



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 57 - N 01 | Ano 2025

ISSN 2448-3877

EDIÇÃO BILÍNGUE / BILINGUAL EDITION





Estão abertas as
submissões de
trabalhos para o 50º
Congresso Brasileiro
de Análises Clínicas!
ATENÇÃO!
O prazo é até 16/05.

IMPORTANTE LEMBRAR!

Os trabalhos podem se enquadrar nas seguintes categorias:

- Trabalhos originais (clínicos, laboratoriais ou experimentais);
- Relatos de casos;
- Imagens laboratoriais;

Ao submeter o seu trabalho, você pode optar por participar de uma das três premiações do **50º CBAC!**



Prêmio SBAC:

Elege trabalho que mais se destaca em melhoria técnica do laboratório de análises clínicas, **no valor de R\$ 5.000**



Prêmio PNCQ:

Destinado ao melhor trabalho no tema de controle de qualidade laboratorial, **no valor de R\$ 5.000**

NOVIDADE!

Prêmio Prof. Dr. Mateus Mandu de Souza:

Será selecionado o trabalho que se sobressair no tema de inovação e tecnologia em análises clínicas*, **no valor de R\$ 5.000**



Confira a área **"INSCRIÇÃO"** ou escaneie o **QR Code** ao lado e acesse o regulamento completo
sbac.org.br/cbac/trabalhos-cientificos



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

Volume 57 - Número 1 - 2025

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

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry
Mauren Isfer Anghebem

Citologia Clínica/Clinical Cytology
Júlio César Merlin

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

Hematologia Clínica/Clinical Hematology
Marcos Kneip Fleury

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

Micologia Clínica/Clinical Micology
Sarah Gonçalves
Paulo Murillo Neufeld

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology
Lenilza Mattos Lima

**Patologia Clínica Veterinária/Veterinary
Clinical Pathology**
Breno Fernando Martins de Almeida
Daniele Silvano Gonçalves

**Uroanálise e Líquidos Biológicos/
Uroanalysis and Biological Liquids**
Ana Paula Giolo Franz

Corpo Editorial/Editorial Board

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

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

Patrício Godoy Martinez - 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

Juno Damasceno Silva (RJ)
Secretário-Geral/General Secretary

Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Secretário/Secretary

André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/Treasurer

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

**Conselho Fiscal/Fiscal Board
Titulares/holders**

Cláudio José de Freitas Brandão (BA)
Marcello Ávila Mascarenhas (RS)
Flávia Martinello (SC)

Suplentes/Alternates

Iberê Ferreira da Silva Júnior (MT)
Fernando Luís Bacelar de Carvalho Lobato (MA)
Júlio César Merlin (PR)

Endereço para correspondência/Editorial Office

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

Editorial / Editorial

- 4 **PT** Esporotricose: de micose negligenciada em saúde pública à zoonose emergente de notificação compulsória
7 **EN** *Sporotrichosis: from a neglected subcutaneous mycosis in public health to an emerging notifiable zoonosis*
Neufeld PM

Artigos de revisão / Review articles

- 10 **PT** Considerações importantes sobre o diagnóstico laboratorial da dengue
19 **EN** *Important considerations about laboratory diagnosis of dengue fever*
Bertolini DA, Lopes LDG, Sato LS
- 28 **PT** Tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T
38 **EN** *Treatment of lymphoid neoplasms with CAR-T cells*
Silva AJ, Menezes P, Nascimento DFC
- 48 **PT** Atividade antibacteriana dos canabinoides sobre a bactéria causadora da tuberculose: uma revisão sistemática
54 **EN** *Antibacterial activity of cannabinoids on the bacteria that cause tuberculosis: a systematic review*
Souza GASC, Andrade RLP, Rossi GN, Santos RG, Hallak JEC, Orfão NH
- 60 **PT** Infecção por *Candida auris* em crianças e neonatos: uma revisão integrativa de literatura
68 **EN** *Candida auris infection in children and neonates: an integrative literature review*
Nogueira BA, Sampaio TN, Ibiapina AVP, Frota MMS, Ibiapina VMP, Filizola FYN, Aguiar JCC, Nogueira BA, Monteiro FFC, Peixoto PHS, Cavalcante OSS, Miranda CCAAM
- 76 **PT** Eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada para monitoramento do controle glicêmico no *diabetes mellitus*: uma revisão sistemática
93 **EN** *Effectiveness of fructosamine and glycated albumin tests for monitoring glycemic control in diabetes mellitus: a systematic review*
Sousa ALL, Domingueti CP

Comunicação breve / Short communication

- 109** **PT** Teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos EUCAST RAST direto do frasco de hemocultura positiva em um hospital público regional
- 114** **EN** *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood cultures in a Brazilian regional public hospital*
Soares VM, Varella AS, Viegas DM

119 **Instruções aos autores/Instructions for authors**

Esporotricose: de micose negligenciada em saúde pública à zoonose emergente de notificação compulsória

Sporotrichosis: from a neglected subcutaneous mycosis in public health to an emerging notifiable zoonosis

Paulo Murillo Neufeld | Editor Emérito da RBAC

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix*, tradicionalmente relacionada à inoculação traumática da pele por fragmentos vegetais contaminados, configurando-se como uma sapronose clássica de ambientes rurais. Entretanto, a partir das últimas décadas do século XX, particularmente no Brasil, observou-se uma profunda transformação no perfil epidemiológico da doença, marcada pela emergência de uma forma zoonótica urbana, cuja principal via de transmissão passou a ser o contato direto com gatos domésticos infectados. Essa transição epidemiológica é protagonizada pelo *Sporothrix brasiliensis*, espécie emergente de elevada virulência, fortemente adaptada ao hospedeiro felino e com capacidade de gerar surtos hiperendêmicos em centros urbanos.

Avanços na taxonomia e classificação fúngica, impulsionados por técnicas moleculares como o sequenciamento de regiões ITS, do gene da calmodulina e o uso da espectrometria de massas por MALDI-TOF, permitiram a redefinição do agente etiológico da esporotricose. O que outrora se reconhecia como *Sporothrix schenckii* passou a ser compreendido como um complexo de espécies crípticas, com distintos perfis epidemiológicos, clínicos, morfofisiológicos e de virulência. Dentre essas, destacam-se *S. schenckii sensu stricto*, *S. globosa*, *S. luriei* e, principalmente, *S. brasiliensis*, esta última responsável pela maioria dos casos humanos e animais no Brasil nas últimas décadas. A diferenciação interespecífica é essencial, uma vez que as espécies apresentam respostas terapêuticas e padrões de disseminação distintos.

No contexto brasileiro, o estado do Rio de Janeiro configura-se como o principal epicentro da esporotricose zoonótica, com mais de 10.000 casos humanos e cerca de 8.500 casos felinos documentados entre 1998 e 2020. A transmissão ocorre majoritariamente por meio de mordidas, arranhaduras ou contato direto com secreções de gatos infectados, cujas lesões apresentam elevada carga fúngica. Essa forma de transmissão direta interespecífica, até então incomum entre as micoses subcutâneas, é favorecida por fatores como alta densidade populacional felina, ausência de controle reprodutivo, coinfeções parasitárias e condições socioambientais precárias. Em felinos, a infecção assume frequentemente curso grave, com manifestações ulceradas extensas, disseminação fúngica sistêmica e elevada taxa de letalidade.

No espectro clínico humano, a forma linfocutânea continua sendo a apresentação mais prevalente, seguida pelas formas cutânea fixa, extracutânea e disseminada, estas últimas mais frequentes em pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles

Recebido em 03/04/2025 | Aprovado em 04/04/2025 | DOI: 10.21877/2448-3877.202500231.pt

coinfectados por HIV. Manifestações imunorreativas, como eritema nodoso e artrite reativa, também têm sido descritas, especialmente em infecções por *S. brasiliensis*. A notável adaptação dessa espécie à mucosa oral e às garras dos felinos, somada à sua baixa diversidade genética intraespécie (evidência de expansão clonal recente) contribui para sua elevada transmissibilidade e persistência ambiental em núcleos urbanos.

O impacto psicossocial da esporotricose também é significativo. Lesões ulceradas visíveis, tratamentos prolongados e de alto custo, perda de capacidade produtiva e estigmatização social estão entre os efeitos mais frequentes observados em pacientes acometidos. Em áreas hiperendêmicas, essas consequências são agravadas pela pobreza, baixa escolaridade e limitações de acesso aos serviços de saúde, configurando um ciclo de invisibilidade epidemiológica, abandono terapêutico e perpetuação da transmissão.

O diagnóstico laboratorial da esporotricose ainda se baseia, majoritariamente, na cultura micológica de amostras clínicas, método considerado padrão-ouro. No entanto, sua baixa sensibilidade, especialmente em formas subagudas ou crônicas, limita a acurácia diagnóstica. Métodos complementares, como a histopatologia, a sorologia e, mais recentemente, a PCR convencional e em tempo real, têm sido empregados com sucesso em centros de referência, permitindo maior rapidez na identificação da espécie envolvida e no direcionamento terapêutico. Em felinos, a intensa carga fúngica favorece a observação direta de leveduras, facilitando o diagnóstico.

O tratamento farmacológico é baseado, preferencialmente, no uso do itraconazol, antifúngico de escolha para casos cutâneos. Formas graves, refratárias ou disseminadas requerem terapias mais agressivas com anfotericina B ou, alternativamente, posaconazol. O surgimento de cepas resistentes, principalmente de *S. brasiliensis*, tem motivado estudos sobre novos antifúngicos, como a miltefosina e inibidores enzimáticos específicos, além de terapias adjuvantes. A terapêutica em felinos é particularmente desafiadora, exigindo tratamentos prolongados e monitoramento rigoroso, o que frequentemente resulta em abandono dos animais e perpetuação da cadeia de transmissão.

A elevada carga zoonótica e a rápida expansão geográfica da esporotricose no Brasil colocam a micose em posição estratégica dentro das doenças infecciosas emergentes e negligenciadas. Por muitos anos, a ausência de notificação compulsória em âmbito nacional dificultou a consolidação de dados epidemiológicos confiáveis, comprometendo o planejamento e a execução de ações efetivas de vigilância e controle. No entanto, neste ano de 2025, a esporotricose humana foi oficialmente incluída na Lista Nacional de Notificação Compulsória pelo Ministério da Saúde, conforme pactuação da Comissão Intergestores Tripartite. A partir dessa inclusão, os casos deverão ser registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), o que permitirá mapear com maior precisão a distribuição da doença no território nacional, subsidiar políticas públicas e viabilizar respostas mais articuladas.

Entre as estratégias previstas estão a criação de fichas específicas de notificação e investigação, a formulação de protocolos de vigilância com fluxos adaptados à esporotricose humana, capacitações técnicas para profissionais de saúde, estruturação dos LACEN's e o aprimoramento da logística de fornecimento de medicamentos, considerando o possível aumento da demanda decorrente da sensibilidade do sistema de vigilância. Nesse sentido, a iniciativa também contempla o fortalecimento da rede diagnóstica e terapêutica no Sistema Único de Saúde (SUS), com vistas a garantir o efetivo tratamento.

Para atender a esse novo contexto sanitário, torna-se imprescindível adotar uma abordagem integrada e multidisciplinar, fundamentada no conceito de “Saúde Única” (*One Health*), que contemple simultaneamente ações em saúde humana, medicina veterinária e vigilância ambiental. O controle efetivo da esporotricose zoonótica exige medidas estruturadas, com programas de esterilização e controle populacional felino e de educação sanitária para a população e desenvolvimento de vacinas imunopreventivas, sobretudo voltadas ao hospedeiro felino, elo central da cadeia de transmissão.

