



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 55 - N 04 | Ano 2023

ISSN 2448-3877



CONFIRA A
AGENDA E AS
NOVIDADES
NO CONGRESSO
DESTE ANO

49
CBAC *Natal-RN*

Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
De 16 a 19 de Junho de 2024 - Centro de Convenções



OS CURSOS PRÉ-CONGRESSO
ACONTECERÃO NO **DOMINGO (16/06)**



DE SEGUNDA A QUARTA A PARTIR DAS
9H - ATIVIDADES CIENTÍFICAS E FEIRA
DE NEGÓCIOS



A CERIMÔNIA DE ABERTURA DO
49º CBAC SERÁ **SEGUNDA-FEIRA**
ÀS 19H



NA QUARTA-FEIRA (19/06),
A FEIRA DE NEGÓCIOS VAI ATÉ ÀS 16H



**A FESTA DE CONFRATERNIZAÇÃO SERÁ NA QUARTA-FEIRA
(19/06) A PARTIR DAS 18H30**

ATENÇÃO ASSOCIADO SBAC! CONFIRA AS REGRAS
PARA ADQUIRIR **SUA INSCRIÇÃO GRATUITA**



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

Volume 55 - Número 4 - 2023

Edição online - ISSN 2448-3877

Editor Emérito/Emeritus Editor

Paulo Murillo Neufeld

Editora-chefe/Editor-in-Chief

Mauren Isfer Anghebem

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 Dalpiccoli 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

Fabício 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 - Chile

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

Silvia 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

238 Personagens da História da Saúde XIII: Avicena

Personalities of Health History XIII: Avicenna

Neufeld PM

Artigos de revisão / Review articles

241 A técnica de imunocitoquímica e suas aplicações na pesquisa e diagnóstico laboratorial: revisão integrativa da literatura

The immunocytochemistry technique and its applications in laboratory research and diagnosis: integrative literature review

Vicentim TC, Beretta ALRZ

245 Papanicolau and Bethesda: a review on the evolution of classification in the cytological diagnosis of cervical-vaginal material

Papanicolau e Bethesda: uma revisão sobre a evolução da classificação no diagnóstico citológico do material cérvico-vaginal

Luna JLS, Souza JCO, Queiroz Filho J, Crispim JCO, Dantas DS

254 El rol de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos en pacientes con Covid-19

O papel das armadilhas extracelulares de neutrófilos em pacientes com Covid-19

The role of neutrophil extracellular traps in patients with Covid-19

Garrido FI, Zaror LC, Lara NI, Zúñiga CN

266 Visão sobre o diagnóstico laboratorial e acompanhamento terapêutico da Puberdade Precoce

Vision on laboratory diagnosis and therapeutic monitoring of Early Puberty

Oliveira GI, Hora LT, Silveira AEA

Artigos originais / Original articles

270 Ocorrência de infecção urinária comunitária em pacientes atendidos em laboratório privado em Belém – PA

Occurrence of community urinary tract infection in patients treated at a private laboratory in Belém – PA

Passos LCX, Brito MTFM

276 Saúde dos idosos: pesquisa de sangue oculto nas fezes

Elderly Health: feces hidden blood research

Kuraba TVP

- 282** **Trabalhadores invisíveis? A percepção de servidores de um laboratório de análises clínicas sobre a biossegurança na pandemia**
Invisible workers? The perception of workers of a clinical analysis laboratory for biosecurity during the pandemic
Novais JI, Martinello F

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

Personagens da História da Saúde XIII: Avicena

Personalities of Health History XIII: Avicenna

Paulo Murillo Neufeld, PhD | Editor Emérito da RBAC

Avicena foi um filósofo islâmico e médico da Idade Média oriental com notáveis contribuições em praticamente todas as áreas do saber de sua época. Na medicina, estudou, comentou e revolucionou as obras médicas de antecessores históricos como Hipócrates, Galeno e Aristóteles, entre outros. Como um médico teórico e prático, e com grande rigor científico, estabeleceu as bases para a expansão e o desenvolvimento das ciências médicas, definindo que o objeto material da medicina é o ser humano e determinando os limites entre saúde e doença.

Interessante notar que a história da vida e obra de Avicena é bastante conhecida, inclusive com muitos detalhes, pois ele escreveu uma autobiografia que foi, posteriormente, complementada com material escrito por seus alunos. Além de deixar sua própria biografia, Avicena teve uma produção literária prolífera. Das 450 obras que ele teria escrito, cerca de 240 sobreviveram, incluindo 150 sobre filosofia e 40 sobre medicina. Dentro da área médica, as duas obras mais importantes de Avicena são o *Al Qanun fi al Tibb* ("O Cânon de Medicina") e o *Kitab al Shifa* ("O Livro da Cura"). O primeiro é um dos livros mais famosos da história da medicina. O segundo é uma enciclopédia científica que abrange lógica, ciências naturais, psicologia, geometria, astronomia, aritmética e música.

Abû-'Aly al-Husayn Ibn 'Abdallah Ibn Sînâ conhecido apenas como Ibn Sînâ ou por seu nome latino Avicena nasceu em agosto de 980 em Afsina/ Kharmaitan, uma localidade próxima à cidade de Bukhara, na Transoxiana, na Ásia Central, que integrava, nesse momento, o Império Persa Samânida, hoje atual Uzbequistão. Avicena era filho de Abdallah, nascido na cidade de Balkh e de etnia turca, e que era funcionário da burocracia samânida com funções de governador em uma vila de propriedade real conhecida como Balja, e de Sitara, uma mulher Tadjik de origem persa. Após cinco anos do seu nascimento, nasceu Mahmoud, seu único irmão.

Avicena foi educado por seu pai, cuja casa era um ponto de encontro para homens intelectuais da região. Havia muita discussão em sua casa sobre geometria, filosofia, teologia e até métodos contábeis. Avicena foi uma criança notável, com uma memória e uma capacidade de aprender que surpreenderam os estudiosos que se encontraram na casa de seu pai. Aos dez anos de idade, ele havia memorizado o Alcorão e a maior parte da poesia árabe que havia lido. Quando atingiu a idade de treze anos, ele começou a estudar medicina e, aos dezesseis anos de idade, já dominava bem a matéria médica da época, quando começou a tratar pacientes. Avicena estudou com um vendedor de legumes indiano que também era agrimensor. Foi a partir dele que Avicena conheceu o sistema indiano de cálculo, fazendo uso do zero em seus cálculos matemáticos. Ele também estudou geometria euclidiana, metafísica e lógica aristotélica, doutrina e

Recebido em 08/11/2023 | Aprovado em 20/11/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400169

jurisprudência islâmica, recebendo instruções de alguns dos melhores professores do seu tempo, mas em todas as áreas, continuou seus estudos por conta própria. Em sua autobiografia, enfatiza que ele era mais ou menos autodidata, mas que sempre em momentos cruciais de sua vida, ele recebeu ajuda.

Na verdade, foi sua habilidade em medicina que se mostrou de grande valor para Avicena, pois foi através de sua reputação na área médica que o governante samânida *Nuh ibn Mansur* veio a ouvir falar dele e o contratou como seu médico particular. Depois que Avicena curou *Nuh ibn Mansur* de uma importante doença, como recompensa, ele foi autorizado a usar a Biblioteca Real dos samânidas, o que provou ser fundamental para o seu desenvolvimento em toda a gama de estudos.

Com a saída dos samânidas do poder e a morte de seu pai, a vida de Avicena mudou completamente. Sem o apoio de um patrono e de seu pai, ele começou uma vida errante, vagando por diferentes cidades, atuando como médico e administrador durante o dia, enquanto a noite reunia estudantes ao seu redor para ensinar e discutir filosofia e ciência. Vivendo sem destino certo, muda-se para Jerjan, perto do Mar Cáspio. Nessa cidade, lecionou sobre astronomia e lógica e escreveu a primeira parte do “Cânon da Medicina”. Mais tarde, mudou-se para Al-Rayy, região próxima da atual Teerã, onde trabalhou também como médico. Cerca de 30 livros foram escritos por Avicena durante sua estada nessa cidade. No entanto, novamente, decide mudar, indo para Hamadan, atuando, mais uma vez, na medicina e se tornando depois médico particular e confidente do Emir, sendo, por isso, nomeado Grão-Visir. Em decorrência de questões políticas, com a morte do Emir, Avicena é preso em Hamadan. Na prisão, escreveu vários livros. Após sua libertação, ele foi para Isfahan, passando seus últimos anos servindo ao Emir local. O “Livro da Cura” e o “Cânon de Medicina”, que haviam sido iniciados em Jerjan e Hamadan, foram finalizados em Isfahan. Nessa localidade, ainda escreveu diversas outras obras sobre filosofia, medicina e língua árabe.

Em relação ao “Cânon de Medicina”, o livro médico mais influente já escrito por um médico muçulmano, pode-se considerar que ele representa uma enciclopédia médica composta por uma soma da medicina árabe com suas raízes gregas, modificadas pelas observações pessoais de Avicena. Esse livro foi traduzido para o latim no século XII, tornando-se o livro didático para a educação médica na Europa do século XII ao XVII. Além de várias edições latinas, existe uma escrita em hebraico. O “Cânon” é dividido em cinco livros, incluindo clínica e terapêutica médica com cerca de 760 medicamentos listados.

O “Canon de Medicina” escrito por Avicena inclui: **Livro I: Parte 1:** Os Institutos da Medicina: Definição de medicina, sua tarefa e sua relação com a filosofia. Os elementos, humores e temperamentos. Os órgãos e suas funções. **Parte 2:** Causas e sintomas de doenças. **Parte 3:** Dietética geral e profilaxia. **Parte 4:** Terapêutica Geral. **Livro II:** Sobre os medicamentos simples e suas ações. **Livro III:** As doenças do cérebro, do olho, do ouvido, da garganta e da cavidade oral, dos órgãos respiratórios, do coração, da mama, do estômago, do fígado, do baço, do intestino, dos rins e dos órgãos genitais. **Livro IV: Parte 1:** Sobre febres. **Parte 2:** Sintomas e prognóstico. **Parte 3:** Sobre sedimentos. **Parte 4:** Sobre feridas. **Parte 5:** Sobre deslocamentos. **Parte 6:** Sobre venenos e cosméticos. **Livro V:** Sobre a manipulação de medicamentos.

Em seu “Cânon de Medicina”, Avicena documentou corretamente a anatomia do olho, juntamente com a descrição de condições oftálmicas, como catarata. Afirmou que a tuberculose era contagiosa. Ele descreveu os sintomas do diabetes e fez descrições dos

tipos de paralisia facial. Avicena descreveu vários transtornos psiquiátricos, incluindo o chamado “transtorno do amor”, que ele considerava como um transtorno obsessivo semelhante à depressão grave. Oito capítulos do “Cânon” trataram da neuroanatomia funcional da coluna vertebral, incluindo a estrutura das vértebras e as várias partes da coluna vertebral e sua biomecânica. Ele escreveu ainda sobre medicina perinatal, incluindo banho e alimentação e causas de deformidades.

Avicena morreu em 1037, aos 57 anos, sendo sepultado na cidade de Hamadan. Talvez o mais notável na vida de Avicena seja o fato de que ele continuou a produzir estudos de alta qualidade, apesar de seu estilo caótico, pois vivia na errância, bebia exageradamente vinho, tinha uma vida promíscua, além de ter sido preso em diferentes momentos por envolvimento em políticas de Estado.

BIBLIOGRAFIA

- Amr SS, Tbakhi A. Ibn Sina (Avicenna): The Prince Of Physicians. *Ann Saudi Med.* 2007; 27(2): 134–135.
- Dejo-Bustíos H. A. Avicena, médico filósofo y paradigma de la cultura musulmana. *Revista de La Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 2019; 25(2): 92-97.
- Ferre L. Avicena Hebraico: La Traducción del Canon de Medicina. *MEAH, Sección Hebreo.* 2003; 52:163-182.
- Novás JD, Machado BRG. Avicena: una luz en la larga noche medieval. *Rev Cubana Med. Gen. Integr.* 2005; 21(3-4).
- Ocampo J. Avicena: Médico árabe medioeval. *Anales de la Facultad de Medicina.* 1999; 60(4): 298-303.
- Pérez AJJ, Armenteros CJK, Hernández OLM. Avicena, príncipe de los médicos. Vida, obra y legado para la medicina contemporánea. *Revista Cubana de Medicina.* 2018;57(1):66-79.

A técnica de imunocitoquímica e suas aplicações na pesquisa e diagnóstico laboratorial: revisão integrativa da literatura

The immunocytochemistry technique and its applications in laboratory research and diagnosis: integrative literature review

Thais Campos Vicentim¹, Ana Laura Remédio Zeni Beretta²

¹ Bacharel em Ciências Biológicas, Discente do curso de Especialização em Análises Clínicas - Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto (FHO). Araras, SP, Brasil.

² Doutora em Genética e Biologia Molecular Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Campinas, SP, Brasil. Coordenadora e Docente do Curso de Especialização em Análises Clínicas do Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto de Araras/FHO. Araras, SP, Brasil.

Resumo

Pesquisadores em 1941 investigavam um método pelo qual substâncias antigênicas fossem reveladas em tecidos de mamíferos e desta forma foi desenvolvido o método de fluorescência para identificação de pneumococos em tecidos infectados. Como resultado, muitos estudos se aprofundaram em outras metodologias para esta técnica, usando marcadores enzimáticos e metais pesados, pois havia a necessidade de um método mais sensível e específico. Assim foram exploradas as técnicas imunocitoquímica para fins de pesquisa e diagnóstico laboratorial. No diagnóstico laboratorial, tornou-se fundamental na detecção de carcinoma pulmonar, epidermoide e bexiga urinária. O presente estudo objetivou a revisão da literatura, através de banco de dados nos sites PubMed, LILACS e SciELO para análise e discussão da técnica de imunocitoquímica, sua aplicação na pesquisa científica atual e sua relevância no diagnóstico laboratorial. A imunocitoquímica tem se destacado entre as técnicas utilizadas na pesquisa como uma ferramenta rápida e econômica para detecção de diversos biomarcadores, como exemplo, os casos de evidência de telócitos em modelos animais com aterosclerose e na marcação de inúmeras proteínas. A revisão sugeriu que essas novas técnicas foram introduzidas e tem demonstrado melhores resultados, perfil de segurança e eficácia no diagnóstico laboratorial.

Palavras-chave: Imuno-histoquímica; Diagnóstico; Biomarcadores.

Abstract

Researchers in 1941 investigated a method by which antigenic substances were revealed in mammalian tissues and in this way the fluorescence method for identifying pneumococci in infected tissues was developed. As a result, many studies have delved into other methodologies for this technique, using enzyme markers and heavy metals, as there was a need for a more sensitive and specific method. Thus, immunocytochemical techniques for research and laboratory diagnosis were explored. In the laboratory diagnosis it has become fundamental in the detection of lung, epidermoid and urinary bladder carcinoma. The present study aimed to review the literature, through a database on the websites PubMed, LILACS and SciELO to analyze and discuss the technique of immunocytochemistry, its application in current scientific research and its relevance in laboratory diagnosis. Immunocytochemistry has stood out among the techniques used in research as a fast and economical tool for the detection of several biomarkers, such as the cases of evidence of telocytes in animal models with atherosclerosis and in the marking of numerous proteins. The review suggested that these new techniques were introduced and have shown better results, safety profile and efficacy in laboratory diagnosis.

Keywords: Immunohistochemistry; Diagnosis; Biomarkers.

Correspondência

Thais Campos Vicentim

E-mail: thcvicentim@gmail.com

Recebido em 23/06/2020 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202021

INTRODUÇÃO

Um grupo de pesquisadores analisava uma forma pela qual substâncias antigênicas fossem expressas em tecidos de mamíferos. Em virtude disto desenvolveram uma técnica denominada imunocitoquímica pelo método de fluorescência, com a utilização de derivados de anticorpos de coelhos, que demonstram serem eficazes em conservar as propriedades imunológicas iniciais da reação, favorecendo sua visualização. A ligação do anticorpo com o antígeno tornava-se fluorescente quando a amostra era exposta à luz ultravioleta.⁽¹⁾

Em continuidade, muitos estudos se aprofundaram no aperfeiçoamento desta técnica para potencializar sua precisão diagnóstica e elevar a abrangência de células e tecidos em futuros estudos.

A técnica de imunocitoquímica utiliza a marcação de antígenos (Ag) sendo eles proteínas ou polissacarídeos, em células ou tecidos usando a especificidade ou sensibilidade de um determinado anticorpo (Ac), e esta marcação só será visualizada devido à ligação do anticorpo ao antígeno, condição também chamada de afinidade. Todos os antígenos possuem estruturas químicas chamadas epítopos que irão possibilitar a ligação não covalente à estrutura do anticorpo, os parátomos.^(2,3)

Na sua metodologia, há o uso de um único anticorpo primário ou pode ser em conjunto com um anticorpo secundário, sendo eles monoclonais ou policlonais. Os anticorpos monoclonais possuem como alvo somente um único epítipo do antígeno em questão, o que o torna mais específico. Por outro lado, os anticorpos policlonais são sensíveis, pois tendem a ligar-se a diversos epítopos do antígeno.⁽⁴⁾

A imunocitoquímica pode ser aplicada pelo método direto, em que a amostra é incubada em uma solução contendo o anticorpo primário por um período preestabelecido em protocolo e visualizada com o auxílio de cromógenos de modo mais ágil, mas com pouca amplificação do sinal emitido pela reação. No método indireto, posteriormente à incubação do anticorpo primário, a amostra é incubada em uma solução contendo o anticorpo secundário, que criará um sítio antigênico maior, o qual elevará a amplificação do sinal da reação favorecendo a identificação de antígenos em baixa concentração.⁽⁴⁾

A técnica tornou-se viável em diversas identificações de antígenos na pesquisa e como resultado, na rotina diagnóstica. Houve pesquisadores que utilizaram a imunocitoquímica

para estudar em cães o contágio do vírus da hepatite infecciosa canina (adenovírus tipo 1), utilizando tecidos em diversos estágios da doença, detectando os antígenos marcados com anticorpos com fluoresceína para visualização.⁽⁵⁾

Gradativamente, a imunocitoquímica fez-se indispensável na pesquisa e na rotina de diagnóstico laboratorial, onde estudos declaram a sua importância na identificação de inúmeros carcinomas, como pulmonar, pancreático, bexiga urinária, entre outros.⁽⁶⁾

O presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão da literatura para analisar e discutir a técnica de imunocitoquímica, sua aplicação na pesquisa científica atual e sua relevância no diagnóstico laboratorial.

MATERIAL E MÉTODOS

A produção do conteúdo baseou-se em revisão da literatura científica, com o objetivo de análise e discussão do uso da técnica de imunocitoquímica, tanto na pesquisa científica como no diagnóstico laboratorial. Utilizou-se banco de dados eletrônicos, como preferencialmente periódicos disponíveis pelo National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine (PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e posteriormente Literature in the Health Sciences in Latin America and the Caribbean (LILACS).

O levantamento de dados se processou por meio dos descritores: “immunocytochemistry technique, biomarkers, laboratory diagnosis, research”, e os indexados de interesse foram selecionados entre os anos de 1941 até 2020.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas linhas de pesquisas atuais, a imunocitoquímica é utilizada para identificação da presença de antígenos pela marcação com anticorpos específicos para a amostra que será estudada visando aplicá-la no diagnóstico de forma produtiva.⁽⁶⁾

Em estudos da presença de telócitos em camundongos machos com deficiência do gene *ApoE*^{-/-}, que resulta na alteração da homeostase celular e no desenvolvimento tecidual, além de favorecer a fisiopatologia de doenças, foram utilizadas a imunocitoquímica pelo método indireto e 3,3'-diaminobenzidina (DAB) como cromógeno para identificação dos biomarcadores CD28, CD34, CD117 e PDGFR- α em amostras de rins, fígado e coração. Os telócitos foram negativados para CD28, positivados para CD34 e CD117 e

parcialmente positivos para PDGFR- α no fígado e no coração, porém foram negativados em amostras renais, logo demonstra a relação entre a aterosclerose e hiperlipidemia em deficientes do gene *ApoE*-/-.⁽⁷⁾

Aplicada em outro contexto, a imunocitoquímica juntamente com a DAB possui papel fundamental na marcação da expressão do ligante de morte programada 1 (PD-L1) ao receptor de morte programada 1 (PD-1) que desempenha a função das células tumorais em evitar o sistema imune do paciente, desta forma inibindo a ativação do linfócito T, em amostras de adenocarcinoma e carcinomas de células escamosas do pulmão.^(8,9)

O método indireto é a técnica aplicada com mais regularidade na pesquisa. Por utilizar a incubação de um anticorpo secundário, ela torna-se mais sensível a diversos epítomos, facilitando nas identificações de inúmeras proteínas, mas demandando tempo e empenho por parte dos pesquisadores e profissionais.⁽⁹⁾

Por conta de sua sensibilidade, a imunocitoquímica pode ser executada em diferentes linhas de pesquisa e visando diversos fins. Por exemplo, como referência para marcação de antígenos em organoides de diversas origens, tamanhos e componentes celulares para produzir a renderização em 3D com o software de visualização para as imagens geradas, o que propicia a compreensão das complexidades celulares e reduz a variabilidade na interpretação dos pesquisadores.⁽¹⁰⁾

A modernização das técnicas vem sendo frequentemente aplicada na rotina diária dos laboratórios.⁽¹⁰⁾ Devido à grande demanda de amostras, pesquisadores e citopatologistas necessitam da automação para serem capazes de desempenhar todas suas atividades. A MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*) é um método que torna o extenso processo da imunocitoquímica mais ágil, em que a oncologia pode fazer uso de biomarcadores para serem analisados rapidamente, não somente para diagnóstico, mas também para determinar prognósticos.⁽¹¹⁾

Na rotina laboratorial, a imunocitoquímica possui papel crucial no diagnóstico e prognóstico de diversas patologias, como carcinomas e neoplasias na identificação de agentes infecciosos. Em pacientes saudáveis, a imunocitoquímica se mostra eficaz na marcação de altos níveis das proteínas KRT84 e ARID1A.^(12,13) Em condições não saudáveis, quando os pacientes são diagnosticados com carcinoma pulmonar e urotelial, a expressão destas proteínas diminui conforme aumenta o grau e estágio do tumor, evidenciando que a imunocitoquímica possui papel no diagnóstico e prognóstico, assim como define marcadores preditivos na citologia oncológica.^(9,12,13)

Para aumentar a precisão diagnóstica das amostras de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) em tumores de tecidos moles, a imunocitoquímica foi incluída nas abordagens de identificação por sua capacidade de diagnosticar neoplasias de células pequenas, neoplasia de células fusiformes e histiocitose de células de Langerhans (HCL) positivando seus devidos alvos.⁽¹⁴⁾ A imunomarcação de esfregaços de PAAF é uma forma ágil, efetiva e econômica para inúmeros diagnósticos oncológicos.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Assim como qualquer outra técnica utilizada na pesquisa ou como forma diagnóstica, a imunocitoquímica também possui desvantagens. Um estudo publicado pela Citopatologia do Câncer (*Cancer Cytopathology*), no qual se afirma que os citopatologistas, ao analisarem amostras, como por exemplo, de fluidos corporais, que possuíam maiores níveis do uso da imunocitoquímica como técnica primária obtiveram altas porcentagens de diagnósticos finais indete, diferentemente dos citopatologistas que a aplicavam somente como uma técnica confirmatória do diagnóstico já obtido por outro método.⁽¹⁷⁾

Outro estudo investigou se tecidos de amígdalas palatinas e de adenoides poderiam ser locais de replicação e fontes de partículas virais viáveis removidas de crianças com hipertrofia tonsilar. A citometria de fluxo em conjunto com a imunocitoquímica de seções destes tecidos embebidas em parafina indicaram que linfócitos CD20+ B, TCD8+ e as células CD11c+ são passíveis à infecção por vírus Influenza A e os dados indicam que os tecidos não somente abrigam a expressão de proteínas, mas também abrigam o vírus infeccioso ativo.⁽¹⁸⁾

Assim como na detecção do vírus influenza A,⁽¹⁸⁾ foi possível detectar, com a utilização da imunocitoquímica, o betacoronavírus MERS-CoV em tecidos fixados em formalina dos cornetos nasais de alpacas infectadas. Com a utilização de anticorpos monoclonais humanos, designados 1.2g5, 1.10f3 e 1.6c7, demonstraram serem eficazes em identificar o antígeno MERS-CoV, com melhores resultados em marcações imunológicas de anticorpos em menores diluições (1:5).⁽¹⁹⁾

Em um novo estudo foi possível identificação de três anticorpos policlonais de coelho para as espículas do SARS-CoV-2, um anticorpo monoclonal de coelho e um de camundongo e um anticorpo policlonal de coelho para uma proteína nucleocapsídica para diagnóstico de SARS-CoV-2 por meio da imunocitoquímica juntamente com a imunofluorescência em tecidos de humanos e animais infectados fixados em parafina. Estes ensaios podem apressar os estudos sobre a patogenicidade do Covid-19 em humanos futuramente.⁽²⁰⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme demonstrado, os resultados exibidos no presente estudo nos revelou que a técnica de imunocitoquímica exerce um papel ativo e crucial nos laboratórios de pesquisa e diagnóstico em diversos setores. Aplicada preferencialmente em conjunto com um segundo método, a imunocitoquímica pode ajudar a corroborar com o resultado, propor um diagnóstico inicial e determinar um prognóstico, demonstrando seu papel confirmatório.

Trata-se de uma técnica ágil e econômica que demanda atenção e cautela para se evitar erros pré-analíticos e analíticos. O estudo sugere que os métodos imunocitoquímicos vêm passando por aperfeiçoamentos para que se obtenha maior especificidade e uma localização cada vez mais precisa das macromoléculas pesquisadas, capaz de contribuir para futuros entendimentos científicos.

REFERÊNCIAS

- Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Experimental Biology and Medicine*. 1941. Acesso em: 11 Mar 2020. Disponível em: <http://ebm.sagepub.com/content/47/2/200>. doi: 10.3181/00379727-47-13084P.
- Muro LFF, Ferreira LL, Gonzaga PAL, Pereira REP. Relação Antígeno-Anticorpo. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. 2009; 12.
- Carvalho HF, Recco-Pimentel SM. *A Célula*. 4 ed. São Paulo: Manole; 2019.
- Magaki S, Hojat AS, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019; 1897: 289-298. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_25.
- Coffin DI, Coons AH, Cabasso VJ. A histological study of infectious canine hepatitis by means of fluorescent antibody. *The Journal of Experimental Medicine*. 1953; 98 (1): 13-20.
- Skoog L, Tani E. Immunocytochemistry: an indispensable technique in routine cytology. *Cytopathology*. 2011; 22: 215-229. doi: 10.1111/j.1365-2303.2011.00887.
- Xu Y, Tian H, Cheng J, Liang S, Li T, Liu J. Immunohistochemical Biomarkers and Distribution of Telocytes in ApoE^{-/-} Mice. *Cell Biology International*. 2019, 43: 1286-1295. doi: 10.1002/cbin.11128.
- Humphries MP, McQuaid S, Craig SG, Bingham V, Maxwell P, Maurya M et al. Critical Appraisal of Programmed Death Ligand 1 Reflex Diagnostic Testings: Current Standards and Future Opportunities. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018; 14(1): 45-53. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.09.025>.
- Metovic J, Righi L, Delsedime L, Volante M, Papotti M. Role of Immunocytochemistry in the Cytological Diagnosis of Pulmonary Tumors. *Acta Cytol*. 2020; 64: 16-29. doi: 10.1159/000496030.
- Dekkers JF, Alieva M, Wellens LM, Ariese HCR, Jamieson PR, Vonk AM et al. High-resolution 3D imaging of fixed and cleared organoids. *Nature Protocols*. 2019; 14: 1756-1771. doi: <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0160-8>
- Ahmed M, Broeckx G, Baggerman G, Schildermans K, Pauwels P, Craenenbroeck AHV et al. Next-generation protein analysis in the pathology department. *Journal of Clinical Pathology*. 2019; 0: 1-6. doi: 10.1136/jclinpath-2019-205864.
- Dugas SG, Muller DC, Magnen CL, Federer-Gsponer J, Seifert HH, Ruiz C et al. Immunocytochemistry for ARID1A as a Potential Biomarker in Urine Cytology of Bladder Cancer. *Cancer Cytopathol*. 2019; 0: 1-8. doi: 10.1002/cncy.22167.
- Liu Y, Li R, Ren G. KRT84 is a potential tumor suppressor and good prognosis signature of oral squamous cell carcinoma. *Biosci Rep*. 2020; 40 (4). doi: 10.1042/BSR20200187.
- Layfield LJ. Soft tissue tumor diagnosis: A three prong approach utilizing pattern analysis, immunocytochemistry, and molecular diagnostics. *Diagnostic Cytopathology*. 2019; 1-20. doi: 10.1002/dc.24355.
- Nakra T, Roy M, Yadav R, Agarwala S, Jassim M, Khanna G et al. Cytomorphology of Hepatoblastoma With Histological Correlation and Role of SALL4 Immunocytochemistry in Its Diagnosis, Subtyping, and Prognostication. *Cancer Cytopathol*. 2019; 0:1-11. doi: 10.1002/cncy.22231.
- Lai C, Pan C, Tsay S. Contribution of Immunocytochemistry in Routine Diagnostic Cytology. *Diagnostic Cytopathology*. 1996; 14 (3): 21-225. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0339\(199604\)14:3<221::AID-DC5>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0339(199604)14:3<221::AID-DC5>3.0.CO;2-K).
- Alshaikh S, Lapadat R, Atieh MK, Mehrotra S, Barkan GA, Wojcik EM. The Utilization and Utility of Immunostains in Body Fluid Cytology. *Cancer Cytopathology*. 2020; 0: 1-8. doi: 10.1002/cncy.22256
- Castro IA, Jorge DMM, Ferreri LM, Martins RB, Pontelli MC, Jesus BLS et al. Silent infection of B and CD8+T lymphocytes by influenza A virus in children with tonsillar hypertrophy. *Journal of Virology*. 2020; 94 (9). doi:10.1128/JVI.01969-19.
- Haverkamp AK, Bosch BJ, Spitzbarth I, Lehmecker A, Te N, Bensaid A et al. Detection of MERS-CoV antigen on formalin-fixed paraffin-embedded nasal tissue of alpaca by immunohistochemistry using human monoclonal antibodies directed against different epitopes of the spike protein. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2019; 218: 109939. doi: 10.1016/j.vetimm.2019.109939.
- Liu J, Babka AM, Kearney BJ, Radoshitzky SR, Kuhn JH, Zeng X. Molecular detection of SARS-CoV-2 in formalin fixed paraffin embedded specimens. *JCI insight*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.139042>.

