diferentes sítios antigênicos do patógeno vivo e na imunização, o patógeno se encontra morto ou inativado ou ainda o imunizante é desenvolvido com tecnologias que apresentam fragmentos de RNA viral (o que diminui os determinantes antigênicos) que serão reconhecidos pelas células do sistema imune inato para posterior possível soroconversão.⁽²⁴⁾

As vacinas para o SARS-CoV-2 disponíveis atualmente podem estimular o organismo a produzir anticorpos contra o patógeno, e essas células de memória agem de forma rápida se o corpo for novamente exposto ao antígeno visando uma possível prevenção de nova infecção. Além disso, certas vacinas podem aumentar a produção de células do sistema imune inato como forma de proteção, e não necessariamente induzir a produção de anticorpos.⁽¹³⁾ O resultado da Figura 2 demonstra que todos os imunizantes disponíveis hoje no Brasil (Pfizer, CoronaVac, Janssen e AstraZeneca) aumentaram a produção de nAB em indivíduos que foram vacinados e que alegaram não apresentar histórico de COVID-19 quando comparada à do grupo controle (não vacinados e sem histórico de COVID-19). Além disso, o imunizante Pfizer apresentou melhor desempenho quando comparado com o dos imunizantes CoronaVac e AstraZeneca. Estudos realizados nas diversas partes do mundo apontam que, apesar da rapidez com que foram produzidas, as vacinas disponíveis no Brasil são seguras e eficazes na produção de nAB, além de instigarem a produção de células do sistema imune inato.⁽²⁵⁾

A Figura 3 demonstra que a imunização potencializa a produção de nAB em indivíduos que apresentam histórico prévio de infecção quando comparados à do grupo controle que não foi vacinado, mas apresenta histórico prévio de COVID-19. Consideramos que o grupo controle já é considerado positivo para nAB de acordo com o teste de detecção (>20%), pois já tiveram a doença e desenvolveram os anticorpos. Estudos prévios da literatura confirmam os achados encontrados e corroboram a informação de que a imunização em indivíduos que já tiveram a COVID-19 pode potencializar a produção de nAB.^(26,27)

Nesse sentido, a Figura 4, A e B, demonstra que os imunizantes CoronaVac e AstraZeneca potencializam a produção de anticorpos com potencial neutralizante em indivíduos vacinados e com histórico prévio de COVID-19 quando em comparação com o grupo que recebeu o mesmo imunizante, mas não apresentava histórico prévio de COVID-19. O mesmo resultado não foi observado para os imunizantes Pfizer e Janssen, visto que não houve diferença significativa entre os grupos vacinados com histórico prévio e vacinados sem histórico prévio de COVID-19.

Apesar de nossos resultados demonstrarem que há uma produção maior desses anticorpos em indivíduos vacinados quando associada à positividade do paciente frente à infecção para alguns imunizantes, não se pode definir a quantidade de nAB produzida pela resposta imune natural e pela resposta vacinal neste estudo. Além disso, a falta de potencialização do efeito nas vacinas Pfizer e Janssen, quando comprados grupos imunizados com e sem histórico prévio, pode ser justificada de acordo com a literatura, pelo tempo transcorrido entre a imunização e o ensaio para a detecção de nAB visto que estudos demonstram que entre 3 e 6 meses após a aplicação dos imunizantes os níveis de anticorpos neutralizantes produzidos pela resposta vacinal decaem significativamente,^(28,29) demonstrando a necessidade de administração de doses de reforço para manter os níveis de nAB circulantes.⁽³⁰⁾ Como estes imunizantes não eram administrados com múltiplas doses, a possibilidade de as dosagens de nAB terem sido realizadas após esse período poderia justificar os resultados encontrados.

Nesse sentido, no presente estudo não conseguimos separar os grupos por doses de imunizantes e tempo transcorrido entre a administração da última dose do imunizante, data da positividade para COVID-19 e a testagem em relação aos níveis de nAB visto que como se tratou de um estudo clínico com dados de prontuário, não tínhamos representantes de todos os grupos, conforme demonstrado nas tabelas 2, 3 e 4, como também os prontuários estavam incompletos em relação às datas das testagem e datas de aplicação de doses das vacinas e positividade para COVID-19.

CONCLUSÃO

A dosagem de nAB, apesar de não recomendada, e que foi mundialmente utilizada durante a pandemia de COVID-19, permite avaliar uma possível resposta do sistema imune adquirido gerada em cada indivíduo frente a uma infecção desenvolvida pela imunização ou pelo próprio contato com o patógeno, neste caso o SARS-CoV-2. Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram que indivíduos com histórico prévio de COVID-19 e não imunizados possuem uma quantidade acima de 20% de nAB quando comparados a indivíduos que não foram infectados (<20%). Todas as vacinas pesquisadas mostraram uma eficiência a nível produção nAB em indivíduos sem e com histórico prévio de infecção, entretanto o imunizante Pfizer apresentou melhor desempenho, em indivíduos sem histórico de COVID-19, quando comparado ao imunizante CoronaVac

e AstraZeneca. Além disso, os imunizantes CoronaVac e AstraZeneca potencializam a produção nAB em indivíduos com histórico prévio de COVID-19, quando comparada com a do grupo que recebeu imunizante, mas não apresentava histórico prévio de infecção.

Apesar de todos os imunizantes produzirem nAB, podemos concluir com os dados apresentados que há uma maior imunogenicidade, quando não há exposição prévia ao vírus, de imunizantes com tecnologia de RNA mensageiro sintético, mas isso não se reproduz quando já houve exposição e desenvolvimento de infecção natural. Quando já houve uma infecção natural, os imunizantes com vírus morto ou inativado potencializam a produção de nAB.

REFERÊNCIAS

1. Gruber A. Covid-19: o que se sabe sobre a origem da doença. *Jornal da USP*. 2020. Disponível em: <https://jornal.usp.br/artigos/covid2-o-que-se-sabe-sobre-a-origem-da-doenca/>. (Acesso em: 12 dez. 2021).
2. Ghebreyesus AT, Barbosa J. OMS declara emergência de saúde pública de importância internacional por surto de novo coronavírus. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/news/30-1-2020-who-declares-public-health-emergency-novel-coronavirus>. (Acesso em: 15 jan. 2022).
3. Mathieu E, Ritchie H, Guirão LR, et al. Coronavirus Pandemic (Covid-19). *Our World in data*. 2020. Disponível em: <https://ourworldindata.org/covid>. (Acesso em: 18 set. 2022).
4. Ministério da Saúde. Brasil. Covid-19 Painel de controle. 2020. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. (Acesso em: 01 de junho de 2022).
5. Souza AT, Nunes AMV, Nascimento SCI, et al. Vulnerabilidade e fatores de risco associados para Covid-19 em idosos institucionalizados. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*. 2021; v. 13, n. 2, p. 5947. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/5947>. (Acesso em: 14 dez. 2021).
6. Cota W. Monitorando o número de casos e óbitos por COVID-19 no Brasil nos níveis municipal e das unidades federativas. *SciELO*. 2020; Preprint n. 362 (2020). Disponível em: <https://preprints.scielo.org/index.php/scielo/preprint/view/362/444>. (Acesso em: 03 jun. 2022).
7. Ministério da saúde. Brasil. Covid-19 no Brasil. Disponível em: https://infoms.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html. (Acesso em: 11 jul. 2022).
8. Portal de notícias G1. Brasil tem mais de 5,1 milhões de domicílios em situação precária, aponta IBGE. 2022. Disponível em: <https://g1.globo.com/bemestar/coronavirus/noticia/2020/05/19/brasil-tem-mais-de-51-milhoes-de-domicilios-em-situacao-precaria-aponta-ibge.ghtml>. (Acesso em: 16 jan. 2022).
9. Carvalho PD, Pochmann M, Moreira E, Bahia L, et al. Especialistas apontam as dificuldades do Brasil para enfrentar a pandemia e defendem sistema amplo e política industrial para a Saúde. *COPPE UFRJ*. 2020. Disponível em: <https://www.coppe.ufrj.br/pt-br/planeta-coppe-noticias/noticias/especialistas-apontam-dificuldades-do-brasil-para-enfrentar-a>. (Acesso em: 12 ago. 2022).
10. Oliveira N, Pires Y. Falta de normas claras e de ações coordenadas para distanciamento social prejudica combate à Covid. *Agência do Senado*. 2021. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/noticias/infomaterias/2021/04/falta-de-normas-claras-e-de-aco-es-coordenadas-para-distanciamento-social-prejudica-combate-a-covid>. (Acesso em: 12 ago. 2022).

11. Agência Brasil. Vacinação contra Covid-19 começa em todo país. 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2021-01/vacinacao-contracovid-19-comeca-em-todo-o-pais>. (Acesso em: 18 jul. 2022).
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Vacinas Covid-19. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas>. (Acesso em: 01 jul. 2022).
13. Mangge H, Kneihsl M, Schnedl W, et al. Immune Responses against SARS-CoV-2-Questions and Experiences. *Biomedicines*. 2021; v. 9(10), n. 1342. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/9/10/1342> (Acesso em: 15 jun. 2022).
14. Lima FJE, Almeida MA, Kfourri AR. Vaccines for COVID-19 - state of the art. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*. 2021; v. 21, n. 1, p. 13-19. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbsmi/a/hF6M6SFrhX7XqLPmBTwFfVs/?lang=pt>. (Acesso em: 20 ago. 2022).
15. Teixeira SFC, Soares MC, Souza AE, et al. A saúde dos profissionais de saúde no enfrentamento da pandemia de Covid-19. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2020; v. 25, n. 9, p. 3465-3474. Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/csc/2020.v25n9/3465-3474/>. (Acesso em: 02 set. 2022).
16. Song G, He WT, Callaghan S, et al. Cross-reactive serum and memory B cell responses to spike protein in SARS-CoV-2 and endemic coronavirus infection. *National Library of Medicine*. 2020; n. 308965. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7523096/>. (Acesso em: 15 abr. 2022).
17. Nayak K, Gottimukkala K, Kumar S, et al. Characterization of neutralizing versus binding antibodies and memory B cells in COVID-19 recovered individuals from India. *Virology. Science Direct*. 2021; v. 558, p. 13-21. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33706207/>. (Acesso em: 25 set. 2022).
18. Brochot E, Demey B, Touzé A, et al. Anti-spike, Anti-nucleocapsid and Neutralizing Antibodies in SARS-CoV-2 Inpatients and Asymptomatic Individuals. *Frontiers in Microbiology*. 2020; v. 11, n. 584251. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.584251/full>. (Acesso em: 04 set. 2022).
19. Robbiani FD, Gaebler C, Muecksch F, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020; v. 584, n. 7821, p. 437-442. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2456-9> (Acesso em: 07 set. 2022).
20. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, et al. Neutralizing antibodies levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat. Med*. 2021; n. 27, p. 1205 - 1211. Disponível em: <file:///C:/Users/flavi/Downloads/s41591-021-01377-8.pdf>. (Acesso em: 22 jun. 2022).
21. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmaier S, et al. A serological assay to detect sars-cov-2 seroconversion in humans. *Nat. Med*. 2020; n. 26, p. 1033-1036. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32398876/>. (Acesso em: 25 set. 2022).
22. Oliveira PRS, Tavares NM. Resposta imune humoral na COVID - 19. In: *Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: Aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais*. Salvador. Edufba. 2020; v.1. Disponível em: <https://doi.org/10.9771/9786556300443.004> (Acesso em: 05 ago. 2022).
23. De Las Infantas, IJMP. Cuánto nos va a durar la inmunidad frente al coronavirus? *The Conversation*. 2021; Disponível em: <https://theconversation.com/cuanto-nos-va-a-durar-la-inmunidad-frente-al-coronavirus-162186>. (Acesso em: 20 set. 2022).
24. Blain H, Tuailon E, Gamon L, et al. Spike Antibody Levels of Nursing Home Residents With or Without Prior COVID-19 3 Weeks After a Single BNT162b2 Vaccine Dose. *JAMA*. 2021; n. 325(18), p. 1898-1899. Disponível em: https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2778926?utm_campaign=articlePDF&utm_medium=articlePDFlink&utm_source=articlePDF&utm_content=jama.2021.4388. (Acesso em: 20 maio de 2022).
25. Brito OLL, Lima OT, Pinto RR, et al. A eficácia das vacinas anticovid-19 disponíveis no Brasil – Uma revisão integrativa / The effectiveness of anticovid-19 vaccines available in Brazil - An integrative review. *Brazilian Journal Of Development*. 2021; v. 7, n. 12, p. 113754-113767. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/40922/pdf>. (Acesso em: 05 set. 2022).
26. Bellamkonda N, Lambe PU, Sawant S, et al. Immune Response to SARS-CoV-2 Vaccines. *Biomedicines*. 2022; v. 10, n. 1464. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/7/1464>. (Acesso em: 25 set. 2022).
27. Eroglu B, Nuwarda FR, Ranzam I, et al. A Narrative Review of COVID-19 Vaccines. *National Library of Medicine*. 2021; v. 10, n. 1, p. 62. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35062723/>. (Acesso em: 13 ago. 2022).
28. Earle AK, Ambrosino MD, Gartland FA, et al. Evidence for antibody as a protective correlate for COVID-19 vaccines. *Elsevier*. 2021; v. 39 (32), p. 4423-4428. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8142841/pdf/main.pdf>. (Acesso em 09 nov. 2022).
29. Chen X, Chen X, Azman AS, et al. Neutralizing Antibodies Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Variants Induced by Natural Infection or Vaccination: A Systematic Review and Pooled Analysis. *Oxford Academic*. 2022; v. 74, n. 4, p. 734-742. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/74/4/734/6327511>. (Acesso em: 09 nov. 2022).
30. Muecksch F, Wang Z, Cho A, et al. Increased Potency and Breadth of SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies After a Third mRNA Vaccine Dose. *BioRxiv*. 2022; v. 15. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.14.480394v1.full.pdf>. (Acesso em: 09 nov. 2022).