Importa mencionar ainda que a esporotricose, especialmente em sua forma zoonótica causada pelo *S. brasiliensis*, representa um modelo paradigmático de micose emergente, com alto impacto na saúde pública, desafiando os sistemas tradicionais de vigilância, diagnóstico e controle. O enfrentamento eficaz dessa enfermidade requer, portanto, não apenas inovação científica e tecnológica, mas também compromisso político, investimento institucional e equidade no acesso ao cuidado.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez CM, Oliveira MME, Pires RH. Sporotrichosis: A Review of a Neglected Disease in the Last 50 Years in Brazil. *Microorganisms*. 2022 Oct 30;10(11):2152. doi: 10.3390/microorganisms10112152.
- Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TM, Reis RS, Wanke B, Marzochi KB, Conceição MJ. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004 Feb 15;38(4):529-35. doi: 10.1086/381200.
- Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol*. 2015 Jan;53(1):3-14. doi: 10.1093/mmy/myu062.
- Curtis KL, Gold JAW, Ritter JM, Rosen T, Santos DWCL, Smith DJ, Lipner SR. Dermatologic Fungal Neglected Tropical Diseases-Part I. Epidemiology and Clinical Features. *J Am Acad Dermatol*. 2024 Jun 7:S0190-9622(24)00849-1. doi: 10.1016/j.jaad.2024.03.056.
- Curtis KL, Gold JAW, Ritter JM, Rosen T, Santos DWCL, Smith DJ, Lipner SR. Dermatologic Fungal Neglected Tropical Diseases-Part II. Management and Morbidity. *J Am Acad Dermatol*. 2024 Jun 6:S0190-9622(24)00850-8. doi: 10.1016/j.jaad.2024.03.057.
- da Rosa AC, Scroferneker ML, Vettorato R, Gervini RL, Vettorato G, Weber A. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. *J Am Acad Dermatol*. 2005 Mar;52(3 Pt 1):451-9. doi: 10.1016/j.jaad.2004.
- De Carolis E, Posteraro B, Sanguinetti M. Old and New Insights into *Sporothrix schenckii* Complex Biology and Identification. *Pathogens*. 2022 Feb 25;11(3):297. doi: 10.3390/pathogens11030297.
- Gómez-Gaviria M, Martínez-Álvarez JA, Mora-Montes HM. Current Progress in *Sporothrix brasiliensis* Basic Aspects. *J Fungi (Basel)*. 2023 Apr 29;9(5):533. doi: 10.3390/jof9050533.
- Gremião ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLoS Pathog*. 2017 Jan 19;13(1):e1006077. doi: 10.1371/journal.ppat.1006077.
- Lopes-Bezerra LM, Mora-Montes HM, Zhang Y, Nino-Vega G, Rodrigues AM, de Camargo ZP, de Hoog S. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. *Med Mycol*. 2018 Apr 1;56(suppl_1):126-143. doi: 10.1093/mmy/myx103.
- Ministério da Saúde. Micose Endêmica. Esporotricose humana passa a ser de notificação compulsória. Publicado em 30/01/2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/janeiro/ esporotricose-humana-passa-a-ser-de-notificacao-compulsoria>. Acesso: 03 mar 2025.
- Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falcí DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov;17(11):e367-e377. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30306-7.
- Rabello VBS, Almeida MA, Bernardes-Engemann AR, Almeida-Paes R, de Macedo PM, Zancopé-Oliveira RM. The Historical Burden of Sporotrichosis in Brazil: a Systematic Review of Cases Reported from 1907 to 2020. *Braz J Microbiol*. 2022 Mar;53(1):231-244. doi: 10.1007/s42770-021-00658-1.
- Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. Sporothrix Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal-Animal Transmission. *PLoS Pathog*. 2016 Jul 14;12(7):e1005638. doi: 10.1371/journal.ppat.1005638.
- Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZP. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *J Fungi (Basel)*. 2022 Jul 26;8(8):776. doi: 10.3390/jof8080776.
- Rossow JA, Queiroz-Telles F, Caceres DH, Beer KD, Jackson BR, Pereira JG, Ferreira Gremião ID, Pereira SA. A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. *J Fungi (Basel)*. 2020 Oct 26;6(4):247. doi: 10.3390/jof6040247.

Sporotrichosis: from a neglected subcutaneous mycosis in public health to an emerging notifiable zoonosis

Esporotricose: de micose negligenciada em saúde pública à zoonose emergente de notificação compulsória

Paulo Murillo Neufeld | RBAC Emeritus Editor

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis caused by thermodimorphic fungi of the genus *Sporothrix*, traditionally associated with traumatic skin inoculation through contaminated plant fragments, characterizing it as a classic sapronoses in rural environments. However, since the late 20th century, particularly in Brazil, a significant shift in the disease's epidemiological profile has been observed, marked by the emergence of an urban zoonotic form, in which direct contact with infected domestic cats became the primary transmission route. This epidemiological transition is driven by *Sporothrix brasiliensis*, an emerging species of high virulence, strongly adapted to feline hosts and capable of causing hyperendemic outbreaks in urban centers.

Advancements in fungal taxonomy and classification, driven by molecular techniques such as sequencing of ITS regions, calmodulin gene analysis, and the use of MALDI-TOF mass spectrometry, have enabled the redefinition of the etiological agent of sporotrichosis. What was once recognized as *Sporothrix schenckii* is now understood as a complex of cryptic species, each with distinct epidemiological, clinical, morphophysiological, and virulence profiles. Among these species, *S. schenckii sensu stricto*, *S. globosa*, *S. luriei*, and particularly *S. brasiliensis* stand out, the latter being responsible for most human and animal cases in Brazil in recent decades. Inter-species differentiation is essential, as these species exhibit distinct therapeutic responses and dissemination patterns.

In the Brazilian context, the state of Rio de Janeiro has emerged as the main epicenter of zoonotic sporotrichosis, with more than 10,000 human cases and approximately 8,500 feline cases documented between 1998 and 2020. Transmission predominantly occurs through bites, scratches, or direct contact with the secretions of infected cats, whose lesions exhibit a high fungal load. This form of direct interspecies transmission, previously uncommon among subcutaneous mycoses, is facilitated by factors such as high feline population density, lack of reproductive control, parasitic co-infections, and poor socio-environmental conditions. In felines, the infection often takes a severe course, with extensive ulcerative lesions, systemic fungal dissemination, and a high fatality rate.

In the human clinical spectrum, the lymphocutaneous form remains the most prevalent presentation, followed by fixed cutaneous, extracutaneous, and disseminated forms, the latter being more frequent in immunocompromised patients, including those co-infected with HIV. Immunoreactive manifestations, such as erythema nodosum and reactive arthritis, have also been described, particularly in infections caused by *S. brasiliensis*. The remarkable adaptation of this species to the feline oral mucosa and claws, combined with

Received on 04/03/2025 | Approved on 04/04/2025 | DOI: 10.21877/2448-3877.202500231.en

its low intraspecific genetic diversity (evidence of recent clonal expansion), contributes to its high transmissibility and environmental persistence in urban centers.

The psychosocial impact of sporotrichosis is also significant. Visible ulcerative lesions, prolonged and costly treatments, loss of productive capacity, and social stigmatization are among the most common effects observed in affected patients. In hyperendemic areas, these consequences are exacerbated by poverty, low educational levels, and limited access to healthcare services, creating a cycle of epidemiological invisibility, therapeutic abandonment, and sustained transmission.

Laboratory diagnosis of sporotrichosis still relies primarily on mycological culture of clinical samples, a method considered the gold standard. However, its low sensitivity, particularly in subacute or chronic forms, limits diagnostic accuracy. Complementary methods, such as histopathology, serology, and, more recently, conventional and real-time PCR, have been successfully employed in reference centers, enabling faster identification of the species involved and more targeted therapeutic approaches. In felines, the high fungal load facilitates the direct observation of yeast cells, simplifying diagnosis.

Pharmacological treatment is preferably based on the use of itraconazole, the antifungal of choice for cutaneous cases. Severe, refractory, or disseminated forms require more aggressive therapies with amphotericin B or, alternatively, posaconazole. The emergence of resistant strains, particularly of *Sporothrix brasiliensis*, has prompted studies on new antifungal agents, such as miltefosine and specific enzyme inhibitors, as well as adjuvant therapies. Treatment in felines is particularly challenging, requiring prolonged regimens and rigorous monitoring, which often results in animal abandonment and perpetuation of the transmission chain.

The high zoonotic burden and rapid geographic expansion of sporotrichosis in Brazil strategically position this mycosis among emerging and neglected infectious diseases. For many years, the absence of compulsory national notification hindered the consolidation of reliable epidemiological data, compromising the planning and implementation of effective surveillance and control measures. However, in 2025, human sporotrichosis was officially included in the National Compulsory Notification List of diseases by the Ministry of Health, following an agreement by the Brazilian Tripartite Commission (CIT - Comissão Intergestores Tripartite). With this inclusion, cases shall be recorded in the Notifiable Diseases Information System (SINAN), which will enable more accurate mapping of the disease's distribution across the national territory, support public policies, and allow for more coordinated responses.

the proposed strategies are the development of specific notification and investigation forms, the formulation of surveillance protocols with workflows adapted to human sporotrichosis, technical training for healthcare professionals, the structuring of LACENs (Central Public Health Laboratories), and the improvement of medication supply logistics, considering the potential increase in demand resulting from the enhanced sensitivity of the surveillance system. In this regard, the initiative also aims to reinforce the diagnostic and therapeutic network within the Unified Health System (SUS), ensuring effective treatment access.

To address this new public health context, it is essential to adopt an integrated and multidisciplinary approach based on the "One Health" concept, which simultaneously

encompasses actions in human health, veterinary medicine, and environmental surveillance. Effective control of zoonotic sporotrichosis requires structured measures, including feline sterilization and population control programs, health education for the public, and the development of immunopreventive vaccines, particularly targeting feline hosts, the central link in the transmission chain.

It is also worth noting that sporotrichosis, especially in its zoonotic form caused by *Sporothrix brasiliensis*, represents a paradigmatic model of an emerging mycosis with a significant impact on public health, challenging traditional surveillance, diagnostic, and control systems. Effectively addressing this disease, therefore, demands not only scientific and technological innovation but also political commitment, institutional investment, and equity in access to care.