Papanicolau and Bethesda: a review on the evolution of classification in the cytological diagnosis of cervical-vaginal material

Papanicolau e Bethesda: uma revisão sobre a evolução da classificação no diagnóstico citológico do material cérvico-vaginal

João Lucas Silva de Luna¹, Jayanne Clysse Oliveira de Souza², José Queiroz Filho³, Janaína Cristiana de Oliveira Crispim⁴, Deyse de Souza Dantas⁵

¹ Farmacêutico Oncológico – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, Brasil.

² Farmacêutica – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, Brasil.

³ Doutor em Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, Brasil.

⁴ PhD – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, Brasil.

⁵ Doutorado em Biologia Funcional e Molecular – Universidade Federal do Amapá/Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, Brasil.

Abstract

Introduction: cytology is essential for the diagnosis of cervical cancer. The first classification created was the Papanicolaou exam described in Roman numerals from I to V. Due to the limitations of this classification, Reagan attributed the term dysplasia. Then, Richart's classification included cervical intraepithelial neoplasia. To classify this amount of classifications, it was necessary to create a single classification. Thus, a Bethesda classification emerged in 1988 and was last updated in 2014. *Objective:* To analyze the evolution of the cytological classification of Pap smear reports for the Bethesda System. *Materials and methods:* A literature review on the evolution of the Bethesda classification was performed using the PubMed and SciELO databases. *Results:* 185 articles were found collected in these databases, of which 149 were excluded for dealing with related subjects and 15 were included for bibliographic review. *Discussion:* The Bethesda System was revised in several years to evaluate nomenclature in clinical practice and to include and exclude terms that were controversial and hindered the understanding between the different professionals involved. *Conclusion:* The Bethesda System created a uniform classification used worldwide, contributing to the reduction of diagnostic variability.

Keywords: Cervix Uteri; Cytodiagnosis; Cervix Neoplasms Prevention.

Resumo

Introdução: a citologia é fundamental para o diagnóstico do câncer do colo do útero. A primeira classificação criada foi o exame de Papanicolaou descrito em algarismos romanos de I a V. Devido às limitações dessa classificação foi introduzido por Reagan o termo displasia. Em seguida, a classificação de Richart incluiu neoplasia intraepitelial cervical. Considerando essa quantidade de classificações, foi necessária a criação de uma classificação única. Assim, a classificação de Bethesda surgiu em 1988 e foi atualizada pela última vez em 2014. *Objetivo:* Analisar a evolução da classificação citológica dos laudos cérvico-vaginais do Papanicolau para o Sistema Bethesda. *Materiais e métodos:* Foi realizada uma revisão da literatura sobre a evolução da classificação Bethesda por meio das bases de dados PubMed e SciELO. *Resultados:* Foram encontrados 185 artigos coletados nessas bases de dados, dos quais 149 foram excluídos por tratarem de assuntos relacionados e 15 foram incluídos para revisão bibliográfica. *Discussão:* O Sistema Bethesda foi revisado em vários anos para avaliação de nomenclatura na prática clínica e inclusão e exclusão de termos que eram controversos e dificultavam o entendimento entre os diferentes profissionais envolvidos. *Conclusão:* O Sistema Bethesda criou uma classificação uniforme utilizada mundialmente, contribuindo para a diminuição da variabilidade diagnóstica.

Palavras-chave: Colo do Útero; Citodiagnóstico; Neoplasias do Colo do Útero.

Correspondência

João Lucas Silva de Luna

E-mail: jlucasluna07@gmail.com

Recebido em 16/03/2021

Aprovado em 10/03/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202202125

INTRODUCTION

Cervico-vaginal cytology is a fundamental tool in screening for cervical cancer and its precursor lesions. Since the introduction of the cytological examination, several classifications have been proposed. Initially, the Papanicolau classification was proposed, described in Roman numerals from I to V, which classified the clinical findings according to the probability of being cancer or not. The Papanicolau classification separated lesions with the same potential for evolution to invasive carcinoma in different categories. From this limitation, the term dysplasia (graduated in mild, moderate and severe dysplasia) was included in 1953, by Reagan for lesions with lower oncogenic risk compared to carcinoma in situ.⁽¹⁾

In 1969, a study was carried out by Richard and Barron demonstrating that untreated dysplasias had a high probability of progressing to carcinoma in situ, so they should not be classified in different degrees. Then, another classification was proposed to refer to the term dysplasia; the term CIN (cervical intraepithelial neoplasia) has been divided into three categories: CIN I (mild neoplasia), CIN II (moderate neoplasia) and CIN III (severe neoplasia or carcinoma in situ).⁽²⁾

With the various classifications for the release of cytopathological reports, there was no uniform standardization with regard to their release, each laboratory released in the way that best suited it, which generated a variability in the classifications used.

Due to this great variability in the findings of cervical cytology, there was an increasing need for standardization of these results, in order to solve what became known as “diagnostic chaos” in cytology. With that, in 1988, more precisely in December, in the Bethesda region, located in the US state of Maryland, a meeting with a multidisciplinary group of professionals specialized in the area of clinical

cytology resulted in the creation of the Bethesda System or classification of Bethesda.⁽³⁾ The evolution of the Pap smear classification to Bethesda is described in Table 1.

The objective of the Bethesda System (TBS) was to establish a terminology that would provide clear limits for reducing variability among professionals, always in an attempt to improve the cyto-histological correlation. In the end it resulted in three principles that guide it until today. The first principle is that the terminology should communicate information that is clinically relevant to the health care of patients. The second principle is that the terminology should be uniform and reasonably reproducible by different pathologists and laboratories; present flexibility to be adapted to a wide variety of laboratories and geographic locations. The last, not least, principle is that the terminology needs to express the most current understanding of cervical neoplasia.⁽³⁾

According to these principles, even in 1988, TBS introduced a new terminology to report scaly intraepithelial lesions associated with the HPV cytopathic effect (SIL), divided into two categories, low and high grade, portraying different evolutionary potentials of these injuries. Low-grade cellular changes (LSIL) are lesions previously classified as NIC I. And high-grade cellular changes (HSIL) were previously classified as moderate dysplasia, severe dysplasia, carcinoma in situ, NIC II and NIC III. Thus, by classifying the lesions into only two LSIL and HSIL categories, it would result in less variability among observers, minimizing possible disagreement.⁽¹⁾ It is noteworthy that the classification of NIC is used until today in the field of pathological histology.

The TBS also included, in 1988, a term to standardize cytological changes that expressed doubts in cytologists and had indefinite characterization, insufficiently for a definitive interpretation. Resulting in the origin of the terms ASCUS (atypical squamous cells of undetermined meaning) and AGUS (atypical glandular cells of undetermined meaning).

Table 1

Evolution of Papanicolau cytological nomenclatures in Bethesda.

Papanicolau	Reagan	Richart	Bethesda System 1988 -1991	Bethesda System 2001 - 2014
Class I	Normal	Normal	Within normal limits	Negative for intraepithelial lesions or malignancy
Class II	Atypia	Atypia	ASCUS/AGUS	ASC-US/ASC-H
Class III	Mild dysplasia	NIC I	LSIL	LSIL
Class IV	Moderate, severe dysplasia or carcinoma in situ	NIC II ou NIC III	HSIL	HSIL
Class V	Invasive carcinoma	Invasive carcinoma	Invasive carcinoma	Invasive carcinoma

Therefore, for both categories of indeterminate cytological findings, a better clinical investigation is recommended, and should not be used as synonyms for terms such as atypia, benign atypia, inflammatory or reactive changes.⁽⁴⁾

In April 1991, three years after the initial publication of the Bethesda System, a second workshop was held to monitor and evaluate the use of this system in practice, with the aim of promoting improvements. To critically evaluate TBS, the workshop was attended by specialists from cytopathology and gynecology, who shared their clinical experiences in the practice of TBS. One of the main issues identified by the participants was the lack of uniform morphological criteria that designated specific terms of the TBS such as ASCUS. In 1994, the first Bethesda Atlas, also known as the "blue book", was published, containing criteria, photographs and explanatory notes for all types of diagnosis, including ASCUS.⁽⁵⁾

A third meeting was held in 2001, for updates based on changes in practice and advances in science and technology. In this meeting, the exclusion of the term ASCUS was suggested by the minority of participants, who considered the nomenclature confusing. However, the elimination of ASCUS was not accepted, as it was considered essential since light microscopy has its limitations and it is not always possible to perform a definitive interpretation. In addition, the elimination of ASCUS could result in an increase in LSIL reporting and a decrease in HSIL, which did not contribute to cancer prevention.⁽⁶⁾

Instead, the term was differentiated into two categories: ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) and ASC-H (atypical squamous cells that cannot exclude HSIL). The term AGUS was eliminated because the management of patients with glandular abnormalities has a great distinction, depending on the type of cell, in addition, the differentiation between endocervical and endometrial abnormalities must be recognized. Thus, the term ASC should be used in cases where the origin, both scaly and glandular, cannot be determined.⁽⁶⁾

That same year, they also had significant updates, such as the recommendation to use the terms "interpretation" or "result" instead of "diagnosis" for inclusion in the report of cervical cytology, because it is a screening test. The elimination of the "satisfactory, but limited by" statement for the Pap smear was, from then on, considered satisfactory or unsatisfactory for evaluation, and not classified as limited.⁽⁷⁾

TBS 2001 also suggested the removal of the expression "infection" and "reactive" which were secondarily called

"organisms" and "other discoveries" respectively, in all cases that did not present epithelial abnormalities. In the same way that all negative results found in the Pap smear started to be reported under the interpretation of "negative for intraepithelial lesion or malignancy," or "NILM". TBS 2001, published the 2nd edition of the Bethesda atlas, with criteria for poor interpretation further information, explanatory notes and even new technologies such as liquid cytology, automation, computer-assisted imaging and tests for the detection of the HPV virus (human papilloma virus).⁽⁸⁾

The 2014 Bethesda System update brought few modifications to the terminology itself. Its most important change was regarding the notification of benign-looking endometrial cells, which is considered a normal finding during the woman's proliferative phase, but which in postmenopausal women is considered abnormal, as it increases the sensitivity of a cancer of the endometrium. And after a literary review, the consensus was reached that it should be reported only in post-menopausal women or aged ≥ 45 years (when the information about the woman's menstrual phase is unknown by the laboratory), instead of ≥ 40 years as indicated by the TBS in 2001.⁽⁸⁾

The main objective of this work was to analyze the evolution of cytological classifications of cervical-vaginal reports since the appearance of the Papanicolaou classification to the Bethesda System, clarifying the evolution of the Bethesda system from the first edition of 1988 to the last edition, of 2014.

METHODS

This is a bibliographic review article on the evolution of Bethesda's nomenclature in cervical vaginal material. The bibliographic survey of publications was carried out between February and May 2018. The online databases were used as a search tool: US National Library of Medicine (PubMed) and Scientific Electronic Library Online (SciELO), where scientific articles applicable to the proposed theme were selected.

For the search the following descriptors were used: "Bethesda" and "Terminology" and "Cytopathology" and "Cervical cytology". The research took place in a broad way, in order to contemplate articles that reported on nomenclature in cervical vaginal cytology. Therefore, those who did not match the context of vaginal cervical cytology were excluded. Literature review articles were also excluded.

RESULTS

The research carried out resulted in a total of 185 scientific articles, collected by PubMed and SciELO. After analyzing the titles and abstracts, 27 articles were selected in PubMed and 8 articles in SciELO. Of the 185 articles found, 149 were excluded from the selection, as among several factors they dealt with related subjects, but which escaped the main focus of the work. The causes of exclusion are described below. (Figure 1)

The Bethesda System has gained wide acceptance by professionals in the field, and today this classification is the most used worldwide. Although it was developed mainly for cervical cytology, it served as a model for the development of other standardized notification systems in cytology and histopathology, such as the use of terminology in anogenital, vagina, thyroid samples, among others. The implementation of standardized terminology schemes facilitates the management of the cytopathologist to provide a more comprehensive report, in addition to reducing interobserver variability in the interpretation of results.

After reading in full, 14 articles were selected that met the inclusion criteria. And they are described in more detail in Table 2.

DISCUSSION/CONCLUSION

The Bethesda System has gained wide acceptance by professionals in the field. Currently it is configured as being the most used classification worldwide. All of its evolution, from creation in 1988 to the last update in 2014, are described in Table 3. Although TBS was developed mainly for cervical cytology, it also served as a model for the development of other standardized notification systems in cytology and histopathology, such as the use of terminology in samples of the vagina, anus, thyroid, among others. The implementation of standardized terminology schemes facilitates the management of the cytopathologist to provide a more comprehensive and clear report, in addition to decreasing interobserver variability in the interpretation of results.⁽⁸⁾

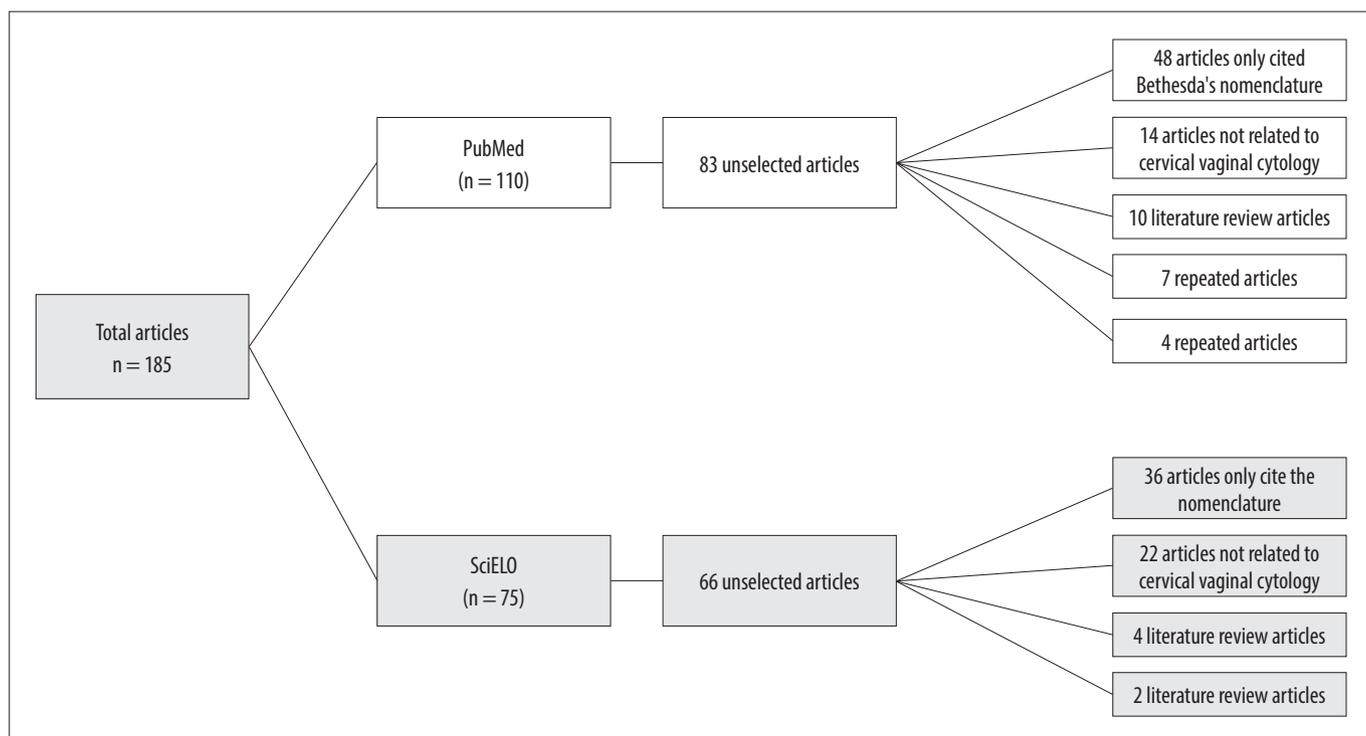


Figure 1

Flowchart of the articles found in the research according to the descriptors, and discarded after reading the title and abstract.

Table 2

Characterization of the articles included in this review.

Title of the article	Authors	Study objectives	Main Results / Conclusions
The Bethesda 2001 system: updated terminology and application	Crothers ⁽⁷⁾ (2005)	Highlight the main updates of TBS 2001 and its application in clinical practice.	The majority of respondents (80.9% of 576) used a term that was not part of the Bethesda 2001 System to report low-grade squamous intraepithelial lesion, and cannot exclude a degree of squamous intraepithelial lesion (LSIL-H).
Bethesda's system for reporting cervical cytology: a historical perspective	Nayar e Wilbur ⁽⁵⁾ (2017)	Clearly describe the Bethesda system from 1988 to 2014.	The success of TBS is based on solid principles that were instrumental in adopting and implementing it as a standardized notification terminology for cervical cytology.
Evaluation of Oncotic Colpocytology Blades Previously Diagnosed as ASCUS: Inter assay and interobserver comparison	Souza et al. ⁽⁹⁾ (2004)	To assess the existence of intra- and inter-cytopathological disagreement in the analysis of oncotic colpocytology slides that had previously been diagnosed with ASCUS and the degree of that disagreement.	Very distant degrees of agreement were observed between different analyzes by the same cytopathologist. Confirming the existence of subjectivity in ASCUS cytopathological reports.
Application fees and Bethesda 2001 reports	Davey et al. ⁽⁸⁾ (2004)	Analyze current laboratory reporting practices using Bethesda 2001 terminology and compare the results with data from previous 1996 research.	Of the 759 laboratories that answered the questionnaire, 85.5% had implemented Bethesda 2001 terminology, adopting important changes. New criteria and methods.
Effect of Bethesda 2001 on the ASC Report with Special Emphasis on Atypical Squamous Cells - Not Discarding High Grade (ASC-H)	Simsir et al. ⁽¹⁰⁾ (2005)	Compare the overall ASC rate and results for women with different categories of ASC before and after TBS 2001, to assess the impact of TBS 2001.	It has been confirmed that the consistent application of TBS 2001 for ASC reduces the ASC rate and better identifies women with high-risk injuries.
Impact of ASC-H terminology on HSIL detection in unattended Californian women	Howell et al. ⁽¹¹⁾ (2008)	Determine whether this new terminology has made it easier to detect the most serious problems.	Thirteen percent of ASC-H showed CIN-III/CIS. The introduction of the term ASC-H was able to distinguish equivocal lesions that are more likely to represent serious injuries, such as NICII/III/carcinoma in situ
The Papanicolau and Bethesda 2014	Nayar e Wilbur ⁽³⁾ (2015)	Highlight the main processes and the reason for the TBS update in 2014.	Pap test, still have useful around the world. Due to its greater specificity compared to the HPV test, which will be important as a diagnostic screening tool after a positive HPV test.
The Bethesda System 2001: an update of new terminologies for gynecological cytology	Henry ⁽⁶⁾ (2003)	Clarify Bethesda System updates 2001	Explanations for the rapid acceptance of TBS are many, one of the main reasons is certainly the solid and thoughtful basis of all elements of TBS.
The impact of LSIL-H terminology on patient follow-up patterns: a comparison with LSHIL and ASC-H	Thrall et al. ⁽¹²⁾ (2013)	Study of a category not recognized by the Bethesda System, but which is commonly used, LSIL - H is a merger of the official LSIL and ASC-H categories	Although the clinical utility of the combined category is unclear, the research found a rate of discovery of high-grade dysplasia in biopsies higher for LSIL-H than LSIL and similar to ASC-H.
Impact of the More Restrictive Definition of Atypical Squamous Cells Introduced by the 2001 Bethesda System on the Sensitivity and Specificity of the Pap Test	Thrall et al. ⁽¹³⁾ (2008)	Evaluate the effect of eliminating ASCUS terminology - reactive factor and the sensitivity and specificity of this change in the Pap test.	By consensus of 4 observers, 32% of ASCUS cases were downgraded to NILM. The ASCUS threshold established by Bethesda 2001 prevents a considerable number of women from being monitored for ASC.
Notification fees from the Bethesda System for conventional Pap tests and liquid-based cytology tests in a large Chinese independent pathological medicine laboratory	Zheng et al. ⁽¹⁴⁾ (2015)	Document and analyze the reported rates of the Bethesda system for conventional Pap tests and liquid-based cytology between 2007 and 2012 at China's largest College of American Pathologists.	Reported abnormality rates were significantly higher in liquid-based cytology than in conventional Pap smear.

Table 2 - continuation

Title of the article	Authors	Study objectives	Main Results / Conclusions
ASC: SIL relationship after the implementation of the 2001 Bethesda System	Quddus et al. ⁽¹⁵⁾ (2004)	Compare the and the relationship between squamous intraepithelial lesions (ASC: SIL) before and after the implementation of TBS 2001, to see if there was an increase in ASC rates and ASC: SIL ratio.	Unsatisfactory sample rates and ASC remained unchanged. The 2001 TBS did not affect the ASC: SIL ratio or the abnormal detection rates of the Pap test.
The 2001 Bethesda System	Solomon et al. ⁽¹⁶⁾ (2002)	Report the history and main modifications of the Bethesda 20001 System.	The terminology of the 2001 Bethesda System reflects important advances in the biological understanding of cervical neoplasia.
Trends in cervical cytology screening and reporting practices	Crothers et al. ⁽¹⁷⁾ (2015)	Provide a cross-sectional study of gynecological cytology practices in 2010 through a questionnaire sent to participating laboratories at the College American of Pathologists.	After answering a questionnaire, 39% of the laboratories use a non-standard term of low-grade squamous intraepithelial lesion, not excluding squamous intraepithelial lesion, LSIL - H.

Table 3

Main characteristics of the evolution of the Bethesda nomenclature from 1988 to 2014.

	TBS 1988	TBS 1991	TBS 2001	TBS 2014
SAMPLE TYPE	Cervical or vaginal	Cervical or vaginal	Conventional smear, liquid foundation or other	Conventional smear, liquid foundation or other
SAMPLE SUITABILITY	<ul style="list-style-type: none"> • Satisfactory for interpretation • Less than great • Unsatisfactory 	<ul style="list-style-type: none"> • Satisfactory for evaluation • Satisfactory for evaluation limited by (specify reason) • Unsatisfactory for evaluation (specify reason) 	<ul style="list-style-type: none"> • Satisfactory for evaluation (describe the presence of the endocervical / ZT component, blood, inflammation) • Unsatisfactory for evaluation (specify reason) 	<ul style="list-style-type: none"> • Satisfactory for evaluation (describe the presence of the endocervical / ZT component, blood, inflammation) • Unsatisfactory for evaluation (specify reason)
GENERAL CATEGORIZATION (optional)	<ul style="list-style-type: none"> • Within normal limits • Others: see descriptive diagnosis; • recommended additional action 	<ul style="list-style-type: none"> • Within normal limits • Benign cellular changes • Abnormality of epithelial cells 	<ul style="list-style-type: none"> • Negative for intraepithelial injury or malignancy • Others: It is recommended to see endometrial cell results in women \geq 40 years old • Abnormal epithelial cells (specify whether in squamous or glandular cells) 	<ul style="list-style-type: none"> • Negative for intraepithelial injury or malignancy • Others: It is recommended to see endometrial cell results in women \geq 45 years old

Table 3 - continuation

	TBS 1988	TBS 1991	TBS 2001	TBS 2014
DESCRIPTIVE DIAGNOSIS (1988 - 1991) INTERPRETATION / RESULT (2001 - 2014)	<p>DESCRIPTIVE DIAGNOSIS IINFECTION Fungi, bacteria, protozoa, viruses, other (Note: if HPV refers to epithelial squamous cell abnormalities)</p> <p>REACTIVE AND REPARATIVE CHANGES Inflammation: - Associated with cellular changes, follicular cervicitis. - Miscellaneous (patient history) - Effects of therapy, radiation, chemotherapy, IUD, Others</p> <p>Abnormalities of epithelial cells <u>SQUAMOUS CELLS</u> Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) (follow-up or further investigation recommended) Squamous intraepithelial lesion (SIL) Low-grade scaly lesion (LSIL) Covering: changes associated with HPV / mild dysplasia / CIN I High-grade scaly lesion (HSIL) Covering: moderate dysplasia CIN II / severe CIN III / carcinoma in situ CIN III</p> <p><u>SQUAMOUS CELL CARCINOMA</u> <u>GLANDULAR CELLS</u> Report the presence of endometrial cells in the following circumstances: woman is not menstruating, post menopause, no history of menstruation Atypical gland cells of undetermined significance (AGUS) Endometrial, endocervical, unspecified Adenocarcinoma Specify probable place of origin: endocervical, endometrial, extrauterine Not specified</p> <p>NON-EPITHELIAL MALIGNANT NEOPLASIA (to specify) HORMONAL EVALUATION (applied to vaginal smears only) - Hormonal pattern compatible with age and history - Hormonal pattern incompatible with age and history (specify) - Hormonal evaluation is not possible: Cervical sample, inflammation, insufficient patient history</p>	<p>DESCRIPTIVE DIAGNOSIS BENIGN CELL CHANGES Infection: - T. Vaginalis - Fungal organisms morphologically consistent with Cândida spp. - Cellular changes with Herpes simplex vírus Reactive changes Reactive cellular changes associated with: Inflammation, atrophy with inflammation, radiation, IUD, others.</p> <p>Epithelial cell abnormalities</p> <p><u>SQUAMOUS CELLS</u> Atypical epithelial cells of undetermined significance (ASC-US) Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) Covering: HPV / mild dysplasia / CIN I High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) Covering: Moderate dysplasia / severe dysplasia and carcinoma in situ / CIN II AND CIN III</p> <p><u>SQUAMOUS CELL CARCINOMA</u> <u>GLANDULAR CELLS</u> Endometrial cells, benign cytology, postmenopausal women Atypical gland cells of undetermined significance (AGUS): Qualify: Adenocarcinoma endocervical, endometrial adenocarcinoma, extrauterine adenocarcinoma, unspecified adenocarcinoma.</p>	<p>INTERPRETATION / RESULT Negative for intraepithelial injury or malignancy (NILM) ORGANISMS: - T. Vaginalis - Fungal organisms morphologically consistent with Cândida spp. - Flora change suggestive of bacterial vaginosis - Bacterium morphologically consistent with Actinomyces spp. - Cellular changes associated with Herpes simplex vírus</p> <p>NON-NEOPLASTIC FINDINGS (OPTIONAL) Reactive cell changes associated with: - Inflammation, radiation, IUD</p> <p>Others Endometrial cells (in women \geq 40 years old) (specify if negative for intraepithelial lesion)</p> <p>Abnormalities in epithelial cells <u>SQUAMOUS CELLS</u> Atypical squamous cells - Undetermined meaning (ASCUS) - Does not exclude HSIL (ASC-H) Low-grade intraepithelial lesion: HPV / mild dysplasia / CIN I High-grade intraepithelial lesion: moderate dysplasia and severe dysplasia, CIN II and CIN III) - Squamous cell carcinoma</p> <p><u>GLANDULAR CELLS</u> Atypical - Endocervical, endometrial cells, gland cells - Endocervical cells favor neoplasia - Endometrial cells favor neoplasia, endocervical adenocarcinoma in situ Adenocarcinoma - Endocervical, endometrial, extrauterine, unspecified</p> <p>OTHER MALIGNANT NEOPLASMS (to specify)</p>	<p>INTERPRETATION / RESULT Negative for intraepithelial injury or malignancy (NILM) ORGANISMS: - T. Vaginalis - Fungal organisms morphologically consistent with Cândida spp. - Flora change suggestive of bacterial vaginosis - Bacterium morphologically consistent with Actinomyces spp. - Cellular changes associated with Herpes simplex vírus</p> <p>NON-NEOPLASTIC FINDINGS (OPTIONAL) - Inflammation - Radiation - IUD - Gland cells in women with hysterectomy</p> <p>Abnormalities in epithelial cells <u>SQUAMOUS CELLS</u> - Squamous cell of undetermined significance (ASC-US) - Squamous cell of undetermined significance not excluding high-grade injury (ASC-H) - Low-grade intraepithelial lesion (LSIL): HPV / mild dysplasia / CIN I High-grade intraepithelial lesion (HSIL): moderate dysplasia and severe dysplasia, CIN II and CIN III) - Squamous cell carcinoma</p> <p><u>GLANDULAR CELLS</u> - Endocervical cell favors neoplasia - Endometrial cell favors neoplasia Adenocarcinoma endocervical in situ Adenocarcinoma - Endocervical, endometrial, extrauterine, unspecified</p> <p>OTHER MALIGNANT NEOPLASMS (to specify)</p>

Table 3 - continuation

	TBS 1988	TBS 1991	TBS 2001	TBS 2014
OTHERS				
AUXILIARY TESTS (if appropriate)			<ul style="list-style-type: none"> • If it is useful to recommend additional tests that can complement cytology. 	<ul style="list-style-type: none"> • If it is useful to recommend additional tests that can complement cytology.
AUTOMATED EVALUATION (revise if appropriate)			<ul style="list-style-type: none"> • If the assessment is automated, specify which equipment is used and the result. 	<ul style="list-style-type: none"> • If the assessment is automated, specify which equipment is used and the result.
EDUCATIONAL NOTES AND SUGGESTIONS (optional)			<ul style="list-style-type: none"> • Concise, but not directive, suggestions, according to the clinical follow-up guidelines, and formulated in the form of a suggestion. 	<ul style="list-style-type: none"> • Concise, but not directive, suggestions, according to the clinical follow-up guidelines, and formulated in the form of a suggestion.

The TBS, when creating a standardized report, includes an evaluation for sample adequacy in “satisfactory”, “satisfactory, but limited by” and “unsatisfactory”, being the most important component of the sample’s quality assurance. However, in 2001 the category “satisfactory, but limited by” was eliminated, because the term was considered confusing for many doctors and therefore several tests were performed repeatedly without need. In a survey of 760 laboratories by Davey et al.⁽⁸⁾ it was shown that more than 85% of the laboratories eliminated the “satisfactory, but limited by” category. In the same year Quddus et al.⁽¹⁵⁾ stated that the elimination of this category had not increased the number of cases, classified as “unsatisfactory” as they suspected it could happen.

TBS 2001 recommended the use of the term “interpretation” or “result” to be described in the report, rather than “diagnosis” as previously reported. Crothers et al.⁽⁷⁾ say that the Papanicolaou test reflects only the cytological criteria of the lesions and that there is an inherent subjectivity of the evaluation. Thus, the test should serve as a screening and not a diagnosis. For the “infection” category, the use of the term “organisms” was recommended, because not all organisms cause infection, but it can represent colonization.⁽⁶⁾

The ASC diagnostic category was the most controversial interpretation term since its introduction in TBS in 1988, due to limitations in morphological interpretation due to lack of criteria. The vast majority of the results found in cytology were in the ASCUS / LSIL category, leading a large number of women to colposcopy, which represented a clinical problem Nayar and Wilbur.⁽⁵⁾ During the TBS 2001 update, it was suggested to exclude this term, but this did not occur, so that

there was no loss of sensitivity for a positive HSIL that could be pronounced. For Henry⁽⁶⁾ the elimination of ASC could result in an increase in LSIL reports and a decrease in HSIL.