Frequência de lesões intraepiteliais e os principais microrganismos associados aos exames de Papanicolaou

Frequency of intraepithelial lesions and the main microorganisms associated with in Papanicolaou screenings

Aline Elisabete da Silva¹, Rayanne de Andrade Vieira¹, Érica Buarque Wanderley¹, Iran Alves da Silva¹, Adrya Lúcia Peres¹, Sibebe Ribeiro de Oliveira¹

¹ Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA). Caruaru, PE, Brasil.

Resumo

Introdução: O câncer do colo do útero ainda se configura com problema de saúde pública e o exame citopatológico é uma ferramenta eficaz para monitorar e prevenir a evolução de neoplasias. **Objetivos:** Verificar a frequência de lesões intraepiteliais e os principais tipos de microrganismos presentes em lesões do colo do útero de mulheres. **Material e métodos:** Estudo de caráter analítico retrospectivo transversal, realizado no Laboratório Escola da ASCES-UNITA, a partir dos diagnósticos positivos para lesões intraepiteliais, carcinoma escamoso, adenocarcinoma *in situ*, bem como para os agentes infecciosos presentes em exames de pacientes atendidas no período de 2016 a 2020. **Resultados:** A frequência de diagnósticos negativos para lesões cervicais apresentou-se maior que a de positivas. O ano de 2017 foi o que apresentou mais resultados positivos para lesões intraepiteliais (10), com maior número para ASC-US com 4 pacientes (2,32%), seguido de HSIL com 3 pacientes (1,74%), LSIL com 2 pacientes (1,16%) e carcinoma escamoso com 1 paciente (0,58%). Com relação aos microrganismos potencialmente patogênicos, 2017 foi o ano que identificou mais microrganismos (163) e, destes, *Gardnerella vaginalis* (71,16%) e *Candida albicans* (13,49%) estavam em maior número. Também se identificou a presença de *Lactobacillus* sp., bacilos e cocos que não possuíam ação infecciosa. **Conclusões:** Foi verificada a presença de lesões intraepiteliais como ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL e carcinoma escamoso, com predomínio para ASC-US. Quanto aos microrganismos patogênicos, observou-se prevalência de *Gardnerella vaginalis* seguida por *Candida albicans*, havendo associação entre a presença de *Gardnerella vaginalis* com o desenvolvimento de lesões.

Palavras-chave: Lesões Intraepiteliais Escamosas Cervicais; Neoplasias do Colo do Útero; Microbiologia.

Abstract

Introduction: Cervical cancer is still a public health problem and the cytopathological exam is an effective tool to monitor and prevent the evolution of neoplasms. **Objectives:** To verify the frequency of intraepithelial lesions and the main types of microorganisms present in cervical lesions in women. **Material and methods:** Retrospective analytical cross-sectional study, carried out at the Laboratory School of ASCES-UNITA, from the positive diagnoses for intraepithelial lesions, squamous cell carcinoma, adenocarcinoma *in situ*, as well as for the infectious agents present in exams of patients seen in the period from 2016 to 2020. **Results:** The frequency of negative diagnoses for cervical lesions presented higher than that of positive ones. The year 2017 presented the most positive results for intraepithelial lesions (10), with the highest number for ASC-US with 4 patients (2.32%), followed by HSIL with 3 patients (1.74%), LSIL with 2 patients (1.16%) and squamous cell carcinoma with 1 patient (0.58%). Regarding potentially pathogenic microorganisms, 2017 was the year that identified the most microorganisms (163) and of these, *Gardnerella vaginalis* (71.16%) and *Candida albicans* (13.49%) were in the highest number. The presence of *Lactobacillus* sp., Bacilli and Cocci that did not have infectious action were also identified. **Conclusions:** The presence of intraepithelial lesions such as ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL and squamous cell carcinoma was verified, with predominance for ASC-US. The pathogenic microorganisms, there was a prevalence of *Gardnerella vaginalis* followed by *Candida albicans*, with an association between the presence of *Gardnerella vaginalis* with the development of lesions.

Keywords: Squamous Intraepithelial Lesions of the Cervix, Uterine Cervical Neoplasms, Microbiology

Correspondência

Iran Alves da Silva

E-mail: iranalvesdasilva0@gmail.com

Recebido em 10/10/2022 | Aprovado em 14/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200076

INTRODUÇÃO

O colo do útero é constituído de uma porção interna, a endocérvice, e uma porção externa, composta por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, bem similar ao epitélio vaginal.⁽¹⁾ A sua principal função é proteger a cérvice e a vagina de agentes químicos, físicos e microbiológicos.⁽²⁾

Quando uma neoplasia acomete o colo do útero, há uma replicação celular desordenada do epitélio de revestimento desse órgão, comprometendo também o tecido subjacente, conhecido como estroma. Existem duas categorias de neoplasias do colo do útero e suas manifestações dependem do epitélio comprometido, ambas associadas ao papiloma vírus humano (HPV).⁽³⁾ Dessas neoplasias, o carcinoma epidermoide representa o tipo mais incidente, acometendo o epitélio escamoso. Já o adenocarcinoma, por sua vez, representa o tipo mais raro e acomete o epitélio glandular.⁽⁴⁾ Dessa maneira, a presença do câncer cervical está associada a infecções pelo HPV.⁽⁵⁾

Existem aproximadamente 120 tipos de HPV, sendo que aproximadamente 36 são capazes de infectar o aparelho genital.⁽⁶⁾ Os que mais se destacam são o HPV tipo 16 e 18, pois apresentam maiores riscos de infecções, sendo capazes de se integrar ao DNA (ácido desoxirribonucleico) do paciente e são os mais associados com a ocorrência de neoplasias no mundo.⁽⁷⁾ Neste sentido, quando a infecção se torna persistente, ocorrem alterações morfológicas nas células do epitélio cervical, dando origem às lesões de baixo risco, às lesões de alto risco e ao câncer propriamente dito.⁽⁸⁾

A *Gardnerella vaginalis*, uma bactéria membro da microbiota vaginal, pode estar associada a infecções e atuar como um agente facilitador da entrada do HPV nas células epiteliais, causando lesões no epitélio cervicovaginal, nas células das camadas basais e parabasais, aumentando assim o risco do desenvolvimento do câncer do colo do útero.⁽⁹⁾ O estudo de Silva et al.⁽¹⁰⁾ demonstrou uma possível associação entre a infecção por *Gardnerella vaginalis* e o desenvolvimento de anormalidades cervicais, como aquelas ocasionadas pelo HPV. Além da *Gardnerella vaginalis*, outros microrganismos podem estar presentes em lesões epiteliais e vaginites, tais quais *Trichomonas vaginalis* ou *Candida albicans*.⁽¹¹⁾

O rastreamento de possíveis lesões intraepiteliais, bem como a identificação do grau de acometimento das lesões são possíveis através da colpocitologia oncótica, também chamada de exame citopatológico, ou Papanicolaou,⁽¹²⁾ exame citológico convencional de baixo custo, que possibilita a detecção precoce do câncer cervical, sendo disponibilizado

pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e que deve ser realizado, na grande maioria das vezes, anualmente.⁽⁴⁾

Mesmo com a possibilidade de detecção precoce, bem como com as orientações quanto às práticas preventivas, o câncer do colo do útero ainda se enquadra como um problema de saúde pública nos países em desenvolvimento como o Brasil, valendo ressaltar que o exame citopatológico é uma ferramenta eficaz para monitorar e prevenir evoluções de neoplasias.⁽¹³⁾ Nesse contexto, este estudo objetivou verificar a frequência de lesões intraepiteliais e os principais microrganismos que possam estar relacionados a lesões do colo do útero presentes em exames de mulheres atendidas no Laboratório de Citologia Clínica do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA).

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de caráter analítico retrospectivo transversal, realizado no Laboratório de Citologia Clínica localizado no Laboratório Escola do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), acerca das lesões intraepiteliais do colo do útero e dos principais microrganismos associados. Para atingir os objetivos propostos no estudo, foram utilizados os diagnósticos citológicos do exame Papanicolaou, disponibilizados pelo local de estudo. Por meio dos dados obtidos nos exames citológicos, foi realizado o levantamento quantitativo das informações.

A população do estudo se baseou nos laudos das mulheres com faixa etária de 18 a 64 anos, com exames realizados entre o período de janeiro de 2016 a dezembro de 2020. Foram incluídos no estudo os exames citopatológicos (diagnósticos positivos para lesões intraepiteliais, carcinoma escamoso, adenocarcinoma *in situ*, agentes infecciosos e resultados negativos). Foram excluídos os exames que se mostravam com preenchimento incompleto acerca dos dados, bem como os laudos cujos resultados evidenciaram que as lâminas foram consideradas insatisfatórias em relação à sua confecção. As informações obtidas dos exames de Papanicolaou foram coletadas de maneira manual, sendo utilizado o programa Microsoft Office Excel 2016 para tabulação dos dados.

Na análise de dados, foi realizada a estatística quantitativa. Os dados de associação foram analisados através do teste de Qui-quadrado, utilizando o programa PRISM, versão 6.0, considerando intervalo de confiança de 95%, e $p > 0,05$ o nível de significância de 5%. Também foi utilizado o programa Microsoft Office Excel 2016 para a plotagem de gráficos.

ÉTICA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), sob Parecer nº 5.337.930.

RESULTADOS

No que se refere ao número de exames avaliados, verificou-se que 2017 foi o ano em que mais pacientes (172) realizaram o exame, e 2020 o ano que registrou menor número de exames.⁽²⁴⁾ De maneira geral, o índice de positividade foi de 6,83% e a frequência relativa de diagnósticos negativos foi maior do que a de positivos. Apesar disso, nos anos de 2019 e 2020 (Tabela 1) ocorreu um aumento na frequência relativa de lesões positivas, com valores de 16,21% (6) e 20,83% (5), respectivamente.

No que se refere às lesões intraepiteliais (Tabela 1), este estudo verificou que, de forma geral, células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) apresentaram um total de 10 lesões (2,13%) cada uma. Em relação às células escamosas atípicas não podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H) e carcinoma escamoso, foi verificado 1 representante (0,21%) de cada. O ano de 2017 foi o que apresentou mais resultados positivos para lesões intraepiteliais (10), com maior número para ASC-US com 4 pacientes (2,32%), seguido de HSIL com 3 (1,74%), LSIL com 2 (1,16%) e carcinoma escamoso com 1 (0,58%).

Lesão intraepitelial escamosa de alto grau- HSIL foi a única categoria diagnosticada em todos os anos avaliados (Figura 1). Carcinoma escamoso foi identificado apenas no ano de 2017 e o mesmo ocorreu com ASC-H, que foi identificada uma representante, no ano de 2019.

Com relação aos microrganismos potencialmente patogênicos identificados nos exames citopatológicos (Tabela 2), este estudo identificou que, de maneira geral, *Gardnerella vaginalis* foi o microrganismo mais identificado (71,27%) entre os anos de 2016 a 2020, seguido por *Candida albicans* (15,90%), *Leptothrix* (4,31%), *Gardnerella vaginalis* associada a *Candida albicans* (3,63%), *Gardnerella vaginalis* associada a *Trichomonas vaginalis* (2,95%) e *Trichomonas vaginalis* isoladamente (0,9%).

Ainda na Tabela 2, o ano de 2017 foi em que se identificou maior número de microrganismos (163) presentes nos laudos examinados, e destes foram mais prevalentes a *Gardnerella vaginalis* (71,16%), seguida por *Candida albicans* (13,49%), *Leptothrix* (6,74%), *Gardnerella vaginalis* associada a *Candida albicans* (4,29%), *Gardnerella vaginalis* associada a *Trichomonas vaginalis* (3,68%) e *Trichomonas vaginalis* (0,61%).

O ano com menor detecção de microrganismos potencialmente patogênicos foi o de 2020 (19 casos), mas, assim como no ano de 2017, o microrganismo mais prevalente foi a *Gardnerella vaginalis* (63,15%), seguida por *Candida albicans* (31,57%) e *Leptothrix* (5,26%). De modo geral, em todos os anos avaliados, foi identificado que entre os microrganismos potencialmente patogênicos, houve uma maior prevalência de *Gardnerella vaginalis* seguida por *Candida albicans*.

Tabela 1

Lesões em exames citopatológicos de mulheres atendidas no período de 2016 a 2020.

Ano	Diagnósticos negativos		Lesões cervicais positivas		Lesões intraepiteliais positivas*								Total		
					ASC-US		ASC-H		LSIL		HSIL			Carcinoma Escamoso	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
2016	84	91,30	8	8,69	6	6,52	0	0	0	0	2	2,17	0	0	92
2017	162	94,18	10	5,81	4	2,32	0	0	2	1,16	3	1,74	1	0,58	172
2018	140	97,90	3	2,09	0	0	0	0	2	1,39	1	0,69	0	0	143
2019	31	83,78	6	16,21	0	0	1	2,70	3	8,10	2	5,40	0	0	37
2020	19	79,16	5	20,83	0	0	0	0	3	12,5	2	8,33	0	0	24
Geral	436	93,16	32	6,83	10	2,13	1	0,21	10	2,13	10	2,13	1	0,21	468

*Valores referentes ao total de lesões cervicais positivas.