BIBLIOGRAPHY

- Alvarez CM, Oliveira MME, Pires RH. Sporotrichosis: A Review of a Neglected Disease in the Last 50 Years in Brazil. *Microorganisms*. 2022 Oct 30;10(11):2152. doi: 10.3390/microorganisms10112152.
- Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TM, Reis RS, Wanke B, Marzochi KB, Conceição MJ. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004 Feb 15;38(4):529-35. doi: 10.1086/381200.
- Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol*. 2015 Jan;53(1):3-14. doi: 10.1093/mmy/myu062.
- Curtis KL, Gold JAW, Ritter JM, Rosen T, Santos DWCL, Smith DJ, Lipner SR. Dermatologic Fungal Neglected Tropical Diseases-Part I. Epidemiology and Clinical Features. *J Am Acad Dermatol*. 2024 Jun 7:S0190-9622(24)00849-1. doi: 10.1016/j.jaad.2024.03.056.
- Curtis KL, Gold JAW, Ritter JM, Rosen T, Santos DWCL, Smith DJ, Lipner SR. Dermatologic Fungal Neglected Tropical Diseases-Part II. Management and Morbidity. *J Am Acad Dermatol*. 2024 Jun 6:S0190-9622(24)00850-8. doi: 10.1016/j.jaad.2024.03.057.
- da Rosa AC, Scroferneker ML, Vettorato R, Gervini RL, Vettorato G, Weber A. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. *J Am Acad Dermatol*. 2005 Mar;52(3 Pt 1):451-9. doi: 10.1016/j.jaad.2004.
- De Carolis E, Posteraro B, Sanguinetti M. Old and New Insights into *Sporothrix schenckii* Complex Biology and Identification. *Pathogens*. 2022 Feb 25;11(3):297. doi: 10.3390/pathogens11030297.
- Gómez-Gaviria M, Martínez-Álvarez JA, Mora-Montes HM. Current Progress in *Sporothrix brasiliensis* Basic Aspects. *J Fungi (Basel)*. 2023 Apr 29;9(5):533. doi: 10.3390/jof9050533.
- Gremião ID, Miranda LH, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLoS Pathog*. 2017 Jan 19;13(1):e1006077. doi: 10.1371/journal.ppat.1006077.
- Lopes-Bezerra LM, Mora-Montes HM, Zhang Y, Nino-Vega G, Rodrigues AM, de Camargo ZP, de Hoog S. Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. *Med Mycol*. 2018 Apr 1;56(suppl_1):126-143. doi: 10.1093/mmy/myx103.
- Ministério da Saúde. Micose Endêmica. Esporotricose humana passa a ser de notificação compulsória. Published in 30/01/2025. Available at: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2025/janeiro/esporotricose-humana-passa-a-ser-de-notificacao-compulsoria>. Accessed at: 03 mar 2025.
- Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov;17(11):e367-e377. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30306-7.
- Rabello VBS, Almeida MA, Bernardes-Engemann AR, Almeida-Paes R, de Macedo PM, Zancopé-Oliveira RM. The Historical Burden of Sporotrichosis in Brazil: a Systematic Review of Cases Reported from 1907 to 2020. *Braz J Microbiol*. 2022 Mar;53(1):231-244. doi: 10.1007/s42770-021-00658-1.
- Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. Sporothrix Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal-Animal Transmission. *PLoS Pathog*. 2016 Jul 14;12(7):e1005638. doi: 10.1371/journal.ppat.1005638.
- Rodrigues AM, Gonçalves SS, de Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZP. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *J Fungi (Basel)*. 2022 Jul 26;8(8):776. doi: 10.3390/jof8080776.
- Rossow JA, Queiroz-Telles F, Caceres DH, Beer KD, Jackson BR, Pereira JG, Ferreira Gremião ID, Pereira SA. A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. *J Fungi (Basel)*. 2020 Oct 26;6(4):247. doi: 10.3390/jof6040247.

Considerações importantes sobre o diagnóstico laboratorial da dengue

Important considerations about laboratory diagnosis of dengue fever

Dennis Armando Bertolini¹, Luciana Dias Ghiraldi Lopes¹, Léo Shigueki Sato²

¹ Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina. Maringá, PR, Brasil.

² Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Maringá, PR, Brasil.

Resumo

A dengue é uma doença infecciosa causada por quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), transmitidos por mosquitos do gênero *Aedes*. A sintomatologia e a gravidade da doença podem variar amplamente, desde manifestações leves até casos graves e potencialmente fatais. Mudanças demográficas e sociais, como crescimento populacional, urbanização e transporte moderno, além do aquecimento global, contribuem muito para o aumento da incidência e disseminação geográfica da dengue. Clinicamente, a dengue pode ser classificada como dengue com e sem sinais de alarme e dengue grave, sendo o diagnóstico laboratorial imprescindível especialmente na identificação de casos graves. Este estudo traz informações importantes sobre aspectos relacionados ao diagnóstico desta arbovirose, levando em consideração a estrutura física do laboratório e situação epidemiológica da dengue na localidade de inserção laboratorial. O diagnóstico laboratorial é realizado mediante técnicas moleculares e sorológicas, sendo que o ponto crítico para um diagnóstico laboratorial com segurança e precisão depende do momento da coleta do material biológico em relação ao dia de início dos sintomas. É importante ressaltar que a infecção por outros flavivírus, sorotipos/genótipos diferentes, infecção sequencial e vacinação para dengue podem provocar interferências no resultado de um teste. O desenvolvimento de conjuntos de diagnósticos mais sensíveis, específicos, rápidos e econômicos, possibilitando a utilização em campo para regiões subdesenvolvidas, é de importância crescente, assim como a constante atualização dos profissionais de saúde envolvidos na cadeia de identificação da dengue.

Palavras-chave: Dengue; Técnicas de Laboratório Clínico; Flavivírus.

Abstract

Dengue is an infectious disease caused by four serotypes of the dengue virus (DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4), transmitted by mosquitoes of the *Aedes* genus. The symptoms and severity of the disease can vary widely, from mild manifestations to severe and potentially fatal cases. Demographic and social changes, such as population growth, urbanization and modern transportation, in addition to global warming, have contributed greatly to the increased incidence and geographic spread of dengue. Clinically, dengue can be classified as dengue with and without warning signs and severe dengue, with laboratory diagnosis being essential, especially in the identification of severe cases. This study provides important information on aspects related to the diagnosis of this arbovirus, taking into account the physical structure of the laboratory and the epidemiological situation of dengue in the location where the laboratory is located. Laboratory diagnosis can be performed using molecular and serological techniques and, although there are several methodologies on the market, a critical point for a safe and accurate laboratory diagnosis will depend on the time of collection of biological material in relation to the day of onset of symptoms. It is important to emphasize that infection by other flaviviruses, different serotypes/genotypes, sequential infection and vaccination for dengue can cause interference in the result of a test. The development of more sensitive, specific, rapid and economical diagnostic kits, enabling use in the field in underdeveloped regions, is of increasing importance, as is the constant updating of health professionals involved in the dengue identification chain.

Keywords: Dengue; Clinical Laboratory Techniques; Flavivirus.

Correspondência

Dennis Armando Bertolini

E-mail: dabertolini@uem.br

Recebido em 10/10/2024 | Aprovado em 04/02/2025 | DOI: 10.21877/2448-3877.202500202.pt

INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose transmitida pela picada de mosquitos *Aedes* spp. A infecção é causada por um dos quatro sorotipos do vírus dengue (DENV1-4) e pode variar em sintomatologia e gravidade. O vírus da dengue pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Orthoflavivirus* e espécie *Orthoflavivirus denguei*.⁽¹⁾ A doença é hiperendêmica em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo, e estima-se que cerca 60% da população mundial estará em risco até o ano de 2080 em áreas de adequação ambiental à sobrevivência do mosquito vetor.^(2,3)

A incidência global da dengue aumentou acentuadamente nas últimas duas décadas, representando um desafio substancial para a saúde pública. Na região das Américas, da Semana Epidemiológica (SE) 1 a SE 50 de 2024, foram notificados 12.902.122 casos suspeitos de dengue, representando um aumento de 166% em relação ao mesmo período de 2023 e um aumento de 326% em relação à média dos últimos cinco anos.⁽⁴⁾ Além dos números alarmantes, todos os quatro sorotipos do vírus da dengue estão circulando na região das Américas até a SE 50 de 2024.⁽⁴⁾

Vários fatores estão associados ao risco crescente de propagação da epidemia de dengue, incluindo a expansão do alcance dos vetores primários (principalmente *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*) em países nos quais não havia circulação viral do DENV; as consequências dos fenômenos El Niño em 2023 e alterações climáticas que levam ao aumento das temperaturas, aumento da pluviosidade, umidade, entre outros; além de fatores que desafiam a rápida resposta a epidemias, como sistemas de saúde frágeis no meio da pandemia de COVID-19, atrasos de notificação, dificuldades de identificação de sintomas que podem contribuir para casos graves, instabilidades políticas e financeiras em países que enfrentam crises humanitárias complexas e grandes movimentos populacionais de urbanização.⁽⁵⁾

A incidência exata da dengue é difícil de determinar, mas sabe-se que dos 7,6 milhões de casos de dengue foram relatados à Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2024, mais de sete milhões foram na região das Américas. Todas as faixas etárias são igualmente suscetíveis à doença, porém idosos e pacientes com doenças crônicas, como diabetes e hipertensão arterial, têm maior risco de evoluir para casos graves e outras complicações que podem levar à morte.⁽⁶⁾ Atualmente, a classificação da dengue é baseada na revisão realizada pela OMS que determina que os casos sejam reportados como: dengue sem sinais de alerta, dengue com sinais

de alerta (dor abdominal, vômito persistente, acúmulo de fluidos, sangramento da mucosa, letargia, aumento do fígado, aumento do hematócrito com diminuição das plaquetas) e dengue grave (dengue com extravasamento grave de plasma, sangramento grave ou falência de órgãos).⁽⁷⁾

No contexto do atendimento primário do paciente, a maioria dos casos de dengue é diagnosticada com base apenas em sinais e sintomas, criando incerteza substancial devido às definições de casos não específicos e não uniformes.⁽⁸⁾ O diagnóstico clínico é de extrema importância porque a suspeita adequada e precoce é determinante para a evolução favorável do paciente. No entanto, o diagnóstico laboratorial da dengue confirma o quadro clínico, colabora para orientar o tratamento de suporte especialmente em casos atípicos, exclui outras arboviroses e também a necessidade de outras investigações.⁽⁹⁾ O diagnóstico laboratorial é essencial para identificar o sorotipo do vírus da dengue que está infectando o paciente, especialmente devido ao risco aumentado de evolução para dengue grave em casos de uma segunda exposição ao vírus por um sorotipo diferente.

Dessa forma, diante da crescente expansão da dengue, da prevalência e adaptação do mosquito vetor em locais com clima adequado, e dos sintomas iniciais inespecíficos, esse artigo tem por objetivo discutir aspectos relacionados ao diagnóstico clínico e laboratorial desta arbovirose, focando na escolha da melhor opção diagnóstica levando-se em consideração a coleta oportuna da amostra biológica, estrutura física do laboratório e situação epidemiológica da dengue na localidade de inserção laboratorial.

DESENVOLVIMENTO

Diagnóstico clínico

A dengue é uma doença febril aguda, sistêmica e dinâmica, que pode apresentar amplo espectro clínico, podendo parte dos pacientes evoluir para formas graves, e inclusive levar a óbito.

Anteriormente, a dengue era classificada como febre da dengue (DF), febre hemorrágica da dengue (FHD) e síndrome do choque da dengue (SCD).⁽¹⁰⁾ Com o objetivo de aprimorar a assistência ao paciente com dengue, o Brasil adotou em 2014 a atual classificação de casos revisada pela OMS, que simplifica a abordagem inicial em: dengue com ou sem sinais de alerta e dengue grave.⁽⁷⁾ Essa conduta, além de ser mais simples de ser aplicada, auxilia nas decisões médicas acerca de onde tratar o paciente e de como dimensionar o tratamento.