The ASC category was therefore maintained, but with some changes and with more restricted definitions, classified in ASC-US and ASC-H only. The ASC-R (favor reactive) category was commonly used, and the ASC-US category was combined in the TBS 2001. In a study by Simsir⁽¹⁰⁾ after the implementation of the TBS 2001, it showed that the percentage of women with low and high grade was no different before and after TBS 2001, and ASC-R had a very small risk for NIC II / III similar to ASC-US confirming that ASC subclassification had no effective clinical significance. In that same study it was seen that the ASC rate decreased after the implementation of TBS 2001, and ASC-H identified more high-grade injuries and less than low-grade injuries. The percentage of women receiving ASC-H colposcopy increased by 70% before and 81% after the update. There was no significant difference for ASC-US.

Howell⁽¹¹⁾ corroborates the results found by Simsir⁽¹⁰⁾, and says that the introduction of the term ASC-H seems to have achieved its purpose of identifying more serious injuries such as CIN II / III / CIS (carcinoma in situ), once that suspected HSIL has important implications and different follow-up strategies, for an ASC-H result is recommended by ASCCP (College of American Pathologists), colposcopy and biopsy immediately. Today, for ASC-US results, the HPV screening test is increasingly performed, which reduced the referrals for colposcopy by 50% according to Nayar and Wilbur.⁽⁵⁾

The Bethesda System since its creation in 1988, divides squamous intraepithelial lesions into LSIL and HSIL, as a way

to reduce the variability of interpretation between observers. However, in a study by Crothers et al.⁽¹⁷⁾ with 625 laboratories, 80.9% of these confirmed to use a term that is not part of the Bethesda System, a low-grade squamous intraepithelial lesion, does not exclude a degree of squamous intraepithelial lesion (LSIL-H) for tests where obvious cells of LSIL are seen, but it also contains cells that may represent HSIL. And it affirms the need for a terminology that identifies this situation.

Trhall et al.⁽¹²⁾ stated the use of the same term (LSIL-H) and compared it to the results of ASC-H, according to the authors, the rate of high-grade dysplasia in LSIL-H biopsies (31.9%) was similar to ASC-H (35.3%) and greater than LSIL (7.6%) and recommends that it be treated clinically in a similar way to ASC-H. However, the use of this non-standard term can lead to confusion in clinical management and go against the principles of the Bethesda System.

Communication through a universal language is of great value for the health area, because it is thus possible to compare experiences and clinical data, which is exactly what the Bethesda System did - a terminology that could be understood by different observers anywhere in the world; contributing to decrease the variability of diagnoses, thus positively impacting patient care. One of the most significant contributions of TBS was that it served as a model for the development of other standardized reporting systems, both in cytopathology and in histopathology.

It is also natural that they can be modified as science and technology evolve, leading to the need for continuous TBS updates. With the implementation of HPV prophylactic vaccination programs for cervical prevention, the number of smears will decrease and could be even more challenging.

STATEMENTS

Statement of ethics

The following systematic review does not need to go through an ethics committee.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Each author participated sufficiently in this submission to take public responsibility for the content and have approved publication.

REFERENCES

1. Consolaro MEL; Engler SSM. Citologia clínica cérvico vaginal: texto e atlas. Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2000.
2. Richart RM; Barro BA. A follow-up study of patients with cervical dysplasia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1969;105(3):386-393.
3. Nayar R; Wilbur DC. The Pap Test and Bethesda 2014. *Acta Cytologica*. DOI:10.1159/000381842.
4. Sebastião APM, Noronha L, Scheffel DLH, Garcia MJ, Carvalho NS, Colloço LM et al. Estudo das atipias indeterminadas em relação à prevalência e ao percentual de discordância nos casos do Programa de Prevenção do Câncer Uterino do Paraná. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* DOI:10.1590/S1676-24442004000600012.
5. Nayar R; Wilbur DC. The Bethesda system for reporting cervical cytology: A Historical perspective. *Acta cytologica*. 2017;61(4-5):359-372.
6. Henry MR. The Bethesda System 2001: an update of new terminology for gynecologic cytology. *Clinics in laboratory medicine*. 2003;23(3):585-603.
7. Crothers BA. The Bethesda System 2001: update on terminology and application. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2005;48(1):98-107.
8. Davey DD. et al. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2004;128(11): 1224-1229.
9. Souza JHK de et al. Avaliação de lâminas de colpocitologia oncológica previamente diagnosticadas como ASCUS: comparação interensaios e interobservadores. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2004;26(3): 233-240.
10. Simsir A et al. Effect of Bethesda 2001 on reporting of atypical squamous cells (ASC) with special emphasis on atypical squamous cells-cannot rule out high grade (ASC-H). *Diagnostic cytopathology*. 2006;34(1):62-66.
11. Howell LP; Gurusinghe S; Tabnak F. Impact of ASC-H terminology on the detection of HSILs in medically underserved California women. *Diagnostic cytopathology*. 2009;37(2):103-110.
12. Thrall MJ; Galfione SK; Smith DA. The impact of LSIL-H terminology on patient follow-up patterns. *Diagnostic cytopathology*. 2013;41(11):960-964.
13. Thrall MJ et al. Impact of the more restrictive definition of atypical squamous cells introduced by the 2001 Bethesda System on the sensitivity and specificity of the Papanicolaou test. *Cancer Cytopathology*. 2008;114(3):171-179.
14. Zheng B et al. Bethesda system reporting rates for conventional Papanicolaou tests and liquid-based cytology in a large Chinese, College of American Pathologists certified independent medical laboratory: analysis of 1 394 389 Papanicolaou test reports. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2015;139(3):373-377.
15. Qudus MR et al. ASC: SIL ratio following implementation of the 2001 Bethesda System. *Diagnostic cytopathology*. 2004;30(4):240-242.
16. Solomon D et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *Jama*. 2002;287(16):2114-2119.
17. Crothers BA et al. Trends in cervical cytology screening and reporting practices: results from the College of American Pathologists 2011 PAP education supplemental questionnaire. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2015;140(1):13-21.

El rol de las Trampas Extracelulares de Neutrófilos en pacientes con Covid-19

O papel das armadilhas extracelulares de neutrófilos em pacientes com Covid-19

The role of neutrophil extracellular traps in patients with Covid-19

Felipe Ignacio Garrido¹, Luis Conrado Zaror², Nicolás Ignacio Lara², Catalina Nicol Zúñiga²

¹ Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena, Laboratorio Clínico; Universidad Santo Tomás, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud – Temuco, Chile.

² Universidad Mayor, Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud – Temuco, Temuco, Chile.

Resumen

La enfermedad de Covid-19 ha demostrado que, además de generar una neumonía de gravedad variable, podría llegar a producir un cuadro con compromiso sistémico que lleva a la muerte. Durante la infección, destaca la importancia del reclutamiento elevado y la actividad de los neutrófilos, que pueden formar trampas extracelulares de neutrófilos (NET). Si bien, estas juegan un papel beneficioso en la defensa del huésped contra diversos patógenos, la generación exacerbada de NET se ha visto involucrada en diversas enfermedades, como podría ser el caso de Covid-19 grave. Ante esto, surge la necesidad de comprender el proceso fisiopatológico, donde las NET pueden ser uno de los factores responsables de complicaciones locales y sistémicas. El objetivo de este estudio fue, establecer el rol de las NET en la evolución de pacientes enfermos de Covid-19. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica en "PubMed", "Nature" y "Elsevier" entre septiembre del 2021 a mayo del 2023, recopilando un total de 61 artículos, que son analizados y discutidos en esta revisión. Se observó una correlación positiva, entre la presencia de NET en pacientes con Covid-19 y la gravedad del cuadro clínico, sobre todo, en los que desarrollan inmunotrombosis. En la actualidad y con perspectivas a futuro, la formación de NET debería considerarse un proceso relevante para comprender y dirigir terapias, tanto en enfermedades infecciosas transmisibles como en las no transmisibles.

Palabras claves: Covid-19, NET, NETosis, Inmunotrombosis.

Resumo

A doença Covid-19 demonstrou que, além de gerar pneumonia de gravidade variável, pode produzir um quadro com envolvimento sistémico que leva à morte. Durante a infecção, destaca a importância do elevado recrutamento e atividade de neutrófilos, que podem formar armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs). Embora desempenhem um papel benéfico na defesa do hospedeiro contra vários patógenos, a geração exacerbada de NETs tem sido implicada em várias doenças, como a Covid-19 grave. Diante disso, surge a necessidade de compreender o processo fisiopatológico, onde os TNEs podem ser um dos fatores responsáveis pelas complicações locais e sistémicas. O objetivo deste estudo foi estabelecer o papel das TNEs na evolução de pacientes com Covid-19. Para isso, foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases "PubMed", "Nature" e "Elsevier" entre setembro de 2021 e maio de 2023, coletando um total de 61 artigos, que são analisados e discutidos nesta revisão. Foi observada correlação positiva entre a presença de TNE em pacientes com Covid-19 e a gravidade do quadro clínico, principalmente naqueles que desenvolvem imunotrombose. Atualmente e com perspectivas futuras, a formação de NETs deve ser considerada um processo relevante para a compreensão e direcionamento de terapias, tanto em doenças infecciosas transmissíveis como não transmissíveis.

Palavras-chave: Covid-19. SARS-CoV-2. Neutrófilos. Armadilhas Extracelulares.

Abstract

The Covid-19 disease has shown that, in addition to generating pneumonia of variable severity, it could produce a condition with systemic involvement that leads to death. During infection, it highlights the importance of elevated neutrophil recruitment and activity, which can form neutrophil extracellular traps (NETs). Although they play a beneficial role in defense against various pathogens, the exacerbated generation of NETs has been implicated in various diseases, such as severe Covid-19. Given this, the need arises to understand the pathophysiological process, where NETs can be one of the factors responsible for local and systemic complications. The objective of this study was to establish the role of NETs in the evolution of patients with Covid-19. For this, a bibliographic search was carried out in "PubMed", "Nature" and "Elsevier" between September 2021 and May 2023, collecting 61 articles, which are analyzed and discussed in this review. A positive correlation was observed between the presence of NET in patients with Covid-19 and the severity of the clinical picture, especially in those who develop immunothrombosis. Currently and with future prospects, the formation of NETs should be considered a relevant process for understanding and directing therapies, both in communicable and non-communicable infectious diseases.

Keywords: Covid-19. SARS-CoV-2. Neutrophils. Extracellular Traps.

Correspondência

Felipe Ignacio Garrido

E-mail: felipegarrido.tecmed@gmail.com

Recebido em 31/08/2023

Aprovado em 16/10/2023

DOI: 10.21877/2448-3877.202300144

INTRODUCCIÓN

El SARS-CoV-2 causante de la enfermedad Covid-19, es un virus que se aisló por primera vez, en 2019, en Wuhan, China, desde muestras de lavado broncoalveolar de pacientes con neumonía,⁽¹⁾ propagándose por todo el país y luego por el mundo, siendo declarada por la OMS, en marzo de 2020, como pandemia.⁽²⁾

Es la mayor crisis de salud pública mundial desde la pandemia de influenza de 1918, causando una morbilidad y mortalidad significativas. Este nuevo coronavirus, de la familia Coronaviridae, del orden Nidovirales, es altamente contagioso y se transmite principalmente de persona a persona, mediante gotitas respiratorias de individuos infectados. La mortalidad aumenta en adultos mayores con inmunidad reducida y personas con comorbilidades, como diabetes, enfermedad cardíaca, enfermedad renal crónica, enfermedad pulmonar crónica y otros factores sociodemográficos.^(3,4)

La infección por SARS-CoV-2 cursa con un cuadro clínico variable, asintomática o sintomática, con manifestaciones similares a la gripe, y en casos más graves como una neumonía que puede progresar a un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). En algunas personas, desemboca en una falla multiorgánica y posterior muerte.⁽⁵⁾ Esto, como consecuencia de que el virus es capaz de escapar de las respuestas inmunes innatas.⁽⁶⁾

Los neutrófilos son unas de las células principales del sistema inmune innato⁽⁷⁾ y sus niveles elevados en sangre son un indicador temprano de infección por SARS-CoV-2, que predice una enfermedad respiratoria grave y un peor pronóstico.⁽⁸⁾ Ejercen su rol directamente, mediante la internalización del virus por fagocitosis para su eliminación, liberación de citoquinas, desgranulación y generación de especies reactivas de oxígeno (ROS).⁽⁹⁾ En 2004, Brinkmann et al.,⁽⁵⁾ describieron la capacidad de los granulocitos neutrófilos, para generar NET, las cuales están formadas por ácido desoxirribonucleico (ADN), histonas y proteínas de gránulos, tales como lactoferrina, catepsina G, elastasa de neutrófilos (NE) y mieloperoxidasa (MPO), además de proteínas citoplasmáticas y citoesqueléticas.⁽¹⁰⁾ Las NET se forman a través de dos vías. La primera, es una vía de muerte celular denominada NETosis lítica, que comienza con la deslobulación nuclear y el desmontaje de la envoltura nuclear y continúa con la pérdida de polarización celular, la descondensación de la cromatina y la ruptura de la membrana plasmática.⁽¹¹⁾ La segunda vía, llamada

NETosis no lítica, los neutrófilos pueden liberar parte o todo el núcleo, sin romper la membrana celular, lo que da como resultado citoplastos anucleares, que aún pueden moverse y fagocitar microorganismos.⁽¹²⁾ La función principal de las NET es inmovilizar y degradar bacterias, hongos, virus y protozoos, siendo un mecanismo efector crítico para detener infecciones.⁽¹³⁾ Además, de ser activada por agentes patógenos, se ha descrito a las plaquetas activadas como inductores de NETosis, al igual que los péptidos derivados del complemento, autoanticuerpos, interleuquina 8 (IL-8), peróxido de hidrógeno, cristales de urato, ionóforos y humo de cigarrillo.⁽¹²⁾

La desregulación en la formación de NET puede contribuir a la patogénesis de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, que van desde inmunodeficiencias como la Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC) hasta enfermedades autoinmunes que incluyen el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y la Artritis Reumatoide (AR).^(11,14) También, están implicadas en patologías cardiovasculares, inflamatorias, metabólicas e infecciosas, en donde las NET parecen elevar la morbilidad y mortalidad. Incluso, se ha demostrado que promueven la metástasis de tumores.⁽¹⁵⁾ Durante la infección por Covid-19, la interacción entre huésped y el SARS-CoV-2, junto con la señalización viral conduce a una cascada de interacciones entre el mecanismo de reconocimiento del virus, la activación de los neutrófilos y los estímulos inflamatorios. Por ello, el proceso de NETosis puede proteger al huésped durante la respuesta al virus o bien exacerbar la hiperinflamación pulmonar en estos pacientes, a partir de una sobreproducción de NET.⁽¹⁶⁾ La liberación de componentes intracelulares como el ADN, las histonas, MPO y NE, puede inducir lesiones en las células endoteliales vasculares y generar trombosis,⁽¹⁷⁾ lo que sugiere que estarían relacionados con los efectos sistémicos nocivos en pacientes infectados con SARS-CoV-2.⁽¹³⁾ La pandemia, generó estragos a nivel mundial, exigiendo al máximo las capacidades de los sistemas de salud, para comprender y actuar de manera eficaz, frente a los nuevos desafíos que supuso la enfermedad. Se ha descrito, la patogenicidad del virus en el huésped, y cómo este es capaz de ocasionar cuadros críticos en pacientes con Covid-19. También, se ha propuesto a las NET como un mecanismo involucrado en la progresión de la enfermedad, sobre todo en casos graves con riesgo de mortalidad. Esta última etapa de la enfermedad es de difícil manejo clínico, lo que hace necesario comprender el proceso fisiopatológico, en el que las NET pueden ser uno

de los factores responsables de las complicaciones locales y sistémicas de la patología. Incluso, se ha propuesto la búsqueda de inhibidores de trampas. El objetivo de este estudio fue, establecer bibliográficamente, el rol de las NET en la evolución de pacientes enfermos de Covid-19.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una búsqueda bibliográfica en “PubMed”, “Nature” y “Elsevier” entre septiembre del 2021 a mayo del 2023, utilizando el gestor de referencias bibliográficas Mendeley. El estudio se enfocó en la enfermedad de Covid-19 y las NET, términos que se abordaron de manera individual, para obtener nociones generales e introductorias y de forma conjunta como eje central de esta revisión. En total, fueron seleccionadas 61 publicaciones en base al título, resumen y palabras clave.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Trampas extracelulares de neutrófilos

Fisiología

La formación de NET junto con la posterior muerte del neutrófilo es un mecanismo de defensa del huésped denominado NETosis o liberación lítica de NET⁽¹⁸⁾. El proceso, comienza con la activación de los neutrófilos a través del reconocimiento de estímulos, que son captados por los “Toll like receptors 4 y 8” (TLR4 Y TL8), llevando a un aumento del Ca^{2+} intracelular, que induce la acción de la vía de señalización de la proteína quinasa C (PKC) y Raf-MEK-ERK que activa el complejo Nicotinamida-Adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH) o NOX y genera ROS.^(15,18,19) Los cationes de Ca^{2+} actúan como cofactores de la peptidil arginasa desaminasa 4 (PAD4), enzima nuclear dependiente de ROS, que promueve la desaminación de las histonas, modificando así, los aminoácidos para permitir la descondensación de la cromatina, al promover la pérdida de las cargas positivas necesarias para la interacción de las histonas con el ADN.^(19,20) Por consiguiente, se produce una separación gradual y pérdida de la membrana nuclear promovida por ROS, y luego la cromatina se dispersa, por el citoplasma para mezclarse con proteínas y toxinas, producto de la desgranulación del neutrófilo, de manera que se liberan enzimas como la NE y MPO, que interactúan con el núcleo, en donde escinden las histonas y facilitan la descondensación de la cromatina.⁽¹⁵⁾

Finalmente, la cromatina se libera fuera de la célula a través de los poros de la membrana y de manera simultánea ocurre la lisis celular⁽¹⁹⁾ (Figura 1).

La NETosis no lítica, también llamada NETosis vital, es otra forma por la cual los neutrófilos liberan NET. En este caso, sin la pérdida de la membrana nuclear o plasmática, y ocurre independientemente de ROS y de la vía Raf-MEK-ERK. Este proceso consiste en la liberación de ADN nuclear a través de cambios morfológicos, empezando con el crecimiento de la envoltura nuclear y liberación de vesículas. Luego, sigue la descondensación del núcleo y finalmente la ruptura de su envoltura.⁽¹⁹⁾ Este tipo de NETosis es activado por el reconocimiento de los estímulos a través de receptores toll-like tipo 2 y tipo 4 o receptores del complemento independientes de la activación de NADPH oxidasa. Después de la liberación de NET, a pesar de la pérdida de su ADN, los neutrófilos siguen vivos, en forma de citoplastos anucleados, que pueden moverse y fagocitar patógenos⁽¹⁸⁾ (Figura 2).

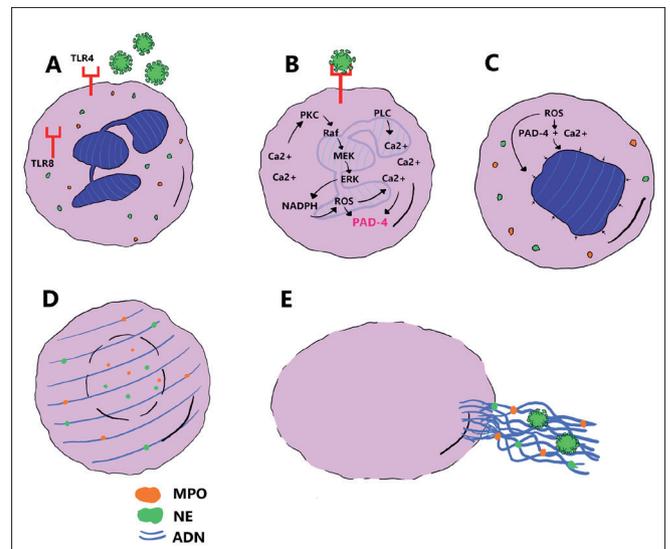


Figura 1

Pasos secuenciales de la NETosis lítica. Ilustración de elaboración propia.

A) Reconocimiento de estímulo viral a través del receptor de membrana TLR4 y TLR8. B) Aumento de Ca^{2+} intracelular que induce la activación de la vía de señalización PKC y Raf-MEK-ERK, que da como consecuencia la estimulación de NADPH y generación de ROS. El Ca^{2+} también actúa como cofactor de la enzima PAD4, la cual es dependiente del ROS generado anteriormente. C) De esta manera, se promueve la desaminación de histonas y se permite la descondensación de la cromatina. D) Separación gradual y pérdida de la membrana nuclear promovida por ROS. La cromatina se dispersa en el citoplasma y se comienza a mezclar con proteínas y toxinas, como la MPO y la NE producto de la desgranulación del neutrófilo. E) La MPO y NE escinde las histonas facilitando la descondensación de la cromatina, que se dispone en forma de red tridimensional y se libera fuera de la célula para la eliminación del virus. Simultáneamente ocurre la lisis celular.

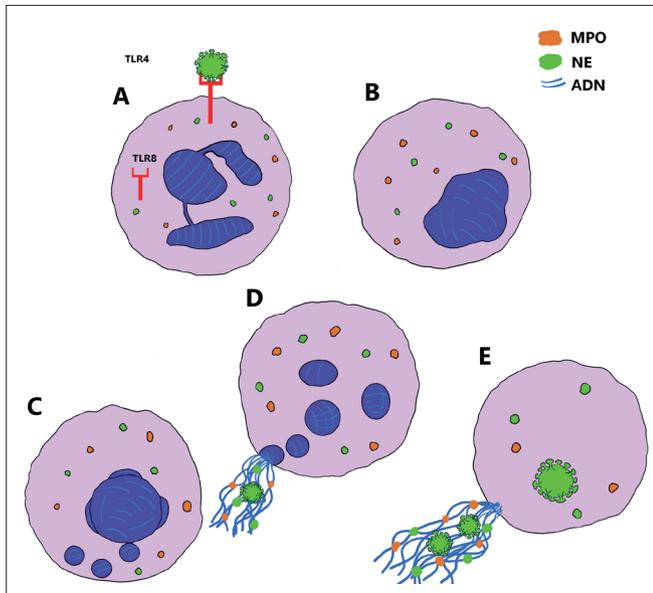


Figura 2

Pasos secuenciales de la NETosis no lítica. Ilustración de elaboración propia.

A) Reconocimiento del estímulo viral a través del receptor de membrana TLR4 y TLR8. B) Se inducen cambios morfológicos en la célula y el crecimiento de la envoltura nuclear. C) Liberación de vesículas de ADN. D) Comienza la descondensación del núcleo y ruptura de la envoltura nuclear. La MPO y NE escinde las histonas facilitando la descondensación de la cromatina, que se dispone en forma de red tridimensional y se libera fuera de la célula para la eliminación del virus. E) No ocurre lisis celular y el neutrófilo permanece en forma de citoplasto anucleado, conservando funciones vitales básicas como la movilidad y fagocitosis.

Se ha demostrado, que las NET, se generan principalmente a partir de ADN cromosómico.⁽²¹⁾ Así, lo confirman Kenny et al.⁽²²⁾ (2017), quienes sometieron *in vitro* a neutrófilos, ante diversos estímulos desencadenantes de NET, observando en determinados casos, que sólo del 10 a 25% del ADN liberado durante la NETosis, era de origen mitocondrial. Teniendo estas evidencias, se podría pensar que, a nivel estructural, en la formación de NET, no existe más participación del ADN mitocondrial (ADNmt). Sin embargo, Ingelsson et al.⁽²³⁾ (2018), afirmaron que los neutrófilos pueden liberar exclusivamente redes de ADNmt extracelular, en respuesta a ciertos inductores. Por lo tanto, esta forma de liberación NET se podría categorizar como un nuevo mecanismo de producción de NETosis no lítica, en donde la célula posterior al proceso, continúa con sus funciones vitales.

Para lograr efectos protectores, en el curso de una infección y/o proceso inflamatorio, debe haber un equilibrio constante entre la generación de NET y su posterior degradación. Los reguladores claves en la degradación, son las ADNasas o nucleasas del huésped. Un deterioro en la digestión de

NET por nucleasas faltantes o no funcionales, se asocia con enfermedades autoinmunes, como, nefritis lúpica o lupus eritematoso sistémico.⁽²⁴⁻²⁶⁾

Biología de la NETosis en Covid-19

En las infecciones virales, las NET capturan los virus a través de su estructura y los eliminan mediante concentraciones altas de MPO y péptidos antimicrobianos, evitando la propagación desde el área local a otros tejidos.⁽²⁷⁾ La NETosis es un proceso beneficioso en la defensa del huésped contra patógenos. No obstante, puede haber un daño colateral asociado a la formación sostenida de NET, que estimula procesos patológicos, incluidos los que ocurren durante las infecciones virales.⁽²⁸⁾ Las NET han sido estudiadas en el contexto de enfermedades cardiovasculares, donde infiltran y propagan la inflamación en la pared del vaso y cuando se forman intravascularmente, ocluyen arterias, venas y vasos microscópicos.⁽²⁹⁾ De hecho, la formación excesiva de estas, puede desencadenar una cascada de reacciones inflamatorias, que promueve la metástasis de las células cancerosas, destruye tejidos circundantes, facilita la microtrombosis y da como resultado un daño orgánico permanente en los sistemas respiratorio, cardiovascular y renal. Estos son tres sistemas de órganos comúnmente afectados en Covid-19 grave.⁽²⁰⁾

Zuo et al.⁽²⁹⁾ (2020) determinaron la concentración de biomarcadores de NETosis, en muestras de suero de pacientes sin ventilación mecánica y pacientes que la requerían. Evidenciaron, que los pacientes sometidos a ventilación mecánica, poseen niveles significativamente más altos de ADN libre de células y MPO-ADN, pero no Cit-H3. Además, el marcador MPO-ADN se correlacionó con el recuento absoluto de neutrófilos. Estos datos, sugieren una relación entre el nivel sérico de NET, el recuento absoluto de neutrófilos y la gravedad de Covid-19.

Protasio et al.⁽³⁰⁾ (2020) realizaron un estudio en pacientes con Covid-19 grave, sometidos a ventilación mecánica, determinando que la concentración de NET en muestras de aspirado traqueal fue mayor que la de controles normales. Por otro lado, en pacientes enfermos los valores de NET en el aspirado traqueal fueron 10 veces mayores que la observada en el plasma. En paralelo, preparaciones histológicas post mortem de secciones pulmonares evidenciaron daño alveolar difuso, exudativo y proliferativo. De los fallecidos, sometidos a autopsia, se observó neumonía neutrofílica, en grados variables en 6 de 10 de ellos. Al

hacer una indagación por microscopía confocal de los tejidos pulmonares post mortem de pacientes con Covid-19 con presencia de neutrófilos, se reveló la aparición de estructuras características de NET, visualizadas con tinción de ADN extracelular, diferenciando MPO y Cit-H3. Estos resultados, indican que las NET se liberan en el epitelio respiratorio bajo y están asociadas con daño pulmonar en pacientes con Covid-19 grave, pudiendo inferir, que el nivel de formación de NET se correlaciona progresivamente con la evolución clínica de la patología, siendo útil como valor pronóstico de gravedad y mortalidad.

NET y trombosis vascular en pacientes con Covid-19 grave

Existe evidencia de que la coagulopatía es el resultado de la profunda respuesta inflamatoria de Covid-19 y el daño endotelial. Informes de autopsias, demuestran inclusiones virales endoteliales pulmonares, aumento de la angiogénesis y de microtrombos capilares. Los pacientes con neumonía por Covid-19 presentan anomalías en la coagulación, caracterizada por elevaciones en los productos de degradación de fibrina, dímero D y fibrinógeno, lo que desencadena una situación crítica y mortal.^(31,32) El dímero D, es un biomarcador comúnmente elevado en los pacientes afectados por la enfermedad y se encuentra hasta en el 45 % de ellos. En el caso de presentarse valores superiores a 1000 ng/mL (Valor de referencia: <100 ng/ml) los pacientes tienen casi 20 veces más probabilidades de morir a causa de su infección, que los que tienen valores más bajos.^(33,34)

Rol del sistema inmune innato en la inmunotrombosis

La inmunotrombosis describe la participación del sistema inmunitario innato en la formación de un trombo a través de distintas interacciones celulares y moleculares, desencadenadas por el reconocimiento de patógenos y células dañadas.⁽³⁵⁾

Una vez que el SARS-CoV-2, ingresa al cuerpo y rompe la membrana epitelial alveolar, después de unirse al receptor de la ACE2, el sistema inmunitario innato debe reconocerlo como extraño e iniciar una respuesta inmune, para destruir o eliminar al invasor. Los ARN virales posteriores, sirven como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), que luego son detectados por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) tipo Toll. Esto, da como resultado la activación de las células epiteliales, iniciando una cascada de quimioatracción de células inmunitarias innatas; activando las poblaciones locales de macrófagos, que se encargarán de

iniciar vías de transducción de señales, para culminar con la producción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias.⁽³⁶⁾ Simultáneamente, se activa C3 del complemento al reconocer los PAMPs del virus, siendo este el punto de convergencia de la activación de todas las vías del complemento, conduciendo a la generación de C3a, C5a y sC5b-9, esta última, conocida como el complejo soluble terminal del complemento.⁽³⁷⁾ C3a activa las plaquetas, las cuales junto con C5a inducen la formación de trombina, que luego promueven la expresión de factor tisular (TF) de neutrófilos y NET, desencadenando la inmunotrombosis.⁽³⁸⁾

Tormenta de citoquinas

La activación desregulada de una variedad de glóbulos blancos, incluidos linfocitos B, linfocitos T, células natural killer, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, monocitos y células epiteliales o endoteliales, inducen una liberación exagerada de citoquinas, denominada "Tormenta de citoquinas", lo que desencadena un aumento de las concentraciones plasmáticas de diversas interleucinas, principalmente la IL-6.⁽³⁹⁻⁴¹⁾ Estos mediadores inflamatorios, pueden regular la función de los neutrófilos y su infiltración al foco inflamatorio. La tormenta de citoquinas promueve un ciclo de señalización entre los macrófagos y los neutrófilos que pueden conducir al estado inflamatorio prolongado, que se observa en los pacientes graves con Covid-19.⁽⁴⁰⁾ La infiltración continua de neutrófilos en el sitio de la infección, su desgranulación y liberación de NET, produce citoquinas y quimiocinas en exagerada cantidad, que podría contribuir a la tormenta de citoquinas durante el desarrollo de la enfermedad.⁽⁴²⁾

Activación de plaquetas

Las plaquetas se adhieren a los vasos sanguíneos lesionados, se activan y expresan moléculas de adhesión, conduciendo al reclutamiento de neutrófilos. Las plaquetas circulantes no se unen espontáneamente a los neutrófilos, pero lo hacen en el contexto de una infección bacteriana o viral. Esta interacción, depende de las integrinas y da lugar a la formación de NET.⁽¹⁰⁾ Las interacciones entre plaquetas y neutrófilos están mediadas por sus moléculas de superficie, como la p-selectina (CD62P), que se une al ligando 1 de la glicoproteína p-selectina (PSGL-1) en la superficie de los neutrófilos, lo que induce la activación plaquetaria. Asimismo, la p-selectina plaquetaria prepara los neutrófilos para la NETosis. Esto, sugiere una retroalimentación de

trombosis microvascular, donde se forman complejos plaquetas-neutrófilos, activando la NETosis y provocando la agregación plaquetaria.^(32,39)

Skendros et al.⁽³⁸⁾ (2020) estimularon neutrófilos aislados de individuos sanos, con plasma rico en plaquetas de pacientes con Covid-19, demostrando que tenían niveles aumentados de ARNm de TF. Las NET formadas, mostraron una alta producción de trombina, lo que respalda el papel de las plaquetas en la inmuntrombosis por Covid-19 mediada por NET.