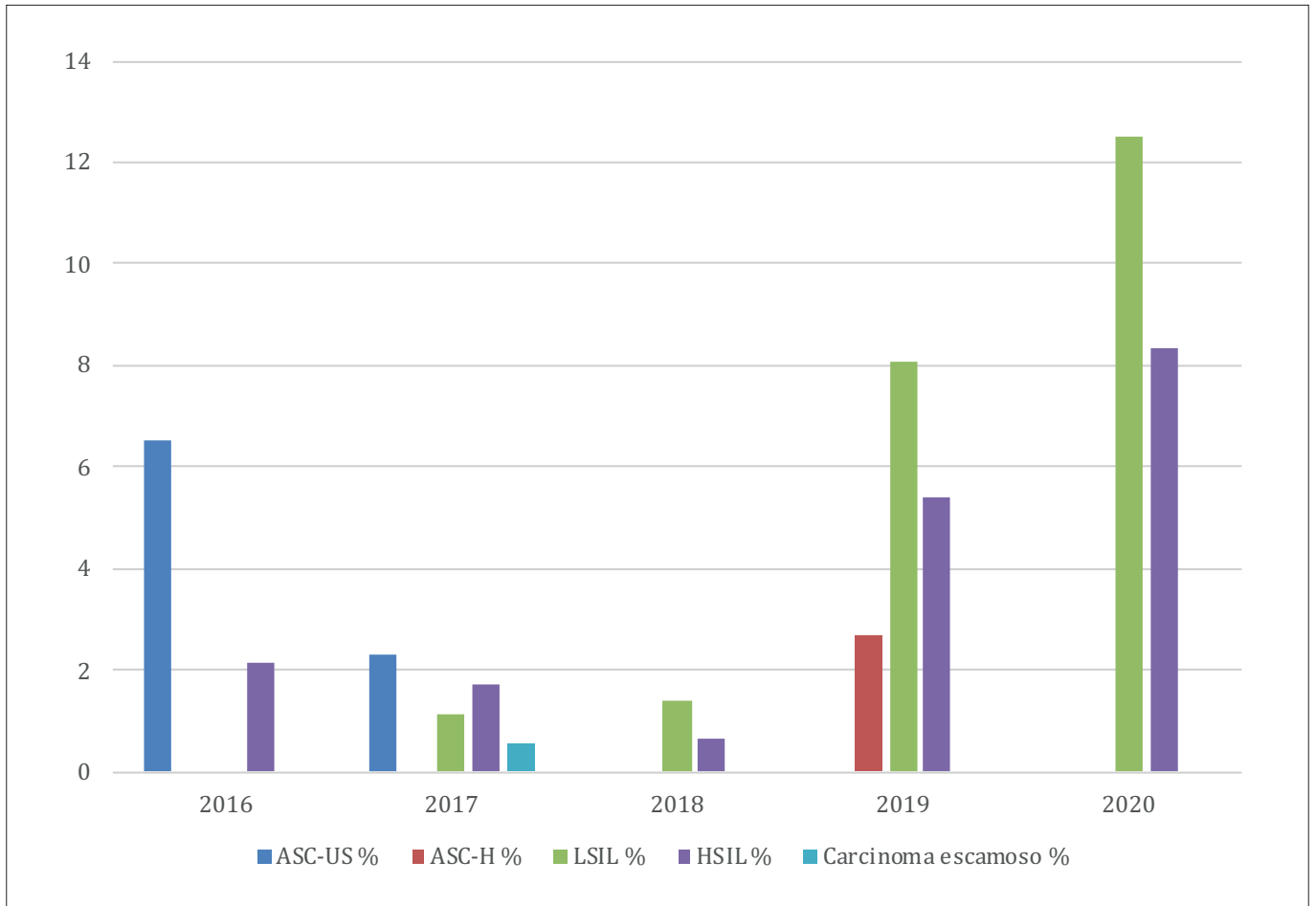


Figura 1

Lesões intraepiteliais em exames citopatológicos de mulheres atendidas no período de 2016 a 2020.

Tabela 2

Microrganismos potencialmente patogênicos em exames citopatológicos de mulheres atendidas no período de 2016 a 2020.

Ano	Microrganismos potencialmente patogênicos												Total
	<i>Gardnerella vaginalis</i>		<i>Candida albicans</i>		<i>Leptothrix</i>		<i>Trichomonas Vaginalis</i>		<i>Gardnerella vaginalis e Trichomonas Vaginalis</i>		<i>Gardnerella vaginalis e Candida albicans</i>		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
2016	57	66,27	19	22,09	2	2,32	0	0	4	4,65	4	4,65	86
2017	116	71,16	22	13,49	11	6,74	1	0,61	6	3,68	7	4,29	163
2018	108	77,14	20	14,28	4	2,85	2	1,42	1	0,71	5	3,57	140
2019	25	78,12	3	9,37	1	3,12	1	3,12	2	6,25	0	0	32
2020	12	63,15	6	31,57	1	5,26	0	0	0	0	0	0	19
Geral	318	71,27	70	15,9	19	4,31	4	0,9	13	2,95	16	3,63	440

Além desses microrganismos potencialmente patogênicos, foi identificada a presença de microrganismos (Tabela 3) que não possuíam ação infecciosa, sendo eles: *Lactobacillus* sp., bacilos e cocos. Bacilos foi o grupo de não ação infecciosa mais identificado (44,17%), seguido por *Lactobacillus* sp. (37,62%) e cocos (18,20%).

Em relação à presença de *Gardnerella vaginalis* em lesões citopatológicas do tipo LSIL e HSIL (Tabela 4), este estudo demonstrou uma associação significativa com o desenvolvimento de lesões intraepiteliais (LSIL e HSIL) ($p < 0,0001$ e OR 18,2758) ao passo que os demais microrganismos não mostraram associação.

Tabela 3

Microrganismos não infecciosos presentes em exames citopatológicos com lesões intraepiteliais de mulheres atendidas no período de 2016 a 2020.

Ano	<i>Lactobacillus</i> sp.		Bacilos		Cocos		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
2016	86	38,73	113	50,9	23	10,36	222	100
2017	75	38,86	94	48,7	24	12,43	193	100
2018	113	39,1	110	38,06	66	22,83	289	100
2019	81	37,85	73	34,11	60	28,03	214	100
2020	13	21,66	42	70	5	8,33	60	100
Geral	368	37,62	432	44,17	178	18,2	978	100

Tabela 4

Associação de microrganismos em lesões citopatológicas.

Microrganismos em lesões citopatológicas (LSIL e HSIL)	Valor de p	Odds Ratio (OR)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0,0001	18,2758
<i>Candida albicans</i>	0,05	0
<i>Leptothrix</i>	0,05	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0,05	0

DISCUSSÃO

Entre os anos avaliados neste estudo, em termos de quantidade de exames realizados, o ano de 2020 foi o ano com menos exames realizados, semelhante ao estudo realizado por Militão et al.,⁽¹⁴⁾ que observaram uma queda de 67% na realização de exames de Papanicolaou em todo o território brasileiro, a partir dos dados da plataforma DATA-SUS coletados entre janeiro de 2019 a dezembro de 2020. O referido trabalho evidenciou que todas as macrorregiões do Brasil foram afetadas com tal diminuição, sendo a Região Sul do país com o menor impacto observado, enquanto as demais macrorregiões apresentaram quedas superiores a 50%, sugerindo que a pandemia de COVID-19 reduziu

estatisticamente o número de ações relacionadas ao exame Papanicolaou e possivelmente a identificação das lesões precursoras ou relacionadas ao câncer cervical em 2020, como foi evidenciado também no nosso estudo.

A frequência de diagnósticos negativos encontrados nesse estudo atingiu 97,9% em 2018, entretanto, nos anos de 2019 e 2020 ocorreu um aumento na frequência relativa de lesões positivas, com valores de 16,21% e 20,83%, respectivamente. Tais valores estão acima da referência de 3% a 10% recomendada no Manual de Gestão da Qualidade dos Exames Citopatológicos do Instituto Nacional de Câncer. Logo, o aumento de casos positivos encontrados pode estar relacionado à procura desse serviço somente pelas mulheres sintomáticas, ou por aquelas às quais fora indicado repetir o

exame em razão de alguma alteração anterior ou, ainda, a seguimento conforme o fluxograma das Diretrizes Brasileiras recomendadas pelo Ministério Saúde.⁽¹⁵⁾ Semelhantemente, resultados divergentes foram encontrados no estudo de Mattei, Lohmann e Cargnelutti⁽¹⁶⁾ com mulheres usuárias da Atenção Primária à Saúde no interior do Rio Grande do Sul, no período de 2014 a 2017, em que a maior frequência de lesões positivas ocorreu em 2017 (32,0%) e a menor em 2014 (20,4%).

Ao avaliar as lesões intraepiteliais, 2017 foi o ano com maior número de diagnósticos positivos, apresentando prevalência de ASC-US, seguido por HSIL, LSIL e carcinoma escamoso. Fredrich e Renner⁽¹⁷⁾ também identificaram em seu estudo uma maior frequência de ASC-US em 1,8% das 2.346 mulheres que realizaram exames citopatológicos. Além disso, no estudo de Silva et al.⁽¹⁰⁾ foi encontrada uma frequência de 37% para ASC-US em 1.275 exames realizados.

Nesse trabalho, a lesão intraepitelial HSIL foi a mais prevalente dentre as demais lesões identificadas, com estabilidade de casos em 2019 e 2020. Um estudo realizado no Paraná entre 2012 e 2018 encontrou que ao longo dos anos ocorreu um aumento de 0,33% a 0,74%, respectivamente, na detecção de HSIL.⁽¹⁸⁾ Do intervalo de anos adotado nesse estudo, o carcinoma escamoso foi identificado apenas uma vez, em 2017. Esta lesão intraepitelial é de baixa prevalência, como demonstrado num estudo realizado em Goiânia,⁽¹⁹⁾ com um valor de 0,02% (1 em 4.558 exames realizados).

Dentre os casos positivos para lesões citopatológicas, nesta pesquisa, foram mais prevalentes LSIL e em seguida HSIL, corroborando com estudos também realizados em Pernambuco, por Junior et al.⁽²⁰⁾ e Pedrosa et al.⁽⁵⁾ onde também descrevem a maior presença de alterações epiteliais LSIL diante das HSIL em exames citológicos em mulheres pernambucanas. As LSIL possuem um índice elevado de detecção, quando não diagnosticadas de maneira breve, favorecendo um processo consecutivo que pode levar no surgimento de HSIL.

Células escamosas atípicas não podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H) também foram identificadas apenas uma vez no presente trabalho, no ano de 2019, divergindo de estudo realizado também na cidade de Caruaru, por Pedrosa et al.,⁽⁵⁾ que identificou um quantitativo maior, com 23,89% (216) das pacientes com essa anormalidade.

No que se refere aos microrganismos presentes, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Leptothrix*, *Trichomonas vaginalis*, *Lactobacillus* spp. e bacilos e cocos estiveram presentes nos exames das pacientes avaliadas. A vagina e o colo do útero são órgãos considerados complexos, pois concentram

uma quantidade considerável de espécies bacterianas aeróbias e anaeróbias, conhecidas como “microbiota natural vaginal”. Essas espécies, em determinadas ocasiões, podem contribuir com a ocorrência de inflamação cervicovaginal.⁽⁹⁾ *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* e *Chlamydia trachomatis* estão entre os principais patógenos frequentemente associados a infecções na vagina e na cérvix do útero.⁽²¹⁾ As infecções cervicovaginais também podem ser ocasionadas por bactérias anaeróbicas como *Mobiluncus bacteroides* e *Mycoplasma hominis*.⁽⁹⁾ Neste sentido, o exame de Papanicolaou demonstra sua relevância não apenas identificando malignidades citológicas, mas também microrganismos patogênicos ou infecções microbianas em estágio inicial.⁽⁶⁾

No intervalo de anos adotado por esse estudo, foi identificado que entre os microrganismos potencialmente patogênicos houve uma prevalência de *Gardnerella vaginalis* seguida por *Candida albicans*. Similarmente a esse achado, Mattos e Santos⁽²²⁾ encontraram em seu estudo que *Gardnerella vaginalis* foi o microrganismo patogênico mais prevalente (16,8%), seguido por *Candida* spp. (1,8%). Barbosa et al.⁽²³⁾ também evidenciaram *Gardnerella vaginalis* como microrganismo patogênico mais identificado (79,6%), seguido por *Candida* spp. (16,8%) e *Trichomonas vaginalis* (2,2%).

De forma geral, houve uma predominância, neste estudo, de registro de bacilos, microrganismos que não possuem ação infecciosa, divergindo do trabalho de Barbosa et al.,⁽²³⁾ que determinaram que a microbiota de mulheres que realizavam exames citológicos possuía uma prevalência de *Lactobacillus* spp. (46,97%), seguida de bacilos (6,63%). Em todos os anos avaliados nesse estudo, os cocos estiveram entre os menos identificados, diferentemente dos resultados encontrados por Fredrich e Renner⁽¹⁷⁾ que destacaram em seu estudo que de 2.346 pacientes, houve uma prevalência de cocos (986 pacientes), seguido por *Lactobacillus* spp. (767).

O ano que mais identificou microrganismos que não possuíam ação infecciosa foi 2018, sendo *Lactobacillus* spp. o mais citado, seguido por bacilos e cocos. *Lactobacillus* spp. é uma bactéria comum da microbiota vaginal, capaz de determinar o pH ácido e dificultar o crescimento de outros microrganismos.⁽²⁴⁾ Mattos e Santos⁽²²⁾ relataram em seu estudo que 81,4% das mulheres que realizaram exames citopatológicos apresentaram *Lactobacillus* spp. em sua microbiota normal.

A associação entre a presença de *Gardnerella vaginalis* nos exames citopatológicos com o desenvolvimento de lesões citopatológicas corrobora com o estudo de Ribeiro et al.,⁽²⁵⁾

que encontraram uma associação estatisticamente significativa entre as mulheres infectadas por *Gardnerella vaginalis* e anormalidades citológicas. Ainda nesse aspecto, Silva et al.⁽¹⁰⁾ definiram que a *Gardnerella vaginalis* estava entre os fatores de risco para o desenvolvimento de anormalidades cervicais. Similarmente, Negrete et al.⁽²⁶⁾ avaliaram 259 exames citopatológicos de 2018 a 2019, dos quais 79 exames (30%) apresentaram critérios citológicos compatíveis com inflamação e a presença de *Gardnerella vaginalis*, demonstrando a associação da bactéria com lesões citopatológicas.

CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou as alterações intraepiteliais ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL e carcinoma escamoso, com uma maior frequência de atipias, com predomínio para ASC-US, seguidas de lesões de baixo grau. Entre os microrganismos potencialmente patogênicos, houve uma prevalência de *Gardnerella vaginalis* seguida por *Candida albicans*, havendo uma associação entre a presença de *Gardnerella vaginalis* com o desenvolvimento de lesões citopatológicas.

SUPORTE FINANCEIRO

Os custos deste trabalho foram de responsabilidade de seus autores.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Escola ASCES-UNITA pela disponibilidade, no que se refere à infraestrutura e concessão dos dados presentes nos resultados dos exames citológicos do Laboratório de Citologia Clínica.

REFERÊNCIAS

- Lopes VAS, Ribeiro JM. Cervical cancer control limiting factors and facilitators: a literature review. *Ciênc Saúde Col*. 2019 Sep;24(9):3431-42.
- Consolaro MEL, Engler SSM. *Citologia clínica cérvico-vaginal: texto e atlas*. 2. ed. São Paulo: Grupo Gen-Editora Roca Ltda; 2016.
- INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Conceito de Magnitude. Rio de Janeiro: INCA, 2021 [Acesso em 10 fev 2022]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/controlado-cancer-do-colo-do-uterio/conceito-e-magnitude>.
- INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2016 [Acesso em 10 fev 2022]. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Diretrizes_rastreamento_cancer_colo_uterio.pdf.
- Pedrosa TFM, Magalhães SD, Peres AL. Perfil das mulheres com alterações cervicais em uma cidade do nordeste brasileiro. *Jorn Bras Patol Med Lab*. 2019 Jan;55(1):32-43.
- Simões LP, Junior GZ. Vírus HPV e o desenvolvimento de câncer de colo de útero – uma revisão bibliográfica. *Uningá Journ*. 2019 Sep;56(1):98-107.
- Souza GDCS, Silva ERD, Macêdo FLDS, Soares LRC, Rosal VMDS, Rocha MGD. Papilomavírus humano: biologia viral e carcinogênese. *Femina*. 2015 Jun;6(2):189-192.
- Koss L, Gompel C. *Introdução à Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas*. 1. ed. São Paulo: Rocca; 2006.
- Duarte SMS. Incidência do Papiloma Humano em Mulheres com Vaginose Bacteriana Recorrente. In: Castro LHA, Pereira TT, Oesterreich SA. *Ciências da saúde: Campo promissor em saúde*. Paraná: Atena; 2020. p. 87-99.
- Silva JID, Rodrigues EGDA, Barros JMR, Silva RCD, Peres AL. Fatores de risco associados ao desenvolvimento de alterações cervicouterinas em mulheres que realizam exame citopatológico. *Arch Health Sci*. 2018 Jan;5(3):38-41.
- Payne VK, Cécile TTF, Cedric Y, Christelle NAN, José O. Risk factors associated with prevalence of *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, and *Trichomonas vaginalis* among women at the district hospital of dschang, west region, Cameroon. *Int Journ Microb*. 2020 Aug;2020(1):1-6.
- Gurgel LC, Sousa AAS, Sousa CMS, Brito EAS, Leite RSS, Santana WJ, et al. Percepção de mulheres sobre o exame de prevenção de colo de útero Papanicolaou: Uma Revisão Integrativa da Literatura. *ID on-line Rev de Psico*. 2019 Jan;13(46):434-445.
- Sá KCC, Silva LR. O exame papanicolaou na prevenção do câncer no colo uterino: uma revisão integrativa. *Rev Elet da Fac Ceres*. 2019 Mar;8(1):8-18.
- Militão BVP, Andrade VF, Sousa FA, Carneiro ID, Cardoso GS. Repercussões da pandemia de Sars-Cov-2 na realização do exame de Papanicolaou: um estudo epidemiológico. *Rev Elet Acervo Saú*; 2021 Jun;13(9):e8869-73.
- INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. *Manual de gestão da qualidade para laboratório de citopatologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2016 [Acesso em 10 fev 2022]. Disponível em: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//livro_completo_manual_citopatologia-2016.pdf.
- Mattei F, Lohmann PM, Cargnelutti AG. Fatores associados às alterações citológicas cervicais em mulheres usuárias da Atenção Primária à Saúde. *Rev APS*. 2020 Jan;23(1):113-127.
- Fredrich ÉK, Renner JD. Alterações citopatológicas em exames de Papanicolaou na cidade de Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. *Jorn Bras Patol Med Lab*. 2019 May;55(3):246-257.
- Magalhães JC, Morais LS, Plewka J, Turkiewicz M, Amaral RG. Avaliação dos indicadores de qualidade dos exames citopatológicos do colo do útero realizados em um município do Paraná, Brasil. *Jorn Bras Patol Med Lab*. 2020 Jun;56(1):1-7.
- Ribeiro AA, Peixoto SR, Araújo GHMA, Alcanfor CTDSP. *Trichomonas vaginalis* e anormalidades citopatológicas nos exames citopatológicos realizados em um laboratório clínico da Pontifícia Universidade Católica de Goiás-GO: estudo de prevalência. *Rev EVS- Rev de Ciênc Amb e saúde*. 2020 Mar;47(1):6104-10.
- Junior RBC, Vasconcelos MHL, Oliveira RLC, Lima YC, Borba VEJA, Barbosa JC, Barros DPO. Prevalência de lesões pré-cancerígenas no colo uterino diagnosticada em uma unidade laboratorial. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*. 2018 Set; 09(05):13-30.
- Posser J, Girardi JP, Pedroso D, Sandri YP. Estudo das infecções cérvicovaginais diagnosticadas pela citologia. *Rev de Saúde Int*. 2015 Feb;8(1):15-17.
- Mattos CMW, Santos BB. Prevalência de lesões precursoras do câncer uterino em mulheres de uma cidade do litoral norte do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2021 Jan;53(1):74-79.

23. Barbosa IR, Rodrigues DS, Ferreira LHA, Borges LL, Ribeiro AA. Associação entre Vaginose Bacteriana e Anormalidades Citológicas nos Exames Citopatológicos Analisados em um Laboratório Escola de Goiânia-GO. *Rev Bras Cancerol.* 2021 Jan;67(1):e-081080.
24. Alves JAB, Nunes MS, Fakhouri R, Martins-Filho PRS, Ribeiro MD, Valenã TS, et al. Pap smears: Frequency of *Gardnerella vaginalis*, *Candida* spp., *Trichomonas vaginalis* and pill use or copper intrauterine device use. *Int Arch Med.* 2016 Dec;9(360):1-6.
25. Ribeiro AA, Furtado LCP, Arantes NC. Associação dos agentes microbiológicos patogênicos e anormalidades citológicas nos exames citopatológicos encaminhados a um laboratório escola de Goiânia-Goiás. *Rev EVS Ciên Amb Saú.* 2018 Jun;45(1):115-122.
26. Negrete BB, Bulegon JS, Schafer MG, Felippin T, Coser J, Zanella J. Análise da presença de *Gardnerella vaginalis* associada a inflamação ou não em exames citopatológicos no biênio 2018-2019. *Na Sem Inter Ens, Pesq e Ext.* 2020 Mar;10(3):152-156.

Avaliação das relações neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos em pacientes hospitalizados com COVID-19

Evaluation of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelets-to-lymphocyte ratio in COVID-19 hospitalized patients

Alice Pedrosa Ribas-de Souza¹, Danielle Cristyane Kalva¹

¹ Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Ponta Grossa, PR, Brasil.

Resumo

Introdução: A pandemia causada pela COVID-19 tornou-se uma crise de saúde pública mundial. O novo coronavírus é responsável por causar a síndrome respiratória aguda grave, SARS-Cov-2. As relações neutrófilos/linfócitos (RNL) e plaquetas/linfócitos (RPL), obtidas do hemograma, têm sido associadas à progressão da infecção pelo coronavírus, sendo utilizadas como um sinal de alerta precoce para a gravidade da infecção. Neste contexto, torna-se importante investigar a RNL e a RPL com o comprometimento pulmonar dos pacientes com COVID-19 para garantir intervenções específicas, reduzindo assim a morbimortalidade desses indivíduos. **Objetivo:** Analisar a RNL e a RPL na admissão hospitalar de pacientes com COVID-19, de acordo com o grau de comprometimento pulmonar. **Material e métodos:** Foi realizado um estudo de caso controle, com avaliação dos hemogramas obtidos do laboratório do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG). Foram obtidos os resultados de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e plaquetas dos hemogramas na admissão hospitalar dos pacientes. Os pacientes com COVID-19 foram alocados em dois grupos: Grupo 1) Comprometimento pulmonar <50% e Grupo 2) Comprometimento pulmonar >50%. **Resultados:** Houve diminuição significativa de linfócitos, assim como aumento significativo de leucócitos, neutrófilos, RNL e RPL para o grupo com comprometimento pulmonar igual ou superior a 50%. **Conclusão:** As RNL e RPL podem auxiliar na avaliação de gravidade da doença, sendo biomarcadores importantes para a prática clínica, de baixo custo, fácil acesso e rápido resultado.

Palavras-chave: Coronavírus. SARS-CoV-2. Biomarcadores.

Abstract

Introduction: The pandemic caused by COVID-19 has become a global public health crisis. The new coronavirus is responsible for causing the severe acute respiratory syndrome, SARS-Cov-2. The neutrophil/lymphocyte (NLR) and platelet/lymphocyte (PLR) ratios, obtained from the blood count, have been associated with the progression of coronavirus infection, being used as an early warning sign for the severity of the infection. In this context, it becomes important to investigate the NLR and the PLR with the pulmonary impairment of patients with COVID-19 to ensure specific interventions, thus reducing the morbidity and mortality of these individuals. **Objective:** To analyze the NLR and PLR at hospital admission of patients with COVID-19, according to the degree of pulmonary impairment. **Material and Methods:** A case-control study was carried out, with an evaluation of blood counts obtained from the laboratory of the Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG). The results of leukocytes, neutrophils, lymphocytes, and platelets were obtained from the blood counts at the patients hospital admission. Patients with COVID-19 were allocated into two groups: Group 1) Pulmonary impairment < 50% and Group 2) Pulmonary impairment > 50%. **Results:** There was a significant decrease in lymphocytes; as well as a significant increase in leukocytes, neutrophils, NLR and PLR for the group with pulmonary involvement equal to or greater than 50%. **Conclusion:** NLR and PLR can assist in assessing disease severity, being essential biomarkers for clinical practice, with low cost, easy access, and quick results.

Keywords: Coronavirus. SARS-CoV-2. Biomarkers.

Correspondência

Danielle Cristyane Kalva

E-mail: danikalva@uepg.br

Recebido em 21/11/2022 | Aprovado em 26/01/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300086

INTRODUÇÃO

A síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (SARS-CoV-2, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), associada à patologia denominada COVID-19 (do inglês *coronavirus disease 2019*), tornou-se uma crise de saúde pública mundial.⁽¹⁾

A infecção por SARS-CoV-2 apresenta uma ampla variação nos seus aspectos clínicos, podendo variar de uma infecção assintomática ou apresentar sinais e sintomas inespecíficos, semelhantes à gripe, como febre, tosse, tosse seca e fadiga, pneumonia, síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) e até uma disfunção de múltiplos órgãos com alta morbidade e mortalidade.⁽²⁾

O modo de infecção do SARS-Cov-2 é muito semelhante ao do SARS-CoV que invade as células humanas ligando-se ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA-2), podendo não só se manifestar no sistema respiratório, como também de forma sistêmica, incluindo múltiplos sistemas, como cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, neurológico, hematopoiético e imunológico. Com a progressão dos dias da infecção ocorre uma descarga de manifestações clínicas, em que há aumento sistêmico de mediadores inflamatórios e citocinas que podem ser denominados como uma “tempestade de citocinas”.⁽³⁾

O comprometimento pulmonar do paciente com COVID-19 em sua maioria das vezes é leve a moderado, porém pode ser encontrado de forma mais grave em pacientes idosos e em pessoas com comorbidades como *diabetes mellitus* e doenças cardiovasculares. Exames adicionais, para a verificação da gravidade das condições do paciente são, portanto, necessários.⁽⁴⁾

Diversos estudos demonstram o potencial uso de dados derivados do hemograma, como a relação neutrófilos/linfócitos (RNL) e a relação plaquetas/linfócitos (RPL), no manejo da COVID-19, que tem grande impacto no sistema hematopoiético. Por exemplo, a presença de linfopenia, definida como um valor de linfócitos abaixo da referência e pode ser considerada um achado laboratorial fundamental.⁽⁵⁾

Com o decorrer da doença a contagem de linfócitos e dos marcadores inflamatórios pode auxiliar na identificação de pacientes em estado grave, visto serem considerados marcadores importantes para aqueles que necessitam de um tratamento intensivo. A neutrofilia é muito comum em pacientes que estão sendo acompanhados na UTI (Unidade

de Terapia Intensiva), indicando um valor de neutrófilos superior em relação aos pacientes que não estão na terapia intensiva.⁽⁵⁾ Deve ser ressaltado que pacientes com a COVID-19 e que apresentam valores aumentados para RNL, no momento da admissão hospitalar, estão mais propensos a desenvolver a forma grave da doença.⁽⁶⁾

No que se refere às RPL, valores elevados indicam uma resposta inflamatória alta e pior prognóstico, quanto maior o nível de RPL em pacientes graves, maior é a sugestão da “tempestade de citocinas”.⁽⁶⁾ As plaquetas podem ser utilizadas como um biomarcador, pois elas têm participação muito ativa na resposta imune e desempenham diversos papéis fisiológicos importantes, por exemplo, na coagulação, imunidade e resposta inflamatória. Diversas infecções virais são interligadas com trombocitopenia. Os valores absolutos de plaquetas e linfócitos podem ser usados como indicadores sensíveis no monitoramento da infecção.⁽⁵⁾

Portanto, avaliar a interligação das relações neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos com o comprometimento pulmonar dos pacientes com COVID-19 torna-se importante para garantir intervenções específicas e, conseqüentemente, reduzir a morbimortalidade desses indivíduos.