Nessa perspectiva, o olhar clínico para reconhecimento dos sinais de alarme da dengue é de extrema importância, pois no momento da triagem é possível realizar um monitoramento minucioso da evolução clínica e se antecipar nos casos em que a hospitalização se faz necessária. Sinais como o extravasamento de plasma e/ou hemorragias podem levar o paciente ao choque grave e ao óbito, portanto a identificação oportuna e precoce auxilia na prevenção de evolução grave.⁽⁶⁾

A infecção pelo vírus dengue (DENV) pode ser assintomática ou sintomática. Quando sintomática, causa uma doença de amplo espectro clínico, variando desde formas oligossintomáticas até quadros graves, podendo evoluir para o óbito. Pode apresentar três fases clínicas: febril, crítica e de recuperação.⁽⁶⁾

A primeira manifestação é a febre, que tem duração de 2 a 7 dias, geralmente alta (39°C a 40°C). É de início abrupto, associada à cefaleia, adinamia, mialgias, artralgias e à dor retro-orbitária. Anorexia, náuseas e vômitos podem estar presentes, assim como a diarreia que cursa de três a quatro evacuações por dia com fezes pastosas, o que facilita o diagnóstico diferencial com gastroenterites por outras causas. Após a fase febril, grande parte dos pacientes se recupera progressivamente, com melhora do estado geral e retorno do apetite.⁽⁹⁾

O exantema ocorre aproximadamente em 50% dos casos, é predominantemente do tipo maculopapular, atingindo face, tronco e membros de forma aditiva, incluindo plantas de pés e palmas de mãos. Pode se apresentar sob outras formas com ou sem prurido, frequentemente no desaparecimento da febre.⁽⁹⁾

A fase crítica tem início com a defervescência (declínio) da febre entre três e sete dias do início da doença. Essa fase pode estar presente em alguns pacientes, e pode ser um início de evolução para as formas graves. Por essa razão, medidas diferenciadas de manejo clínico e observação devem ser adotadas imediatamente. Os sinais de alarme, quando presentes, surgem nessa fase da doença e podem ser detectados pelo aumento do hematócrito.⁽⁹⁾ Esses sinais são caracterizados como dor abdominal, vômitos persistentes, acúmulo de líquidos em cavidades (ascite, derrames pleural e pericárdico), hipotensão postural, letargia e irritabilidade, seguidos de sinais de sangramentos de mucosa e aumento progressivo do hematócrito. A maioria dos sinais de alarme resulta do aumento da permeabilidade vascular, que marca o início da deterioração clínica do paciente e sua possível evolução para o choque por extravasamento plasmático.⁽⁹⁾

As formas graves da doença podem se manifestar como choque ou acúmulo de líquidos com desconforto respiratório, em função do severo extravasamento plasmático.⁽⁹⁾

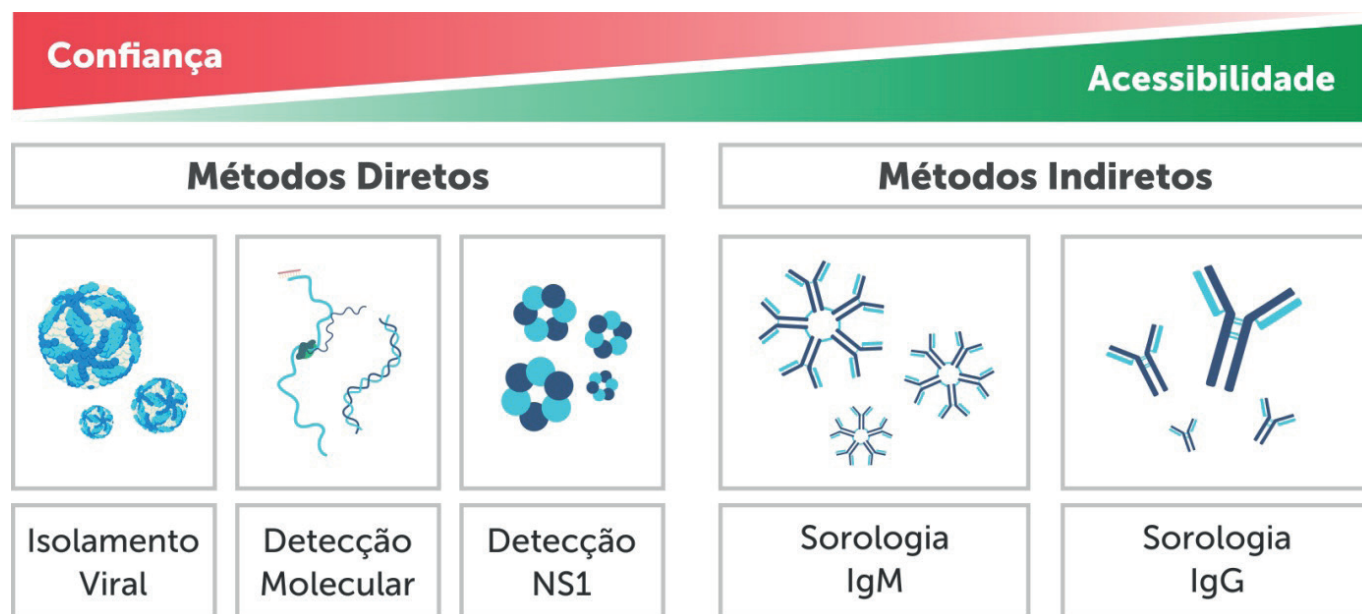
O diagnóstico clínico da dengue, muitas vezes, é considerado desafiador, especialmente em localidades com baixo número de casos ou com prevalência de outras doenças que causem sintomas iniciais inespecíficos e que possam imitar o espectro da doença decorrente da infecção por DENV. O diagnóstico correto é imprescindível, especialmente em evoluções graves devido a diferentes abordagens de tratamento para choque induzido por dengue e choque decorrente de sepse, por exemplo. Nesse contexto, o diagnóstico laboratorial é uma ferramenta que completa a percepção clínica e corrobora para decisão de conduta ao paciente.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico preciso e eficiente da dengue é útil para o controle eficaz de surtos,⁽¹¹⁾ para estudos epidemiológicos e para o gerenciamento clínico e a avaliação de pacientes individuais, particularmente se novos e específicos agentes terapêuticos forem descobertos. Além disso, os testes disponíveis devem ser capazes de detectar todos os estágios da doença dengue, desde infecções assintomáticas, síndromes semelhantes à influenza e doença grave, incluindo FHD/SCD.⁽¹²⁾ O diagnóstico precoce seguido por cuidados de suporte e tratamento sintomático por meio de reposição de fluidos são as chaves para a sobrevivência em casos de infecção grave por dengue.⁽¹³⁾

O diagnóstico laboratorial é o responsável por identificar o agente etiológico que está causando determinada sintomatologia. Na maioria dos países onde o DENV é endêmico, normalmente também há a cocirculação de outros arbovírus, como por exemplo, vírus da encefalite japonesa (JEV) no Sudeste Asiático, vírus da encefalite de Saint-Louis (SLEV), vírus da febre amarela (YFV), Zika vírus e Chikungunya na América Latina, ou vírus do Nilo Ocidental (WNV) no Caribe.^(14,15)

Laboratorialmente, podemos identificar a infecção pelo DENV seguindo duas principais direções: testes virológicos e testes sorológicos. Para isso, podemos utilizar métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos podem ser representados pelo isolamento viral, detecção de ácido nucleico (RT-PCR) e detecção da proteína NS1. Já os métodos indiretos consistem na detecção dos anticorpos das classes IgM e IgG. Atualmente, a maior acessibilidade para o diagnóstico caminha no sentido dos métodos indiretos, por serem testes que não requerem estrutura laboratorial complexa. Já a maior confiabilidade se dá nos métodos diretos, que são testes que detectam o próprio vírus ou antígenos virais (Figura 1).

**Figura 1**

Comparação de testes diagnósticos para dengue de acordo com sua acessibilidade e confiança.

Fonte: Adaptado de WHO (2009)⁽⁷⁾

O diagnóstico virológico do DENV é feito sobretudo por meio de: isolamento do vírus por cultura de células⁽¹⁶⁾ ou por técnicas moleculares como a reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR)^(17,18) e a detecção de um antígeno viral, a proteína NS1 por meio de testes laboratoriais remotos ou ensaios imunoenzimáticos (ELISA).

A escolha do teste laboratorial correto para o diagnóstico da dengue está diretamente relacionada ao momento em que o paciente se encontra, ou seja, quantos dias se passaram após o início dos sintomas. A fase virêmica aguda da infecção por arbovírus é frequentemente perdida, não apenas em pacientes de regiões endêmicas onde a assistência médica é limitada ou não acessível, mas também em viajantes que retornam e migrantes que chegam, pois geralmente só visitam um médico quando os sintomas persistem ou pioram além do estágio febril. Nesse estágio da doença, apesar dos relatos de que o vírus persiste por períodos mais longos em santuários (ou seja, sistema nervoso central, articulações e trato urogenital), métodos diretos para a detecção do vírus no sangue podem apresentar resultados negativos ou inespecíficos quando o vírus da dengue já foi eliminado pelo sistema imunológico.^(19,20)

Os métodos diretos (isolamento viral, RT-PCR e proteína NS1) devem ser realizados no início da doença, preferencialmente, até o quinto dia após o início dos sintomas (fase aguda), uma vez que é o período em que o vírus está presente no corpo do indivíduo (período de viremia). A presença da proteína NS1 pode ser detectada em um período de tempo um pouco maior, até o nono dia após o início dos sintomas, a depender da sensibilidade do teste utilizado. Em geral, a concentração da proteína NS1 no soro diminui ao longo da infecção e a sensibilidade de detecção é reduzida, podendo também ser menor em infecções secundárias e conforme os diferentes sorotipos do DENV. Embora a cinética temporal da proteína NS1 varie entre infecções primárias e secundárias, geralmente não é possível determinar se a infecção aguda do paciente é uma ou outra no momento da análise das amostras por esse marcador.⁽²¹⁻²⁶⁾

Os métodos moleculares podem ser do tipo multiplex, como a PCR multiplex para dengue, Zika vírus e Chikungunya, sendo especialmente úteis em casos sem uma suspeita clínica bem definida. No entanto, quando um caso de dengue atende aos critérios diagnósticos estabelecidos e o quadro clínico é compatível, recomenda-se priorizar testes específicos

(singleplex) para a detecção do vírus.⁽²⁷⁾ Esses testes demandam maior capacitação técnica e infraestrutura laboratorial adequada, o que pode limitar sua disponibilidade.

Os métodos indiretos são os testes que detectam anticorpos anti-DENV, e são feitos principalmente por meio de: ELISA, técnicas de inibição da hemaglutinação (HI)⁽²⁸⁻³⁰⁾ e teste de neutralização por redução de placa (PRNT).^(11,31) São testes que devem ser realizados após o sétimo dia do início dos sintomas, uma vez que é o período em que o nível de anticorpos já passa a ser seguramente detectado, sobretudo IgM (Figura 2). No entanto, diante da possibilidade de reação cruzada com outros flavivírus (Zika vírus, febre amarela etc.) e detecção inespecífica de IgM, recomenda-se o uso preferencial de técnica imunoenzimática de captura de IgM (MAC-ELISA).⁽⁴⁾

Os testes imunocromatográficos atualmente conseguem detectar a proteína NS1 e os anticorpos das classes IgM e IgG, utilizando plataformas duplas, os chamados testes "DUO".⁽¹²⁾ Na prática clínica laboratorial, os testes DUO e ELISA são os mais comumente utilizados, por serem de fácil execução, rápidos, de baixo custo e não exigirem equipamentos sofisticados e estrutura laboratorial complexa.

Numa infecção primária, o momento correto da coleta das amostras deve ser rigorosamente seguido em razão da ausência de sensibilização do sistema imune. Para RT-PCR e detecção de NS1, a amostra deve ser coletada preferencialmente até

o quinto dia após o início dos sintomas. Para a detecção da IgM, a coleta de material biológico deverá ocorrer após o sétimo dia após o início dos sintomas (Figura 2).

Numa infecção secundária, como o sistema imune já tem memória imunológica contra o vírus da dengue, o período de detecção do RNA viral (RT-PCR) e NS1 será menor e a detecção da IgM e IgG será mais precoce, sendo a IgM numa concentração menor e a IgG numa concentração bem maior que na infecção primária devido a resposta anamnésica (Figura 2).

A detecção isolada de IgG em amostras únicas tem seu valor diagnóstico limitado, uma vez que os anticorpos IgG permanecem por um longo período. Quando se usa somente esse teste para confirmar a infecção, é necessário utilizar um teste quantitativo e coletar uma amostra de fase aguda e uma amostra de fase convalescente e detectar a soroconversão de IgG ou um aumento de quatro vezes ou mais nos títulos de IgG entre as duas amostras.⁽³³⁾ Além disso, a reatividade cruzada de anticorpos IgG entre vírus do mesmo gênero também limita a sua utilização isolada como diagnóstico. Atualmente, com a circulação crescente de outros arbovírus e de vírus com manifestações clínicas semelhantes, como o SARS-CoV-2, a interpretação de testes sorológicos pode se tornar desafiadora. Além disso, em áreas endêmicas, pacientes podem apresentar coinfeções, o que, em alguns casos, pode resultar em subdiagnóstico de dengue.