Las NET impulsan la inmuntrombosis

Los neutrófilos, después de la exposición al virus, plaquetas activadas y citocinas, median un entorno procoagulante, principalmente a través de la liberación de NET. Los componentes de las trampas promueven la expresión génica de los factores de coagulación, inducen la oclusión de los vasos, tanto de manera dependiente como independiente de fibrina, y también activan la cascada de la coagulación a través de la vía intrínseca y extrínseca. Además, de su función como andamiaje, muchos de los componentes de las NET pueden inducir la activación plaquetaria y la coagulación sanguínea, lo que desencadena la formación de trombos.^(35,36)

En casos de pacientes con Covid-19 grave, los principales componentes de las NET involucrados en la inducción de la coagulación son: el ADN genómico, histonas, NE, catepsina G y MPO.^(43,44) En cuanto al ADN libre de neutrófilos, este entra en el plasma para desencadenar la generación de trombina, al unirse al factor XII, que se ve potenciado por la disminución de los factores anticoagulantes y la fibrinólisis deficiente. Induce, además, la formación de trombina y la regulación a la baja de la trombomodulina.^(35,36,39,43,45)

Las histonas inducen la expresión de TF en células endoteliales, macrófagos y monocitos, lo que activaría la coagulación a través de los factores V y X (FV y FX), encargados de convertir el fibrinógeno en fibrina, mediado por trombina.^(26,39) Asimismo, pueden unirse al Factor Von Willebrand,

fibrinógeno y fibrina, para reclutar plaquetas y eritrocitos.⁽³⁶⁾

La histona H3 disminuye la actividad de la trombomodulina, la cual es un cofactor proteico fundamental para la activación de la proteína C, que es uno de los anticoagulantes naturales reguladores de la hemostasia. Por lo tanto, se potenciaría aún más la generación de trombina en plasma. Por otro lado, la histona H4 se une a la protrombina y genera trombina por auto activación.^(35,45)

La NE, está asociada con los procesos de inflamación y trombosis a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias y la escisión proteolítica del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), lo que mejora la activación del FX.⁽⁴⁰⁾ Alteran, además, el citoesqueleto de las células endoteliales, desencadenando su descomposición, induciendo el deterioro y la apoptosis en las células epiteliales, lo que afecta la integridad de la barrera alveolar; y se encargan de degradar y alterar la función de anticoagulantes como la trombomodulina.^(35,40) La catepsina G, inactiva proteolíticamente al TFPI, lo que impide la eliminación correcta del coágulo.^(35,36,45) Por último, la MPO conduce a la apoptosis de las células epiteliales mediante la liberación de ROS.⁽⁴⁰⁾ Sumado a que los componentes de las NET, inducen que se exprese el TF. Skendros et al.⁽³⁸⁾ (2020) confirmaron que las trampas son una fuente intrínseca de TF. Los investigadores, utilizaron microscopía de inmunofluorescencia confocal en neutrófilos recolectados de 4 pacientes con Covid-19 grave, evidenciando la formación espontánea de NET que expresan TF. Estos antecedentes confirman el rol de las NET y su contribución al estado procoagulante.

En los pacientes con Covid-19 grave, las NET tienen un rol fundamental en el estado de hipercoagulabilidad, que contribuye a generar eventos trombóticos, que afectan tanto la circulación arterial como la venosa, provocando un síndrome coronario agudo, accidente cerebrovascular, embolia pulmonar, trombosis venosa profunda y microvascular⁽¹⁰⁾ (Figura 3).

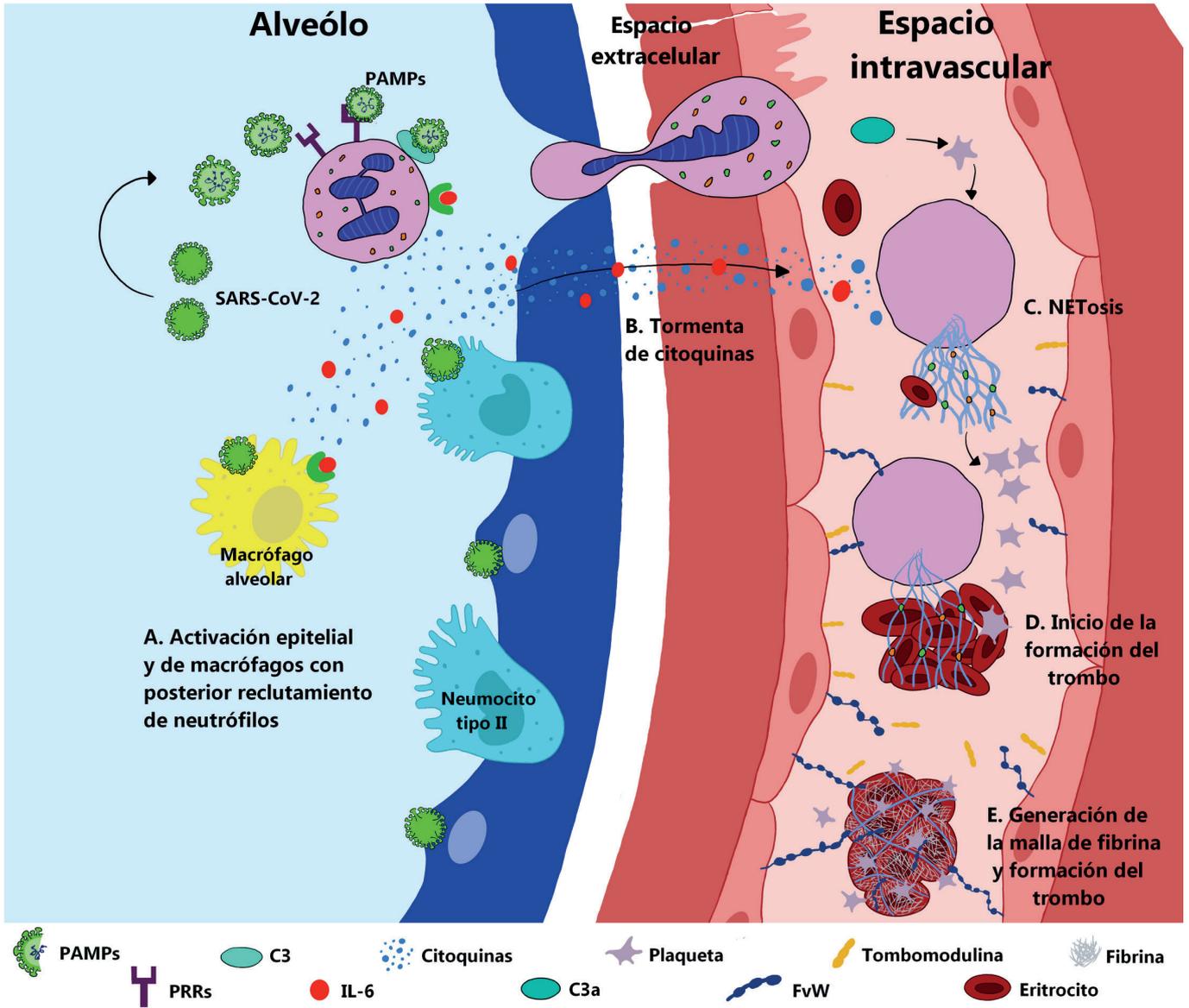


Figura 3

Modelo de inmunotrombosis vascular en pacientes COVID-19 grave. Ilustración de elaboración propia.

A) Invasión del virus SARS-CoV-2 a las células epiteliales alveolares, activándolas junto con las poblaciones locales de macrófagos. Los PAMPs del virus, son reconocidos por C3 del complemento y por los PRRs de los neutrófilos, generando su reclutamiento. B) Los macrófagos activados, neutrófilos y el complemento, inducen la producción y liberación de citoquinas y quimiocinas en el espacio extracelular. Principalmente, la IL-6 desencadena un ciclo de señalización entre los macrófagos y neutrófilos, que pueden generar al estado inflamatorio prolongado, debido liberación continua y exacerbada de interleucinas, produciéndose una "Tormenta de citoquinas". C) Los neutrófilos que reconocieron los PAMPs del virus, se extravasas al espacio intravascular y comienzan a generar NET. Además, debido a la activación del complemento se genera C3a, que al igual que las NET funcionan como activadores plaquetarios. A su vez, las plaquetas activas y la producción exagerada de citoquinas inducen la producción de NET. D) Las NET extruidas, funcionan como andamiaje para que se empiece a formar el trombo, siendo soporte de eritrocitos y plaquetas agregadas. Simultáneamente, los componentes de las trampas promueven la expresión de factores de coagulación, activando la vía intrínseca y extrínseca. E) Las células endoteliales activadas, exocitan factor Von Willebrand, lo que permite la adhesión de neutrófilos y NET a la pared vascular. La trombomodulina presente en las células endoteliales se desprende, favoreciendo el entorno procoagulante. La activación de la cascada de la coagulación culmina con la generación de la malla de fibrina, que se entrelaza a glóbulos rojos y plaquetas agregadas. Finalmente, se genera microtrombosis del vaso.

Zuo et al.⁽³⁴⁾ (2021), en un estudio de casos y controles de pacientes hospitalizados con Covid-19 que desarrollaron trombosis, en comparación con pacientes del mismo sexo y edad sin trombosis clínica, demostraron niveles significativamente más altos de calprotectina, un marcador de activación de neutrófilos. De manera similar, tres marcadores diferentes de NET (ADN libre de células, complejos de mieloperoxidasa-ADN e histona H3 citrulinada) también estaban marcadamente elevados en el grupo de trombosis. Por otro lado, los autores demostraron que, había una correlación positiva entre los picos de dímero D, con la calprotectina, ADN libre y el recuento máximo de neutrófilos. Los niveles de calprotectina y ADN libre de células, también se correlacionaron positivamente con los recuentos máximos de plaquetas. De esta forma, se dilucida el papel de los neutrófilos hiperactivos y la liberación de NET, en eventos trombóticos mórbidos, que aumentarían el riesgo de mortalidad.

Síndrome Post Covid-19 y NETosis

Posterior a la infección aguda por SARS-CoV-2, algunos pacientes padecen secuelas crónicas, durante semanas o incluso meses. A esta condición, se le ha denominado Síndrome post Covid-19 (SPC).⁽⁴⁶⁾ La fisiopatología está regida principalmente por fenómenos inmunopatológicos o hiperinflamatorios, con manifestaciones clínicas generales e inespecíficas.^(47,48)

La activación autoinmune persistente y el estado proinflamatorio que se ha planteado en el SPC, se asocia a los siguientes procesos: la propiedad del virus de hiperestimular el sistema inmunitario, el mimetismo molecular entre las proteínas virales y autoantígenos del huésped, y a la excesiva de producción de NET.^(47,49) Al igual que en enfermedades autoinmunes como LES, AR y vasculitis, en el que los componentes de las NET funcionan como autoantígenos, también ocurre en Covid-19, de manera que se generan autoanticuerpos. Las NET son una fuente de antígenos citrulinados y de factor activador de células B, por lo tanto, se desencadena la activación de linfocitos B autorreactivos, con la consiguiente producción de autoanticuerpos, destacando los anticuerpos antinucleares (ANA), que se han evidenciado en pacientes que tuvieron Covid-19 grave.⁽⁵⁰⁾

La fibrosis pulmonar es una afección respiratoria común posterior a la Covid-19, debido a la transición epitelial-mesenquimatosa.⁽⁴³⁾ George et al.⁽⁵¹⁾ (2022) describieron en una cohorte de pacientes, cambios morfológicos y funcionales

persistentes a nivel pulmonar, después de la recuperación del Covid-19 agudo, que relacionaron como un rasgo característico inmunitario asociado a neutrófilos regulados al alza. Entre otros experimentos, estos autores, realizaron pruebas *in vitro* con células epiteliales alveolares, a las cuales les administraron NET exógenas, dando como resultado la aparición de mediadores fibrogénicos y la alteración de la expresión de los genes involucrados en la transición epitelial-mesenquimatosa; destacando la importancia funcional de las NET, en la conducción a cambios pulmonares intersticiales, post enfermedad aguda.

La infección directa por SARS-CoV-2, junto con la neuroinflamación persistente por mediadores centrales o periféricos y las anomalías cerebrovasculares, todas ellas vinculadas a la producción excesiva de NET, se encuentran entre los mecanismos responsables del deterioro neurológico posterior a la enfermedad.^(43,52) Por otro lado, junto con otros eventos cancerígenos, la Covid-19 podría predisponer al organismo al desarrollo del cáncer y acelerar su progresión. Se ha demostrado que, las NET cambian el microambiente tumoral, activan las células cancerosas y mejoran la progresión tumoral y metástasis.^(43,53,54)

Inhibidores de NET como modalidad terapéutica para Covid-19

La manipulación de los mecanismos de formación de NET, ha sido objetivo de investigación para desarrollar tratamientos e intervenciones terapéuticas o farmacológicas, para lograr combatir las actividades tóxicas de ellas. La mayor parte de las patologías relacionadas con las NET, están asociadas con el exceso y la falta de eliminación de estas.^(15,40)

Dentro de las opciones terapéuticas más estudiadas para contrarrestar los efectos negativos de las NET, está la ADNasa humana recombinante (ADNasa rh), que permite degradar las trampas.⁽¹⁵⁾ Estudios, han demostrado la capacidad destructiva de la ADNasa sobre la nucleoproteína del ADN y los complejos inmunitarios, mostrando una reducción de la NETosis, con menos infiltración de neutrófilos y disminuyendo la respuesta inflamatoria. Esto, permite minimizar los efectos de las NET en un proceso patológico, sin afectar la capacidad de los neutrófilos no estimulados, para fagocitar y desgranular, manteniendo así la inmunidad innata.^(26,39,40)

Se ha logrado dilucidar el efecto de la ADNasa en la formación de trampas en pacientes con sepsis. Se evidenció que, el tratamiento temprano y simultáneo con ADNasa I y

antibióticos, dio como resultado una mejor supervivencia, una reducción de la bacteriemia y protección contra la disfunción orgánica en condiciones sépticas, lo que sugiere una posible terapia de combinación para controlar la NETosis.⁽³⁹⁾

Fischer et al.⁽⁵⁵⁾ (2021) trataron a 5 pacientes graves con Covid-19, donde todos requerían de oxigenoterapia externa, al momento del tratamiento. Se les administró oxígeno nasal de alto flujo, antes de la terapia con ADNasa rh. Posterior a ello, dentro de los 4 a 15 días del tratamiento, ninguno requirió ingreso en la unidad de cuidados intensivos o ventilación mecánica, y fueron desconectados de la oxigenoterapia, recuperándose. Se logró, demostrar que este fármaco podría ser utilizado como una opción terapéutica eficaz, contra la enfermedad ocasionada por el virus SARS-CoV-2. Si bien, la ADNasa parece una opción terapéutica atractiva, su uso debe evaluarse de manera crítica. En última instancia, la ADNasa ayuda a los fagocitos a degradar las NET al fragmentarlas y, en este proceso puede no eliminar de manera efectiva las histonas o las proteasas de la vasculatura, lo que deja a los pacientes expuestos al daño de tejidos y órganos.^(15,40)

Pruebas de identificación de NET

Las metodologías comúnmente utilizadas para la detección de NETosis se han basado en tinción inmunohistoquímica y microscopía de fluorescencia confocal, mediante la identificación de proteínas granulares extruidas unidas a ADN y/o histonas, permitiendo evaluar el punto final de la extrusión nuclear. Sin embargo, poseen bajo rendimiento, son laboriosas, largas y pueden estar sesgadas por el operador.^(17,56,57) El uso del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) permite cuantificar las NET extruidas, enfocándose en la detección de la MPO y NE asociada al ADN. Una limitación de esta estrategia es el mayor riesgo de falsos positivos, dado que la liberación de ADN, también, se produce después de otros procesos, como la necrosis.^(17,58)

La citometría de flujo de imágenes multispectrales de alta velocidad resulta una técnica útil para evaluar la

NETosis, de una manera rápida y automatizada. Además, permite cuantificar las etapas del proceso que preceden a la lisis celular, permitiendo diferenciar entre células que sufren NETosis vital versus suicida. Y permite identificar y cuantificar de forma específica la citrulinación de la histona H4 como marcador de NET y su relación con otras alteraciones a nivel nuclear y celular.⁽⁵⁷⁻⁵⁹⁾

Fedorov et al.^(60,61) (2023) emplearon el contador hematológico de Sysmex y el autoanalizador de imágenes CellaVision, para el estudio de NETosis. Los autores, plantearon que las NET se encontrarían dentro del recuento de células difuminadas o "smudge cells" (SC), una subcategoría de glóbulos blancos. Las SC corresponden clásicamente a linfocitos degenerados (LD), que se pueden presentar en bajo porcentaje, pero que abundan en pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC), en donde debido a la fragilidad de sus linfocitos leucémicos, estos se destruyen al confeccionar el frotis, denominándose células o sombras de Gumprecht. Mediante el CellaVision, analizaron las SC de distintas muestras, distinguiendo a los LD como restos celulares, que no conservaban ningún componente estructural, y a las SC similares a NET, que se presentan como restos sin membrana plasmática perceptible, sin citoplasma intacto, gránulos dispersos, núcleos descondensados y congestionados, y proyecciones de cromatina polarizada que se asemejan a redes de araña. De esta forma, al tener el porcentaje de SC, crearon un perfil de cada tipo celular. Para confirmar los hallazgos, demostraron que las SC similares a NET no están presentes en muestras de sangre normales, y que muestran positividad de NET a la Citometría de flujo y a tinciones específicas de neutrófilos. Además, las muestras con SC similares a NET tienen una señal fluorescente lateral fuerte (SFL) en el recuento de blancos y el diagrama de dispersión de glóbulos rojos nucleados (WNR), lo que representa células con alto contenido de ácido nucleico. En comparación con los pacientes con porcentaje bajo de SC, aquellos con alto porcentaje de SC tienen una incidencia mayor de infecciones bacterianas y virales, como lo es Covid-19 (Figura 4).

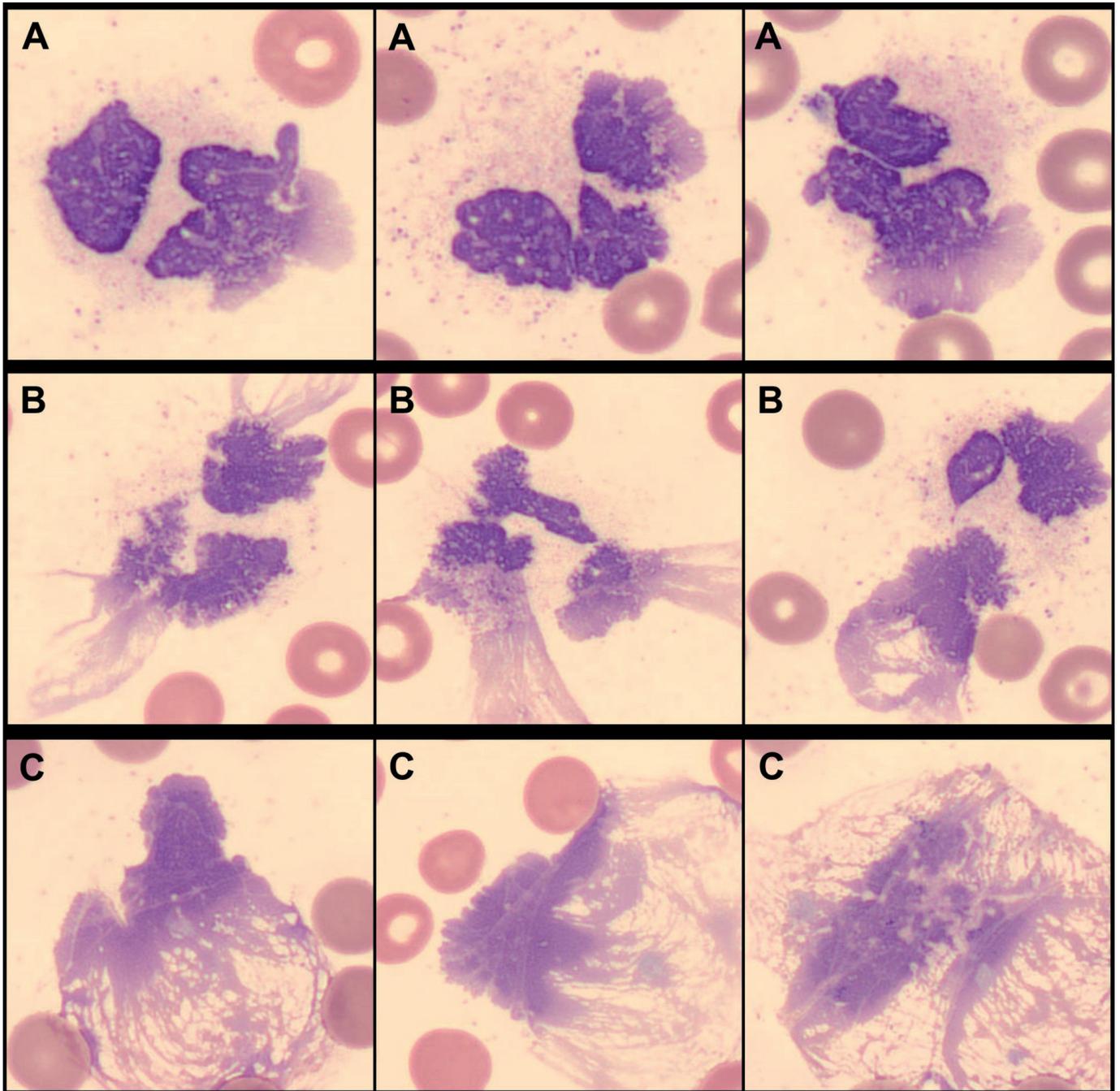


Figura 4

Distintos estadios de formación de NET en pacientes con COVID-19. Imágenes obtenidas con CellaVision DM1200 (Tinción May Grunwald Giemsa aumento 100X).

A) Neutrófilos con citoplasma desarticulado y con desgranulación. En cuanto al núcleo, sus lóbulos tienden a separarse parcial o completamente, la carioteca es cada vez menos definida y la cromatina menos compacta. La descondensación del ADN se evidencia como zonas terminales del núcleo con coloración más clara, que aumentan la superficie celular. B) Citoplasma desarticulado, sin membrana plasmática y con desgranulación. El núcleo se presenta de forma irregular, sin carioteca visible y cromatina laxa. Desde las partes en donde hay mayor descondensación de ADN (zonas más claras), las NET emergen como proyecciones en forma de redes alargadas al exterior de la célula. C) No se distingue citoplasma, debido a la pérdida de la membrana plasmática. El núcleo se presenta irregular y difuso debido a la descondensación considerable del ADN, y las NET abarcan gran parte de la superficie celular.

REFERENCIAS

- Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. *Viruses*. 2020;12(4):1–17. doi: 10.3390/v12040372.
- Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019–Covid-19. *Clin Microbiol Rev*. 2020 Sep;33(4):1–48. doi: 10.1128/CMR.00028-20.
- Rahman S, Montero MTV, Rowe K, Kirton R, Kunik F. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of Covid-19: a review of current evidence. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2021;14(5):601–621. doi: 10.1080/17512433.2021.1902303.
- Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (Covid-19) outbreak. *J Autoimmun*. 2020;109:1–4. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
- Janiuk K, Jabłońska E, Garley M. Significance of nets formation in Covid-19. *Cells*. 2021;10(1):1–12. doi: 10.3390/cells10010151.
- Anka AU, Tahir MI, Abubakar SD, Alsabbagh M, Zian Z, Hamedifar H, et al. Coronavirus disease 2019 (Covid-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management. *Scand J Immunol*. 2021;93(4):0–1. doi: 10.1111/sji.12998.
- Mozzini C, Girelli D. The role of Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19: Only an hypothesis or a potential new field of research? *Thromb Res*. 2020;191:26–27. doi: 10.1016/j.thromres.2020.04.031.
- Magán-Fernández A, Rasheed Al-Bakri SM, O'Valle F, Benavides-Reyes C, Abadía-Molina F, Mesa F. Neutrophil Extracellular Traps in Periodontitis. *Cells*. 2020;9(6):1–18. doi: 10.3390/cells9061494.
- Rosales C. Neutrophil: A cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front Physiol*. 2018;9:1–17. doi: 10.3389/fphys.2018.00113.
- Ackermann M, Anders HJ, Bilyy R, Bowlin GL, Daniel C, De Lorenzo R, et al. Patients with Covid-19: in the dark-NETs of neutrophils. *Cell Death Differ*. 2021;28(11):3125–3139. doi: 10.1038/s41418-021-00805-z.
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(2):134–147. doi: 10.1038/nri.2017.105.
- Brinkmann V. Neutrophil Extracellular Traps in the Second Decade. *J Innate Immun*. 2018;10(5–6):414–421. doi: 10.1159/000489829.
- Agra Cavalcante-Silva LH, Madruga Carvalho DC, de Almeida Lima É, Galvão JG, de França da Silva JS, Marreiro de Sales-Neto J, et al. Neutrophils and Covid-19: The road so far. *Int Immunopharmacol*. 2021;90:1–7. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107233.
- Cesta MC, Zippoli M, Marsiglia C, Gavioli EM, Cremonesi G, Khan A, et al. Neutrophil activation and neutrophil extracellular traps (NETs) in Covid-19 ARDS and immunothrombosis. *Eur J Immunol*. 2023;53(1):1–10. doi: 10.1002/eji.202250010.
- Ravindran M, Khan MA, Palaniyar N. Neutrophil extracellular trap formation: Physiology, pathology, and pharmacology. *Biomolecules*. 2019;9(8):1–15. doi: 10.3390/biom9080365.
- Borges L, Pithon-Curi TC, Curi R, Hatanaka E. Covid-19 and Neutrophils: The relationship between hyperinflammation and neutrophil extracellular traps. *Mediators Inflamm*. 2020;20:1–7. doi: 10.1155/2020/8829674.
- Masuda S, Shimizu S, Matsuo J, Nishibata Y, Kusunoki Y, Hattanda F, et al. Measurement of NET formation in vitro and in vivo by flow cytometry. *Cytom Part A*. 2017;91(8):1–8. doi: 10.1002/cyto.a.23169.
- Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood*. 2019;133(20):2178–2185. doi: 10.1182/blood-2018-11-844530.
- Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, García-Orozco A, Alvarado-Navarro A, Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: An overview. *Front Immunol*. 2017;8:1–20. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081.
- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, et al. Targeting potential drivers of Covid-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020;217(6):1–7. doi: 10.1084/jem.20200652.
- Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med*. 2016;22(2):146–153. doi: 10.1038/nm.4027.
- Kenny EF, Herzig A, Krüger R, Muth A, Mondal S, Thompson PR, et al. Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *ELife*. 2017;6:1–21. doi: 10.7554/eLife.24437.
- Ingelsson B, Söderberg D, Strid T, Söderberg A, Bergh AC, Loitto V, et al. Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(3):478–487. doi: 10.1073/pnas.1711950115.
- De Buhr N, Von Köckritz-Blickwede M. How Neutrophil Extracellular Traps Become Visible. *J Immunol Res*. 2016;16:1–14. doi: 10.1155/2016/4604713.
- Angeletti A, Volpi S, Bruschi M, Lugani F, Vaglio A, Prunotto M, et al. Neutrophil extracellular traps-dnase balance and autoimmunity. *Cells*. 2021;10(10):1–8. doi: 10.3390/cells10102667.
- Demkow U. Molecular Mechanisms of Neutrophil Extracellular Trap (NETs) Degradation. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):1–16. doi: 10.3390/ijms24054896.
- Ma Y, Zhang Y, Zhu L. Role of neutrophils in acute viral infection. *Immunity, Inflamm Dis*. 2021;9(4):1186–1896. doi: 10.1002/iid3.500.
- Schönrich G, Raftery MJ. Neutrophil extracellular traps go viral. *Front Immunol*. 2016;7(366):1–7. doi: 10.3389/fimmu.2016.00366.
- Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA, et al. Neutrophil extracellular traps in Covid-19. *JCI Insight*. 2020;5(11):1–11. doi: 10.1172/jci.insight.138999.
- Veras FP, Pontelli M, Silva C, Toller-Kawahisa J, de Lima M, Nascimento D, et al. SARS-CoV-2 triggered neutrophil extracellular traps (NETs) mediate Covid-19 pathology. *J Exp Med*. 2020;217(12):1–15. doi: 10.1084/jem.20201129.
- Wool GD, Miller JL. The Impact of Covid-19 Disease on Platelets and Coagulation. *Pathobiology*. 2021;88(1):15–27. doi: 10.1159/000512007.
- Colling ME, Kanthi Y. Covid-19-associated coagulopathy: An exploration of mechanisms. *Vasc Med (United Kingdom)*. 2020;25(5):471–478. doi: 10.1177/1358863X20932640.
- 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;395:1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
- Zuo Y, Zuo M, Yalavarthi S, Gockman K, Madison JA, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps and thrombosis in Covid-19. *J Thromb Thrombolysis*. 2021;51(2):446–453. doi: 10.1007/s11239-020-02324-z.
- Jayarangaiah A, Kariyanna PT, Chen X, Jayarangaiah A, Kumar A. Covid-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response. *Clin Appl Thromb*. 2020;26:1–11. doi: 10.1177/1076029620943293.
- Blanch-Ruiz MA, Ortega-Luna R, Martínez-Cuesta MÁ, Álvarez Á. The neutrophil secretome as a crucial link between inflammation and thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):1–23. doi: 10.3390/ijms22084170.
- Risitano AM, Mastellos DC, Huber-Lang M, Yancopoulos D, Garlanda C, Ciceri F, et al. Complement as a target in Covid-19? *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):343–344. doi: 10.1038/s41577-020-0320-7.
- Skendros P, Mitsios A, Chrysanthopoulou A, Mastellos DC, Metallidis S, Rafailidis P, et al. Complement and tissue factor-enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in Covid-19 immunothrombosis. *J Clin Invest*. 2020;130(11):6151–6157. doi: 10.1172/JCI141374.
- Bautista-Becerril B, Campi-Caballero R, Sevilla-Fuentes S, Hernández-Regino LM, Hanono A, Flores-Bustamante A, et al. Immunothrombosis in covid-19: Implications of neutrophil extracellular traps. *Biomolecules*. 2021;11(5):1–19. doi: 10.3390/biom11050694.