Desta forma, o objetivo principal do estudo foi analisar as relações neutrófilos/linfócitos e plaquetas/linfócitos na admissão hospitalar de pacientes com COVID-19, de acordo com o grau de comprometimento pulmonar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo de caso controle, com avaliação dos resultados dos hemogramas obtidos da rotina do laboratório do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), localizado no município de Ponta Grossa – Paraná.

Como critérios de inclusão no estudo, consideraram-se os pacientes com diagnóstico de COVID-19, definido por RT-PCR (Reação em cadeia da polimerase – transcriptase reversa) positivo em esfregaço nasofaríngeo, independentemente do tempo da admissão e idade igual ou acima de 18 anos.

Foram obtidos dados demográficos e informações clínicas dos pacientes, como idade, sexo, presença de comorbidades, local de internamento (enfermaria ou Unidade de Terapia Intensiva – UTI), comprometimento pulmonar (avaliado por meio da tomografia computadorizada), medicamentos utilizados, intubação orotraqueal, tempo de internamento e desfecho final (alta ou óbito).

Posteriormente, foram obtidas a contagem absoluta de neutrófilos, contagem absoluta de linfócitos, a contagem absoluta de plaquetas e os leucócitos totais dos hemogramas processados no equipamento automatizado Sysmex® XN-1000 (Kobe, Japão) na admissão hospitalar dos pacientes selecionados para o estudo.

A relação neutrófilos/linfócitos (RNL) foi calculada dividindo a contagem absoluta de neutrófilos pela contagem absoluta de linfócitos do sangue periférico. A relação plaquetas/linfócitos (RPL) foi calculada dividindo a contagem de plaquetas pela contagem absoluta de linfócitos do sangue periférico.

Os pacientes com COVID-19 foram alocados em dois grupos: Grupo 1) Comprometimento pulmonar <50% e Grupo 2) Comprometimento pulmonar ≥50%.

Na análise estatística foi verificada a normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Como as variáveis idade, tempo de internamento, neutrófilos, linfócitos, plaquetas, RNL e RPL não apresentaram distribuição normal, os resultados foram descritos por meio de mediana e intervalo interquartil. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney. As variáveis categóricas foram apresentadas em número e percentual (%) e a comparação entre os grupos foi realizada por meio do teste de Qui-Quadrado (χ^2) e/ou pelo teste Exato de Fisher, quando necessário. Os dados foram analisados pelo programa SPSS Statistics 20® (IBM Corp., Armonk, NY, USA) e o nível de significância utilizado foi $p < 0,05$.

ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê Científico do HURCG e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Parecer nº 4.825.617. Como esta investigação se baseou em coleta de dados preexistentes, não foi necessário o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e foi realizada em conformidade com a Declaração de Helsinki.

RESULTADOS

Foram avaliados 204 pacientes com COVID-19, sendo que 92 (45%) apresentaram comprometimento pulmonar abaixo de 50% e 112 (55%) igual ou acima de 50% (Tabela 1). Também constam nessa tabela as características demográficas e clínicas dos pacientes avaliados no estudo. Não houve diferença estatística para idade, sexo e presença de comorbidades entre os grupos avaliados no estudo (Tabela 1).

A maior parte dos pacientes com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% estavam internados em UTI, com intubação orotraqueal e apresentaram o maior tempo de internamento, sendo que 26,79% evoluíram para óbito (Tabela 1).

Com relação aos medicamentos, não houve diferença na utilização dos imunossupressores e anticoagulantes entre os grupos avaliados no estudo; no entanto, houve maior frequência do uso de antibióticos nos pacientes com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% (Tabela 1).

Os resultados na admissão hospitalar da análise hematólógica para os grupos do estudo estão apresentados na Tabela 2. Com relação à comparação entre os grupos, houve redução significativa da contagem absoluta de linfócitos, assim como aumento significativo da contagem total de leucócitos e da contagem absoluta de neutrófilos para o grupo com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% (Tabela 2).

As relações RNL e RPL entre os grupos do estudo estão representadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Para RNL, o grupo com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% demonstrou valores medianos de 12,6 (7,8 a 20,7) com aumento significativo ($p < 0,001$) em relação ao grupo com comprometimento pulmonar abaixo de 50%, que apresentou valores medianos de 8,8 (5,8 a 12,6) (Figura 1).

Em relação às RPL, foi demonstrado aumento significativo ($p = 0,002$) para o grupo com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% em relação ao grupo com comprometimento pulmonar abaixo de 50%, com valores medianos de 250 (180 a 331) *versus* 312 (221 a 446) (Figura 2).

Tabela 1

Características demográficas e clínicas dos pacientes com Covid-19, de acordo com os grupos avaliados no estudo

Variáveis	Comprometimento pulmonar < 50% (n=92)	Comprometimento pulmonar ≥ 50% (n=112)	Valor de p
Idade, anos	57 (40-70)	49 (39-61)	0,085
Sexo, n (%)			
Feminino	41 (44,57)	50 (44,64)	
			0,896
Masculino	51 (55,43)	62 (55,36)	
Comorbidades, n (%)			
Doença cardiovascular	09 (9,78)	12 (10,71)	0,989
Obesidade	11 (11,96)	14 (12,5)	0,923
Diabetes mellitus	23 (25,00)	25 (22,32)	0,777
DPOC	05 (5,43)	07 (6,25)	0,958
Hipertensão arterial	38 (41,30)	46 (41,07)	0,939
AVC prévio	01 (1,09)	03 (2,68)	0,630
AVE	02 (2,17)	03 (2,68)	0,998
Ausência	31 (33,70)	49 (43,75)	0,187
Local de internamento, n (%)			
UTI	30 (32,61)	74 (66,07)	<0,001*
Clínica	62 (67,39)	38 (33,93)	
Intubação orotraqueal, n (%)	28 (30,43)	74 (66,07)	<0,001*
Tempo de internamento, dias	09 (5-18)	23 (11-34)	<0,001*
Desfecho final, n (%)			
Alta	80 (86,96)	82 (73,21)	0,025*
Óbito	12 (13,04)	30 (26,79)	
Medicamentos, n (%)			
Imunossupressores	84 (91,30)	99 (88,39)	0,120
Anticoagulante	90 (97,83)	111 (99,11)	0,590
Antibiótico	42 (45,65)	84 (75,00)	<0,001*

DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica. AVC, acidente vascular cerebral. AVE, acidente vascular encefálico. UTI, unidade de terapia intensiva. *diferença estatística entre os grupos, p<0,05.

Tabela 2

Parâmetros hematológicos na admissão hospitalar dos pacientes com Covid-19, de acordo com os grupos avaliados no estudo

Parâmetros	Comprometimento pulmonar < 50% (n=92)	Comprometimento pulmonar ≥ 50% (n=112)	Valor de p
Leucócitos (células/ μ L)	8.195 (5.970 - 12.190)	9.770 (7.365 - 12.955)	0,035*
Neutrófilos (células/ μ L)	6.995 (4.813 - 10.508)	8.489 (5.802 - 11.276)	0,016*
Linfócitos (células/ μ L)	815 (614 - 1.156)	695 (490 - 993)	0,010*
Plaquetas (10^3 células/ μ L)	218 (162 - 288)	210 (172 - 264)	0,957

*diferença estatística entre os grupos, p<0,05.

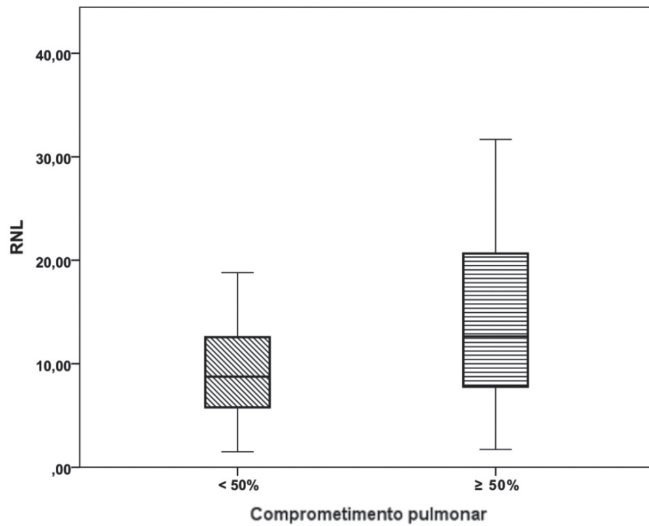


Figura 1

Box plot da relação neutrófilos/linfócitos (RNL) dos pacientes COVID-19 com comprometimento pulmonar abaixo de 50% e comprometimento pulmonar igual ou acima de 50%, $p < 0,001$.

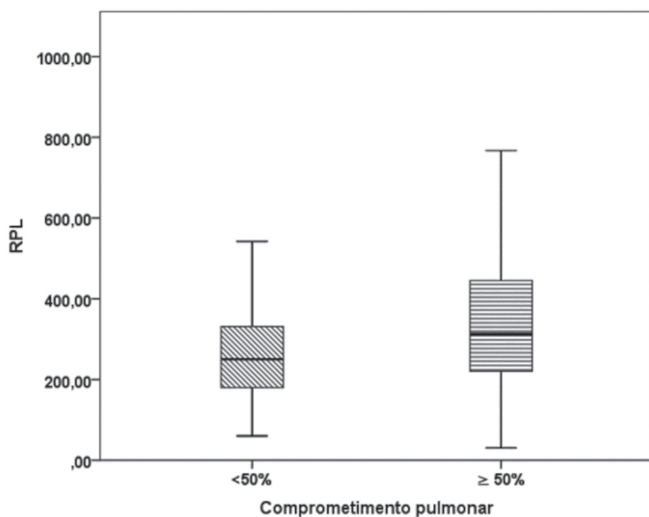


Figura 2

Box plot da relação plaquetas/linfócitos (RPL) dos pacientes COVID-19 com comprometimento pulmonar abaixo de 50% e comprometimento pulmonar igual ou acima de 50%, $p = 0,002$.

DISCUSSÃO

Os principais resultados do presente estudo demonstram que ambas as relações, RNL e RPL, encontram-se aumentadas em pacientes com COVID-19 com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50%.

O aumento de RNL em pacientes mais graves está de acordo com o estudo de Jimeno et al.,⁽⁷⁾ demonstrando que quanto maior a gravidade da doença, maior a diferença da RNL em relação aos pacientes menos debilitados.

Essa elevação da RNL pode ser explicada pelo aumento dos neutrófilos e concomitante redução dos linfócitos no sangue periférico dos pacientes com COVID-19. No presente estudo houve aumento dos neutrófilos nos pacientes mais debilitados, com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50%; e, como relatado por diversos estudos, quanto maior o aumento de neutrófilos maior o risco de mortalidade desses pacientes.^(8,9) Ao se tratar da diminuição significativa dos linfócitos, os resultados estão de acordo com o que foi analisado por Yang et al.,⁽¹⁰⁾ em que 80% dos pacientes avaliados como casos mais críticos da doença apresentaram linfopenia.

Os dados obtidos por Yang et al.⁽¹⁰⁾ e Fleury⁽⁵⁾ demonstram que a linfopenia foi mais intensa em pacientes que necessitam de tratamento intensivo do que no grupo em que o curso da doença foi mais brando. Fleury⁽⁵⁾ informa também que estudos sugerem que a redução substancial no número total de linfócitos indica que o coronavírus poderia afetar as células imunes e inibir, de certa forma, a função imune celular.

A linfocitopenia pode ser explicada pela expressão do receptor ECA-2 pelos linfócitos em sua superfície, ocorrendo a invasão direta dessas células por partículas virais, levando-as a lise.⁽³⁾ Além disso, o aumento de neutrófilos e a diminuição de linfócitos podem estar associados ao risco de síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA).⁽⁸⁾

Tratando-se do aumento dos leucócitos totais em pacientes mais debilitados, Jimeno et al.⁽⁷⁾ e Henry et al.⁽¹¹⁾ demonstraram que a maioria dos casos graves de COVID-19 apresenta aumento da contagem dessas células. Outro estudo desenvolvido por Urbano et al.⁽⁹⁾ também demonstra uma elevação significativa em leucócitos, neutrófilos e contagem de plaquetas, diminuição de linfócitos em pacientes que necessitam de cuidados intensivos.

Com relação à contagem de plaquetas, Qu et al.⁽¹²⁾ relatam que pacientes com COVID-19, que apresentaram um pico na

contagem de plaquetas durante a doença tiveram os piores resultados em comparação aos que não apresentaram, o que influenciou também no tempo de internação dos mesmos. Em contrapartida, deve ser lembrado que o pulmão pode ser um dos órgãos onde os megacariócitos maduros liberam as plaquetas, e que a trombocitopenia em pacientes com infecção por SARS-Cov-2 pode estar associada diretamente ao dano pulmonar.⁽⁵⁾

No presente estudo, não houve diferença na contagem de plaquetas na admissão hospitalar de acordo com o grau de comprometimento pulmonar, porém ocorreu linfopenia nos pacientes com mais de 50% do pulmão comprometido, com consequente aumento da RPL. Simadibrata et al.⁽⁶⁾ reuniram uma série de artigos científicos os quais demonstram que níveis elevados de RPL em pacientes acometidos pelo COVID-19 estão associados à gravidade da doença em questão, onde concluem que a RPL pode ser um marcador útil no prognóstico de pacientes com COVID-19, o que condiz com os dados obtidos no presente trabalho.