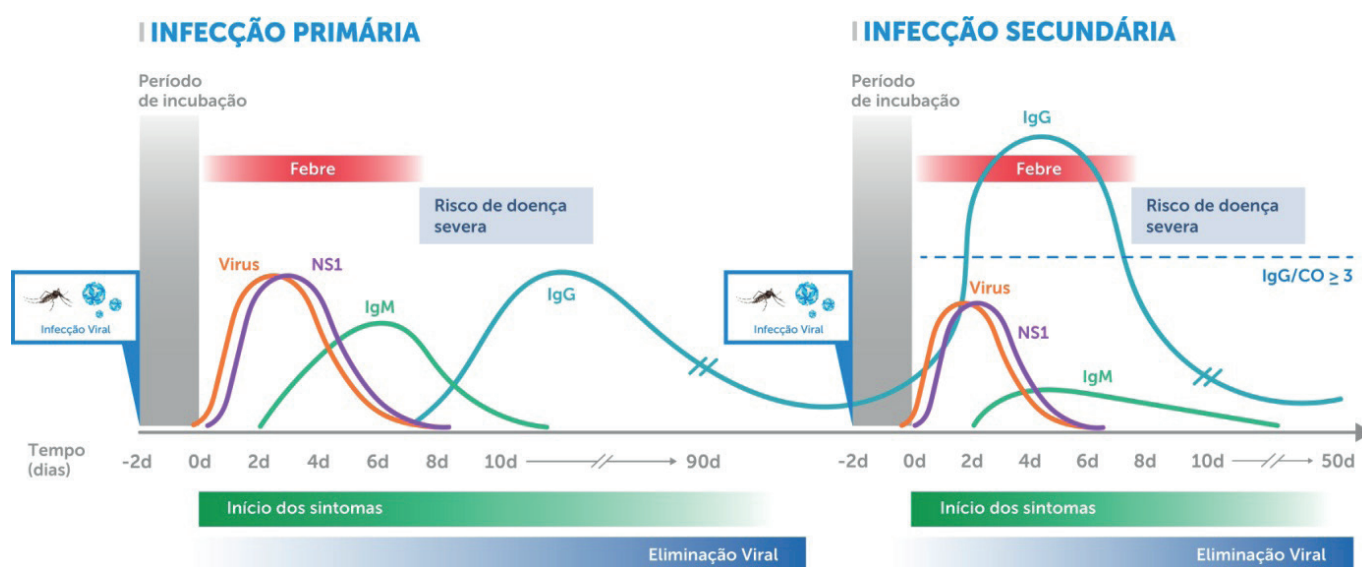


Figura 2

Cinética do vírus da dengue, proteína NS1 e anticorpos IgM e IgG em amostras de soro nas infecções primárias e secundárias.

Fonte. Adaptado de Kerkhof et al. (2020);⁽³²⁾ PAHO (2022)⁽²⁷⁾

Foi previamente relatado que o teste ELISA de captura de IgG para DENV pode distinguir infecções primárias e secundárias pelo vírus com base em amostras da fase convalescente inicial.^(34,35) Utilizando o ELISA de captura de IgM e IgG da Panbio em amostras coletadas até 8 dias após o início dos sintomas (PSO), Vaughn et al. (1999)⁽³⁴⁾ observaram que 100% das infecções primárias e 95% das infecções secundárias por DENV poderiam ser corretamente classificadas. A classificação foi baseada em valores de IgM/cut-off (CO) = 1 e IgG/CO < 3 para infecções primárias, e IgG/CO ≥ 3 para infecções secundárias (Figura 2). De forma semelhante, Vazquez et al.⁽³⁵⁾, ao testarem amostras coletadas até 5 a 7 dias após o início dos sintomas, relataram uma alta concordância (95,5%) entre os ELISAs de captura de IgM e IgG da Panbio e seu método de referência para a classificação entre infecções primárias e secundárias por DENV.⁽³⁵⁾ Estudos mais recentes indicam que anticorpos contra a proteína NS1 apresentam maior especificidade em comparação com aqueles direcionados à proteína do envelope, o que pode aprimorar a acurácia diagnóstica.^(33,36,37) No entanto, como a detecção de NS1 ocorre principalmente por testes imunocromatográficos, a Organização Panamericana de Saúde (OPAS) recomenda seu uso restrito a estudos comunitários sob protocolos estabelecidos, uma vez que sua baixa sensibilidade pode resultar em falsos negativos. Para descartar a infecção ou direcionar condutas médicas apropriadas, é essencial a confirmação por metodologias mais sensíveis.⁽⁴⁾

Segundo a OPAS,⁽²⁷⁾ as limitações mais importantes dos métodos sorológicos são:

- Um resultado positivo de um teste para IgM em uma única amostra é apenas presuntivo de infecção aguda, uma vez que os anticorpos detectados podem ser provenientes de uma outra infecção recente não necessariamente pelo quadro agudo;
- No caso de doenças para as quais existe vacina (dengue e febre amarela), os anticorpos detectados também podem ser provenientes de vacinação recente;
- A persistência de anticorpos IgM ainda não foi completamente caracterizada para infecções por DENV, CHIKV, ZIKV e YFV, e alguns dados parecem indicar que estes anticorpos podem persistir por mais tempo do que se pensava inicialmente;⁽³⁸⁻⁴⁰⁾
- No caso dos anticorpos IgG, que persistem por mais tempo que os anticorpos IgM, a sua detecção em amostra única serve para uma interpretação provisória. Para a confirmação laboratorial da infecção aguda, é necessária

a obtenção de amostras pareadas: uma da fase aguda e outra da fase de convalescença. A soroconversão de IgG (resultado negativo da amostra da fase aguda e resultado positivo da amostra de convalescença) ou um aumento nos títulos de anticorpos IgG ou neutralizantes entre as duas amostras confirmam a infecção aguda.

- A confirmação do agente etiológico é limitada pela reatividade cruzada dos testes sorológicos em infecções por vírus do mesmo gênero ou pela vacinação contra eles.
- A reatividade cruzada é mais comum em infecções secundárias do que em infecções primárias; portanto, em áreas onde vários flavivírus cocirculam – situação epidemiológica atual em grande parte das Américas – a probabilidade de reatividade cruzada é alta. A reatividade cruzada também foi observada entre diferentes alfavírus (Chikungunya vírus e Mayaro vírus), embora não tenha sido caracterizada tão amplamente como nos flavivírus.

Apesar dessas diversas limitações, a OPAS⁽²⁷⁾ também determina que os testes sorológicos devam fazer parte dos métodos diagnósticos de arboviroses por:

- 1) a utilização de métodos virológicos depende de amostras obtidas em tempo oportuno, pois o paciente pode se apresentar para diagnóstico quando a fase virêmica tiver passado;
- 2) os métodos virológicos nem sempre estão disponíveis, pois necessitam de área física e equipamentos específicos no laboratório;
- 3) os métodos sorológicos (particularmente os testes ELISA *in house*) têm menor custo e execução mais simples que os métodos virológicos e podem ser mais facilmente utilizados numa rede de laboratórios locais;
- 4) a combinação de métodos virológicos e sorológicos pode melhorar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico;^(41,42) e
- 5) os métodos sorológicos são essenciais quando o vírus e seus componentes são encontrados com menor frequência em amostras biológicas, como no caso de recém-nascidos com síndrome congênita do Zika ou em pacientes com síndromes neurológicas associadas à infecção pelo ZIKV ou outros arbovírus.

A infecção inicial com qualquer um dos sorotipos de DENV fornece proteção incompleta contra todos os quatro sorotipos em razão de uma reatividade cruzada temporária entre eles. Após a neutralização da memória imunológica,

a resposta protetora pode ser alcançada se o paciente for reinfectado com o mesmo sorotipo. É bem estabelecido que há uma forte associação entre infecções secundárias por um sorotipo diferente de DENV e dengue grave. Infecções subsequentes com diferentes sorotipos estão associadas a formas graves da doença e impõem complicações sérias, incluindo o risco de mortalidade.⁽⁴³⁾ A patogênese envolvida pode estar relacionada à intensificação dependente de anticorpos (ADE) e certos sorotipos como DENV-2, 3 e 4 parecem estar relacionados à maior gravidade em pacientes que já tiveram dengue anteriormente.⁽⁴⁴⁾ A identificação laboratorial do sorotipo causador da infecção promove informações que contribuem para uma melhor avaliação de risco pela equipe de saúde com manejo adequado do paciente em infecções subsequentes por sorotipos diferentes.⁽⁴⁵⁾

Nesse contexto, os resultados laboratoriais de testes virológicos (detecção do RNA viral e identificação do sorotipo) e testes sorológicos (detecção de NS1, IgM e IgG) integram a vigilância e o gerenciamento de surtos de dengue. A ampliação de atividades de vigilância ativa e passiva de vetores, com gerenciamento geoespacial de casos de dengue com identificação precoce de regiões com alta transmissibilidade, pode ser realizada explorando de forma mais efetiva a infraestrutura acessória disponível em universidades e centros de referência, no formato de uma rede integrada ao Sistema Único de Saúde. Modernas técnicas de sequenciamento genômico de amostras também devem ser estimuladas, pois a comparação com sequências já existentes em bancos de dados pode ser útil para determinar mudanças epidemiológicas que levem a maior potencial de disseminação ou de gravidade.⁽⁴⁶⁾

A disponibilização de vacinas contra a dengue marcou um novo contexto epidemiológico laboratorial. Em 2015, tivemos a aprovação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) da vacina Dengvaxia (Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda.), que em 2017 passou por uma alteração na bula, sendo indicada somente para indivíduos que já tiveram dengue. Essa mudança ocorreu justamente pela possibilidade de agravamento quanto à memória imunológica de reatividade cruzada temporária mencionada anteriormente. Dessa forma, os profissionais de saúde foram requisitados em realizar uma avaliação mais minuciosa e, se for o caso, solicitar a realização de exames sorológicos para pacientes sem histórico confirmado de contato com os vírus da dengue. Em 2023, a ANVISA aprovou o registro de uma nova vacina para dengue, a Qdenga (Takeda), que foi disponibilizada no serviço público de saúde pelo Ministério da Saúde, em 2024,

direcionada para crianças e adolescentes de 10 a 14 anos de idade. Novas vacinas estão em fase avançada de estudos, como, por exemplo, a vacina do Instituto Butantan, Brasil. O laboratório de análises clínicas, portanto, ao proceder um teste sorológico para dengue deverá estar atento às possibilidades de o paciente já ter tomado a vacina para dengue. Essa situação reforça a necessidade de acesso a metodologias que permitam diagnósticos diferenciais e complementares para distinguir infecções naturais de respostas vacinais e garantir a vigilância epidemiológica eficaz.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a maioria das infecções por arbovírus sejam assintomáticas ou autolimitadas, o diagnóstico laboratorial da dengue desempenha papel crucial nesse contexto. Como a dengue é a arbovirose mais frequente, o diagnóstico preciso e o manejo correto são imprescindíveis diante do risco potencial de complicações como a febre hemorrágica do DENV. Portanto, a utilização de técnicas avançadas, como RT-PCR e de detecção viral da proteína NS1, como sorologia para IgM (captura de IgM) permite a agilidade e precisão no diagnóstico.

No entanto, alguns aspectos importantes precisam ser considerados para que a escolha da metodologia diagnóstica seja assertiva. O momento da coleta da amostra biológica levando-se em consideração o dia de início dos sintomas é o principal ponto crítico para a realização de um diagnóstico laboratorial seguro e preciso. Outros aspectos importantes são: situação epidemiológica da doença; se na região periodicamente ocorrem casos da dengue; a sazonalidade; a utilização de vacinas contra a dengue; a circulação de outros flavivírus na mesma região.

O desenvolvimento de conjuntos de diagnóstico mais sensíveis, específicos, rápidos e econômicos, juntamente com a fácil utilização em campo para regiões relativamente subdesenvolvidas do mundo, é de importância crescente.