40. Blanch-Ruiz MA, Ortega-Luna R, Gómez-García G, Martínez-Cuesta MÁ, Álvarez Á. Role of neutrophil extracellular traps in covid-19 progression: An insight for effective treatment. *Biomedicines*. 2022;10(1):1–18. doi: 10.3390/biomedicines10010031.
41. Keane C, Coalter M, Martin-Loeches I. Immune System Disequilibrium—Neutrophils, Their Extracellular Traps, and Covid-19-Induced Sepsis. *Front Med*. 2021;8:1–12. doi: 10.3389/fmed.2021.711397.
42. Tomar B, Anders HJ, Desai J, Mulay SR. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation in Covid-19. *Cells*. 2020;9(6):1–8. doi: 10.3390/cells9061383.
43. Zhu Y, Chen X, Liu X. NETosis and Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19: Immunothrombosis and Beyond. *Front Immunol*. 2022;13:1–11. doi: 10.3389/fimmu.2022.838011.
44. Pisareva E, Badiou S, Mihalovičová L, Mirandola A, Pastor B, Kudriavtsev A, et al. Persistence of neutrophil extracellular traps and anticardiolipin auto-antibodies in post-acute phase Covid-19 patients. *J Med Virol*. 2023;95(1):1–9. doi: 10.1002/jmv.28209.
45. Behzadifard M, Soleimani M. NETosis and SARS-CoV-2 infection related thrombosis: a narrative review. *Thromb J*. 2022;20(13):1–6. doi: 10.1186/s12959-022-00375-1.
46. Groff D, Sun A, Ssentongo AE, Ba DM, Parsons N, Poudel GR, et al. Short-term and Long-term Rates of Postacute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review. *JAMA Netw Open*. 2021;4(10):1–17. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.28568.
47. Stoian M, Procopiescu B, Şeitan S, Scarlat G. Post-Covid-19 syndrome: Insights into a novel post-infectious systemic disorder. *J Med Life*. 2023;16(2):195–202. doi: 10.25122/jml-2022-0329.
48. Gallegos M, Martino P, Caycho-Rodríguez T, Calandra M, Razumovskiy A, Arias-Gallegos WL, et al. What is post-Covid-19 syndrome? Definition and update. *Gac Med Mex*. 2022;158(6):442–446. doi: 10.24875/GMM.M22000725.
49. Acosta-Ampudia Y, Monsalve DM, Rojas M, Rodríguez Y, Zapata E, Ramirez-Santana C, et al. Persistent Autoimmune Activation and Proinflammatory State in Post-Coronavirus Disease 2019 Syndrome. *J Infect Dis*. 2022;225(12):2155–2162. doi: 10.1093/infdis/jiac017.
50. Taghadosi M, Safarzadeh E, Asgarzadeh A, Roghani SA, Shamsi A, Jalili C, et al. Partners in crime: Autoantibodies complicit in Covid-19 pathogenesis. *Rev Med Virol*. 2023;33(2):1-17. doi: 10.1002/rmv.2412.
51. George PM, Reed A, Desai SR, Devaraj A, Faiez TS, Lavery S, et al. A persistent neutrophil-associated immune signature characterizes post-Covid-19 pulmonary sequelae. *Sci Transl Med*. 2022;14(671):1–16. doi: 10.1126/scitranslmed.abo5795.
52. Pramitasuri TI, Laksmidewi AAAP, Putra IBK, Dalimartha FA. Neutrophil extracellular traps in coronavirus disease-19 associated ischemic stroke: A novel avenue in neuroscience. *Exp Neurobiol*. 2021;30(1):1–12. doi: 10.5607/en20048
53. Saini G, Aneja R. Cancer as a prospective sequela of long Covid-19. *BioEssays*. 2021;43(6):1–5. doi: 10.1002/bies.202000331.
54. Zhang Y, Guo L, Dai Q, Shang B, Xiao T, Di X, et al. A signature for pancreatic cancer prognosis based on neutrophil extracellular traps. *J Immunother Cancer*. 2022;10(6):1–11. doi: 10.1136/jitc-2021-004210.
55. Fisher J, Mohanty T, Karlsson CAQ, Khademi SMH, Malmström E, Frigyesi A, et al. Proteome profiling of recombinant DNase therapy in reducing NETs and aiding recovery in Covid-19 patients. *Mol Cell Proteomics*. 2021;20:1-16. doi: 10.1016/j.mcpro.2021.100113.
56. Zharkova O, Tay SH, Lee HY, Shubhita T, Ong WY, Lateef A, et al. A Flow Cytometry-Based Assay for High-Throughput Detection and Quantification of Neutrophil Extracellular Traps in Mixed Cell Populations. *Cytom Part A*. 2019;95(3):268–278. doi: 10.1002/cyto.a.23672.
57. Gupta S, Chan DW, Zaal KJ, Kaplan MJ. A High-Throughput Real-Time Imaging Technique To Quantify NETosis and Distinguish Mechanisms of Cell Death in Human Neutrophils. *J Immunol*. 2018;200(2):869–879. doi: 10.4049/jimmunol.1700905.
58. Elsherif L, Sciaky N, Metts CA, Modasshir M, Rekleitis I, Burris CA, et al. Machine Learning to Quantitate Neutrophil NETosis. *Sci Rep*. 2019;9(16891):1–12. doi: 10.1038/s41598-019-53202-5.
59. Rebernick R, Fahmy L, Glover C, Bawadekar M, Shim D, Holmes CL, et al. DNA Area and NETosis Analysis (DNA): A High-Throughput Method to Quantify Neutrophil Extracellular Traps in Fluorescent Microscope Images. *Biol Proced Online*. 2018;20(1):1–9. doi: 10.1186/s12575-018-0072-y.
60. Fedorov K, Barouqa M, Yin D, Kushnir M, Billett HH, Reyes Gil M. Identifying Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Blood Samples Using Peripheral Smear Autoanalyzers. *Life*. 2023;13(3):1–14. doi: 10.3390/life13030623.
61. Susman D, Price R, Kotchetkov R. Lymphocytosis with Smudge Cells Is Not Equivalent to Chronic Lymphocytic Leukemia. *Case Rep Oncol*. 2021;14(2):950–956. doi: 10.1159/000516748.

Visão sobre o diagnóstico laboratorial e acompanhamento terapêutico da Puberdade Precoce

Vision on laboratory diagnosis and therapeutic monitoring of Early Puberty

Gabriel Isaac de Oliveira¹, Luiza Tolentino da Hora¹, Anna Elisa Amaro da Silveira²

¹ Acadêmico(a) de Medicina – Centro Universitário de Brusque – UNIFEBE. Brusque, SC, Brasil.

² Mestre Docente – Centro Universitário de Brusque – UNIFEBE. Brusque, SC, Brasil.

Resumo

A puberdade precoce (PP) é uma patologia que há tempos é estudada, porém, ainda na atualidade, encontra-se grande dificuldade no seu diagnóstico e manejo. Dessa forma, efetuou-se uma revisão da literatura, visando sanar dúvidas recorrentes de métodos diagnósticos, bem como dados epidemiológicos e atualizações sobre documentos existentes nas plataformas digitais do Ministério da Saúde, que podem auxiliar os profissionais de saúde que recebem pacientes com sinais e sintomas de PP. Este trabalho buscou expor os dados mais fidedignos e atualizados referentes à patologia, bases diagnósticas e acompanhamento.

Palavras-chave: Diagnóstico Laboratorial; Hormônios; Diagnóstico Precoce

Abstract

Precocious puberty (PP) is a pathology that has been studied for a long time, however, even today, there is a major difficulty in its diagnosis and management. Therefore, a review of the literature was conducted in order to answer recurring questions about the diagnostic methods, as well as epidemiological data and updates on existing documents in the digital platforms of the Health Ministry, which can help health professionals who treat patients with signs and symptoms of PP. This work aimed to expose the most reliable and updated data regarding the pathology, diagnostic bases and care.

Keywords: Early Diagnosis; Hormones; Laboratory Diagnosis

Correspondência

Anna Elisa Amaro da Silveira

E-mail: anna.nascimento@unifebe.edu.br

Recebido em 17/02/2021

Aprovado em 14/03/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202202108

INTRODUÇÃO

A puberdade corresponde ao período transicional entre a infância e a vida adulta, caracterizada pelo aparecimento de caracteres sexuais secundários, aceleração do crescimento e maturação das gônadas, o que promove, conseqüentemente, capacidade reprodutiva e alterações psicológicas em ambos os sexos.^(1,2)

Dois episódios fisiológicos independentes compõem o desenvolvimento puberal: a adrenarca, que é o aumento de andrógenos adrenais e de seus precursores, e a gonadarca, em que há a reativação do eixo gonadotrófico, também denominado hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG).⁽¹⁾

A puberdade advém da elevação de secreção do hormônio hipotalâmico estimulador da secreção de gonadotrofinas (GnRH), que, por sua vez, estimula a secreção dos hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH), os quais irão estimular a secreção dos esteroides sexuais e acarretarão a gametogênese.⁽²⁾

A evolução puberal se baseia nos critérios de Tanner,⁽²⁾ que possuem cinco divisões e dois parâmetros de análise: o desenvolvimento da genitália (no caso das meninas, mamas) e dos pelos pubianos.^(3,4) Para ser considerada precoce, a puberdade deve ocorrer antes dos 8 anos de idade no sexo feminino, e antes dos 9 anos de idade no sexo masculino.⁽¹⁾

No eixo HHG, responsável pela secreção dos hormônios gonadotróficos, há fatores estimuladores e inibidores. A estimulação pode ser ocasionada por fatores nutricionais, de origem metabólica ou por estresse, que atuam no mecanismo de liberação do GnRH.⁽⁵⁾ A puberdade apenas se tornará precoce se o mecanismo de retrocontrole negativo da unidade hipotalâmica-hipofisária não estiver ativo perante os esteroides sexuais e frente à redução de influência dos centros inibitórios.⁽⁶⁾

A puberdade precoce (PP) possui duas classificações principais: a PP verdadeira ou a central (PPC),⁽¹⁾ a qual abrange a maior parte dos casos (cerca de 80%), em que o desenvolvimento das características sexuais secundárias é consequência da ativação preambular do eixo gonadotrófico.⁽²⁾ E, de outra forma, a pseudopuberdade ou PP periférica (PPP), a qual provém da produção autônoma dos esteroides sexuais.⁽¹⁾

A prevalência da PP é descrita na literatura como majoritariamente feminina. Estudos publicados no Brasil e com dados nacionais estipularam que 95% das crianças diagnosticadas com PP eram meninas.⁽⁶⁾ Segundo a Portaria nº 111, de 23 de abril de 2010, do Ministério da Saúde (MS), a frequência de crianças meninas afetadas com PP é de 10 a 23 vezes maior

que em meninos.⁽²⁾ Demais estudos descrevem uma estimativa de que a cada 100.000 meninas, 15 a 29 desenvolvam PP a cada ano. Há também o aumento da incidência de casos de PP em uma população específica, acreditando-se que fatores como obesidade podem estar relacionados ao aumento da secreção de hormônios de maneira prévia.⁽⁷⁾

Quando a secreção dos hormônios sexuais ocorre de maneira antecipada, induz a aceleração do crescimento e a fusão precoce das epífises ósseas, o que torna prévio o final do crescimento. Este evento pode comprometer a estatura final, uma vez que esta condição está relacionada ao estirão da puberdade que ocorre durante o pico de maturação precoce, mas que estaciona após o fim da puberdade.⁽⁸⁾ Nos casos de PPC pode haver, inclusive, iniciação da vida sexual prematura.⁽⁶⁾ Entretanto, em algumas crianças, mesmo tendo iniciado a puberdade de forma antecipada, ela contém uma evolução lenta e não compromete a altura na fase adulta.⁽²⁾ Dessa maneira, a avaliação do progresso de 3 a 6 meses pode contribuir na determinação de necessidade ou não de tratamento nos casos de puberdade em estágios iniciais.⁽²⁾

A portaria de 2017, publicada pelo MS, apresenta, ainda, uma atualização na conduta terapêutica: normas sobre assistência farmacêutica para essa patologia. O documento adverte sobre os medicamentos disponíveis dentro do Sistema Único de Saúde (SUS) para o tratamento da PP, mais precisamente da PPC, bem como os anexos obrigatórios para o requerimento de tais agentes terapêuticos, administração, prescrição máxima, monitoramento, fatores de exclusão, tempo de tratamento, se há possibilidade de associação medicamentosa, além de expressar as especialidades médicas responsáveis por requerer os exames e solicitar os fármacos descritos no referido documento.⁽⁹⁾

A avaliação e o encaminhamento de crianças suspeitas de PP é um desafio para o sistema de saúde, pois os sintomas não são clássicos e podem estar vinculados a outras patologias por não serem patognomônicos da doença.⁽⁵⁾ Assim, este trabalho tem como objetivo colher na literatura as formas mais atualizadas e fidedignas de diagnóstico e acompanhamento da PP.

DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO

O diagnóstico e a diferenciação da PP são clínicos e laboratoriais. Eles estão baseados em anamnese, exame físico, testes radiológicos e hormonais, citologia vaginal e ecografia pélvica. Em crianças do sexo feminino, a avaliação é feita através do crescimento mamário e pelos pubianos,

e em crianças do sexo masculino verifica-se o tamanho dos genitais (volume testicular) e aparecimento de pelos pubianos e axilares, seguindo os critérios de Tanner para desenvolvimento puberal.⁽⁷⁾

Há indicações, inclusive, de que durante a anamnese faz-se necessária atenção para as características faciais dos indivíduos portadores de PP.⁽¹⁰⁾ Oleosidade da pele, presença de acne com vínculo de puberdade e odores axilares podem ser indícios físicos de maturação sexual e, dependendo da idade, serão precoces. A obesidade também está relacionada com a PP, seja no vínculo com a liberação hormonal, ou até mesmo evidenciando a dificuldade na avaliação primária para afirmação da presença de telarca. Há a necessidade do exame físico, como a palpação, para evidenciar a presença da formação mamária, ou apenas o aumento tecidual por consequência do aumento de peso.⁽⁵⁾

Deve-se considerar suspeito o aparecimento dos caracteres sexuais secundários antes dos 8 anos em meninas e antes dos 9 em meninos. A manifestação inicial em meninas é o surgimento do botão mamário e em meninos o aumento do volume testicular maior ou igual a 4mL (Tanner II para ambos os sexos).⁽²⁾ É necessário, também, monitorar a velocidade de progressão dos mesmos para os estágios subsequentes de Tanner. Em média, o intervalo entre dois estágios puberais é de um ano, sendo que intervalos inferiores a seis meses devem ser considerados anormais e podem indicar que o paciente esteja com puberdade patológica.^(2,11,12)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial da PP, como visto, permite diferenciar se há alteração hormonal e justificar a precocidade de crescimento sexual. Dosam-se como conduta laboratorial os esteroides sexuais (LH e FSH), o hormônio do crescimento (GH) e a Somatomedina (IGF-1).⁽⁵⁾ Alguns autores defendem, em seus estudos, a avaliação dos hormônios basais no diagnóstico preliminar da PP, justificando esse fato ao aumento da sensibilidade analítica nas dosagens basais, o que poderia evitar a exposição da criança ao teste de estímulo.⁽¹³⁾

A abordagem laboratorial, em presença de um diagnóstico de puberdade precoce, permitirá caracterizar se o processo tem origem central ou periférica. Esta caracterização da origem do processo que leva à puberdade assume enorme importância na conduta terapêutica e no prognóstico.^(2,14)

O diagnóstico diferencial entre as formas de puberdade precoce baseia-se nas dosagens das gonadotrofinas em

condição basal e/ou após estímulos com GnRH. Como padrão ouro, o teste com hormônio estimulador de gonadotrofinas consiste na administração endovenosa de 100µg de GnRH com coletas de LH e FSH nos tempos de 0, 15, 30, 45 e 60 minutos. Um pico de LH >9,6 UI/L em meninos e >6,9 UI/L em meninas representa resposta puberal e, conseqüentemente, confirma diagnóstico de PPC.

Com exceção do teste GnRH, os testes que dosam as gonadotrofinas basais, por meio de anticorpos monoclonais, também podem ser utilizados para determinação de PPC. São exemplos a quimioluminescência (ICMA), a eletroluminescência (ECLIA) e o imunofluorométrico (IFMA).^(14, 1)

Um grupo de proteínas Kisspeptina também pode estar relacionado ao desenvolvimento puberal precoce, o que poderá futuramente resultar em uma avaliação a nível familiar dos envolvidos no processo de diagnóstico puberal. A reprodução está intimamente ligada à neuroanatomia funcional, o que pode tornar compreensível o vínculo de estudos acerca do gene *Kiss1* entre os envolvidos no processo, como pais biológicos e irmãos.⁽¹⁰⁾

DIAGNÓSTICO POR EXAMES DE IMAGEM

Além do diagnóstico laboratorial, há também o diagnóstico por exames de imagem. As imagens são importantes na determinação da idade óssea (IO) da criança, em que duas radiografias realizadas com intervalo mínimo de seis meses devem ser examinadas pelo mesmo observador, utilizando o método Tanner-Whitehouse (TW-20) para 20 núcleos das mãos e punhos, determinando avaliação da IO.

Salvo a idade óssea, é de suma relevância a verificação, por meio de ultrassom, do útero e ovários femininos, à procura de cistos e processos neoplásicos.

Ademais, deve-se fazer uma avaliação anatômica do SNC – após diagnóstico de PPC – para detecção de possíveis lesões expansivas no sistema nervoso, como hamartomas hipotalâmicos de pequenas dimensões. A ressonância magnética é a forma adequada de exame nestes casos.^(11, 1)

CONCLUSÃO

Abordar uma doença sem a presença de sinais e sintomas clássicos é um desafio para o diagnóstico médico. Diagnosticar PP pode ser uma tarefa um tanto complicada, visto que sua fisiopatologia é complexa e o diagnóstico depende exclusivamente de um olhar clínico e apurado do médico.

A abordagem multifatorial no tratamento e acompanhamento da PP é essencial, pois engloba aspectos não só orgânicos, como é o caso de alterações hormonais, mas também psicológicos, fator que pode contribuir para o surgimento da patologia. Dessa forma, as diretrizes e normas sobre a terapêutica são de grande ajuda no manejo e acompanhamento do paciente com PP.

Este trabalho, por sua vez, procurou retratar as informações mais relevantes e atualizadas sobre a fisiopatologia da PP, o manejo do paciente com a doença e seu acompanhamento, podendo, assim, auxiliar os profissionais da saúde, que frequentemente encontram dificuldades nesses aspectos em sua prática clínica, ou interessados sobre o assunto.

Por vezes, a suspeita diagnóstica recai sobre a assistência, o atendimento de base, as unidades básicas de saúde. É necessária a amplitude de informações para que profissionais clínicos tenham acesso ao manejo de diagnóstico e encaminhamento.

REFERÊNCIAS

- Vilar L. Endocrinologia Clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2019.
- Ministério da Saúde (Brasil). Portaria SAS/MS nº 111, 23 de abril de 2010. Puberdade Precoce Central. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas [Internet]. 2010; vol 1. Disponível em: <http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_clinicos_diretrizes_terapeuticas_v1.pdf>
- Desenvolvimento Puberal Masculino. Critérios de Tanner Genitália G1 [Internet]; [citado em 18 Feb 2021]. Disponível em: <https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2016/10/EstgioPuberal.Tanner-Meninos.pdf>
- Desenvolvimento Puberal Feminino Critérios de Tanner [Internet]; [citado em 18 Feb 2021]. Disponível em: <https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2016/10/EstgioPuberal.Tanner-Meninas.pdf>
- Kaplowitz P, Bloch C. Evaluation and Referral of Children With Signs of Early Puberty. Pediatrics [Internet]. 2015 Dec 14 [citado em 17 Feb 2021]; 137(1):e20153732. Disponível em: <<https://pediatrics.aappublications.org/content/137/1/e20153732.long>>
- Wanderley J, Luciano Lima Correia, Durval Damiani. Puberdade precoce: condições associadas. Revista Brasileira em Promoção da Saúde [Internet]. 2014 [citado em 18 Feb 2021];27(2):153–62. Disponível em: <<https://periodicos.unifor.br/RBPS/article/view/2325>>
- Kim SH, Huh K, Won S, Lee K-W, Park M-J. A Significant Increase in the Incidence of Central Precocious Puberty among Korean Girls from 2004 to 2010. Gonzalez-Bulnes A, editor. PLOS ONE [Internet]. 2015 Nov 5 [citado em 17 Feb 2021];10(11):e0141844. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4634943/>>
- Guaraldi F, Beccuti G, Gori D, Ghizzoni L. Management of endocrine disease: Long-term outcomes of the treatment of central precocious puberty. European Journal of Endocrinology [Internet]. 2016 Mar [citado em 18 Feb 2021];174(3):R79–87. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26466612/>>
- Secretaria de Estado de Saúde (Santa Catarina). Portaria SAS/MS nº 03, 08 de junho de 2017. Puberdade precoce central (PPC). [Internet]. 2018; Disponível em: <<https://www.saude.sc.gov.br/index.php/informacoes-gerais-documentos/assistencia-farmaceutica/componente-especializado-da-assistencia-farmaceutica-ceaf/protocolos-clinicos-ter-resumos-e-formularios/puberdade-precoce-central/12778-resumo-puberdade-precoce-central/file>>
- Taziaux M, Staphorsius AS, Ghatei MA, Bloom SR, Swaab DF, Bakker J. Kisspeptin Expression in the Human Infundibular Nucleus in Relation to Sex, Gender Identity, and Sexual Orientation. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism [Internet]. 2016 Jun 1 [citado em 17 Feb 2021];101(6):2380–9. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jcem/article/101/6/2380/2804768>>
- Monte O, Longui CA, Calliari LEP. Puberdade precoce: dilemas no diagnóstico e tratamento. Arq Bras Endocrinol Metab [Internet]. 2001 Març 13 [citado em 18 Feb 2021]; 45(4). Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302001000400003&script=sci_arttext>
- Silva ACCS, Adan LFF. Crescimento em meninos e meninas com puberdade precoce. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia [Internet]. 2003 Aug [citado em 18 Feb 2021]; 47(4):422–31. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000400014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>
- Chin VL, Cai Z, Lam L, Sah B, Zhou P. Evaluation of puberty by verifying spontaneous and stimulated gonadotropin values in girls. J Pediatr Endocrinol Metab [Internet]. 2015 mar [citado em 18 Feb 2021]; 28:387–392. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/PMC/4767152>>
- Damiani D. Diagnóstico Laboratorial da Puberdade Precoce. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia [Internet]. 2002 Feb [citado em 18 Feb 2021]; 46(1):85–90. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302002000100012&script=sci_arttext>

Ocorrência de infecção urinária comunitária em pacientes atendidos em laboratório privado em Belém – PA

Occurrence of community urinary tract infection in patients treated at a private laboratory in Belém – PA

Lorena Caroline Xavier dos Passos¹, Mioni Thieli Figueiredo Magalhães de Brito²

¹ Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Pará. Belém, PA, Brasil.

² Professora, Universidade Federal do Pará. Belém, PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: Descrever a ocorrência de infecção urinária comunitária e a resistência aos antibióticos em pacientes atendidos num laboratório particular na cidade de Belém. **Métodos:** Realizou-se um estudo epidemiológico descritivo de 2.686 pacientes, no período de março de 2019 a março de 2020, em que as informações foram organizadas e tabuladas no programa software Microsoft Office Excel 2013, de acordo com idade, sexo, bactérias e antibióticos resistentes. **Resultados:** Em relação ao sexo, as mulheres apresentaram 93,1% dos casos. A faixa etária de maior incidência está em pacientes de 18 a 49 anos, a marcar 53,2%. O patógeno de maior ocorrência foi a *Escherichia coli*, com 59,35%. No caso de resistência bacteriana, a cefalotina liderou com 20,33%. **Conclusão:** As mulheres lideram o número de casos, que são ocasionados por diversos fatores, entre eles as questões anatômicas. Uma das faixas etárias mais atingidas com infecção urinária é a de jovens e adultos. Os bacilos Gram-negativos entéricos são os patógenos com a maior incidência de casos de infecção urinária comunitária. A cefalosporina de primeira geração cefalotina é o fármaco com maior ocorrência de resistência bacteriana.

Palavras-chave: Farmacorresistência Bacteriana; Antibacterianos; Bactérias.

Abstract

Objective: To describe the occurrence of community urinary tract infection and antibiotic resistance in patients treated in a private laboratory in the city of Belém. **Methods:** A descriptive epidemiological study of 2686 patients was carried out from March 2019 to March 2020, in that the information was organized and tabulated in the Microsoft office excel 2013 software program, according to age, gender, resistant bacteria and antibiotics. **Results:** Regarding gender, women presented 93.1% of cases. The age group with the highest incidence is in patients between 18 and 49 years old, with 53.2%. The most common pathogen was *Escherichia coli* with 59.35%. In the case of bacterial resistance, cephalothin led with 20.33%. **Conclusion:** Women lead the number of cases, which are caused by several factors, including anatomical issues. One of the age groups most affected by urinary tract infections is young people and adults. Enteric Gram-negative bacilli are the pathogens with the highest incidence of cases of community urinary tract infection. First-generation cephalosporin cephalothin is the drug with the highest occurrence of bacterial resistance.

Keywords: Urinary Tract Infections; Bacteria; Microbial Sensitivity Tests.

Correspondência

Mioni Thieli Figueiredo Magalhães de Brito

E-mail: mionibrito@gmail.com

Recebido em 04/06/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202149

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) é uma patologia extremamente comum que atinge pacientes de todas as idades, sendo mais frequente em pacientes do sexo feminino.⁽¹⁾ Esta patologia pode afetar a região da bexiga (cistite), a uretra (uretrite) e até um ou ambos os rins, causando a pielonefrite. A ITU caracteriza-se como uma enfermidade de ocorrência constante, devido à anatomia do sistema urinário feminino, pois a uretra feminina possui um comprimento inferior a 5cm, facilitando a contaminação por microrganismos intestinais. Nesse sentido, a cistite pode se manifestar de maneira assintomática ou sintomática.⁽²⁾ Logo, é importante que o diagnóstico seja feito de maneira precoce, pois evita complicações futuras como lesões renais.

A ITU pode ser classificada como complicada ou não complicada. A cistite é considerada não complicada e a pielonefrite complicada, pois apresenta modificações funcionais e estruturais no sistema urinário, os microrganismos ficam concentrados no trato urinário inferior e são frequentemente relacionadas com a presença de cálculos renais.⁽³⁾

O diagnóstico de ITU é feito a partir da análise do sedimento urinário, que indica o crescimento bacteriano na urina a partir da quantificação da leucocitúria (piócitos), a apontar pelo menos 105 unidades formadoras de colônia (100.000 UFC/ml) na urina colhida a partir do jato médio e de maneira asséptica. A urocultura é feita de acordo com a quantidade de piócitos, para identificação do agente etiológico presente na amostra. O antibiograma será feito para a escolha do antibiótico mais adequado ao tratamento.⁽¹⁾

Os agentes etiológicos mais comuns na infecção urinária são os da família *Enterobacteriaceae*, sendo a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* não patogênica, responsável por 75% dos casos de infecção do trato urinário, seguido de outros Gram-negativos como *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* Entre os cocos Gram-positivos podemos destacar as infecções por *Staphylococcus saprophyticus*.^(1,2)

No decorrer dos anos, com a evolução da medicina que ampliou as possibilidades de tratamento, além do avanço científico e tecnológico que possibilitou o desenvolvimento de fármacos capazes de tratar infecções bacterianas, observou-se redução da mortalidade por estas doenças. No entanto, ao mesmo tempo em que ocorreu a diminuição drástica da mortalidade, iniciou-se a resistência aos antibióticos, com o uso indevido de antimicrobianos pela população, ocasionando um problema de saúde pública. Desta maneira, é de

suma importância que ocorra o monitoramento de resistência e sensibilidade bacteriana para evitar o surgimento de bactérias multirresistentes.^(4,5)

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é descrever a ocorrência de infecção urinária em pacientes atendidos em um laboratório particular em Belém do Pará em relação a sexo, idade e agente etiológico e descrever o perfil de resistência aos antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no período de março de 2019 a março de 2020, na Clínica e Laboratório Abraham, estabelecimento localizado no bairro de Canudos em Belém do Pará. Foram analisadas 2.686 amostras de pacientes com urocultura positiva e antibiograma. Os dados foram coletados a partir do sistema de banco de dados da Clínica e Laboratório Abraham.

Os dados foram organizados e tabulados pelo programa de computador Microsoft Office Excel (2013), de acordo com idade, sexo, bactérias isoladas e antibióticos com o perfil de resistência no antibiograma.

ÉTICA

Por se tratar de pesquisa envolvendo aplicação de testes e tratamentos clínicos nos indivíduos, tal procedimento pressupõe a utilização do consentimento livre e esclarecido conforme explicitado no capítulo IV da Resolução CNS 466/12 (BRASIL, 2012) O projeto foi submetido a um Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, através da Plataforma Brasil.

RESULTADOS

Foram analisadas 2.686 amostras coletadas do banco de dados da Clínica e Laboratório Abraham em Belém, nos períodos de março de 2019 a março de 2020. Dessas amostras, 2.500 (93,1%) foram de pacientes do sexo feminino e 186 (6,9%) foram do sexo masculino (Tabela 1).

Tabela 1

Distribuição de pacientes atendidos na Clínica e Laboratório Abraham durante o período de março-2019 a março de 2020, por sexo.

Sexo	N	%
Feminino	2.500	93,1
Masculino	186	6,9
Total	2.686	100

Em relação à faixa etária, os pacientes foram organizados em três grupos: de 18 a 29 anos, de 30 a 49 anos e 50 ou mais anos, de acordo com a Tabela 2.

Pacientes de 18 a 29 anos foram contabilizados em 1.428 (53,2%), já os pacientes de 30 a 49 anos contabilizaram 745 (27,7%) e de 50 ou mais a contagem foi de 513 (19,1%). A faixa etária com o maior número de ocorrência da patologia foi a de 18 a 29 anos, a indicar 1.428 (53,2%) dos casos identificados.

Tabela 2

Distribuição de pacientes atendidos na Clínica e Laboratório Abraham durante o período de março-2019 a março-2020, por faixa etária.