Deve ser destacado ainda que 66,07% dos pacientes analisados com comprometimento pulmonar igual ou acima de 50% estavam internados na UTI e com intubação orotraqueal, sendo que 26,79% evoluíram para óbito. Pan et al.⁽¹³⁾ demonstram que pacientes com a doença em sua forma grave geralmente desenvolvem a síndrome do desconforto respiratório, necessitando de terapia intensiva (UTI), com altas taxas de mortalidade.

O tempo de internamento também teve interferência significativa entre os dois grupos, sendo esse maior para pacientes mais graves (11 a 34 dias) em comparação com os menos graves (5 a 18 dias), o que justifica a recuperação mais demorada e que o paciente requer cuidados mais intensos.

Além disso, assim como os dados obtidos no presente trabalho, o estudo de Chehid et al.⁽¹⁴⁾ apresenta alta frequência do uso de antibióticos em pacientes hospitalizados com COVID-19, de forma empírica, sem eficácia comprovada em pacientes acometidos pela doença em questão. Deve ser ressaltado que essa prática é preocupante, visto o aumento da resistência antimicrobiana.

CONCLUSÃO

A partir do presente estudo entende-se que as relações RNL e RPL podem auxiliar na avaliação de gravidade da

doença, sendo biomarcadores importantes para a prática clínica. Além disso, as RNL e RPL são facilmente obtidas em parâmetros de rotina do hemograma (neutrófilos, linfócitos e plaquetas), portanto são testes de baixo custo, fácil acesso e de rápido resultado.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa concedida e à UEPG pela oportunidade em realizar o trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Sharma A, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus -2 (SARS-CoV-2): A global pandemic and treatments strategies. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020; 56 (2): 1-13.
2. Peng M. Outbreak of Covid-19: An emerging global pandemic threat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020; (129): 1-14.
3. Terpos E, et al. Hematological findings and complications of Covid -19. *American Journal of Hematology*. 2020; 95 (7): 834-847.
4. Morais Filho RM, et al. Associação entre comprometimento pulmonar, fatores de risco e desfechos em pacientes com Covid-19 atendidos em hospital de referência na Paraíba. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2022; 55 (2): 1-10.
5. Fleury MKA. Covid-19 and the clinical hematology laboratory: review. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2020; 52 (2): 131-137.
6. Simadibrata DM, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio, a novel biomarker to predict the severity of Covid-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the Intensive Care Society*. 2020; 23 (1): 20-26.
7. Jimeno S, et al. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in Covid-19. *European Journal of Clinical Investigation*. 2020; 51 (1): 1-9.
8. Wu C, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*. 2020; 180(7): 934-943.
9. Urbano M, et al. Hematological changes in SARS-COV-2 positive patients. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. 2022; 44 (2): 218-224.
10. Yang X, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: A single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020; 8 (5): 475-481.
11. Henry BM, et al. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (Covid-19): A meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020; 58(7): 1021-1028.
12. Qu R, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. *Journal of Medical Virology*. 2020; 92(9): 1533-1541.
13. Pan F, et al. Factors associated with death outcome in patients with severe coronavirus disease-19 (Covid-19): A case-control study. *International Journal of Medical Sciences*. 2020; 17(9): 1281-1292.
14. Chedid M, et al. Antibiotics in treatment of Covid-19 complications: a review of frequency, indications, and efficacy. *Journal of Infection and Public Health*. 2021; 14(5): 570-576.

Vigilância epidemiológica ambiental de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em hospital de média complexidade na cidade de Santa Maria – RS

Surveillance epidemiological environmental of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a medium complexity hospital in the city of Santa Maria – RS

Aline Cerqueira Silva¹, Bruno Sthefanello Vizzotto², Bruno Rodrigues dos Santos¹

¹ Biomédica (UniFG); Residente em Atenção clínica especializada com ênfase em Infectologia e Neurologia na Universidade Franciscana (UFN). Santa Maria, RS, Brasil.

² Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica (UFSM); Laboratório de Biologia Molecular – Universidade Franciscana (UFN). Santa Maria, RS, Brasil.

Resumo

Introdução: Desde a sua descoberta, o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) tem sido considerado um dos agentes mais importantes no desenvolvimento de infecções hospitalares e comunitárias em todo o mundo. A má higienização das mãos, de superfícies e de dispositivos médicos nesses ambientes contribui de forma significativa para a propagação desses microrganismos. **Objetivo:** Analisar a contaminação por bactérias do gênero *Staphylococcus spp.* resistentes à meticilina, presentes em superfícies inanimadas e equipamentos, em um hospital de pequena e média complexidade no interior do RS. **Material e métodos:** Partindo de um estudo transversal, quantitativo e de caráter descritivo, foram realizadas as coletas de amostras de 99 pontos estratégicos das unidades da instituição: Clínica Médica; Centro Cirúrgico; Clínica Cirúrgica; Maternidade; Centro obstétrico e Nutrição. As amostras foram analisadas quanto à espécie do microrganismo e sua capacidade de resistência à meticilina. **Resultados e discussão:** Dos 99 pontos coletados, 50 apresentaram crescimento bacteriano nas placas de meios de cultura seletivos e diferenciais para a detecção do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Sendo a prevalência de *S. aureus* de 2% e de SCN de 98% dentre os isolados recuperados. A área com maior número de amostras positivas foi a Clínica médica (15%); seguida da Nutrição (13%); Maternidade (8%); Centro obstétrico (6%); Clínica cirúrgica (6%) e Centro cirúrgico (3%). **Conclusão:** O presente estudo demonstrou a grande potencialidade de transmissão de MDR (*multidrug-resistant*) através das superfícies e equipamentos utilizados na assistência direta e indireta ao paciente, podendo desempenhar um importante papel na produção das IRAS.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*; MRSA; Resistência Antimicrobiana; Infecções Hospitalares; Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.

Abstract

Introduction: Since its discovery, MRSA has been considered one of the most important agents in the development of nosocomial and community-acquired infections worldwide. Poor hygiene of hands, surfaces and medical devices in these environments significantly contribute to the spread of these microorganisms. **Objective:** To analyze contamination by bacteria of the genus *Staphylococcus spp.* resistant to methicillin, present in inanimate surfaces and equipment, in a hospital of small and medium complexity in the interior of RS. **Material and methods:** Based on a cross-sectional, quantitative and descriptive study, samples were collected from 99 strategic points of the institution's units: Internal Medicine; Surgery Center; Surgical Clinic; Maternity; Obstetrics and Nutrition Center. The samples were analyzed for the species of microorganism and its resistance to methicillin. **Results and discussion:** Of the 99 points collected, 50 showed bacterial growth on the plates of selective and differential culture media for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The prevalence of *S. aureus* was 2% and SCN was 98% among the recovered isolates. The area with the highest number of positive samples was the Medical Clinic (15%); followed by Nutrition (13%); Maternity (8%); Obstetric center (6%); Surgical clinic (6%) and Surgical center (3%). **Conclusion:** The present study demonstrated the great potential for MDR transmission through surfaces and equipment used in direct and indirect patient care, which can play an important role in the production of HAIs.

Keywords: *Staphylococcus aureus*; MRSA; Antimicrobial Resistance; Hospital Infections; Healthcare Related Infections.

Correspondência

Aline Cerqueira Silva

E-mail: cerqueiraline07@gmail.com

Recebido em 09/05/2022 | Aprovado em 06/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200043

INTRODUÇÃO

Infecções hospitalares (IH), mais recentemente denominadas como Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), são definidas como infecções contraídas após a internação de um paciente, podendo manifestar-se durante ou após a alta, sendo importantes causas de morbidade e mortalidade. Além de aumentarem a duração da internação e, conseqüentemente, o custo de tratamento, é foco de ameaça constante da disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos.⁽¹⁻³⁾

A resistência antimicrobiana (RAM) constitui-se atualmente como um dos principais riscos à saúde pública visto que a descoberta de novos fármacos não acompanha a velocidade de surgimento de cepas de microrganismos com capacidade de resistência. As bactérias naturalmente contam com fatores que facilitam o processo de sobrevivência e adaptação aos meios em que estão inseridas, como a mutação e evolução espontânea, bem como a troca de genes de resistência entre esses microrganismos. Aliados a isso, há o uso indiscriminado de antibióticos pela população e ambientes de saúde, somados ao uso excessivo pela indústria agrícola que contribuem de forma relevante no desenvolvimento da RAM.⁽⁴⁻⁷⁾

Algumas bactérias portadoras de genes de resistência têm sido alvo de preocupação no âmbito hospitalar. Dentre elas estão o *S. aureus* resistente à metilina (MRSA). Antes da introdução da penicilina, o número de mortes por infecções bacterianas era muito grande, sendo que aquelas causadas por estafilococos passavam de 80%. Contudo, a utilização da penicilina em larga escala na década de 1940 promoveu o desenvolvimento das primeiras bactérias resistentes à penicilina e, posteriormente, à metilina, após a sua introdução em 1960 como alternativa para essas e outras infecções.⁽⁸⁾

O *S. aureus* apresentando resistência à metilina (MRSA) foi descoberto em 1961 por British Jevons, o qual se dá a partir da aquisição do cassete cromossômico estafilocócico mec (SCCmec) que carrega o gene *mecA*. Esse gene promove a modificação da proteína de ligação à penicilina (PBPs), o que resulta na ineficácia da maioria dos antibióticos beta-lactâmicos. A presença do gene ainda pode conferir à bactéria a capacidade de modificar o alvo de ligação de alguns antibióticos macrolídeos e aminoglicosídeos, bem como, alterar a permeabilidade da membrana e o funcionamento de algumas enzimas.⁽⁹⁾

Desde a sua descoberta, o MRSA tem sido considerado um dos agentes mais importantes no desenvolvimento de

infecções hospitalares e comunitárias em todo o mundo. Mesmo tendo sua prevalência refreada nos últimos anos, essas infecções ainda atingem números acima de 50% na Ásia, em Malta, e nas Américas do Norte e do Sul. As cepas mais relatadas como causa de infecções hospitalares são as SCCmec tipo I, II ou III, responsáveis pelas infecções nosocomiais. As infecções comunitárias são geralmente causadas pelas cepas que carregam os genes leucocidina de Pantón-Valentine (PVL) e SCCmec IV ou V e estão envolvidas principalmente no desenvolvimento de sepse, infecções de pele e tecidos moles, osteomielite e pneumonia necrosante. Apesar de a maioria das cepas serem epidemiologicamente importantes no desenvolvimento de surtos e na prevalência de infecções, apenas a SCCmec IV é mundialmente distribuída.⁽¹⁰⁾

A má higienização das mãos, de superfícies e dispositivos médicos nesses ambientes contribui de forma significativa para a propagação desses microrganismos, seja de forma direta (de profissional para paciente), ou de forma cruzada (de paciente para paciente) tendo como carreador o profissional de saúde. Isso reforça a necessidade de monitoramento mais eficaz dos ambientes de saúde e o uso racional dos antimicrobianos.⁽¹¹⁻¹³⁾

Diante das diversas implicações das IRAS e RAMs para a saúde, a presente pesquisa tem como objetivo analisar a contaminação por bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina, presentes em superfícies inanimadas e equipamentos, em um hospital de pequena e média complexidade no interior do RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo transversal, quantitativo e de caráter descritivo realizado em um hospital de baixa e média complexidade da cidade de Santa Maria – RS. O hospital conta com análises de vigilância ambiental que são realizadas semestralmente. Os dados contidos nesta pesquisa foram gerados por meio da análise de vigilância ambiental do referido hospital no primeiro semestre de 2021.

Foram realizadas as coletas de 99 pontos estratégicos, definidos pelo Comitê de Controle de Infecção Hospitalar, com inclusão das cinco áreas comumente avaliadas nas análises de vigilância ambiental, sendo elas: Clínica médica; Clínica cirúrgica; Centro cirúrgico; Maternidade; Centro obstétrico; Nutrição. Foram incluídos na pesquisa 25 tipos de superfícies/equipamentos manipulados pelos profissionais de saúde durante a assistência, a maioria deles presentes em todas as áreas, como por exemplo: teclado de computador;

maçaneta da porta; pia; bancada de enfermagem; bandeja de medicação; mesa auxiliar de leito. Algumas superfícies/equipamentos coletadas são específicas de cada unidade, como é o caso da bacia de banho (clínica médica); mesa cirúrgica (centro cirúrgico e obstétrico); bolas de parto (maternidade); e bandejas de alimentação (nutrição). Além das superfícies, foi realizada a coleta das mãos de três funcionários de cada unidade, escolhidos aleatoriamente.

As amostras foram coletadas com a utilização de 01 *swab* de algodão estéril umidificado por área selecionada, aplicando fricção nas superfícies em ângulo de 30°, rotacionando o *swab* e rolando o mesmo em todas as direções (vertical, horizontal e diagonal) durante 10 segundos em uma área de aproximadamente 25cm². Antes da passagem do *swab* nas superfícies, o mesmo foi pressionado contra a lateral do tubo de coleta a fim de padronizar o volume de líquido de umidificação utilizado em cada *swab*. Após a coleta, o *swab* foi introduzido num tubo contendo meio de transporte Stuart e transportados até o Laboratório de Microbiologia da Universidade Franciscana (UFN) em caixas de isopor contendo gelo de transporte a fim de manter as propriedades do meio.⁽¹⁴⁾

No laboratório, os *swabs* foram retirados do meio Stuart e acondicionados em tubos falcon de 15mL contendo 5mL de caldo *tryptic soy broth* (TSB) adicionado de polissorbatato (Tween) 80 (0,02%) como agente neutralizante de resíduos de desinfetantes utilizados na rotina hospitalar, como compostos de amônio quaternário, peróxido de hidrogênio, fenóis e hipoclorito de sódio os quais possam inibir o crescimento da microbiota ambiental e/ou as identificações subsequentes.