A constante atualização dos profissionais com o acompanhamento das informações epidemiológicas publicadas pelos órgãos de saúde do seu país é importante para correlacionar aos resultados obtidos. A participação em eventos científicos, treinamentos e acompanhamento da literatura científica são fundamentais para a constante atualização sobre as metodologias diagnósticas que estão sendo utilizadas e outras que venham a surgir com melhor especificidade e sensibilidade diagnóstica.

REFERÊNCIAS

- Postler TS, Beer M, Blitvich BJ, Bukh J, de Lamballerie X, Drexler JF, et al. Renaming of the genus *Flavivirus* to *Orthoflavivirus* and extension of binomial species names within the family *Flaviviridae*. *Arch Virol* [Internet]. 2023 Sep 10; 168(9):224. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05835-1>
- Wong JM, Adams LE, Durbin AP, Muñoz-Jordán JL, Poehling KA, Sánchez-González LM, et al. Dengue: A Growing Problem With New Interventions. *Pediatrics* [Internet] 2022; 149(6):e2021055522. Disponível em: <https://doi.org/10.1542/peds.2021-055522>
- Messina JP, Brady OJ, Golding N, Kraemer MUG, Wint GRW, Ray SE, et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue. *Nat Microbiol* [Internet] 2019; 4(9):1508-15. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41564-019-0476-8>
- Pan American Health Organization. Situation Report No 50 - Dengue Epidemiological Situation in the Region of the Americas - Epidemiological Week 50, 2024 [Internet]. 2025 [Acesso 2025Jan3]; 1-3. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/situation-report-no-50-dengue-epidemiological-situation-region-americas-epidemiological>
- WHO. Dengue - Global situation [Internet]. World Heal. Organ.2023 [Acesso 2024 Jun 17];(December 2023):1-16. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498#:~:text=Since the beginning of 2023,%2C South-East Asia%2C Western>
- Brasil. Dengue [Internet]. Ministério da Saúde 2024 [Acesso 2024 Sep 6]; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>
- World Health Organization. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control [Internet]. World Heal. Organ.2009 [Acesso 2024 Oct 1]; Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547871>
- Raafat N, Blacksell SD, Maude RJ. A review of dengue diagnostics and implications for surveillance and control. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet] 2019; 113(11):653-60. Disponível em: <https://academic.oup.com/trstmh/article/113/11/653/5542180>
- Brasil. Dengue: Diagnóstico e Manejo Clínico - Adulto e criança [Internet]. 2024. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_
- World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control [Internet]. 1997 [Acesso 2024 Oct 1]; Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/41988>
- De Paula SO, Fonseca BAL da. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Brazilian J Infect Dis* [Internet] 2004;8(6):390-8. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702004000600002&lng=en&nrm=iso&tng=en
- Eltzov E, Atias D, Gheber L, Marks RS. Dengue Virus Diagnostics [Internet]. In: Viola Magni M, editor. Dordrecht: Springer Netherlands; 2010. page 275-95. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-90-481-8544-3_12
- AnandaRao R, Swaminathan S, Fernando S, Jana AM, Khanna N. A custom-designed recombinant multi-epitope protein as a dengue diagnostic reagent. *Protein Expr Purif* [Internet] 2005; 41(1):136-47. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1046592805000112>
- Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med* [Internet] 2004;10(S12):S98-109. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm1144>
- WHO. Dengue Diagnostics: Proceedings of an International Workshop, 4-6 October 2004, WHI/TDR Geneva, Switzerland. [Internet]. Dengue Bull. 2005 [Acesso 2024 Oct 1]. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/164132>
- Kuberski TT, Rosen L. A Simple Technique for the Detection of Dengue Antigen in Mosquitoes by Immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1977; 26(3):533-7. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/26/3/article-p533.xml>
- Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam A V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* [Internet] 1992; 30(3):545-51. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.30.3.545-551.1992>
- Harris E, Roberts TG, Smith L, Selle J, Kramer LD, Valle S, et al. Typing of Dengue Viruses in Clinical Specimens and Mosquitoes by Single-Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR. *J Clin Microbiol* [Internet] 1998; 36(9):2634-9. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.36.9.2634-2639.1998>
- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* [Internet] 2002; 2(9):519-29. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309902003687>
- Sambri V, Capobianchi M, Cavrini F, Charrel R, Donoso-Mantke O, Escadafal C, et al. Diagnosis of West Nile Virus Human Infections: Overview and Proposal of Diagnostic Protocols Considering the Results of External Quality Assessment Studies. *Viruses* [Internet] 2013; 5(10):2329-48. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/5/10/2329>
- Bessoff K, Delorey M, Sun W, Hunsperger E. Comparison of Two Commercially Available Dengue Virus (DENV) NS1 Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assays Using a Single Clinical Sample for Diagnosis of Acute DENV Infection. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2008; 15(10):1513-8. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CI.00140-08>
- Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, Kroeger A, et al. Multi-Country Evaluation of the Sensitivity and Specificity of Two Commercially-Available NS1 ELISA Assays for Dengue Diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2010; 4(8):e811. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000811>
- Hermann LL, Thaisomboonsuk B, Poolpanichupatam Y, Jarman RG, Kalayanaroj S, Nisalak A, et al. Evaluation of a Dengue NS1 Antigen Detection Assay Sensitivity and Specificity for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2014; 8(10):e3193. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003193>
- Lima M da RQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FB dos. Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2010; 4(7):e738. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000738>
- Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virol J* [Internet] 2010; 7(1):361. Disponível em: <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-7-361>
- Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B, et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet] 2009; 65(3):247-53. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0732889309003241>
- Pan American Health Organization. Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas [Internet]. Pan American Health Organization; 2022 [Acesso 2024 Oct 1]. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/56321>
- Balmaseda A, Guzmán MG, Hammond S, Robleto G, Flores C, Téllez Y, et al. Diagnosis of Dengue Virus Infection by Detection of Specific Immunoglobulin M (IgM) and IgA Antibodies in Serum and Saliva. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2003; 10(2):317-22. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CDLI.10.2.317-322.2003>

29. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongsawasdi V, Suntayakorn S, et al. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Characterize Dengue Infections Where Dengue and Japanese Encephalitis Co-Circulate. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1989; 40(4):418-27. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/40/4/article-p418.xml>
30. Chow L, Hsu ST. [MAC-ELISA for the detection of IgM antibodies to dengue type I virus (rapid diagnosis of dengue type I virus infection)]. *Chinese J Microbiol Immunol* [Internet] 1989; 22(4):278-85. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2700156>
31. WHO. Dengue Diagnostics: Proceedings of an International Workshop, 4-6 October 2004, WHI/TDR Geneva, Switzerland. [Internet]. 2004 [Acesso 2024 Oct 7]. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/164132>
32. Kerkhof K, Falconi-Agapito F, Van Esbroeck M, Talledo M, Ariën KK. Reliable Serological Diagnostic Tests for Arboviruses: Feasible or Utopia? *Trends Microbiol* [Internet] 2020; 28(4):276-92. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966842X19302914>
33. Basile AJ, Goodman C, Horiuchi K, Sloan A, Johnson BW, Kosoy O, et al. Multi-laboratory comparison of three commercially available Zika IgM enzyme-linked immunosorbent assays. *J Virol Methods* [Internet] 2018; 260:26-33. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166093418301216>
34. Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Nguyen MD, Kneen R, et al. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1999; 60(4):693-8. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/60/4/article-p693.xml>
35. Vazquez S, Hafner G, Ruiz D, Calzada N, Guzman MG. Evaluation of immunoglobulin M and G capture enzyme-linked immunosorbent assay Panbio kits for diagnostic dengue infections. *J Clin Virol* [Internet] 2007; 39(3):194-8. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138665320700131X>
36. Balmaseda A, Stettler K, Medialdea-Carrera R, Collado D, Jin X, Zambrana JV, et al. Antibody-based assay discriminates Zika virus infection from other flaviviruses. *Proc Natl Acad Sci* [Internet] 2017; 114(31):8384-9. Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1704984114>
37. Stettler K, Beltramello M, Espinosa DA, Graham V, Cassotta A, Bianchi S, et al. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Science* [Internet] 2016; 353(6301):823-6. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaf8505>
38. Centers for Disease Control and Prevention. Prolonged IgM Antibody Response in People Infected with Zika Virus : Implications for Interpreting Serologic Testing Results for Pregnant. 2017 [Acesso 2024 Oct 1]; 5-7. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/45492>
39. Gibney KB, Kosoy OI, Fischer M, Edupuganti S, Lanciotti RS, Delorey MJ, et al. Detection of Anti-Yellow Fever Virus Immunoglobulin M Antibodies at 3-4 Years Following Yellow Fever Vaccination. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 2012; 87(6):1112-5. Disponível em: <https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.2012.12-0182>
40. Griffin I, Martin SW, Fischer M, Chambers TV, Kosoy O, Falise A, et al. Zika Virus IgM Detection and Neutralizing Antibody Profiles 12-19 Months after Illness Onset. *Emerg Infect Dis* [Internet] 2019; 25(2):299-303. Disponível em: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/25/2/18-1286_article.htm
41. PAHO. Diagnóstico por laboratorio de la infección por Virus de la Fiebre Amarilla. *Organ Panam la Salud , Organ Panam la Salud* 2018;(Figura 1):1-8.
42. Hunsperger EA, Muñoz-Jordán J, Beltran M, Colón C, Carrión J, Vazquez J, et al. Performance of Dengue Diagnostic Tests in a Single-Specimen Diagnostic Algorithm. *J Infect Dis* [Internet] 2016; 214(6):836-44. Disponível em: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jiw103>
43. Thomas L, Najioullah F, Besnier F, Valentino R, Césaire JRR, Cabié A, et al. Clinical Presentation of Dengue by Serotype and Year of Epidemic in Martinique. *Am Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 2014 Jul 2; 91(1):138-45. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/91/1/article-p138.xml>
44. Tsheten T, Clements ACA, Gray DJ, Adhikary RK, Furuya-Kanamori L, Wangdi K. Clinical predictors of severe dengue: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty* [Internet]. 2021 Dec 9; 10(1):123. Disponível em: <https://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-021-00908-2>
45. Soo KM, Khalid B, Ching SM, Chee HY. Meta-Analysis of Dengue Severity during Infection by Different Dengue Virus Serotypes in Primary and Secondary Infections. *Huy NT, editor. PLoS One* [Internet]. 2016 May 23; 11(5):e0154760. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0154760>
46. Paradkar PN, Sahasrabudhe PR, Ghag Sawant M, Mukherjee S, Blasdel KR. Towards Integrated Management of Dengue in Mumbai. *Viruses* [Internet]. 2021 Dec 4; 13(12):2436. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/12/2436>

Important considerations regarding the laboratory diagnosis of dengue

Considerações importantes sobre o diagnóstico laboratorial da dengue

Dennis Armando Bertolini¹, Luciana Dias Ghiraldi Lopes¹, Léo Shigueki Sato²

¹ Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina. Maringá, PR, Brazil.

² Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Maringá, PR, Brazil.

Abstract

Dengue is an infectious disease caused by four serotypes of the dengue virus (DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4), transmitted by mosquitoes of the *Aedes* genus. The symptoms and severity of the disease can vary widely, from mild manifestations to severe and potentially fatal cases. Demographic and social changes, such as population growth, urbanization and modern transportation, in addition to global warming, have contributed greatly to the increased incidence and geographic spread of dengue. Clinically, dengue can be classified as dengue with and without warning signs and severe dengue, with laboratory diagnosis being essential, especially in the identification of severe cases. This study provides important information on aspects related to the diagnosis of this arbovirus, taking into account the physical structure of the laboratory and the epidemiological situation of dengue in the location where the laboratory is located. Laboratory diagnosis can be performed using molecular and serological techniques and, although there are several methodologies on the market, a critical point for a safe and accurate laboratory diagnosis will depend on the time of collection of biological material in relation to the day of onset of symptoms. It is important to emphasize that infection by other flaviviruses, different serotypes/genotypes, sequential infection and vaccination for dengue can cause interference in the result of a test. The development of more sensitive, specific, rapid and economical diagnostic kits, enabling use in the field in underdeveloped regions, is of increasing importance, as is the constant updating of health professionals involved in the dengue identification chain.