Idade	N	%
18 a 29	1.428	53,2
30 a 49	745	27,7
50 ou mais	513	19,1
Total	2.686	100

Os agentes etiológicos mais frequentemente isolados nas culturas bacterianas foram os bacilos Gram-negativos entéricos, em que a *Escherichia coli* se mostrou positiva em 1.594 culturas (59,35%), *Enterobacter* sp. em 755 (28,1%), *Edwardsiella* sp. em 39 (1,45%), *Proteus mirabilis* em 31 (1,15%) *Salmonella* sp. em 21 (0,8%), *Proteus vulgaris* em 8 (0,3%) e *Klebsiella* sp. em 1 (0,03), conforme demonstrado na Tabela 3. Dentre os cocos Gram-positivos, o maior número de culturas positivas revelou *Staphylococcus saprophyticus*, com 152 (5,65%) exames positivos seguidos por *Staphylococcus epidermidis*, com 85 (3,17%).

Tabela 3

Ocorrência de acordo com os agentes etiológicos.

Bactérias	N	%
<i>Enterobacter</i> sp.	755	28,1
<i>Escherichia coli</i>	1.594	59,35
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	152	5,65
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	85	3,17
<i>Proteus mirabilis</i>	31	1,15
<i>Proteus vulgaris</i>	8	0,3
<i>Salmonella</i> sp.	21	0,8
<i>Edwardsiella</i> sp.	39	1,45
<i>Klebsiella</i> sp.	1	0,03
Total	2.686	100

Quanto ao perfil de resistência bacteriana no exame de antibiograma, a cefalotina lidera o grupo com 776 (20,33%) exames, seguida da tetraciclina com 646 (16,9%), ácido nalidixico com 600 (15,71%), nitrofurantoina com 388 (10,16%), amoxicilina com 385 (10,1%), norfloxacin com 273 (7,15%), penicilina G com 138 (3,6%), ciprofloxacina com 37 (3,6%), oxacilina com 124 (3,24%), gentamicina com 71 (1,9%), ceftazidima com 71 (1,9%), Eritromicina com 48 (1,25%), clindamicina com 50 (1,3%), amicacina com 49 (1,3%), vancomicina com 30 (0,8%), cefepima com 21 (0,5%) e imipenem com 10 (0,26%) de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4

Relação de resistência aos antibióticos

Antibiótico	N	%
Ácido Nalidixico	600	15,71
Amicacina	49	1,3
Amoxicilina	385	10,1
Cefalotina	776	20,33
Cefepima	21	0,5
Ceftazidima	71	1,9
Ciprofloxacina	37	3,6
Clindamicina	50	1,3
Eritromicina	48	1,25
Gentamicina	71	1,9
Imipenem	10	0,26
Nitrofurantoina	388	10,16
Norfloxacin	273	7,15
Oxacilina	124	3,24
Penicilina G	138	3,6
Tetraciclina	646	16,9
Vancomicina	30	0,8
Total	3.717	100

DISCUSSÃO

Este estudo indicou que o maior índice de infecção urinária encontrado na população selecionada foi de mulheres. Dias et al. (2003)⁽⁶⁾ aponta que a infecção urinária acomete ambos os sexos, especialmente mulheres na idade sexualmente ativa. As mulheres estão predispostas a adquirir infecção urinária devido à anatomia feminina, uma vez que a frequência de atividade sexual, o uso de espermicidas e as questões de higiene são considerados fatores de risco, pois

facilitam a contaminação perianal em relação aos homens, principalmente devido à anatomia masculina, como a posição da uretra e a falta de contato perianal, dificultando, assim, a proliferação de microrganismos.⁽⁷⁾ Esses fatores de predisposição refletem nas taxas de infecção nas mulheres, que apontam ser oito vezes maior do que nos homens, visto que 20% a 48% das mulheres apresentam pelo menos um caso de infecção urinária na vida.^(8,9)

Em relação à faixa etária, existem estudos que apontam que a idade dos pacientes varia de 1,3 anos a 91 anos, em que a maior concentração é encontrada na faixa etária de 12 a 33 anos;⁽²⁾ já outros estudos apresentam que o maior número de casos da patologia está entre a faixa etária de 13 a 40 anos de idade.⁽¹⁰⁾

Contudo, como foi possível detectar a partir da coleta de dados, no estudo deste trabalho, pode-se observar que o grupo com o maior número de casos foi o da faixa etária de 18 a 29 anos, com 53,2% dos casos, seguido pelo grupo com a faixa etária de 30 a 49 anos (27,7%), a indicar que o grupo mais atingido pelos casos de infecção urinária são os jovens e adultos entre 18 a 49 anos de idade.

Os bacilos Gram-negativos são os maiores causadores de ITU, em especial a *Escherichia coli*, seguida por *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp. Entre os cocos Gram-positivos, o *Staphylococcus saprophyticus* tem sido considerado a segunda maior causa de infecção urinária.⁽¹¹⁾

Os germes habitantes do trato intestinal, bacilos Gram-negativos, são responsáveis por 85% das infecções do trato urinário, tendo a *Escherichia coli* como a mais comum, seguida dos gêneros *Proteus* sp., *Klebsiella* sp. e *Enterobacter* sp. Já em relação aos cocos Gram-positivos temos os gêneros *Enterococcus faecalis* sp., algumas espécies do gênero *Staphylococcus* sp.⁽¹²⁾

Os bacilos Gram-negativos foram responsáveis pelo maior número de ocorrências de infecção urinária neste estudo, sendo a *Escherichia coli* a maior causadora, com 59,35% dos casos, seguido de *Enterobacter* sp. com 28,1%. Em relação aos cocos Gram-positivos, o gênero *staphylococcus* sp. aparece com o *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus epidermidis*, como os maiores causadores de ITU com 5,65% e 3,17%, respectivamente.

O tratamento com antibióticos pode ser iniciado de maneira empírica, devido ao tempo de espera do resultado de um antibiograma (3 a 4 dias para ser liberado), portanto são levados em consideração o patógeno causador mais

provável, o padrão da região de resistência aos antibióticos e o histórico do paciente em relação ao uso de antibióticos. Alguns fármacos são considerados de primeira escolha para o tratamento de infecção urinária comunitária em adultos, como norfloxacina, cefalotina, sulfametoxazol/trimetoprima (SMZ-TMP), ácido nalidíxico.⁽⁹⁾

Escherichia coli, *Klebsiella* sp. e *Proteus* sp. apresentam o maior índice de resistência aos antibióticos. Os fármacos que mais apresentam resistência a esses microrganismos são sulfametoxazol-trimetoprim com média de 46,6%, seguido pela cefalotina (46,7%), ácido nalidíxico (27,6%) e nitrofurantoína (22,3%).⁽⁹⁾

Tanto as quinolonas como os ácidos nalidíxico, ciprofloxacina, norfloxacina, são utilizados no tratamento de cistite não complicada, pois possuem um amplo espectro de atividade e são extremamente ativas contra as *Enterobacteriaceae*. Seu mecanismo de ação envolve a inibição da síntese do DNA bacteriano, bloqueando a DNA-girase, e com isso o mecanismo de resistência da bactéria é inibido.⁽¹¹⁾

As cefalosporinas são recomendadas em caso de resistência às quinolonas, como a cefalotina, e os seus mecanismos de ação são análogos aos da penicilina, uma vez que se ligam aos receptores de penicilina (PLPs), que atuam como receptores de fármacos nas bactérias, bloqueiam a transpeptidação do peptidoglicano, inibindo a síntese da parede celular da bactéria, e ativam as enzimas autolíticas, responsáveis por causar lesões celulares e, conseqüentemente, a morte bacteriana.⁽¹¹⁾

Neste estudo foi identificado que a cefalotina é o antibiótico com maior ocorrência de resistência bacteriana (20,33%), seguido de tetraciclina (16,9%) e ácido nalidíxico (15,71%). É interessante analisar os fármacos cefalotina e ácido nalidíxico, pois são considerados medicamentos de primeira escolha no tratamento de infecção urinária comunitária em adultos, portanto evidencia o emprego frequente desses antibióticos, conseqüentemente ocasionando o aumento do percentual de resistência aos antibióticos.

A resistência bacteriana é considerada uma evolução genética natural do microrganismo em seu ambiente.⁽⁹⁾ Existem bactérias que podem se duplicar em até 20 minutos, favorecendo assim a multiplicação de várias gerações em curto período. O emprego de inúmeros antibióticos durante essas evoluções favorece o aparecimento de bactérias resistentes.⁽⁹⁻¹⁴⁾

Há resistências que são adquiridas pelo uso indevido de antibióticos, uma vez que a bactéria que era sensível ao medicamento torna-se, posteriormente, resistente.⁽¹⁵⁾

Já outras bactérias se tornam resistentes devido a alguns mecanismos, como é o caso das bactérias Gram-negativas, em especial a *Escherichia coli*, pois produzem bombas de resistência a múltiplos fármacos (MDR). Esta bomba permite que a célula expulse o fármaco para fora da célula, impedindo a danificação e morte celular. Os genes responsáveis pela codificação dessas bombas estão localizados nos plasmídeos que as bactérias recebem durante a conjugação. As bactérias que recebem esses plasmídeos são resistentes a diversos fármacos.⁽¹⁵⁾

Logo, a automedicação e o uso inadequado de antibióticos são fatores que favorecem a resistência aos antibióticos. Portanto o profissional farmacêutico é essencial no momento da dispensação, sendo uma das fases mais importantes da educação em saúde, um momento em que o profissional entra em contato com o paciente, podendo auxiliá-lo na terapia medicamentosa e assim evitar problemas futuros em relação à resistência das bactérias.

CONCLUSÕES

Este estudo concluiu que o grupo com o maior número de casos de infecção urinária foi o feminino, com 93,1% dos casos. A faixa etária com a maior ocorrência é o grupo de 18 a 49 anos, com 53,2% dos casos. Os bacilos Gram-negativos são os patógenos com a maior incidência, como a *Escherichia coli*, responsáveis por 59,35% dos casos, seguida pela *Enterobacter sp.* com 28,1%. No perfil de resistência, a cefalotina apresenta 20,33%, já a tetraciclina, com 16,9% e, por fim, o ácido nalidíxico, com 15,71%.

O conhecimento da ocorrência e resistência aos antibióticos em infecção urinária é importante para sensibilizar a população em relação ao cuidado com a sua saúde, pois é uma patologia comum, que afeta todos os sexos e todas as idades. Existem grupos que são mais suscetíveis a adquirir infecção, a exemplo as mulheres, por motivos anatômicos, fisiológicos.

Também há bactérias com mecanismos naturais de resistência aos antibióticos, outras bactérias tornam-se resistentes pelo uso inadequado da população, uma vez que as bactérias que eram sensíveis se tornam resistentes depois do uso prolongado. Portanto, é importante que a população entenda os riscos do tratamento com antibióticos e da importância de o tratamento ser feito da maneira correta. O farmacêutico é essencial na dispensação e na promoção do uso racional de medicamentos, auxiliando no tratamento, e buscando, assim, diminuir os riscos de resistência aos antibióticos.

SUPORTE FINANCEIRO

O projeto foi totalmente financiado pela Clínica e Laboratório Abraham.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus por ter me dado força nessa difícil caminhada, cheia de altos e baixos. Aos meus professores, que ao longo da minha formação escolar – desde o pré até ao fim da minha graduação – sempre me deram suporte. Sem eles eu não seria a pessoa que sou hoje. À minha família, por todo o suporte amoroso, financeiro e educacional, principalmente aos meus pais Nemias Araujo dos Passos e Adjeane Cristina Xavier dos Passos, por terem feito tudo o que podiam e até o que não podiam por mim. Às minhas tias Ana Cristina e Adenice Cristina, por todo o suporte. À minha avó Olandina Xavier, por todos os ensinamentos passados da sua experiência de vida e ancestralidade. Aos meus amigos do ensino fundamental, ensino médio e da graduação, por todo o apoio emocional durante essa caminhada. Obrigada à Universidade Federal do Pará por todos os ensinamentos que trouxe à minha vida, nunca irei esquecer!

REFERÊNCIAS

1. Swei LOD, et al. Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*.35(2). 93-98; 2013.
2. Soares LA, Nishi CYM, Wagner H L. Isolamento das bactérias causadoras de infecção urinária e seu perfil de resistência aos antimicrobianos. *Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade*. V2, n6, 2006.
3. Lopes HV, Tavares B. Diagnóstico das infecções do trato urinário. *Revista da Associação Médica Brasileira*.51(6): 301-312; 2005.
4. Filho AC, Camargo AS, Barbosa FA, Lopes TF, Lopes YR. Estudo do perfil de resistência antimicrobiana das infecções urinárias em mulheres atendidas em hospital terciário. *Rev. Bras. Clín. Med.* 11(2) abr-jun 2013.
5. Silveira GP, Nome F, Gesser JC, Sá MM, Terenzi H. Estratégias utilizadas no combate à resistência bacteriana. *Quím. Nova*. 2006; 29(4).
6. Dias Neto JA, Magalhães da Silva LD, Martins ACP, Tiraboschi RB, Domingos AA, Suaid HJ, Tucci Jr S, et al. Prevalence and bacterial susceptibility of hospital acquired urinary tract infection. *Acta Cir Bras*. 2003; 18: 36-8.
7. Braoios A, et al. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos. *J Bras Patol Med Lab*. v. 45, n. 6, p.449-456, dezembro 2009.
8. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. 8ª ed. São Paulo: Artmed Editora SA Copyright 2005.
9. Koch CR, Ribeiro JC, Schor OH, Zimmermann BS, Müller FM, Agostin JD, et al. Resistência antimicrobiana dos uro-patógenos em pacientes ambulatoriais. *Rev. Soc. Bras. Med.Trop.* 2008;41(3):277-81.
10. Beraldo-Massoli MC, Nardi CP, Makino LC, Schocken-Iturrino RP. Infecções urinárias e suscetibilidade aos antimicrobianos. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2012;45(3): 318-21.

11. Heilberg IP et al. Abordagem diagnóstica e terapêutica da infecção do trato urinário – ITU. *Rev Assoc Med Bras* 2003; 49(1): 109-16.
12. Robbins SL. In: Robbins SL, *Patologia Estrutural e Funcional*; 6ª ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro-RJ. 2000, 834-892.
13. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schereckenberger PC, Winn Jr. WC. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e atlas colorido*, 2001. 5 ed. Rio de Janeiro. MEDSI.
14. Narciso A, Lito L, Cristino JM, Duarte A. *Escherichia coli Uropatogênica: Resistência aos Antibióticos Versus Factores de Virulência*. *Acta Urol.* 2010; 27(2):11-20.
15. Fio FSD, Filho TRM, Groppo FC. Resistência bacteriana. Acesso em: 01 Jun 2021. Disponível em: <http://www.portaleducacao.com.br/odontologia/artigos/2835/resistencia-bacteriana>.
16. Narin N, Luiza VL, Castro CGSO, Santos SM. *Assistência farmacêutica para gerentes municipais*. Rio de Janeiro: OPAS/OMS; 2003. Disponível em: <http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/arquivos/assistenciafarmaceutica/afgm.pdf>.

Saúde dos idosos: pesquisa de sangue oculto nas fezes

Elderly Health: feces hidden blood research

Kelly Kroth¹, Karin Silva Caumo², Lenilza Mattos Lima³

¹ Graduação em Farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

² Doutor. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

³ Mestre. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, Brasil.

Resumo

Objetivo: O presente estudo teve por finalidade verificar a ocorrência de sangue oculto nas fezes de participantes de grupos de idosos de Florianópolis/SC. **Métodos:** Foram realizadas coletas de amostras fecais em 61 idosos do Asilo Irmão Joaquim, do Centro Social Urbano/Conselho Comunitário do Saco dos Limões, e do NETI da UFSC, em Florianópolis/SC, na faixa etária de 60 a 101 anos. A pesquisa de sangue oculto nas fezes foi conduzida com o método imunocromatográfico (Teste Rápido OnSite FOB®). **Resultados:** Das 61 amostras analisadas, 5 (8,20%) foram positivas para sangue oculto e diversas causas foram relatadas. Um dos casos positivos foi relacionado a pólipos intestinais, relatado pelo paciente e tratado anteriormente. Dois casos de sangue oculto positivo estão sob investigação para encontro da causa. Um dos pacientes residente no asilo e com sangue oculto positivo apresentava emagrecimento rápido e fecaloma. Outro caso, a paciente utilizava o medicamento Xarelto®, com relato de que observou sangue nas fezes após início do tratamento. **Conclusão:** Os resultados obtidos até o momento permitiram evidenciar a importância da pesquisa de sangue oculto como teste de triagem na investigação de doenças relacionadas ao trato gastrointestinal.

Palavras-chave: Idoso; Sangue Oculto; Diagnóstico.

Abstract

Objective: The present paper aimed to verify the occult blood in feces of participants from elderly groups in Florianópolis/SC. **Methods:** Fecal samples were performed collections in 61 elderly from Asylum Irmão Joaquim, from Urban Social Center from Saco dos Limões, and from NETI from UFSC, in Florianópolis/SC, from 60 to 101 years old. The fecal occult blood test was conducted with the immunochromatographic (Fast Test OnSite FOB®). **Results:** From 61 samples analyzed, 5 (8,20%) were positive for occult blood and many causes were reported. One of the positive cases was related to intestinal polyps, related by the patient and previously treated. Two cases of positive hidden blood are under investigation to find out the cause. One of the patients residing in the Asylum and with positive occult blood presented a fast weight loss and faecaloma. Another case the patient used the medicine Xarelto®, with report that observed blood in feces after the beginning of the treatment. **Conclusion:** The results obtained until the moment allowed emphasizing the importance of the hidden blood research as a sorting test in the investigation of diseases related to the gastrointestinal tract.

Keywords: Occult Blood; Health of the Elderly; Diagnosis.

Correspondência

Kelly Kroth

E-mail: kelly_kroth@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A população idosa no Brasil e no mundo aumentou significativamente nos últimos anos. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a população idosa brasileira aumentou 4,8 milhões desde 2012, superando a marca dos 30,2 milhões em 2017.⁽¹⁾

Com o envelhecimento após os 60 anos, as pessoas começam a ter perda gradativa da visão, da audição e dos movimentos. Alguns idosos podem ter doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, doenças respiratórias, câncer e demência. Os danos moleculares e celulares aumentam o risco de adquirir doenças em razão da diminuição da capacidade das defesas imunológicas do indivíduo.⁽²⁾ Casos de câncer tornaram-se um importante problema de saúde pública, devido ao aumento da expectativa de vida da população brasileira.

O câncer de cólon e reto é a terceira neoplasia mais comumente diagnosticada e a quarta principal causa de morte por câncer no mundo.^(3,4) Segundo o Instituto Nacional do Câncer, observa-se uma variação geográfica, com altas taxas nos países mais desenvolvidos em comparação aos menos desenvolvidos.⁽³⁾ Para o Brasil, estimou-se 17.380 casos novos de câncer de cólon e reto em homens e 18.980 em mulheres para cada ano do biênio 2018-2019, significando um risco de 16,83 casos novos a cada 100 mil homens e 17,90 para cada 100 mil mulheres.⁽³⁾

O carcinoma colorretal é uma doença influenciada por fatores genéticos, ambientais e relacionados aos hábitos de vida do indivíduo. Na maioria dos pacientes os sintomas surgem em uma fase mais avançada da doença, podendo ocorrer altas taxas de morbidade e mortalidade.^(3,5)

Os grupos de alto risco são indivíduos com história pessoal de pólipos adenomatosos ou de neoplasia colorretal, câncer de mama, endométrio e ovários, doença inflamatória intestinal, histórico familiar de câncer intestinal ou de pólipos adenomatosos, a predisposição genética ao desenvolvimento de doenças crônicas do intestino, idade igual ou superior a 50 anos e neoplasias hereditárias.^(4,5) Os fatores de risco ligados aos hábitos alimentares incluem bebida alcoólica, alto consumo de carne vermelha e alimentos processados. Assim, os fatores protetores são o consumo de alimentos que contêm fibra dietética, como frutas, hortaliças (legumes e verduras) e cereais integrais, somados à atividade física.⁽³⁾

A colonoscopia representa um importante exame preventivo e de diagnóstico preciso, pois além de diagnosticar o câncer colorretal pode detectar e identificar os pólipos, os quais podem ser os precursores da doença. Entretanto,

como é um exame de alto custo e invasivo, são necessários métodos de triagem para a realização de colonoscopias.⁽⁴⁾

A pesquisa de sangue oculto nas fezes (PSOF) é um exame útil de triagem para rastreamento de lesões do trato gastrointestinal que cursam sem sangramento clinicamente visível, importante no diagnóstico precoce que favorece a intervenção clínica.⁽⁴⁾ As causas mais comuns para o sangramento que resulta na positividade do exame são úlceras (gástricas, duodenais e medicamentosas), neoplasias gástricas, de cólon e reto, diverticulite, colites e algumas parasitoses. No rastreamento do câncer de cólon e reto, a PSOF positiva implica realização de colonoscopia.⁽⁷⁾

A PSOF se fundamenta na detecção da hemoglobina nas fezes, e entre os métodos que utilizam a colorimetria, o mais usado pelos laboratórios é o reativo de Meyer e guaiaco. Contudo, as técnicas colorimétricas requerem do paciente a introdução de dietas prolongadas, por 3 a 4 dias, antes de realizar o teste.⁽⁷⁾

O teste imunológico ou imunocromatográfico qualitativo para determinação rápida de sangue oculto nas fezes utiliza uma combinação de anticorpo monoclonal marcado ou anticorpo policlonal anti-hemoglobina humana. Foi desenvolvido em 1995, detectando níveis baixos de hemoglobina (0,05 µl/ml).⁽⁷⁾ O teste dispensa a necessidade de dieta alimentar antes da coleta, visto que é específico para a hemoglobina humana.⁽⁶⁾ Não deve ser realizado durante o período menstrual, e nem em pacientes com queixas de hematoquezia ou com hematúria, pois nesses casos pode-se ter resultados falsos positivos.⁽⁷⁾ Os testes imunocromatográficos rápidos para detecção de neoplasia do cólon proximal tem sensibilidade de 98,2% e especificidade de 95,3%.⁽⁸⁾

O presente estudo teve por finalidade verificar a ocorrência de sangue oculto nas fezes em idosos que frequentam o Núcleo de Estudos da Terceira Idade da Universidade Federal de Santa Catarina, grupos de idosos do Centro Social Urbano/ Conselho Comunitário do Saco dos Limões, e idosos residentes no Asilo Irmão Joaquim, localizados em Florianópolis, SC.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo incluiu 61 idosos na faixa etária de 60 a 101 anos, com 27 participantes do Núcleo de Estudos da Terceira Idade (NETI) da UFSC, 23 do grupo de idosos do Centro Social Urbano/Conselho Comunitário de Saco dos Limões, e 11 internos do Asilo Irmão Joaquim, localizados no município de Florianópolis/SC. O período para a realização deste estudo foi de agosto de 2018 a junho de 2019. Cada

participante teve as orientações impressas para a coleta de fezes, e um kit contendo frasco coletor etiquetado para preenchimento de nome, sexo e idade, e espátula de madeira. Foi analisada uma amostra de fezes frescas de cada participante da pesquisa no Laboratório Didático de Parasitologia Clínica da UFSC.

Foi realizada uma reunião com os participantes, e passadas informações sobre os objetivos e a metodologia da pesquisa, orientações sobre a coleta, armazenamento e transporte da amostra fecal. Também foram abordadas informações sobre o encaminhamento dos resultados dos exames realizados. Cada voluntário recebeu um questionário, respondido sem identificação, o qual foi devolvido aos responsáveis pelo projeto. Todos os idosos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

As amostras fecais foram analisadas pelo teste imunocromatográfico para sangue oculto, de acordo com técnica preconizada nas bulas dos kits Teste Rápido OnSite FOB (CTK Biotech)⁽⁹⁾ e kit FOB Test Biocon (Diagnóstica Indústria e Comércio Ltda).⁽¹⁰⁾ Os testes têm sensibilidade de 97,7% e especificidade de 99,3%. Os resultados foram analisados pelo programa MedCalc Statistical Software versão 19.0.3.⁽¹¹⁾

ÉTICA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (n. 91366318.4.0000.0121).

RESULTADOS

Do total de 140 idosos, sendo 51 do NETI/UFSC, 56 do Centro Social Urbano/Conselho Comunitário de Saco dos Limões e 33 do Asilo Irmão Joaquim, o estudo envolveu 61 (43,57%) participantes. Houve baixa adesão de idosos do Asilo Irmão Joaquim pelo fato de muitos idosos residentes não conseguirem fazer a coleta de fezes sozinhos, necessitando de ajuda das enfermeiras, e outros pelo fato de que quando recebiam o frasco coletor não conseguiam evacuar. Alguns idosos não aderiram à pesquisa por vontade própria. Todos os exames com resultados positivos e negativos foram entregues para os participantes da pesquisa.

A Tabela 1 mostra o número de participantes, correlacionando a realização de exame de sangue oculto nas fezes e colonoscopia.

De acordo com a Tabela 1, a maioria dos participantes da pesquisa nunca havia realizado exame de sangue oculto nas fezes. Também pode ser observado que 32 participantes já realizaram exame de colonoscopia.

Das 61 amostras analisadas, 5 (8,20%) foram positivas para sangue oculto e diversas causas foram relatadas. Na Figura 1 apresenta-se a ocorrência de sangue oculto nas fezes dos idosos participantes da pesquisa, relacionando com a idade. Verificou-se a presença de sangue em duas participantes (40%) do Centro Social Urbano/Conselho Comunitário de Saco dos Limões, uma do NETI (20%) e dois casos (40%) no Asilo Irmão Joaquim. A Figura 2 mostra um resultado positivo para pesquisa de sangue oculto nas fezes pelo teste imunocromatográfico.

Tabela 1

Número de participantes correlacionando a realização de exame de sangue oculto nas fezes e colonoscopia.

REALIZAÇÃO DE EXAMES MÉDICOS	NET I	SACO DOS LIMÕES	ASILO IRMÃO JOAQUIM	TOTAL
Já realizou exame de sangue oculto?				
Sim	12	11	0	23
Não	15	12	11	38
Há quanto tempo fez exame de sangue oculto?				
Menos de 3 meses	4	2	0	6
Mais de 6 meses	2	1	0	3
Mais de 1 ano	2	8	0	10
Mais de 2 anos	15	0	0	15
Não informou	4	12	11	27
Já fez colonoscopia?				
Sim	11	20	1	32
Não	16	3	10	29

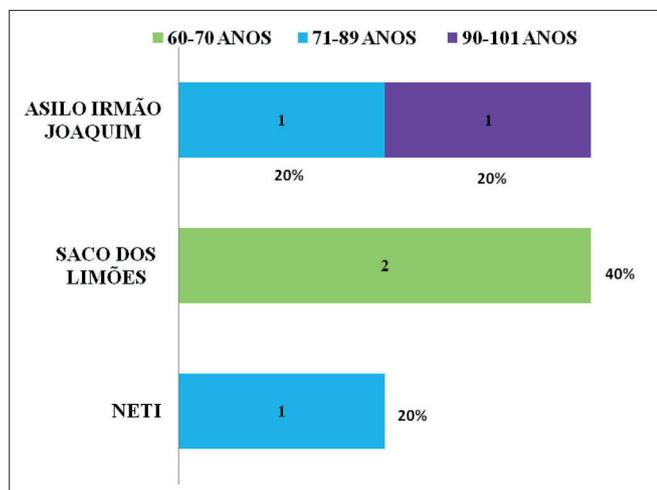


Figura 1

Porcentagem da presença de sangue oculto nos idosos, por faixa etária e local.

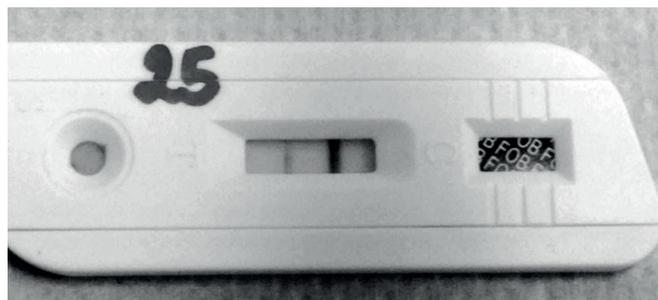


Figura 2

Resultado positivo para pesquisa de sangue oculto nas fezes pelo teste imunocromatográfico.

Fonte: Cortesia de Kelly Kroth.

DISCUSSÃO

A pesquisa de sangue oculto nas fezes é um exame útil de triagem para lesões do trato gastrointestinal como úlceras (gástricas, duodenais e medicamentosas), neoplasias gástricas ou de cólon, diverticulite, colites e algumas parasitoses.^(4,7) As neoplasias de carcinoma colorretal são causas importantes de morbidade e mortalidade em idosos nos dias atuais, configurando-se como a terceira causa mais comum de câncer no mundo e a segunda causa em países desenvolvidos.^(3,4)

Atualmente existem poucos artigos que tratam de pesquisa de sangue oculto por testes imunocromatográficos em estudo com idosos, porém se apresenta como uma ferramenta diagnóstica de fácil execução, boa sensibilidade e especificidade e pode ser utilizada para a triagem de

neoplasias intestinais, sendo assim muito aplicado ao estudo com idosos, que se apresentam como grupo de risco para neoplasias colorretais, como também mais vulnerabilidade para o desenvolvimento de outras doenças gastrointestinais.

O método imunocromatográfico para pesquisa de sangue oculto nas fezes permite uma maior adesão de pacientes ao exame (não necessita dieta), confiabilidade e conformidade ao rastreamento do câncer colorretal, como também evita interferência de compostos que afetam demais a técnica de pesquisa de sangue oculto.⁽⁶⁾

Como se pode observar na Tabela 1, com as respostas obtidas pelo questionário aplicado aos participantes, a maioria dos pacientes nunca realizou exame de pesquisa de sangue oculto nas fezes (38 idosos). Comparando-se com a realização de exames de colonoscopia teve-se uma pequena diferença, em que 32 pacientes realizaram exame e 29 não realizaram, não apresentando diferença significativa.

No presente estudo, 61 amostras foram analisadas, 5 foram positivas para a presença de sangue oculto, sendo duas pacientes do Asilo Irmão Joaquim, duas do Centro Comunitário Urbano Social Saco dos Limões e uma do NETI da Universidade Federal de Santa Catarina, como apresentado na Figura 1. Dois casos ocorreram em pacientes na faixa etária de 60 a 70 anos, e dois na faixa de 71 a 89 anos, sendo apenas 1 caso entre 90 e 101 anos. Este achado do trabalho vai de encontro ao relatado por Altemburg⁽⁷⁾ de que a faixa etária de maior risco de câncer de colorretal são indivíduos acima de 50 anos.

É relevante ressaltar que o resultado positivo da pesquisa de sangue nas fezes não significa necessariamente que o paciente está com câncer; porém pode indicar que há um problema, ou seja, uma inflamação, ou úlcera ou lesão na parede do estômago devido a medicamentos, mas que também pode ser o câncer e é preciso investigar o sangramento.^(4,7)

Dos casos positivos, dois estão sob investigação das causas da presença de sangue nas fezes. Uma das pacientes do Asilo Irmão Joaquim, com histórico de fecaloma, tem *diabetes mellitus*, hipertensão arterial e perda de peso recente. A mesma está aguardando resultados de exames para realização de colonoscopia e avaliação do sangramento.