⁽¹⁴⁾ Após a chegada ao laboratório, inicialmente as amostras sofreram um processo de dissociação mecânica utilizando o vórtex por 30 segundos, com vistas a separar os agregados bacterianos das fibras do *swab*. A seguir, foram incubadas por 24 horas a 35 ± 2°C sob condições aeróbicas em estufa bacteriológica para realização do pré-enriquecimento celular.

Transcorrido este tempo, alíquotas de 10uL de cada amostra foram semeadas em placas de Petri contendo meios de cultura seletivos e diferenciais para a detecção do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) - ágar cromogênico MRSA (Laborclin®). As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C sob condições aeróbicas em estufa bacteriológica e o crescimento examinado por 24 e 48 horas.

Transcorrido o tempo de incubação, o crescimento bacteriano nas placas foram examinados quanto à cor, podendo ser diferenciadas em *S. aureus* (colônias esverdeadas) e *Staphylococcus coagulase* negativo (outras cores), segundo

as orientações do fabricante. Após a análise da coloração, as colônias foram guardadas em tubos contendo TSB e glicerol a -20°C a fim de preservá-las para análises posteriores, como teste de coagulase para a confirmação das espécies em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase* negativos e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco-difusão segundo normas preconizadas pelo manual BrCAST, 2021.⁽¹⁵⁾ Para o crescimento de colônias utilizadas nas análises posteriores foram utilizados caldos de TSB para enriquecimento e, após 24 horas, realizada semeadura em placas de sal manitol. Para a realização do método de disco-difusão foram utilizados os discos de oxacilina 1 µg (OXA) e cefoxitina 30µg (CFO) e como controle de qualidade foram utilizadas as cepas ATCC padrão *Staphylococcus aureus* ATCC 29923.

Para a análise dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Na análise estatística foram utilizadas medidas simples, como distribuição de frequências e percentuais. Os dados mais significativos foram apresentados em tabelas, sendo os resultados expressos em números absolutos e em porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 99 pontos coletados, 50 apresentaram crescimento bacteriano nas placas de meios de cultura seletivos e diferenciais para a detecção do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) - ágar cromogênico MRSA (Laborclin®), como mostrado nas Tabelas 1 e 2.

A classificação do microrganismo em *S. aureus* e SCN foi realizada mediante as análises das características das colônias no meio de culturas seletivos e diferenciais e por meio realização do teste de coagulase, onde apenas uma dentre as 50 amostras apresentou resultado positivo no teste. Sendo a prevalência de *S. aureus* de 2% e SCN de 98% dentre os isolados recuperados.

Segundo Ahmed et al.,⁽¹⁶⁾ os SCN seguidos dos MRSA estão entre os patógenos ambientais mais comuns. Em seu estudo sobre o monitoramento bacteriológico de superfícies, onde pesquisou toda a microbiota de alguns hospitais de uma cidade no Egito, os SCN foram os isolados ambientais mais encontrados, obtendo uma prevalência de 31,9%. Franco⁽¹⁷⁾ encontrou resultado ainda mais similar a este estudo em sua pesquisa sobre *Staphylococcus* spp. em uma unidade de terapia intensiva neonatal em um hospital público da cidade de Dourados/MS. Dos 69 pontos coletados, apenas

1 apresentou crescimento de *Staphylococcus aureus*, tendo, portanto, uma maior prevalência de SCN, principalmente *S. epidermidis* e *S. haemolyticus*. Destaca ainda que os MRSA e os SCN ganham destaque como principais causadores de IRAS, estando envolvidos em casos de foliculite, endocardite, pneumonia, bacteremia, entre outras. São considerados o terceiro patógeno mais associado às IRAS.⁽¹⁷⁾

Apesar de serem bactérias residentes da microbiota humana, Calà et al.⁽¹⁸⁾ enfocam a capacidade dos SCN,

principalmente do *S. epidermidis* em produzir biofilmes, formando uma camada mucoide que os protege da ação do ambiente, garantindo a sua aderência às superfícies. Dessa forma, esses microrganismos sobrevivem em diversos materiais, inclusive dispositivos médicos residenciais, como cateteres, coração, válvulas, enxertos de *bypass* vascular, *shunts* nervosos e implantes protéticos, sendo agravado pela aquisição de genes de resistência por essas espécies, desencadeando sérios problemas para pacientes imunossuprimidos.

Tabela 1

Isolados bacterianos recuperados no presente estudo, distribuídos de acordo com a unidade de isolamento

UNIDADE	ISOLADO	IDENTIFICAÇÃO	CFO	OXA	LOCAL
Clínica médica	MRSA25	SCN	R	R	Estetoscópio
	MRSA24	SCN	R	R	Estetoscópio
	MRSA17	SCN	R	R	Mão de profissional
	MRSA20	SCN	R	R	Teclado de computador
	MRSA16	SCN	R	R	Teclado de computador
	MRSA27	SCN	R	R	Bancada de enfermagem
	MRSA03	SCN	R	R	Bandeja de medicação
	MRSA02	SCN	R	R	Maçaneta da porta
	MRSA12	SCN	R	R	Bomba de infusão
	MRSA13	SCN	R	R	Bomba de dieta
	MRSA01	SCN	R	R	Mesa auxiliar de leito
	MRSA22	SCN	R	R	Mesa auxiliar de leito
	MRSA21	SCN	R	R	Pia da unidade
	MRSA14	SCN	R	R	Mão de profissional
MRSA15	SCN	R	R	Bacia de banho	
Clínica cirúrgica	MRSA04	SCN	R	R	Mão de profissional
	MRSA18	SCN	R	R	Mão de profissional
	MRSA26	SCN	R	R	Bandeja de medicação
	MRSA23	SCN	R	R	Maçaneta da porta
	MRSA09	SCN	R	R	Mesa auxiliar de leito
	MRSA10	SCN	R	R	Mesa auxiliar de leito
Centro cirúrgico	MRSA54	SCN	R	R	Mesa auxiliar de cirurgia
	MRSA55	SCN	R	R	Mão de profissional
	MRSA56	SCN	R	R	Carrinho de anestesia

Tabela 1 - Continuação

UNIDADE	ISOLADO	IDENTIFICAÇÃO	CFO	OXA	LOCAL
Maternidade	MRSA05	SCN	R	R	Bandeja de medicação
	MRSA11	<i>S. aureus</i>	R	R	Mesa auxiliar de leito
	MRSA06	SCN	R	R	Bola de parto
	MRSA07	SCN	R	R	Bola de parto
	MRSA28	SCN	R	R	Aparelho de ultrassom
	MRSA08	SCN	R	R	Pia da unidade
	MRSA19	SCN	R	R	Mesa auxiliar de leito
	MRSA29	SCN	R	R	Maçaneta da porta
Centro obstétrico	MRSA32	SCN	R	R	Leito da sala de recuperação
	MRSA37	SCN	R	R	Maçaneta da porta
	MRSA38	SCN	R	R	Mesa da sala de recuperação
	MRSA33	SCN	R	R	Foco cirúrgico
	MRSA42	SCN	R	R	Berço aquecido
	MRSA31	SCN	R	R	Mesa cirúrgica
Nutrição	MRSA43	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA44	SCN	R	R	Carrinho de alimentação
	MRSA45	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA46	SCN	R	R	Mão de profissional
	MRSA47	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA48	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA49	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA53	SCN	R	R	Carrinho de alimentação
	MRSA50	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA51	SCN	R	R	Mesa de manipulação de alimentos
	MRSA52	SCN	R	R	Bandeja de alimentação
	MRSA61	SCN	R	R	Pia de manipulação de alimentos

Legenda: SCN: *Staphylococcus coagulase* negativo; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; (-): ausência de crescimento. Fonte: Autor.

Tabela 2

Percentual de isolados bacterianos recuperados de acordo com a unidade de isolamento

ÁREAS	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Clínica Médica	15 (15,1)	5 (5,0)	20 (20,1)
Clínica Cirúrgica	6 (6,1)	10 (10,1)	16 (16,2)
Centro Cirúrgico	3 (3,0)	8 (8,1)	11 (11,1)
Maternidade	8 (8,1)	10 (10,1)	18 (18,2)
Centro Obstétrico	6 (6,1)	9 (9,1)	15 (15,2)
Nutrição	13 (13,1)	6 (6,1)	19 (19,2)
TOTAL	50 (51,5)	49 (48,5)	99 (100,0)

Fonte: Autor.

A área com maior número de amostras positivas foi a Clínica médica, seguida da Nutrição, Maternidade, Centro obstétrico e Clínica cirúrgica, sendo a unidade com menor índice de crescimento bacteriano representada pelo Centro cirúrgico, como demonstrado na Tabela 2. Este estudo corrobora com os achados de Chaoui et al.,⁽¹⁹⁾ que encontraram altas taxas de contaminação na unidade médica (95%), contudo, em seu estudo, as taxas nas demais unidades foram similares, incluindo a clínica cirúrgica (90%), diferindo assim do presente estudo, onde foi encontrado menor índice de crescimento bacteriano na referida unidade.

Com relação às superfícies/equipamentos, observa-se que as que entram em contato direto com o paciente, incluindo as mãos dos profissionais (exceto da nutrição), apresentaram um número elevado de contaminação (57,6%), como mostrado na Tabela 3. Dentre essas superfícies estão: estetoscópio; bola de parto; aparelho de ultrassom; incubadora; berço aquecido; mesa cirúrgica; leito da sala de recuperação; bandeja de alimentação e mãos dos profissionais. Destacando que alguns desses objetos são compartilhados com mais de uma unidade, como é o caso das bandejas e carrinhos de alimentação, podendo assim ser passíveis de contaminação cruzada de uma unidade para a outra. Bezerra e colaboradores⁽²⁰⁾ em seu estudo sobre adesão à higienização das mãos, sugerem a relação entre as IRAS e a má higienização das mãos.

Chaoui et al.,⁽¹⁹⁾ em seu estudo sobre a contaminação de superfícies, enfatizam a dificuldade em definir precisamente a origem das IRAS, já que há diversos fatores envolvidos como: a qualidade da técnica de higienização empregada e a qualidade do ar, uma vez que partículas presentes no ar se depositam sobre as superfícies e equipamentos. Contudo, mesmo com as limitações do estudo, o autor destaca a grande influência do ambiente na prevalência das infecções nosocomiais e a importância da higiene das mãos para controle da disseminação de MDR.

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a grande potencialidade de transmissão de MDR através das superfícies e equipamentos utilizados na assistência direta e indireta ao paciente, podendo desempenhar um importante papel na produção das IRAS. A contaminação de um grande percentual de superfícies sugere uma má adesão a boas práticas de higienização das mãos e do ambiente hospitalar. Torna-se necessária a identificação das principais fragilidades técnicas que podem ser possíveis influenciadoras no processo de circulação desses patógenos, facilitando o planejamento e execução de ações de intervenção, contribuindo de forma significativa para a promoção da educação continuada dos profissionais de saúde a fim de garantir a segurança dos pacientes hospitalizados, bem como dos profissionais envolvidos.

Tabela 3

Percentual de isolamento bacteriano de acordo com as superfícies/equipamentos analisados que entram em contato direto com o paciente

SUPERFÍCIES	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Estetoscópio	2 (50,0)	2 (50,0)	4 (100,0)
Bola de parto	2 (100,0)	0 (00,0)	2 (100,0)
Aparelho de ultrassom	1 (100,0)	0 (00,0)	1 (100,0)
Incubadora	1 (100,0)	0 (00,0)	1 (100,0)
Berço aquecido	1 (100,0)	0 (00,0)	1 (100,0)
Mesa cirúrgica	1 (25,0)	3 (75,0)	4 (100,0)
Leito	1 (100,0)	0 (00,0)	1 (100,0)
Bandeja de alimentação	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (100,0)
Mãos de profissionais	4 (44,4)	5 (55,6)	9 (100,0)
TOTAL	19 (57,6)	14 (42,4)	33 (100,0)

Fonte: Autor.