Keywords: Dengue; Clinical Laboratory Techniques; Flavivirus.

Resumo

A dengue é uma doença infecciosa causada por quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), transmitidos por mosquitos do gênero *Aedes*. A sintomatologia e a gravidade da doença podem variar amplamente, desde manifestações leves até casos graves e potencialmente fatais. Mudanças demográficas e sociais, como crescimento populacional, urbanização e transporte moderno, além do aquecimento global, contribuem muito para o aumento da incidência e disseminação geográfica da dengue. Clinicamente, a dengue pode ser classificada como dengue com e sem sinais de alarme e dengue grave, sendo o diagnóstico laboratorial imprescindível especialmente na identificação de casos graves. Este estudo traz informações importantes sobre aspectos relacionados ao diagnóstico desta arbovirose, levando em consideração a estrutura física do laboratório e situação epidemiológica da dengue na localidade de inserção laboratorial. O diagnóstico laboratorial é realizado mediante técnicas moleculares e sorológicas, sendo que o ponto crítico para um diagnóstico laboratorial com segurança e precisão depende do momento da coleta do material biológico em relação ao dia de início dos sintomas. É importante ressaltar que a infecção por outros flavivírus, sorotipos/genótipos diferentes, infecção sequencial e vacinação para dengue podem provocar interferências no resultado de um teste. O desenvolvimento de conjuntos de diagnósticos mais sensíveis, específicos, rápidos e econômicos, possibilitando a utilização em campo para regiões subdesenvolvidas, é de importância crescente, assim como a constante atualização dos profissionais de saúde envolvidos na cadeia de identificação da dengue.

Palavras-chave: Dengue; Técnicas de Laboratório Clínico; Flavivírus.

Correspondence

Dennis Armando Bertolini

E-mail: dabertolini@uem.br

Received on 10/10/2024

Approved on 02/04/2025

DOI: 10.21877/2448-3877.202500202.en

INTRODUCTION

Dengue is an arboviral disease transmitted through the bite of *Aedes* spp. mosquitoes. The infection is caused by one of the four dengue virus serotypes (DENV1-4) and can vary in symptomatology and severity. The dengue virus belongs to the *Flaviviridae* family, the *Orthoflavivirus* genus, and the *Orthoflavivirus denguei* species.⁽¹⁾ The disease is hyperendemic in tropical and subtropical regions worldwide, and it is estimated that approximately 60% of the global population will be at risk by the year 2080 in areas with environmental suitability for the survival of the vector mosquito.^(2,3)

The global incidence of dengue has increased sharply over the past two decades, posing a substantial public health challenge. In the Americas, from Epidemiological Week (EW) 1 to EW 50 of 2024, 12,902,122 suspected cases of dengue were reported, representing a 166% increase compared to the same period in 2023 and a 326% increase compared to the five-year average.⁽⁴⁾ In addition to these alarming figures, all four dengue virus serotypes have been circulating in the Americas up to EW 50 of 2024.⁽⁴⁾

Several factors are associated with the increasing risk of dengue epidemic spread, including the expansion of the primary vector's range (mainly *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*) in countries where there was no prior circulation of the DENV virus; the consequences of El Niño phenomena in 2023 and climate changes leading to rising temperatures, increased rainfall, and humidity, among other factors; as well as challenges to a rapid epidemic response, such as fragile healthcare systems amid the Covid-19 pandemic, reporting delays, difficulties in identifying symptoms that may contribute to severe cases, political and financial instabilities in countries facing complex humanitarian crises, and large-scale population movements due to urbanization.⁽⁵⁾

The exact incidence of dengue is difficult to determine. However, of the 7.6 million dengue cases reported to the World Health Organization (WHO) in 2024, more than seven million were in the Americas. All age groups are equally susceptible to the disease, but older adults and patients with chronic conditions such as diabetes and hypertension are at higher risk of progressing to severe cases and other complications that may lead to death.⁽⁶⁾ Currently, the classification of dengue is based on the WHO's revised guidelines, which stipulate that cases should be reported as follows: dengue without warning signs, dengue with warning signs (abdominal pain, persistent

vomiting, fluid accumulation, mucosal bleeding, lethargy, liver enlargement, increased hematocrit with decreased platelet count), and severe dengue (dengue with severe plasma leakage, severe bleeding, or organ failure).⁽⁷⁾

In the context of primary patient care, most dengue cases are diagnosed based solely on signs and symptoms, leading to substantial uncertainty due to non-specific and non-uniform case definitions.⁽⁸⁾ Clinical diagnosis is of utmost importance, as proper and early suspicion is crucial for a favorable patient outcome. However, laboratory diagnosis of dengue confirms the clinical presentation, helps guide supportive treatment, particularly in atypical cases, rules out other arboviral infections, and eliminates the need for additional investigations.⁽⁹⁾ Laboratory diagnosis is essential for identifying the dengue virus serotype infecting the patient, especially due to the increased risk of progression to severe dengue in cases of secondary exposure to a different serotype.

Thus, given the growing expansion of dengue, the prevalence and adaptation of the vector mosquito in regions with suitable climates, and the non-specific nature of early symptoms, this article aims to discuss aspects related to the clinical and laboratory diagnosis of this arboviral disease. The focus is on selecting the most appropriate diagnostic approach, considering the timely collection of biological samples, the laboratory's physical infrastructure, and the epidemiological situation of dengue in the respective location.

DEVELOPMENT

Clinical Diagnosis

Dengue is an acute, systemic, and dynamic febrile disease that can present a broad clinical spectrum, with some patients progressing to severe forms, potentially leading to death. Previously, dengue was classified as dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF), and dengue shock syndrome (DSS).⁽¹⁰⁾ In order to improve the management of dengue patients, Brazil adopted the current case classification in 2014, as revised by the WHO, which simplifies the initial approach into: dengue with or without warning signs and severe dengue.⁽⁷⁾ This approach, besides being simpler to implement, assists in medical decisions regarding where to treat the patient and how to manage the treatment.

In this perspective, the clinical assessment for recognizing warning signs of dengue is of utmost importance, as during triage, it is possible to closely monitor the clinical progression

and anticipate cases where hospitalization is necessary. Signs such as plasma leakage and/or hemorrhages can lead the patient to severe shock and death; therefore, timely and early identification helps prevent severe progression.⁽⁶⁾

Dengue virus (DENV) infection can be asymptomatic or symptomatic. When symptomatic, it causes a disease with a broad clinical spectrum, ranging from oligosymptomatic forms to severe cases, which can progress to death. It may present three clinical phases: febrile, critical, and recovery.⁽⁶⁾

The first manifestation is fever, which lasts from 2 to 7 days, usually high (39°C to 40°C). It has an abrupt onset and is associated with headache, fatigue, myalgia, arthralgia, and retro-orbital pain. Anorexia, nausea, and vomiting may be present, as well as diarrhea, which consists of three to four bowel movements per day with pasty stools, aiding the differential diagnosis with gastroenteritis caused by other factors. After the febrile phase, most patients progressively recover, with improvement in their general condition and return of appetite.⁽⁹⁾

Rash occurs in approximately 50% of cases and is predominantly maculopapular, affecting the face, trunk, and limbs in an additive pattern, including the soles of the feet and palms of the hands. It may present in other forms with or without pruritus, often appearing after the fever subsides.⁽⁹⁾

The critical phase begins with the defervescence (decline) of fever between three and seven days after the onset of the disease. This phase may be present in some patients and can signal the onset of progression to severe forms. For this reason, differentiated clinical management measures and monitoring should be immediately adopted. Warning signs, when present, emerge during this phase of the disease and can be detected by an increase in hematocrit.⁽⁹⁾ These signs are characterized by abdominal pain, persistent vomiting, fluid accumulation in cavities (ascites, pleural and pericardial effusion), postural hypotension, lethargy, and irritability, followed by mucosal bleeding signs and progressively increasing hematocrit. Most warning signs result from increased vascular permeability, marking the onset of the patient's clinical deterioration and possible progression to shock due to plasma leakage.⁽⁹⁾

Severe forms of the disease can manifest as shock or fluid accumulation with respiratory discomfort due to severe plasma leakage.⁽⁹⁾

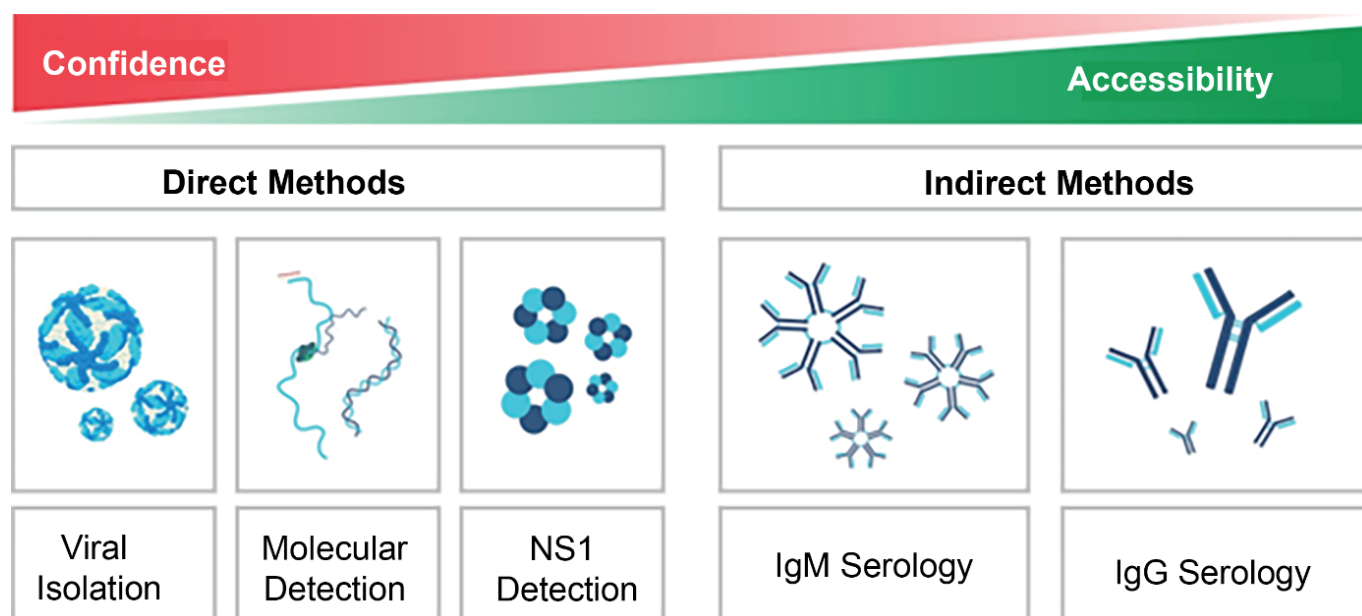
The clinical diagnosis of dengue is often considered challenging, especially in areas with a low number of cases or in regions where other diseases with nonspecific initial symptoms are prevalent, which may mimic the spectrum of the disease caused by DENV infection. Accurate diagnosis is crucial, particularly in severe cases, due to the different treatment approaches for dengue-induced shock and shock resulting from sepsis, for example. In this context, laboratory diagnosis is a tool that complements clinical perception and supports decision-making regarding patient management.