Outro caso positivo, de outra paciente do Asilo Irmão Joaquim, apresenta DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica) e possui o hábito de auxiliar com as mãos a passagem das fezes pelo canal anal, podendo provocar com isso lesão e sangramentos.

A pesquisa de sangue oculto nas fezes foi realizada com idosos na faixa etária de 90 a 101 anos, porque a enfermeira

do asilo solicitou que a pesquisa fosse feita em todos os idosos participantes. Os exames com resultados positivos e negativos foram entregues para a enfermeira do asilo e a equipe médica.

Um caso de idoso com sangue oculto positivo foi do Saco dos Limões. Paciente relatou ter tido pólipos intestinais no passado e realizou tratamento, porém a partir da triagem de sangue oculto realizado no presente estudo evidenciou-se a perda de sangue, que poderá ter a mesma causa ou outra patologia associada.

No grupo de idosos do NETI UFSC, uma amostra foi positiva para triagem de sangue oculto. Realizou-se contato com a paciente que relatou utilizar o medicamento Xarelto® com indicação para arritmia cardíaca. Esse medicamento foi utilizado por três meses pela paciente, que percebeu os sangramentos assim que iniciou o tratamento, bem como verificou a presença de hematomas (manchas roxas) no corpo. Seu hemograma durante o tratamento apresentou hematócrito de 34,1% e hemoglobina de 12,3%. Em retorno ao médico, a paciente relatou os hematomas e sangue nas fezes, e o tratamento foi substituído. Desde então, a paciente passou a usar Clopidogrel e sulfato ferroso. Foram realizadas duas coletas de amostras fecais dessa paciente, uma quando ainda tomava Xarelto®, e as fezes apresentavam-se bem formadas, enegrecidas e na borda do frasco coletor foram observadas gotículas de sangue (Figura 2). Já a segunda amostra da paciente, realizada após substituição do Xarelto®, as fezes estavam formadas, enegrecidas, mas nesse caso foi devido ao tratamento com sulfato ferroso, não sendo encontrado positividade para pesquisa de sangue oculto nas fezes. Seu hematócrito após tratamento foi de 37%. A paciente chegou a fazer colonoscopia devido ao sangramento, não apresentando nenhuma alteração (pólipo ou lesão). A paciente não utiliza medicamentos anti-inflamatórios.

O anticoagulante oral Rivaroxabana (Xarelto®) inibe diretamente o fator XA, tendo como principal vantagem a forma de administração via oral, com baixo peso molecular, rápida absorção e início de ação em 2 a 4 horas. A biodisponibilidade do fármaco é aumentada com a utilização de alimentos (66% sem alimento, 100% com alimento). Em idosos, a meia-vida do fármaco é de 11 a 13 horas. Sangramentos moderados, compostos por hemorragias digestivas altas ou mais baixas, podem ser controlados com a retirada do medicamento,⁽¹²⁾ como no caso relatado nesse trabalho.

Outros estudos utilizaram a pesquisa de sangue oculto como método de triagem para outras neoplasias, doenças gastrointestinais e parasitoses. Por exemplo, o trabalho de

Menezes et al.,⁽⁴⁾ que encontraram 68 pacientes positivos (5,46%), em 1.246 amostras, que estavam correlacionados a parasitoses, doenças gastrointestinais e neoplasias colorretais. Em estudo realizado por Jatobá et al. (2008)⁽¹³⁾ na Santa Casa de São Paulo, encontrou-se a ocorrência de 41,67% (25 casos), sendo esse percentual superior ao encontrado no presente estudo. Jatobá et al.⁽¹³⁾ relacionam o resultado positivo de sangue oculto nas fezes a pólipos, divertículos, alteração vascular e tumor.

CONCLUSÃO

No presente trabalho, o método de pesquisa de sangue oculto nas fezes pelo teste imunocromatográfico mostrou-se adequado para triagem em idosos por ser um exame não invasivo, de fácil execução, baixo custo e com boa sensibilidade e especificidade, possibilitando uma triagem mais rápida de pacientes que apresentaram alguma alteração com consequente sangramento intestinal.

Por ser um teste barato, pode ser implantado no rastreamento de neoplasias como câncer colorretal, permitindo maior adesão a essa técnica por não necessitar de dieta para sua realização.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). PNAD 2016: população idosa cresce 16,0% frente a 2012 e chega a 29,6 milhões. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2013-agencia-de-noticias/releases/18263-pnad-2016-populacao-idosa-cresce16-0-frente-a-2012-e-chega-a-29-6-milhoes.html>. Acesso em: 20 agosto 2018.
2. Organização Mundial da Saúde (OMS). Relatório mundial de envelhecimento e saúde. 2015. Disponível em: <https://sbgg.org.br/wpcontent/uploads/2015/10/OMS-ENVELHECIMENTO-2015-port.pdf>. Acesso em: 01 novembro 2018.
3. Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde (INCA). Estimativa | 2018. Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, RJ. 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 15 maio 2019.
4. Menezes CP, Oliveira TL, Lundgren PU. Pesquisa de sangue oculto nas fezes – PSO: uma triagem alternativa na determinação das neoplasias colorretais. *Rev Bras Farm.* 2012;93(1):48-53.
5. Assis RVBF. Rastreamento e Vigilância do Câncer Colorretal: Guidelines Mundiais. *GED Gastroenterol Endos Dig.* 2011;30(2):62-74.
6. Honório JC, Tizzot MRP. Análise dos métodos de pesquisa de sangue oculto nas fezes. *Cadernos da Escola de Saúde.* Curitiba, 2010;3:01-11.
7. Altenburg FL, Biondo-Simões MLP, Santiago A. Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes e Correlação com Alterações nas Colonoscopias. *Rev Bras Coloproct.* Joinville, 2007 jul-set;27(3):304-09.
8. Guimaraes DP, Fregnani JH, Reis RM, Taveira LN, Tempo-Neto CS, Matsushita M, Silva SRM, et al. Comparison of a New-generation Fecal Immunochemical Test (FIT) With Guaiac Fecal Occult Blood Test (gFOBT) in Detecting Colorectal Neoplasia Among Colonoscopy-referral Patients. *Anticancer Research.* 2019;39:261-69.

9. OnSite Sangue Oculto – FOB. Disponível em: <https://www.bioadvancediag.com.br/fob>. Acesso em: 15 maio de 2019.
10. FOB Teste Biocon. Disponível em: www.epimed.com.br/anexos/BulaFob.pdf. Acesso em: 15 maio de 2019.
11. MeaCalc Software bvba. Ostend, Bélgica. Disponível em: <https://www.medcalc.org>; 2019. Acesso em: 02 maio de 2019.
12. Durigon GS, Caycedo CA, Luz FF, Burigo ACG. Orientações de manejo perioperatório e no sangramento nos pacientes em uso de anticoagulantes orais diretos (AOD). Rev Med. São Paulo, 2018 set-out;97(5):476-85.
13. Jatobá MP, Candelária PAP, Klug WA, Fang CB, Capelhuchnik P. Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes e Achado Colonoscópico em 60 Pacientes. Rev Bras Coloproct. São Paulo, 2008 out-dez;28(4):425-30.

Trabalhadores invisíveis? A percepção de servidores de um laboratório de análises clínicas sobre a biossegurança na pandemia

Invisible workers? The perception of workers of a clinical analysis laboratory for biosecurity during the pandemic

Juliebert Isaac de Novais¹, Flávia Martinello²

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Graduação em Farmácia. Florianópolis, SC, Brasil.

² Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Análises Clínicas. Florianópolis, SC, Brasil.

Resumo

Devido à pandemia do coronavírus, a restrição na circulação de pessoas, conhecida como *lockdown* induziu muitos trabalhadores ao *home office*. No entanto, para os trabalhadores da área de saúde, um dos grupos mais expostos à doença, essa alternativa não estava disponível. O objetivo geral deste estudo foi avaliar a percepção da biossegurança pelos profissionais do laboratório clínico de um Hospital Universitário durante a pandemia, e seu impacto na vida diária. Como ferramenta de estudo foi aplicado um questionário aos trabalhadores lotados nas áreas: administrativa, de limpeza e higienização, coleta, recepção e realização de exames. O questionário abordou temáticas como: disponibilidade de equipamentos de proteção individual (EPI), treinamentos e também uma autoavaliação do trabalhador sobre o impacto da pandemia em sua saúde geral. As respostas dos 43 participantes indicaram oportunidades de melhoria em processos como afastamento de indivíduos com perfil de risco, divulgação dos serviços de suporte emocional e outros apoios oferecidos pela instituição. Foi relatada a carência no fornecimento de jalecos descartáveis e orientação sobre danos dermatológicos causados por EPI. De modo geral, os servidores não se sentiram valorizados pelo empregador e vivenciaram um conjunto de sentimentos negativos decorrentes de suas ocupações no contexto pandêmico. Por outro lado, foram observadas flexibilização da carga-horária de trabalho, oferta de local de descanso e atendimento médico, sensação de valorização pela sociedade, prazer e orgulho em exercer as atividades profissionais, e especialmente por contribuir com a saúde coletiva neste momento histórico crítico. Por fim, considerou-se uma percepção positiva pelos trabalhadores sobre a biossegurança.

Palavras-chave: Covid-19. Pandemias. Laboratórios Clínicos. Saúde Ocupacional. Contenção de Riscos Biológicos.

Abstract

Due to the coronavirus pandemic, the restriction on the movement of people, known as lockdown, induced many workers to "work from home". However, among healthcare workers, one of the groups most exposed to the disease, this alternative was not available. This study aimed to evaluate the perception of biosafety by clinical laboratory professionals of a University Hospital during the pandemic, and its impact on daily life. As a study tool, a questionnaire was applied to workers of the following areas: administrative, cleaning and hygiene, sample collection, reception, and technical. The questionnaire covered topics such as: availability of personal protective equipment (PPE), training and also a workers self-assessment on the impact of the pandemic on their general health. The responses from 43 participants indicated opportunities for improvement in processes such as removing individuals with a risk profile, disseminating emotional support services, and other support offered by the institution. A lack of supply of disposable gowns and guidance on dermatological damage caused by PPE was reported. In general, employees did not feel valued by their employer and experienced a set of negative feelings resulting from their occupations in the pandemic context. On the other hand, flexibilization of working hours, provision of resting place and medical care, feeling of being valued by society, pleasure and pride in carrying out professional activities, and especially for contributing to collective health at this critical historical moment were observed. Finally, a positive perception by workers regarding biosafety was considered.

Keywords: Covid-19. Pandemics. Laboratories, Clinical. Community Health Workers. Containment of Biohazards.

Correspondência

Flávia Martinello

E-mail: flaviamartinello@gmail.com

Recebido em 14/09/2023 | Aprovado em 20/10/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300145

INTRODUÇÃO

A Covid 19 (*Corona Virus Disease 2019*) é uma doença infecciosa causada pelo coronavírus (SARS-CoV-2), e que a partir de 2019 mudou completamente o modo de vida das pessoas e impactou significativamente a economia, os governos e a rotina em todo o mundo.⁽¹⁾

Os principais meios de contaminação pelo coronavírus se dão através da transmissão entre pessoas, seja por inalação ou deposição de aerossóis ou gotículas respiratórias nas superfícies mucosas. Outras rotas previstas são o contato e a manipulação de materiais contaminados pelo vírus.⁽²⁾ Na maioria dos países houve a instituição de medida de restrição na circulação de pessoas, conhecida como *lockdown*, e embora muitos trabalhadores tenham permanecido em casa, para alguns segmentos essa alternativa não estava disponível. Entre esses segmentos destacam-se os trabalhadores de estabelecimentos de saúde que, devido a sua atuação, configuram-se como um dos grupos mais expostos à doença.⁽³⁾

Segundo Mhango et al.,⁽⁴⁾ a transmissão da doença entre trabalhadores da saúde está associada à superlotação, ausência de instalações de isolamento e contaminação do ambiente. Outros autores pontuam como desafios para esses profissionais situações semelhantes, a saber: condições de trabalho precárias, higiene inadequada dos ambientes, jornadas extenuantes, falta de treinamento e, inclusive, insuficiência ou indisponibilidade de equipamentos de proteção.⁽⁵⁾ Todos esses fatores configuram-se como risco, podendo gerar efeitos sobre a saúde do trabalhador e representar uma ameaça à integridade física e mental.⁽⁶⁾ A respeito da heterogeneidade dos trabalhadores da saúde, é importante destacar os profissionais fora dos holofotes da mídia, incluindo nessa condição os profissionais da limpeza e higienização, segurança, recepção, os responsáveis pelos exames laboratoriais, entre outros. Profissionais esses que, por vezes esquecidos pela sociedade, desempenham um papel fundamental e estratégico no enfrentamento da pandemia.⁽⁷⁾

Alguns documentos governamentais têm norteado as práticas para enfrentamento da doença, como o Plano Nacional de Operacionalização da Vacinação contra a Covid-19 do Ministério da Saúde do Brasil⁽⁸⁾ e o *Interim Operational Considerations for Public Health Management of Health care Workers Exposed to or with Suspected or Confirmed Covid-19: non-U.S* do CDC (Centro de Controle e Prevenção de Doenças).⁽⁹⁾ Essas orientações definem trabalhadores da saúde como todos aqueles alocados em uma instituição de saúde, incluindo tanto os profissionais de apoio associados aos serviços de

higienização, segurança e recepção, quanto profissionais de saúde ligados diretamente à assistência ao paciente, como também aqueles responsáveis pelos exames laboratoriais e outros serviços de apoio ao diagnóstico. Apesar dessas considerações, a saúde e biossegurança desses servidores durante a pandemia praticamente não são abordadas na literatura. Em sua grande parte, as pesquisas dizem respeito aos profissionais de saúde médicos, enfermeiros e eventualmente fisioterapeutas, que de fato atuam em uma posição crítica e delicada no contexto pandêmico. No entanto, são necessárias pesquisas relacionadas aos demais trabalhadores que também estão expostos a riscos reconhecidos pelas autoridades de saúde.⁽¹⁰⁾

No que diz respeito ao âmbito laboratorial, para Loh et al.⁽¹¹⁾ esse é um dos serviços de linha de frente mais importantes no combate à pandemia, por fornecer resultados de exames que são fundamentais para o diagnóstico e manejo de pacientes com Covid-19. O contato constante com pacientes e com amostras biológicas potencialmente infectadas associado à rotina de expediente que envolve dispensar volumes através de pipetas, usar agitadores, realizar centrifugação, além da necessidade de lidar manualmente com amostras em uma bancada aberta, dentre outros procedimentos, suscitam o risco de exposição a aerossóis, que embora seja uma fonte secundária é um importante potencial de contágio da síndrome respiratória aguda grave pelo SARS-CoV-2. Nos locais onde há coleta e fluxo de pacientes esse risco pode se tornar ainda maior devido ao alto potencial de exposição.⁽¹⁰⁾

Assim, com a lotação das unidades de saúde e consequente aumento no fluxo de pessoas e no volume de amostras associado à crescente urgência de resultados, é imposta considerável pressão sobre o laboratório, que precisa, então, adotar precauções aprimoradas de biossegurança sem prejudicar a eficiência das análises. Dentro desse ambiente temos diversos tipos de profissionais atuando em frentes distintas desde a coleta, processamento e análise de amostras, até a manutenção da estrutura laboratorial, higienização e segurança. Sendo esses trabalhadores expostos de diferentes formas ao coronavírus. Além de todo o risco que enfrentam diariamente, ainda há um lapso de estudos relacionados à percepção, à exposição e aos danos físicos e mentais associados aos trabalhadores de laboratórios, especialmente quando comparado a outras categorias da área da saúde. Além disso, também há escassez de estudos comparando a exposição ao risco de diferentes classes profissionais no ambiente laboratorial. Deste modo, este estudo foi idealizado com objetivo evidenciar a realidade dos servidores do ambiente laboratorial com a

expectativa de que ações específicas e efetivas de suporte a esses trabalhadores sejam criadas no futuro.

METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa de campo do tipo exploratória realizada de modo qualitativo-retrospectivo e aprovada pelo Comitê de Ética sob nº CAAE 47895221.0.0000.0121.

Para esta pesquisa, foi considerado como população o universo dos trabalhadores lotados na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas (ULAC) de um Hospital Universitário. Incluem-se nesse grupo aqueles operantes nos serviços de limpeza e higienização, coleta, recepção, equipe administrativa, bem como todos aqueles que atuam na supervisão e execução dos exames laboratoriais, sejam eles técnicos, farmacêuticos, biólogos ou biomédicos. Vale ressaltar que os serviços de higienização e recepção são realizados por empresas terceirizadas. O cálculo amostral foi realizado com base no universo de 98 colaboradores da ULAC, com heterogeneidade de 50%, margem de erro de 5% e com um nível de confiança de 95%, totalizando um número amostral mínimo de 79 respostas, conforme descrito por Agranonik e Hirakata.⁽¹²⁾ Ao final de aproximadamente três meses de entrevistas alcançou-se um "n" amostral de 43 respostas, representando uma margem de erro de 11%.

Critérios de inclusão

Foram admitidos na pesquisa os trabalhadores alfabetizados, maiores de 18 anos, atuantes na rotina da ULAC, envolvidos nos setores de: higienização, recepção, setor administrativo, coleta e serviço laboratorial, ativos no período da entrevista e que tivessem lido e concordado com os termos do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Critérios de exclusão

Trabalhadores eventuais que tenham atuado na ULAC de forma não regular (p. ex.: equipe de informática, manutenção, estagiários etc.). Pessoas admitidas em período inferior a 2 semanas a contar da data da entrevista, aqueles que não tenham frequentado pessoalmente o ambiente da ULAC nos últimos 12 meses a contar da data da entrevista, mesmo que atuantes por meio de *home-office*.

Ferramenta de Estudo

O estudo foi realizado utilizando-se um questionário, adaptado da FIOCRUZ,⁽¹³⁾ composto por 34 perguntas,

agrupadas em informações pessoais, gerais, sobre o laboratório e específicas sobre as práticas de trabalho organizadas, e aplicadas tanto de forma eletrônica, pela plataforma Formulários Google, quanto física, por meio de documento impresso, no período entre julho a outubro de 2021.

RESULTADOS

Dos 43 indivíduos que aderiram à pesquisa 33 eram do sexo feminino e 10 do sexo masculino, com faixa etária de 23 a 59 anos, com média 40 anos e desvio padrão de 9,42 anos. Com relação à autoidentificação étnica, 76,7% dos entrevistados se declararam como brancos, 16,3% pardos, 4,7% amarelos e 2,3% pretos.

Entre os 43 colaboradores, a maioria atuava nas áreas de realização de exames laboratoriais (49%), coleta (16%) e higienização (5%), conforme a Figura 1. O restante (30%) atuava nas áreas de atendimento/recepção, administração/chefia, triagem/processamento e esterilização de materiais. Alguns atuavam em mais de uma área. Entre os que atuavam na realização de exames laboratoriais a maioria era de profissionais de nível superior (59,4%) seguido dos profissionais de nível técnico (40,6%).

No que diz respeito ao grau de escolaridade dos trabalhadores do laboratório, 69,8% tinham pós-graduação, 2,3% nível superior, 9,3% nível superior incompleto, 16,3% nível médio/ técnico e 2,3% nível médio incompleto (Figura 2).

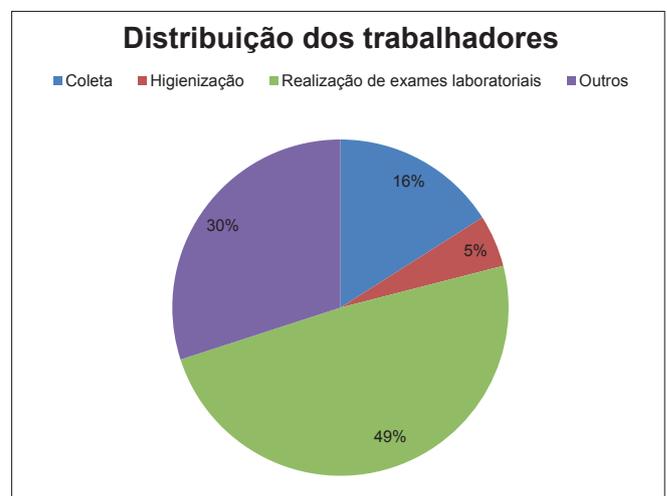


Figura 1

Atuação dos entrevistados no hospital.

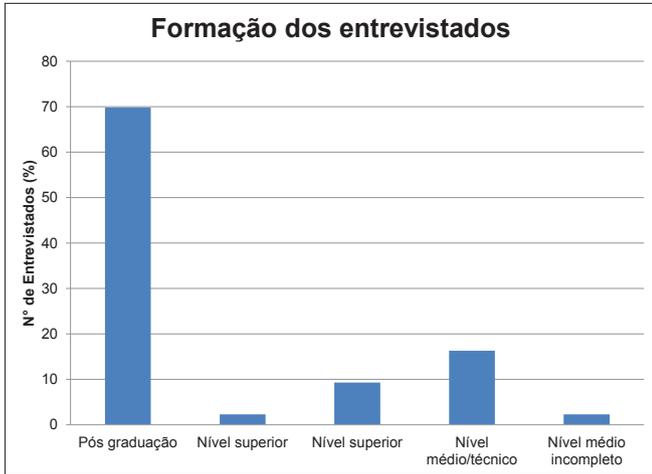


Figura 2

Grau de escolaridade dos entrevistados do laboratório.

Quanto aos regimes de trabalho, 58,1% dos servidores pertenciam ao regime RJU (Regime Jurídico Único), 30,3% EBSERH/CLT (Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares/Consolidação das Leis do Trabalho) e 11,6% eram terceirizados.

Dentre os entrevistados, a maior parte (88,4%) trabalhava em regime de dedicação exclusiva, ou seja, apenas na ULAC, enquanto 11,6% exerciam atividades em outros locais. A respeito da carga horária de trabalho semanal, 86,1% trabalhavam de 21 a 40 horas semanais, 11,6% de 41 a 60 horas semanais e 2,3% atuavam por mais de 60 horas semanais.

Sobre o número de coabitantes na moradia dos entrevistados, 38,1% residiam acompanhados de 1 pessoa, 31% com 2 pessoas, 19% com 3 pessoas, 2,4% com 4 pessoas e 9,5% moravam sozinhos (Figura 3).

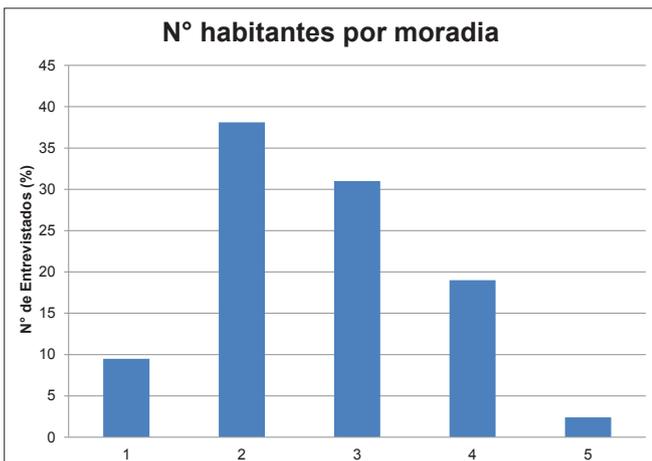


Figura 3

Número dos habitantes por moradia dos entrevistados.

Com relação à forma de deslocamento para o trabalho, 72,1% relataram uso de carro, 11,6% ônibus, 4,6% motocicleta, 4,7% bicicleta, 4,7% a pé e 2,3% carro e ônibus (Figura 4).

A maioria dos participantes (73,8%) relatou não ter problema de saúde antes da pandemia. A Figura 5 apresenta as condições de saúde antes da pandemia e relatadas pelos trabalhadores.

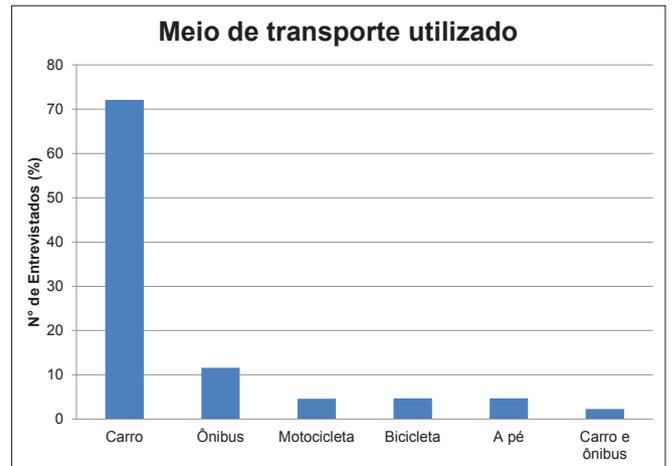


Figura 4

Meios de transporte utilizados para deslocamento ao trabalho.

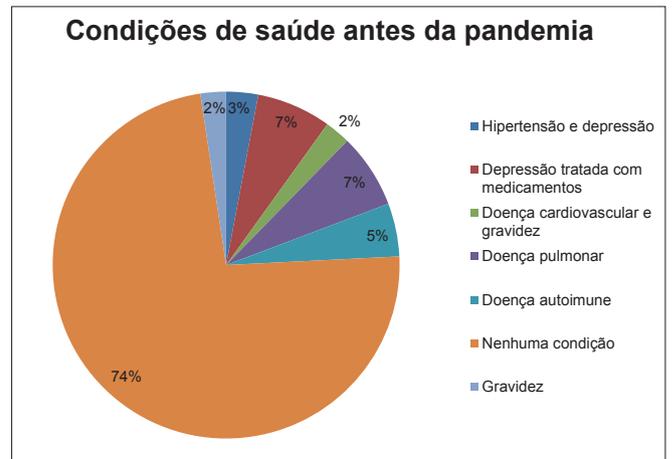


Figura 5

Condições de saúde apresentadas antes da pandemia pelos entrevistados.

Dentre aqueles que apresentaram algum problema de saúde anterior à pandemia, 36,4% foram afastados do trabalho, 54,5% afirmam que não foram afastados e 9,1% não responderam quanto ao afastamento. Até o momento da pesquisa, 41,9% dos entrevistados acreditavam ter contraído a Covid-19 enquanto 58,1% acreditavam não ter contraído

a doença. O grupo que mais se contaminou (100%) foi o que atuava na coleta. A Covid-19 foi confirmada por exame diagnóstico laboratorial entre os que contraíram a doença.

Sobre o ambiente e práticas de trabalho, os trabalhadores relataram exposição aos seguintes tipos de risco: risco biológico (93%), risco ergonômico (81,4%), risco químico (72,1%), risco físico (72,1%) e risco de acidentes (32,6%) (Figura 6). Dos entrevistados, 36 indivíduos afirmaram manusear amostras biológicas diretamente e sete afirmaram não ter contato com esse tipo de amostras. Daqueles 36 que manuseavam amostras, 16 responderam que haviam contraído Covid-19. Por outro lado, dos sete que relataram não manusear amostras, dois se infectaram por SARS-CoV-2.

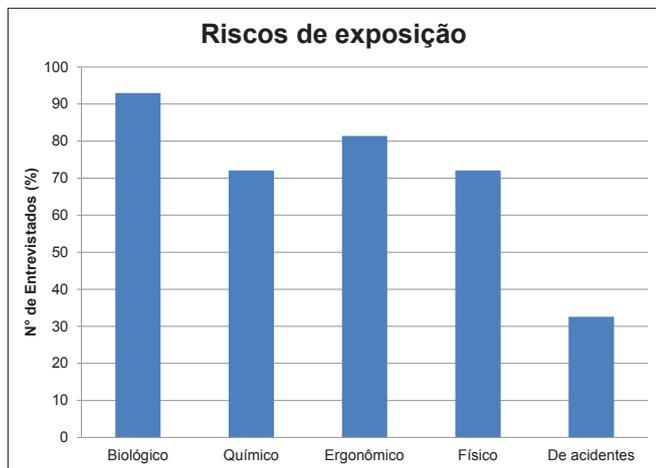


Figura 6

Riscos de exposição relatados pelos entrevistados.

Quanto à disponibilização de equipamentos de proteção individual (EPI), foi relatado o fornecimento de: máscara cirúrgica (97,7%), máscara N95 (93%), avental (44,2%), luvas (90,7%), *face shield* (62,8%), óculos de proteção (93%), touca descartável (86%), propé (7%) e botas (2,3%) (Figura 7). Para 69,8% dos participantes todos os itens necessários foram fornecidos em quantidade adequada, enquanto para 27,9% apenas alguns dos itens foram fornecidos em quantidade adequada e para 2,3% apesar de terem recebido todos os EPI necessários, a quantidade ofertada foi insuficiente (Figura 8). Com relação à qualidade dos EPIs fornecidos, a Figura 9 mostra a classificação dada pelos participantes. A Figura 10 apresenta possíveis problemas decorrentes do uso desses EPI ou da higienização mais frequente das mãos, 60,5% dos entrevistados relataram xerose cutânea nas mãos, 27,9%

dermatite de contato, 25,6% relataram agravo de doenças de pele preexistentes, 14% dermatite irritativa, 4,7% infecções secundárias, enquanto 30,2% disseram não ter apresentado nenhum destes problemas (Figura 10).

No que diz respeito aos treinamentos oferecidos para enfrentamento da pandemia pelo hospital e laboratório, 76,7% dos participantes apontaram ter recebido algum tipo de treinamento enquanto 23,3% afirmaram não ter recebido. Entre os que receberam o treinamento, 50% disseram que o treinamento foi suficiente para a atuação, 19% afirmaram que o treinamento não foi suficiente, 7,1% disseram que o treinamento foi indiferente, para a prática (Figura 11). A maioria dos participantes (76,2%) afirmou que se sentia segura para exercer suas atividades e 23,8% disseram não se sentir seguros.

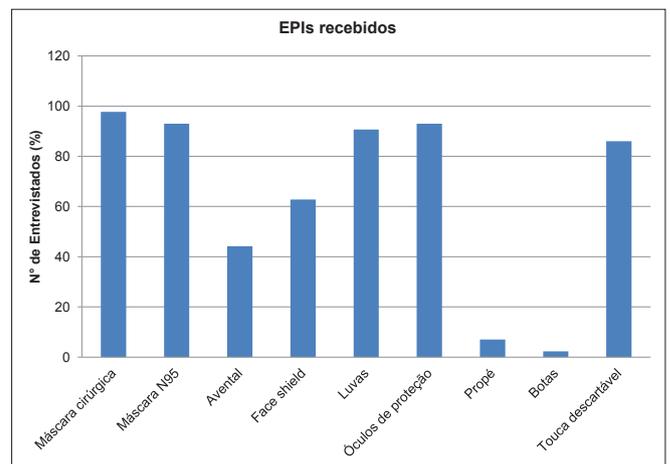


Figura 7

Equipamentos de proteção individual recebidos pelos entrevistados.