REFERÊNCIAS

- Galvin S, et al. Microbial Monitoring of the Hospital Environment: Why and How? *Journal of Hospital Infection*, v. 82, n. 3, p. 143- 151, 2012.
- Pozzato RS; Parisi MM. Perfil Clínico e Microbiológico dos Casos de Infecção Hospitalar Ocorridos em um Hospital de Médio Porte do Noroeste do Rio Grande do Sul. *Revista RBAC*, v. 3, n. 50, p. 260- 264, 2018.
- Nistal-Nuño B. Uma Rede Neural de Previsão de Riscos de Infecção Nosocomial em Unidades de Cuidado Intensivo: Um Modelo Preliminar Didático. *Einstein*, v. 9, n. 18, 2020.
- Reygaert WC. An Overview of the Antimicrobial Resistance Mechanisms of Bacteria. *AIMS Microbiology*, v. 4, n. 3, p. 482-501, 2018.
- Dadgostar P. Resistência Antimicrobiana: Implicações e Custos. *Infection and Drug Resistance*, v. 12, p. 3903- 3910, 2019.
- Mack I, et al. Antimicrobial Resistance Following Azithromycin Mass Drug Administration: Potential Surveillance Strategies to Assess Public Health Impact. *Clinical Infectious Diseases*, v. 70, n. 7, p. 1501- 1509, 2020.
- Derbie A, et al. Azithromycin Resistant Gonococci: a Literature Review. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, v. 9, n. 138, p. 1- 7, 2020.
- Silva JB; Ribeiro MLC; Barboza CMS. Epidemiologia Molecular de MRSA no Brasil. *Revista Transformar*, v. 13, n. 1, p. 588-606, 2019.
- Mao P, et al. Risk Factors and Clinical Outcomes of Hospital-Acquired MRSA Infections In Chongqing, China. *Infection and Drug Resistance*, v. 12, p. 3709- 3717, 2019.
- Sit PS, et al. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Infection and The Molecular Characteristics of MRSA Bacteraemia Over a Two-year Period in a Tertiary Teaching Hospital in Malaysia. *BMC Infectious Diseases*, v. 17, n. 274, 2017.
- Bordignon JC; Lima LR. Etiologia de Infecções Hospitalares e Perfil de Sensibilidade aos Antimicrobianos em um Hospital do Sudoeste do Paraná, Brasil. *Revista RBAC*, v.3, n. 49, p. 283- 288, 2017.
- Dadashi M, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) in Iran: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, n. 12, p. 96- 103, 2018.
- Gast KB et al. Successful Containment of two Vancomycin-resistant *Enterococcus Faecium* (VRE) Outbreaks in a Dutch Teaching Hospital Using Environmental Sampling and Whole-Genome Sequencing. *Journal of Hospital Infection*, n. 111, p. 132- 139, 2021.
- Chai J, Donnelly T, Wong T, Bryce E. Environmental sampling of hospital surfaces: Assessing methodological quality. *The Canadian journal of infection control: the official journal of the Community & Hospital Infection Control Association-Canada = Revue canadienne de prévention des infections / Association pour la prévention des infections a l'hôpital et dans la communauté-Canada; CHICA-CANADA*. 2018; 33:138-45.
- BrCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2021; Versão BrCAST 15-03-2021
- Ahmed EH, et al. Bacteriological monitoring of inanimate surfaces and equipment in some referral hospitals in Assiut City, Egypt. *Int. J. Microbiol.*, 2019.
- Franco IC. Perfil epidemiológico e caracterização molecular de *Staphylococcus spp* da unidade de terapia intensiva neonatal em um hospital público da cidade de Dourados/MS. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2017.
- Calà et al. Produção de biofilme em cepas de *Staphylococcus epidermidis*, isoladas da pele de pacientes hospitalizados: características genéticas e fenotípicas. *New Microbiologic*, v. 38, p. 521-529, 2015.
- Chaoui L, et al. Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria. *Int. J. Microbiol.*, 2019.
- Bezerra TB, et al. Adherence to hand hygiene in critical sectors: can we go on like this? *J. Clin. Nurs.*, 2020.

O que é *Urbanorum* spp.?

What's *Urbanorum* spp.?

Elenice Messias do Nascimento Gonçalves¹, Dorca Lopes¹, Ana Lucia de Carvalho Avelino¹, Wladimir Ribeiro dos Santos¹, Vera Lucia Pagliusi Castilho¹

¹ HCFMUSP, Divisão de Laboratório Clínico – Parasitologia. São Paulo, SP, Brasil.

Caro Editor,

É fato conhecido e descrito que Francisco Tirado Santamaría, em 2006, apresentou à comunidade científica um novo parasito: *Urbanorum* spp.⁽¹⁾ Embora o encontro das estruturas descritas em diversas amostras fecais examinadas seja rotineiro no Laboratório de Parasitologia da Divisão de Laboratório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, não as consideramos parasito devido ao total desconhecimento de sua classificação científica e de seu ciclo biológico. Em nossas investigações microscópicas percebemos a falta de organelas celulares, tanto em amostras fecais diluídas em salina (exame direto) com e sem lugol, assim como nos métodos que compõem nosso exame parasitológico, a saber: Faust e cols., Lutz (Hoffman, Pons e Janer), Rugai modificado e coloração tricromo. O resultado foi parecido quando estas amostras fecais foram submetidas às colorações de Kinyoun, Gram-Chromotrope e Leishman. Sob microscopia de luz polarizada observamos presença de cruz de Malta.⁽²⁾ Estes achados corroboram com a opinião descrita pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC em “Posicionamento da Sociedade Brasileira de Análises

Clínicas (SBAC) sobre o reporte da estrutura denominada “*Urbanorum* spp.” em amostras de fezes (2021).⁽³⁾

Casualmente, deparamos com imagens semelhantes no livro *Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica Técnica e Interpretação*, 6ª edição, de 1985, com citação da tese do Dr. Joaquim Romeu Cançado, intitulada “A obstrução catarral do cístico”, de 1948, e apresentada em concurso de docente livre de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais.⁽⁴⁾ Resgatamos cópia desta tese, na qual o autor descreve que esta estrutura microscópica nada mais é do que o denominado muco oleaginoso relatado, em 1928, por Lyon e Swalm, responsável pela obstrução catarral do cístico e, em 1943, observou a formação deste muco oleaginoso em uma paciente sem nenhum acometimento do sistema biliar. Há a descrição experimental em que, se uma pequena quantidade de bile recém-coletada for depositada em tubo de ensaio e acrescida de igual volume de ácido clorídrico (HCl 0,1N) se observa, após 15 minutos, uma sedimentação de flocos amarelados, viscosos e felpudos tal qual o muco oleaginoso e que, se submetidos à microscopia, são observadas aglomerações de gotas oleaginosas. O autor chama a atenção para o fato de que o denominado muco oleaginoso

Correspondência

Elenice Messias do Nascimento Gonçalves

E-mail: elenice.goncalves@hc.fm.usp.br

Recebido em 23/08/2022 | Aprovado em 24/10/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202200065

não tem mucina em sua constituição e é decorrente da junção de ácidos biliares naturais da bile (ácido glicólico e ácido taurocólico) resultantes da ação do HCl contido no suco gástrico sobre os sais biliares (glicolato e taurocolato de sódio) próprios da bile. As gotículas de ácidos biliares precipitados entram em coalescência e coram-se de amarelo pela bilirrubina gerando gotas, lagos e lençóis.⁽⁴⁾ Com base nos achados descritos na tese citada, acreditamos que esta estrutura, tão polêmica, nada mais é que o denominado muco oleaginoso produzido pelo organismo humano, que em sua composição não apresenta muco e não é oleaginoso e também não tem significação patológica.

REFERÊNCIAS

1. Santamaría FT. *Urbanorum* spp. Buenas Tareas [Internet]. 2015. [acesso em 03 de Aug 2022]: <http://www.buenastareas.com/ensayos/Urbanorum-Spp/70918639.html>.
2. Castilho VLP, Gonçalves EMN. *Urbanorum* spp.: Um novo parasita ou não? In: *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 52º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial; Centro de Convenções de Florianópolis – CentroSul; Florianópolis – SC, Brasil. 2018.
3. Poloni JAT, Silveira ACO, Martinello F, Anghebem MI, Neufeld PM, Tasca T, Lima LM. Posicionamento da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas sobre o reporte da estrutura denominada *Urbanorum* spp. em amostras de fezes – 2021. *RBAC*. 2021. 53(3): 316-9.
4. Caçado, JR. A obstrução catarral do cístico. Belo Horizonte Tese [Livre docência em Clínica Médica] – Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais:1948.

Relato da emergência de *Pseudomonas aeruginosa* KPC em um hospital de referência terciária

Report of the emergence of *Pseudomonas aeruginosa* KPC in a tertiary referral hospital

Valéria Martins Soares¹

¹ Hospital Júlia Kubitschek (FHEMIG), Setor de Microbiologia/Laboratório. Belo Horizonte, MG, Brasil.

Caro editor,

Pseudomonas aeruginosa é considerada um dos mais importantes patógenos oportunistas Gram negativos, responsável por grande variedade de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), como pneumonias associadas à ventilação mecânica, infecções do trato urinário, bacteremias e infecções em tecidos moles.⁽¹⁾

Em setembro de 2021, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) liberou um alerta de risco chamando atenção para o registro de casos de *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos associada aos genes KPC e NDM nos estados do Paraná e de Santa Catarina, Brasil.⁽¹⁾

O primeiro relato de *Pseudomonas aeruginosa* produtora de KPC ocorreu na Colômbia (KPC-2) em 2007. No Brasil, a primeira descrição aconteceu em fevereiro de 2010, em dois pacientes distintos que estavam internados na unidade de terapia intensiva de um hospital de referência terciária, localizado em Recife, Pernambuco.⁽²⁾

A partir de 2018, conforme recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI),⁽³⁾ o método de inativação de carbapenêmicos modificado (mCIM) passou a ser utilizado na rotina do setor de Microbiologia do Hospital Júlia Kubitschek, sendo complementado pelo

método imunocromatográfico NG-Test CARBA 5 (NG-Biotech Laboratoires) em 2021, para a detecção de carbapenemases em *P. aeruginosa*.

Em abril de 2022, detectamos pela primeira vez uma cepa de *P. aeruginosa* KPC em uma secreção de escara. No mês seguinte, houve nova detecção em aspirado traqueal proveniente de outro paciente. Os dois isolados apresentaram o mesmo perfil de antibiograma, sendo resistentes aos medicamentos amicacina, aztreonam, ceftazidima, cefepima, imipeném, meropeném, piperacilina-tazobactam, sensível aumentando exposição para o ciprofloxacino e sensível a ceftazidima-avibactam, conforme padronização do BrCAST (Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).⁽⁴⁾ As duas cepas apresentaram concentração inibitória mínima superior a 64 mg/L para a polimixina, por meio de microdiluição em placa. Os isolados foram enviados para o laboratório de referência da Fundação Ezequiel Dias (FUNED-MG) para a realização de reação em cadeia da polimerase (PCR) multiplex, havendo a detecção do gene *bla*_{KPC}.

O desenvolvimento de diferentes mecanismos de resistência, muitas vezes disseminados através do mesmo plasmídeo, tem grande impacto clínico, comprometendo a eficácia dos fármacos utilizados, gerando alto custo da terapêutica, aumento do tempo de hospitalização e mortalidade.⁽¹⁾

Correspondência

Valéria Martins Soares

E-mail: valeria-msoares@hotmail.com

Recebido em 14/09/2022 | Aprovado em 14/12/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300070

É interessante notar que nos dois pacientes em que se detectou *P. aeruginosa* KPC também se isolou *Klebsiella pneumoniae* KPC. No paciente no qual a amostra clínica foi escara, foi detectada uma *K. pneumoniae* KPC em urina colhida dois dias antes. Na amostra de aspirado traqueal do segundo paciente, isolou-se também uma *K. pneumoniae* KPC. Estudos relatam que a colonização do trato gastrointestinal com Enterobacterales pode permitir a transferência horizontal de genes e, dessa forma, a disseminação de resistência entre gêneros.⁽⁵⁾

Assim, conforme o alerta de risco da ANVISA, a vigilância laboratorial de *Pseudomonas aeruginosa* deverá ser reforçada em todos os serviços de saúde do país, com especial atenção aos resultados laboratoriais dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos relacionados à *P. aeruginosa* com perfil de resistência a carbapenêmicos identificados. As medidas de prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes deverão ser adotadas imediatamente. Ainda segundo esse comunicado, as *P. aeruginosas* resistentes aos carbapenêmicos e associadas aos genes KPC e NDM são microrganismos multirresistentes considerados de interesse e devem ser notificados ao Sistema Nacional de Vigilância e Monitoramento de Surto Infeciosos em Serviços de Saúde.⁽¹⁾

Além disso, devemos lembrar que pequena parte dos pacientes colonizados irá desenvolver infecção invasiva, porém esses funcionam como reservatórios para transmissão nosocomial. O primeiro relato de *P. aeruginosa* KPC na Europa ocorreu em um paciente que manteve o swab retal positivo por 8 meses, justificando a vigilância em pacientes de alto risco.⁽⁵⁾

REFERÊNCIAS

1. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alerta de Risco GVIMS/GGTES/Anvisa nº01/2021. Identificação de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenêmicos, produtora de KPC e NDM. Brasília (DF); 2021.
2. Jácome PR, Alves LR, Cabral AB, Lopes AC, Maciel MA. First report of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Brazil. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v. 56, p. 4990- 4992, 2012.
3. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – Twenty-Eighth Edition: M100. CLSI, Wayne, PA, USA, 2018.
4. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Tabelas de ponto de corte para interpretação de CIMs e diâmetro de halos. V. 12.0, 2022.
5. Hagemann JB, Pfennigwerth N, Gatermann SG, von Baum H, Essig A. KPC-2 carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* reaching Germany, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.73, n. 7, p. 1812-1914, 2018.



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 informações 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. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. Singapore Med J. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. Intern Med. 2012;51(20):2967-71.
- **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Nov;56(11):5898-906.

- **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.
- **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.
- **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.
- **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.
- **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.
- **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.
- **Carta ao editor:** 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: ____/____/____.

PRO-IN

Programa de Controle Interno da Qualidade do PNCQ



Acesse pelo **QR Code**, na etiqueta dos frascos, as instruções de reconstituição, armazenamento, estabilidade, valores médios e desvio padrão.

AMOSTRAS PARA CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

Confira algumas das amostras disponíveis:

Anti-HBc, Anti-HCV, HBsAg

Anti-HIV 1/2, Anti-HTLV

ASO

BHCG

Bioquímica

Chagas

Coagulograma

COVID-19 - anticorpos (IgG/IgM), antígeno (Ag) e biologia molecular

Fator reumatóide

Gasometria

Hematologia e hemoglobina

Proteína C Reativa (PCR)

Hemoglobina glicada

Pro-calcitonina

Rotavírus

Sífilis VDRL

Toxicologia-voláteis emurina e metais em sangue total, soro e urina

Urinálise e urina avançada

Hormônios

Microalbuminúria

Ferramenta **GRATUITA** para os **laboratórios** que adquirem amostras do **PRO-IN** e auxilia na elaboração e na avaliação de seu controle interno, com:

- Gráfico de Levey Jennings automático;
- Comparação com laboratórios que utilizam mesma metodologia;
- Composição de Valores próprios, com Média, DP e CV;
- Regras de Westgard personalizadas.



Acesse o site e faça seu pedido:
pncq.org.br/grupo_produto/pro-in



PNCQ[®]
Programa Nacional
de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



@pncqoficial



@PNCQoficial



/pncq-oficial



(21) 3172-7100 | 2569-6867



pncq@pncq.org.br



Inscriva-se
pelo site
pncq.org.br