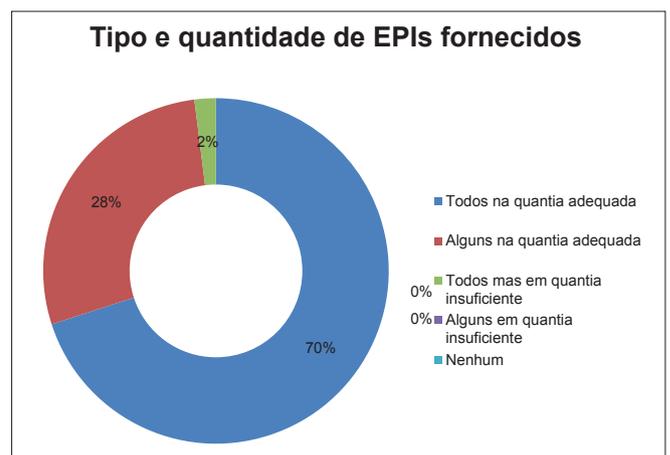


Figura 8

Tipo e quantidade de EPIs fornecidos pelo hospital para os entrevistados.

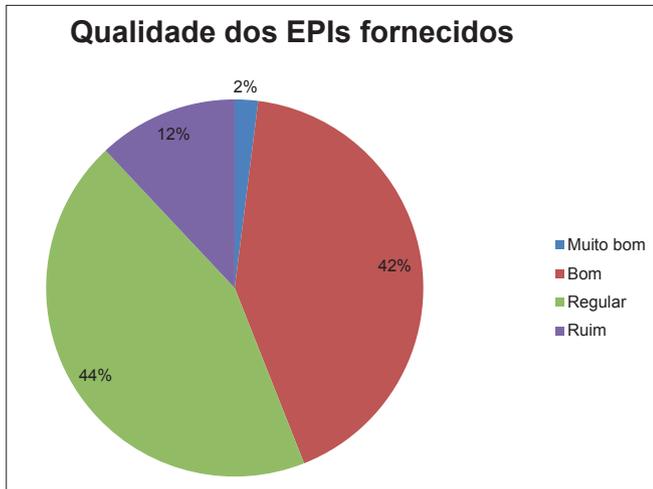


Figura 9

Qualidade dos EPIs fornecidos pelo hospital.

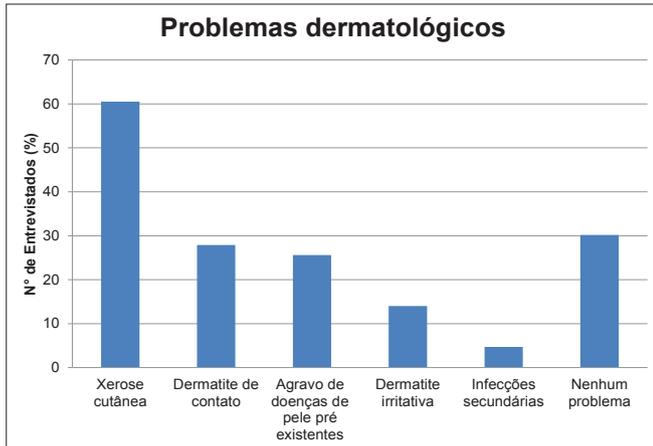


Figura 10

Problemas dermatológicos desenvolvidos pelo uso de EPIs e higienização das mãos.

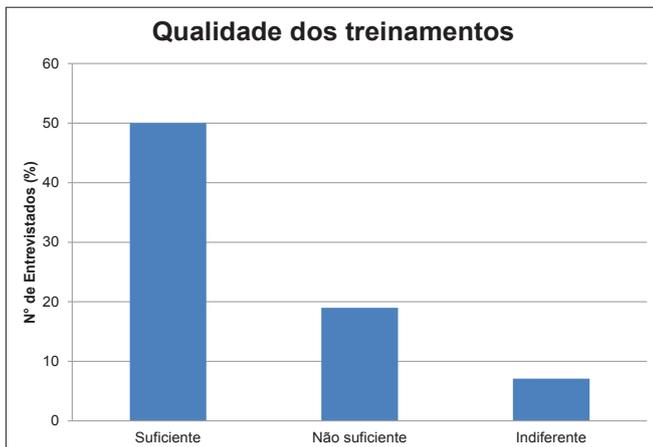


Figura 11

Qualidade dos treinamentos oferecidos para enfrentamento da pandemia pelo hospital e laboratório.

Em uma escala de 0 a 10 sobre os cuidados dos próprios servidores para prevenir a Covid-19 no ambiente de trabalho, 65,1% se autoavaliaram entre oito e nove, 16,3% se classificaram com nota dez, 11,6% nota sete, 4,7% nota seis e 2,3% nota dois.

As situações decorrentes da pandemia mais comumente enfrentadas pelos servidores foram: afastamento de familiares ou amigos (por frequentar o ambiente hospitalar) (72,1%), irritabilidade (55,8%), insônia (53,5%), medo de se contaminar e morrer (44,2%), alteração no apetite (34,9%), aumento no consumo de medicações, álcool ou bebidas energéticas (32,5%), perda de confiança em si, na equipe ou no trabalho realizado (23,3%), dificuldade de experimentar felicidade (18,6%), medo de perder seus meios de sustento (não poder trabalhar ou ser demitido) (14%), depressão (11,6%), entre outros: luto (2,3%), interrupção da prática de atividades físicas (2,3%), sensação de descuido pela direção do hospital quanto à saúde do trabalhador (2,3%) e medo de perder familiares (2,3%). Por outro lado, para 9,3% dos entrevistados essas situações não se aplicavam às suas realidades. Para 81,4% dos indivíduos, estes efeitos foram percebidos desde o início da pandemia, 7% já apresentavam algum destes efeitos antes mesmo da pandemia e 2,3% sentiram os efeitos apenas nos últimos 6 meses. Para 56,8% o trabalho foi o principal responsável pelo agravamento dessas condições anteriores.

Quanto à sensação dos trabalhadores a respeito da própria imagem perante a sociedade, 23,3% relataram se sentir mais valorizados e reconhecidos pela sociedade, enquanto 9,3% afirmaram o oposto; 4,7% se diziam mais integrados/participativos na equipe, mas o mesmo percentual (4,7%) afirmou o contrário; 9,3% dos entrevistados disseram se sentir mais acolhidos pela chefia/gestão, já para 4,7% dos entrevistados a sensação foi de menos respeito e valorização pela chefia/gestão; e para 41,9% nada mudou. Além das opções disponibilizadas, outros trabalhadores (2,3%) afirmaram que houve uma redução da consideração e prestígio por parte da sociedade com relação aos trabalhadores da saúde durante a pandemia. Outros participantes (2,3%) fizeram algumas críticas à gestão e à falta de suporte da instituição.

Quando questionados sobre os serviços de apoio/suporte oferecidos pela instituição, os trabalhadores elencaram os seguintes: testagem de Covid-19 (83,7%), afastamento em caso de suspeita de Covid-19 (67,4%), afastamento em casos de Covid-19 em familiares (34,9%), suporte psicológico (32,6%), atendimento médico (25,6%), flexibilização da carga horária (25,6%), e estrutura de descanso (7%). Por outro lado, nenhum servidor relatou ter recebido adicional salarial e 9,3%

relataram não ter recebido nenhum suporte. Com relação ao suporte emocional e a quem esses servidores se dirigiram em caso de necessidade, as respostas foram: amigos/familiares (73,8%), apoio com profissionais da saúde (38,1%), colegas de trabalho (23,8%), apoio espiritual (16,7%), chefia (2,4%) e não procurou suporte (16,7%).

Sobre as considerações e comentários deixados pelos servidores a respeito do trabalho durante a pandemia, de 20 comentários, 3 apresentaram caráter positivo relacionado à sensação de orgulho pelo exercício da profissão, 3 apresentaram caráter neutro e 14, de caráter negativo. Dentre os comentários negativos, 8 foram relativos ao empregador, 2 aos EPI, 2 aos treinamentos e 2 a problemas entre as categorias profissionais.

DISCUSSÃO

Neste estudo verificamos diferentes percepções entre os trabalhadores de um laboratório de análises clínicas sobre biossegurança e os efeitos da pandemia no processo de trabalho. A partir dos resultados foi possível realizar algumas reflexões e paralelos com estudos semelhantes, voltados às outras categorias da saúde.

Sobre as características dos participantes, não foram identificados trabalhadores com idade acima de 60 anos, que era considerada como grupo de risco pelas entidades de saúde,⁽¹⁴⁾ para a qual se preconizava o trabalho remoto. O retrato étnico identificado no laboratório em questão reproduz, de certa forma, o observado na Região Sul do Brasil, onde o hospital se localiza. Dados do ano 2000 apontam que no estado de Santa Catarina 83,4% das pessoas se declararam brancas, seguidos de 11,5% pardos, 3,7% pretos e 0,3% indígenas.⁽¹⁵⁾

A maior parcela dos colaboradores entrevistados apresentou um único vínculo empregatício com carga horária de trabalho semanal predominante entre 21 e 40 horas, o que difere da realidade observada em pesquisas com outras categorias de profissionais da saúde.⁽¹⁶⁾ A menor carga horária pode ter exercido ação protetora aos profissionais. O estudo de Magalhães e Glina⁽¹⁶⁾ relatou que os casos de síndrome de Burnout e de exaustão emocional, em médicos, estavam associados à carga horária de trabalho semanal entre 61 e 90 horas. Outra pesquisa demonstrou que mulheres que trabalhavam mais de 50 horas semanais apresentavam o dobro de cortisol comparado àquelas com carga horária regular de trabalho, o que poderia estar associado às doenças cardiovasculares,

diabetes tipo 2, prejuízos na função cognitiva e redução da imunidade.⁽¹⁷⁾ Considerando o papel crítico da imunidade em meio à pandemia, entende-se que uma carga horária reduzida de trabalho pode ter colaborado para que os servidores não desenvolvessem as consequências acima citadas.

Apenas 36,4% dos colaboradores pertencentes a algum grupo de risco foram afastados. As causas para esse fato não foram investigadas, especula-se um lapso na comunicação e na execução das orientações do Ministério da Saúde. Essas orientações indicavam que os trabalhadores dos serviços de saúde em situações como gestação, lactação, imunossupressão, doenças crônicas graves, cardiopatias, doenças pulmonares, dentre outras, fossem realocados para área de menor risco ou para execução de trabalho remoto.⁽¹⁴⁾

Uma pesquisa publicada por Metlay et al.⁽¹⁸⁾ revelou que o número de indivíduos infectados por coronavírus no ambiente doméstico foi inversamente proporcional ao número de pessoas com quem residem, de modo que lares compostos por duas pessoas tinham mais risco de contrair a Covid-19 que aqueles coabitados por mais pessoas. Neste estudo, não observamos relação linear entre o número de coabitantes e o número de trabalhadores infectados pela Covid-19. Além disso, o pequeno número amostral não permitiu a realização de análise estatística para identificar associação entre as variáveis.

Foi identificado que a maioria dos entrevistados indicou carro como forma de transporte principal, o que pode ter sido um fator protetor com relação à contaminação. Concomitantemente, as políticas de restrição de ocupação (máxima de 50%) e distanciamento, implementadas no transporte público municipal no início da pandemia,⁽¹⁹⁾ também podem ter contribuído na prevenção de contaminação por SARS-CoV-2 dos trabalhadores que utilizavam ônibus, que foi a segunda forma de transporte mais comum. Destacamos, neste contexto, as recomendações emitidas em abril de 2021 pelo CDC que incentivavam formas de locomoção que minimizassem o contato entre indivíduos, como o andar de bicicleta, caminhar, se deslocar de carro sozinho ou apenas com membros da família.⁽²⁰⁾

Conforme norma técnica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil nº 04/2020,⁽²¹⁾ nos procedimentos em que ocorre formação de aerossol de amostra é necessário ajustar as precauções adotadas, inclusive com relação aos EPI de forma que não protejam apenas contra gotículas, mas também contra aerossóis. Estudos apontaram uma proporção menor de profissionais que receberam EPI quando comparado

aos resultados da nossa pesquisa. No entanto, é preciso considerar que os dados dos outros estudos foram coletados no primeiro semestre da pandemia, época em que ocorria um forte desabastecimento global de EPI.⁽²²⁻²⁵⁾ Em nosso estudo verificamos uma ampla disponibilidade de máscaras N95, o que não foi observado com a oferta dos aventais, como pode ser observado nos seguintes depoimentos:

“Até o momento continuamos trabalhando usando jaleco pessoal (trazido de casa) que não protege totalmente o funcionário. Esse mesmo jaleco que tem contato com camas, macas e pacientes é levado para ser lavado em casa. O hospital deveria fornecer roupa que fosse colocada no início das atividades e recolhida no fim da jornada de trabalho. Evitando que o empregado exponha suas roupas à contaminação.”

Também em relação aos estudos de Lotta et al.^(22,24,25) foi observada maior proporção de profissionais do nosso estudo satisfeitos com a qualidade dos EPI fornecidos, 44% versus 30%. A qualidade dos EPI pode afetar a adesão ao uso e evitar danos ao usuário.⁽²⁶⁾

Aproximadamente 70% dos servidores do laboratório relataram problemas dermatológicos desencadeados pelo uso de EPI e pela prática de antisepsia, sendo esse percentual bem semelhante ao verificado na literatura. Um estudo realizado por pesquisadores chineses, com uma população de 330 profissionais de saúde, demonstrou que 71% dos entrevistados relataram autopercepção de danos na barreira da pele.⁽²⁶⁾ Yan et al.⁽²⁶⁾ apontaram que o uso prolongado de máscaras e óculos de proteção pode ter agravado a acne existente. Além disso, outros distúrbios de pele como dermatite facial sazonal, dermatite seborreica e rosácea também podem ser agravadas pelo uso desses EPI.

Com relação ao nível de treinamento, o resultado apresentado foi muito satisfatório em contraste ao cenário nacional. Uma pesquisa realizada em 2020 indicou que 89,3% dos profissionais de saúde entrevistados afirmaram não ter recebido treinamento para enfrentamento da pandemia,^(24,25) enquanto que para os trabalhadores da ULAC esse percentual foi de 23,3%. No entanto, algumas declarações pontuais exemplificam as dificuldades enfrentadas, por exemplo:

“O acesso à informação foi truncado e desafiador e quando tínhamos informações, eram vagas e insuficientes.”

“...melhorias no treinamento.”

“O início mesmo foi uma fase incerta, porque fomos orientados a apenas usar máscara em caso de contato com paciente suspeito, mas era possível trabalhar no laboratório sem máscara, não existia distanciamento, e, além disso, o hospital não fornecia máscaras em quantidade suficiente para todos... As diretrizes mudaram e todos que atendessem as unidades Covid deveriam usar a máscara N95, mas o hospital não fornecia máscaras N95 suficientes, pois estavam em falta no mercado nacional. No segundo ou terceiro mês após o início da pandemia, por volta de maio/20, tivemos um treinamento para uso de EPI. Onde nos ensinaram como se paramentar e desparamentar corretamente, mas até então já estávamos trabalhando há algum tempo sem saber.”

“Infelizmente ainda que estejamos trabalhando em um Hospital Universitário, muitas demandas de cuidados com os servidores e colaboradores em geral precisam ser revistas para melhor desempenho das funções.”

Pesquisas apontam que a maior parte dos profissionais de saúde experimentou sentimentos negativos durante a pandemia.^(22,23) Foi relatado que a pressão gerada pelo trabalho, associada a esses sentimentos, pode ser responsável por danos à atenção, problemas em tomada de decisões além de efeitos duradouros no bem-estar geral.⁽⁶⁾ Esses dados corroboram os 90,7% de participantes que relataram ao menos um distúrbio de saúde e 64,1% que indicaram o trabalho como responsável. O suporte às condições de saúde associadas à pandemia foi acessado de diferentes formas. Especulamos o desconhecimento da existência das opções disponibilizadas pela instituição. Notou-se que a maioria dos entrevistados recorreu à família e amigos durante as necessidades emocionais.

Neste sentido, os trabalhadores se sentiram valorizados pela sociedade, mas não pelo empregador, como pode ser observado nos seguintes depoimentos:

“Ao mesmo tempo em que a sociedade valoriza o nosso trabalho como profissionais de saúde durante a pandemia, a empresa reduz o valor da insalubridade paga aos funcionários.”

“Aos olhos da instituição, profissionais que sofrem risco biológico são apenas os que têm contato com pacientes potencialmente com Covid. Já os

que diariamente manipulam amostras com alto risco de contaminação (secreção traqueal, escarro, lavado brônquico etc.) não são lembrados ou reconhecidos. Temos que levar jaleco para lavar em casa, por exemplo. Além de não ter nenhum incentivo financeiro ou emocional, ainda temos que implorar por mínimas condições de trabalho.”

“Por parte da empresa e do governo há muita desvalorização dos profissionais.”

“Decepção com o desrespeito e desvalorização da EBSERH em relação a todos os funcionários.”

Além disso, foram identificados sentimento de satisfação e prazer na atividade profissional como exemplificado pelos seguintes depoimentos:

“Fico feliz de saber que fazemos um trabalho essencial que faz diferença na vida dos pacientes.”

“Apesar do custo psicológico, social e emocional, além do físico, a possibilidade de contribuir com o serviço, com a segurança dos colegas de trabalho e com a recuperação dos pacientes me propiciou satisfação e sensação de dever cumprido.”

Por outro lado, a situação pandêmica colocou os profissionais em situação de impasse especialmente para mães de menores que não possuíam opções para a supervisão dos filhos:

“A pandemia criou uma situação complicada para mães (filhos pequenos) que trabalham presencial. Não ter escolas – as opções eram ter uma pessoa cuidando em casa (ou seja, risco no isolamento) ou deixar com avós (risco no isolamento), pois trabalho essencial não permite trabalho remoto.”

Ainda, alguns profissionais relataram aprendizagem com a crise sanitária que vivenciaram, como ilustrado a seguir:

“Estou aproveitando as boas oportunidades que a pandemia ofereceu para melhoria no trabalho.”

“A pandemia não me afetou muito, pois minha rotina permaneceu igual. E penso que o risco de contrair doenças no laboratório, mesmo com cuidados, sempre existe. Questões como ansiedade e estresse são constantes em trabalho hospitalar, com pandemia ou sem.”

De forma geral, buscamos analisar a percepção dos profissionais de laboratório sobre a atuação na pandemia da Covid-19. Em comparação aos estudos realizados no início da pandemia, parece que a sensação de preparo foi diretamente associada com as condições de trabalho, como disponibilidade de EPI, treinamento, apoio do empregador/gestor etc.

Como limitações deste estudo podemos citar o pequeno número de participantes que inviabilizou a associação estatística entre fatores causais e a infecção pelo SARS-CoV-2 e a comparação da percepção dos profissionais que atuam nos diferentes locais do laboratório. O momento em que a pesquisa foi realizada também pode ter influenciado nos resultados, pois já havia decorrido mais de um ano da pandemia da Covid-19. Ainda, as diferentes formas de aplicação do questionário (eletrônico e físico) podem ter influenciado a forma de responder, por exemplo, as questões abertas. Contudo, foi possível compreender o que a equipe, de forma abrangente, viveu na pandemia.

Os resultados mostraram, portanto, que durante a pandemia foram necessários métodos para apoiar os profissionais de laboratório para o desempenho bem-sucedido das funções. Profissionais comprometidos e em condições de trabalho adequadas, mas sem o apoio do empregador/gestor, pode resultar em uma subutilização do potencial desses trabalhadores, adoecimento e, também, a possível deterioração da qualidade dos cuidados prestados à população.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, os resultados deste estudo apontaram desafios dos profissionais de saúde atuantes em laboratórios no enfrentamento da pandemia da Covid-19.

Segundo a percepção dos trabalhadores da ULAC sobre a biossegurança durante a pandemia da Covid-19, foram verificadas oportunidades de melhoria em vários processos, como no afastamento das atividades de indivíduos com perfil de risco e na promoção dos serviços de suporte emocional. Por outro lado, também foram observadas as facilidades oferecidas pela instituição, como: flexibilização da carga horária de trabalho, oferta de local de descanso e de atendimento médico. Também foi verificada carência no fornecimento de jalecos descartáveis, e ainda problemas na divulgação de orientações quanto aos cuidados dermatológicos com o uso de EPI. De modo geral, os servidores não se sentiram valorizados pelo empregador e vivenciaram um conjunto de sentimentos negativos decorrentes da responsabilidade e do risco de suas ocupações no contexto pandêmico. No entanto,

foi observada sensação de valorização do profissional pela sociedade, prazer e orgulho em exercer as atividades profissionais, especialmente por contribuir com a saúde coletiva em um momento histórico tão crítico. Desta forma, pode ser considerada uma percepção positiva dos trabalhadores a respeito da biossegurança e concluído que os profissionais do laboratório de análises clínicas não se sentem invisíveis perante a sociedade.

Por fim, este estudo auxiliou na compreensão da percepção pelos profissionais e dos processos instituídos no âmbito da saúde no contexto da pandemia da Covid-19, que ainda carece de análises científicas mais profundas no Brasil.

REFERÊNCIAS

- Bezerra ACV, Silva CEM, Soares FRG, Silva JAM. Fatores associados ao comportamento da população durante o isolamento social na pandemia de Covid-19. *Ciê Saúde Colet*. 2020;25(1):2411-2421. doi: 10.1590/1413-81232020256.1.10792020. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/csc/2020.v25suppl1/2411-2421/>. Acesso em: 03 Abr 2021.
- Martinello F. Biossegurança laboratorial na pandemia do SARS-CoV-2. *Rev Bras Anal Clin*. 2020;52(2):110.
- Helioterio MC, Lopes FQRS, Sousa CC, Souza FO, Pinho PS, Sousa F, et al. Covid-19: por que a proteção de trabalhadores e trabalhadoras da saúde é prioritária no combate à pandemia? *Trab Educ Saúde*. 2020;18(3):1-13. doi: doi.org/10.1590/1981-7746-sol00289. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1981-77462020000300512&script=sci_arttext. Acesso em: 03 Abr 2021.
- Mhango M, Dzobo M, Chitungo I, Dzinamarira T. Covid-19 Risk Factors Among Health Workers: A Rapid Review. *Saf Health Work*. 2020;11(3):262-265. doi: 10.1016/j.shaw.2020.06.001.
- Jackson JM Filho, Assunção A, Algranti E, Garcia EG, Saito CA, Maeno M. A saúde do trabalhador e o enfrentamento da Covid-19. *Rev Bras Saúde Ocup*. 2020;45:1-3. doi: 10.1590/2317-6369ed0000120.
- Teixeira CFS, Soares CM, Souza EA, Lisboa ES, Pinto ICM, Andrade LR, et al. A saúde dos profissionais de saúde no enfrentamento da pandemia de Covid-19. *Ciê Saúde Colet*. 2020;25(9):3465-3474. doi: 10.1590/1413-81232020259.19562020.
- Leonel F. Pandemia reafirma invisibilidade de 2 milhões de trabalhadores da área da Saúde. *ENSP Fiocruz*. 2022. Disponível em: <http://informe.ensp.fiocruz.br/noticias/52742>. Acesso em: 14 Fev 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plano nacional de operacionalização da vacinação contra a Covid-19. 3. ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde. 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/ptbr/media/pdf/2021/janeiro/29/planovacinaocovid_v2_29jan21_nucom.pdf. Acesso em: 19 Maio 2021.
- CDC (USA). Interim Operational Considerations for Public Health Management of Healthcare Workers Exposed to or with Suspected or Confirmed Covid-19: non-U.S. Healthcare Settings. 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/non-us-settings/public-health-management-hcw-exposed.html>. Acesso em: 19 Maio 2021.
- SVS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde (org.). Brasil. Recomendações de proteção aos trabalhadores dos serviços de saúde no atendimento de Covid-19 e outras síndromes gripais. 2020. Disponível em: https://www.saude.gov.br/files/banner_coronavirus/GuiaMSRecomendacoesdeprotecao-trabalhadores-Covid-19.pdf. Acesso em: 03 Abr 2021.
- Loh TP, Horvath AR, Wang CB, Koch D, Lippi G, Mancini N, et al. The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Taskforce on Covid-19. "Laboratory practices to mitigate biohazard risks during the Covid-19 outbreak: an IFCC global survey". *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2020;58(9):1433-1440. doi: 10.1515/cclm-2020-0711.
- Agranonik M, Hirakata VN. Cálculo de tamanho de amostra: proporções. *Clin Biomed Res*. 2011;31(3). Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/hcpa/article/view/23574>. Acesso em: 03 Maio 2021.
- FIOCRUZ. Ministério da Saúde. Os trabalhadores invisíveis da saúde: condições de trabalho e saúde mental no contexto da Covid-19 no Brasil. 2021. Disponível em: <https://redcap.icict.fiocruz.br/surveys/index.php?s=PFRYRMLH9>. Acesso em: 26 Abr 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Recomendações de proteção aos trabalhadores dos serviços de saúde no atendimento de Covid-19 e outras síndromes gripais. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde, 2020. Disponível em: https://www.saude.gov.br/files/banner_coronavirus/GuiaMSRecomendacoesdeprotecao-trabalhadores-Covid-19.pdf. Acesso em: 24 Jan 2022.
- BRASIL. IBGE. (org). Estudos sociodemográficos e análises espaciais referentes aos municípios com a existência de comunidades remanescentes de quilombos. Rio de Janeiro: IBGE, 2007.
- Magalhães RC, Glima DMR. Prevalência de Burnout em médicos de um Hospital Público de São Paulo. *Saúde Ética Justiça*. 2006;11(1/2):29-35.
- Ke DS. Overwork, Stroke, and Karoshi-death from Overwork. *Acta Neurol Taiwan*. 2012;21(2):54-59.
- Metlay JP, Haas JS, Soltoff AE, Armstrong KA. Household Transmission of SARS-CoV-2. *JAMA Netw Open*. 2021;4(2):e210304. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.0304
- DOE. Diário Oficial do Estado. Decreto nº 1168, de 24 de fevereiro de 2021. Estabelece em caráter extraordinário, medidas de enfrentamento da Covid-19 em todo o território estadual e estabelece outras providências. Disponível em: https://www.sc.gov.br/images/Secom_Noticias/Documentos/Decreto1168covid.pdf. Acesso em: 24 Fev 2021.
- US. CDC. Covid-19 Employer Information for Office Buildings. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/community/office-buildings.html>. Acesso em: 25 Jan 2022.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 04/2020: Orientações para serviços de saúde: medidas de prevenção e controle que devem ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de infecção pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Brasília: ANVISA, 2020. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/notas-tecnicas/nota-tecnica-gvims_ggtes_anvisa-04_2020-25-02-para-site.pdf. Acesso em: 26 Jan. 2022.
- Lotta GS, Lima D, Magri G, Corrêa M, Beck A. Nota Técnica: A pandemia de Covid-19 e os profissionais de saúde pública no Brasil. FGV. 2020. 19p. Disponível em https://drive.google.com/file/d/1PsOC7OSUm0-zNb6xhJ_aJ6UbQ_OGHV0p/view?fbclid=IwAR1_iq7DssXwOIUJmd8PL-263SFToY4wnk2vUsGa5cRlzscwl-4M3qf1tZ4.
- Fernandez M, Lotta G, Passos H, Cavalcanti P, Corrêa MG. Condições de trabalho e percepções de profissionais de enfermagem que atuam no enfrentamento à covid-19 no Brasil. *Saúde Soc*. 2021;30(4): e201011.
- Fernandez M, Lotta GS. How Community Health Workers are facing Covid-19 Pandemic in Brazil: Personal Feelings, Access to Resources and Working Process. *Arch Fam Med Gen Pract*. 2020;5:5-15.
- Lotta GS, Fernandez M, Correa M. The Vulnerabilities of the Brazilian Health Workforce during Health Emergencies: Analysing personal feelings, access to resources and work dynamics during the Covid 19 pandemic. *Int J Health Plann Manage*. 2021;36:42-57.
- Yan Y, Chen H, Chen L, Cheng B, Diao P, Dong L, et al. Consensus of Chinese experts on protection of skin and mucous membrane barrier for health-care workers fighting against coronavirus disease 2019. *Dermatol Ther*. 2020;33(4):e13310. doi: 10.1111/dth.13310



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".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas

também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg", ".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: ____/____/____.

CURSO

PNCQ GESTOR VR. 8.0

ALÉM DE CUMPRIR A LEGISLAÇÃO,
PREPARE-SE PARA A ACREDITAÇÃO!

O software e o curso PNCQ Gestor

auxiliam seu laboratório nesse processo!

*Em cumprimento aos requisitos do Manual do SNA-DICQ 8ª ed. e da RDC 786:2023 da ANVISA.

Software
PNCQ Gestor
Versão 8.0*

CURSO
Presencial

CONSULTORIA
por e-mail

ONDE **Rio de Janeiro/RJ**

● QUANDO **07 e 08/03**

ONDE **Fortaleza/CE**

● QUANDO **21 e 22/03**

ONDE **Cuiabá/MT**

● QUANDO **04 e 05/04**

ONDE **Uberlândia/MG**

● QUANDO **18 e 19/04**

ONDE **Curitiba/PR**

● QUANDO **09 e 10/05**

ONDE **Santa Maria/RS**

● QUANDO **23 e 24/05**

ONDE **Natal/RN (pré 49° CBAC)**

● QUANDO **14 e 15/06**

ONDE **Foz do Iguaçu/PR**

● QUANDO **01 e 02/08**

ONDE **Campinas/SP**

● QUANDO **15 e 16/08**

ONDE **Porto Seguro/BA**

● QUANDO **29 e 30/08**

ONDE **Vitória/ES**

● QUANDO **12 e 13/09**

ONDE **Florianópolis/SC**

● QUANDO **26 e 27/09**

ONDE **João Pessoa/PB**

● QUANDO **03 e 04/10**

ONDE **Goiânia/GO**

● QUANDO **17 e 18/10**

ONDE **Ribeirão Preto/SP**

● QUANDO **07 e 08/11**

ONDE **Porto Alegre/RS**

● QUANDO **21 e 22/11**

ONDE **Joinville/SC**

● QUANDO **28 e 29/11**

Se você se interessou,
preencha agora mesmo a ficha de
pré-inscrição.

Precisamos de um número mínimo de interessados
PARA CONFIRMAR A REALIZAÇÃO DO CURSO!



INSCREVA-SE
pncq.org.br/cursos

Descontos na Acreditação
inicial do SNA-DICQ



Não é necessário pagar nada agora!

ATUALIZE SEU SGQ E SUA EQUIPE!

Valores diferenciados para os
laboratórios que já participaram
do curso - consulte-nos!

 **PNCQ**[®]
Programa Nacional
de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

 (21) 3172-7100 | 2569-6867

 pncq@pncq.org.br

 Rua Vicente Licínio, 193
Tijuca - Rio de Janeiro/RJ
CEP: 20270-340

 @PNCQoficial

 @pncqoficial

 /pncq-oficial



www.pncq.org.br