Laboratory Diagnosis

Accurate and efficient diagnosis of dengue is essential for effective outbreak control,⁽¹¹⁾ epidemiological studies, and clinical management and assessment of individual patients, particularly if new and specific therapeutic agents are discovered. Additionally, available tests should be capable of detecting all stages of dengue, from asymptomatic infections, influenza-like syndromes, to severe disease, including DHF/DSS.⁽¹²⁾ Early diagnosis followed by supportive care and symptomatic treatment through fluid replacement are key to survival in cases of severe dengue infection.⁽¹³⁾

Laboratory diagnosis is responsible for identifying the etiological agent causing specific symptoms. In most countries where DENV is endemic, there is usually cocirculation of other arboviruses, such as the Japanese encephalitis virus (JEV) in Southeast Asia, the Saint Louis encephalitis virus (SLEV), yellow fever virus (YFV), Zika virus, and Chikungunya virus in Latin America, or the West Nile virus (WNV) in the Caribbean.^(14,15)

From a laboratory perspective, DENV infection can be identified through two main approaches: virological tests and serological tests. These can be conducted using direct and indirect methods. Direct methods include viral isolation, nucleic acid detection (RT-PCR), and detection of the NS1 protein. Indirect methods involve the detection of antibodies of the IgM and IgG classes. Currently, indirect methods are more accessible for diagnosis, as they do not require complex laboratory infrastructure. However, direct methods are more reliable, as they detect the virus itself or viral antigens (Figure 1).

**Figure 1**

Comparison of diagnostic tests for dengue based on their accessibility and reliability.

Source: Adapted from WHO (2009)⁽⁷⁾

The virological diagnosis of DENV is primarily made through virus isolation via cell culture,⁽¹⁶⁾ molecular techniques such as reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR),^(17,18) and detection of a viral antigen, the NS1 protein, through remote laboratory tests or enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA).

The correct choice of laboratory test for dengue diagnosis is directly related to the stage of the disease, i.e., the number of days that have passed since the onset of symptoms. The acute viremic phase of arboviral infection is often missed—not only in patients from endemic regions with limited or inaccessible medical assistance but also in returning travelers and migrants who generally only seek medical care when symptoms persist or worsen beyond the febrile stage. At this stage, despite reports that the virus persists for longer periods in sanctuaries (e.g., central nervous system, joints, and urogenital tract), direct methods for detecting the virus in the blood may yield negative or nonspecific results once the dengue virus has been cleared by the immune system.^(19,20)

Direct methods (virus isolation, RT-PCR, and NS1 protein) should ideally be performed at the onset of the disease, preferably within the first five days after symptom onset

(acute phase), as this is the period when the virus is present in the body (viremia period). The presence of the NS1 protein can be detected for a slightly longer period, up to the ninth day after symptom onset, depending on the sensitivity of the test used. In general, NS1 protein concentration in the serum decreases over the course of the infection, reducing detection sensitivity. Sensitivity may also be lower in secondary infections and vary according to different DENV serotypes. Although the temporal kinetics of the NS1 protein differ between primary and secondary infections, it is generally not possible to determine whether the patient's acute infection is primary or secondary during the sample analysis using this marker.⁽²¹⁻²⁶⁾

Molecular methods can be multiplex types, such as multiplex PCR for dengue, Zika virus, and Chikungunya, which are particularly useful in cases with no well-defined clinical suspicion. However, when a dengue case meets the established diagnostic criteria and the clinical presentation is consistent, it is recommended to prioritize specific (singleplex) tests for virus detection.⁽²⁷⁾ These tests require higher technical expertise and adequate laboratory infrastructure, which can limit their availability.

Indirect methods are tests that detect anti-DENV antibodies and are primarily performed through ELISA, hemagglutination inhibition (HI) techniques,⁽²⁸⁻³⁰⁾ and plaque reduction neutralization tests (PRNT).^(11,31) These tests should be conducted after the seventh day from symptom onset, as this is when antibody levels, particularly IgM, can be reliably detected (Figure 2). However, given the possibility of cross-reactivity with other flaviviruses (e.g., Zika virus, yellow fever virus) and nonspecific detection of IgM, the use of IgM capture immunoenzymatic technique (MAC-ELISA) is preferred.⁽⁴⁾

Immunochromatographic tests currently allow for the detection of the NS1 protein and IgM and IgG antibodies, using dual platforms, known as "DUO" tests.⁽¹²⁾ In clinical laboratory practice, DUO and ELISA tests are the most commonly used due to their ease of execution, rapid results, low cost, and the fact that they do not require sophisticated equipment or complex laboratory infrastructure.

In a primary infection, the correct timing for sample collection must be strictly followed due to the absence of immune system sensitization. For RT-PCR and NS1 detection, the sample should preferably be collected within the first five days after symptom onset. For IgM detection, biological

material should be collected after the seventh day from symptom onset (Figure 2).

In a secondary infection, as the immune system already has immunological memory against the dengue virus, the detection window for viral RNA (RT-PCR) and NS1 will be shorter, and the detection of IgM and IgG will occur earlier. In this case, IgM will be present at lower concentrations, while IgG will be significantly higher compared to primary infection due to the anamnestic response (Figure 2).

The isolated detection of IgG in single samples has limited diagnostic value, as IgG antibodies persist for a long period. When only this test is used to confirm infection, a quantitative test is required, with samples collected during both the acute phase and the convalescent phase to detect IgG seroconversion or a fourfold or greater increase in IgG titers between the two samples.⁽³³⁾ Additionally, IgG antibody cross-reactivity among viruses of the same genus also limits its standalone use for diagnosis. With the growing circulation of other arboviruses and viruses with similar clinical manifestations, such as SARS-CoV-2, the interpretation of serological tests can become challenging. Furthermore, in endemic areas, patients may present co-infections, which in some cases can lead to underdiagnosis of dengue.

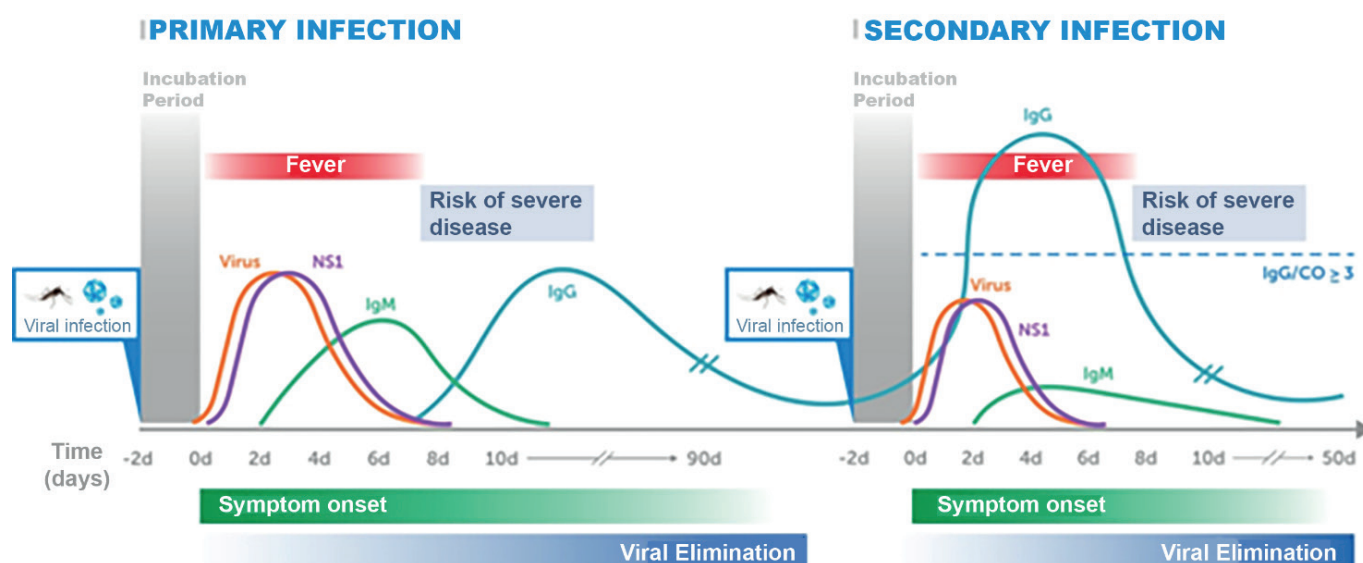


Figure 2

Kinetics of the dengue virus, NS1 protein, and IgM and IgG antibodies in serum samples during primary and secondary infections.

Source: Adapted from Kerkhof et al. (2020);⁽³²⁾ PAHO (2022)⁽²⁷⁾

It has been previously reported that the IgG capture ELISA test for DENV can distinguish between primary and secondary infections based on early convalescent phase samples.^(34,35) Using the Panbio IgM and IgG capture ELISA in samples collected up to 8 days post-symptom onset (PSO), Vaughn et al. (1999)⁽³⁴⁾ observed that 100% of primary DENV infections and 95% of secondary infections could be correctly classified. Classification was based on IgM/cut-off (CO) values of ≥ 1 and IgG/CO < 3 for primary infections, and IgG/CO ≥ 3 for secondary infections (Figure 2). Similarly, Vazquez et al.,⁽³⁵⁾ when testing samples collected 5 to 7 days after symptom onset, reported a high concordance rate (95.5%) between the Panbio IgM and IgG capture ELISAs and their reference method for distinguishing primary and secondary DENV infections.⁽³⁵⁾

More recent studies suggest that antibodies against the NS1 protein exhibit greater specificity compared to those targeting the envelope protein, which may enhance diagnostic accuracy.^(33,36,37) However, as NS1 detection is primarily performed through immunochromatographic tests, Pan American Health Organization (PAHO) recommends its use be restricted to community studies under established protocols, as its low sensitivity can result in false negatives. To rule out infection or guide appropriate medical interventions, confirmation through more sensitive methodologies is essential.⁽⁴⁾

According to PAHO,⁽²⁷⁾ the most significant limitations of serological methods are:

- A positive result for IgM in a single sample is only presumptive of an acute infection, as the detected antibodies may originate from another recent infection not necessarily related to the acute condition;
- In diseases for which there is a vaccine (e.g., dengue and yellow fever), the detected antibodies may also stem from recent vaccination;
- The persistence of IgM antibodies has not yet been fully characterized for infections caused by DENV, CHIKV, ZIKV, and YFV. Some data suggest that these antibodies may persist longer than initially thought;⁽³⁸⁻⁴⁰⁾
- In the case of IgG antibodies, which persist longer than IgM antibodies, their detection in a single sample allows only provisional interpretation. To confirm acute infection in a laboratory, paired samples are required: one from the acute phase and another from the convalescent phase. IgG seroconversion (a negative result in the acute-phase sample and a positive result in the convalescent-phase

sample) or a fourfold or greater increase in IgG or neutralizing antibody titers between the two samples confirms acute infection;

- Confirmation of the etiological agent is limited by the cross-reactivity of serological tests in infections caused by viruses of the same genus or due to vaccination against them;
- Cross-reactivity is more common in secondary infections than in primary infections. Therefore, in areas where multiple flaviviruses cocirculate — a current epidemiological situation in much of the Americas — the likelihood of cross-reactivity is high. Cross-reactivity has also been observed among different alphaviruses (e.g., Chikungunya and Mayaro viruses), although it has not been as extensively characterized as in flaviviruses.

Despite these various limitations, PAHO⁽²⁷⁾ also determines that serological tests should be part of the diagnostic methods for arboviruses due to the following reasons:

1. The use of virological methods depends on timely obtained samples, as patients may present for diagnosis after the viremic phase has passed;
2. Virological methods are not always available, as they require specific laboratory space and equipment;
3. Serological methods (particularly *in-house* ELISA tests) are less expensive and simpler to execute than virological methods, and they can be more easily implemented across a network of local laboratories;
4. Combining virological and serological methods can improve the sensitivity and specificity of diagnosis;^(41,42)
5. Serological methods are essential when the virus and its components are less frequently found in biological samples, such as in newborns with congenital Zika syndrome or in patients with neurological syndromes associated with ZIKV or other arboviral infections.

The initial infection with any DENV serotype provides incomplete protection against all four serotypes due to temporary cross-reactivity among them. After the neutralization of immunological memory, a protective response may be achieved if the patient is reinfected with the same serotype. It is well established that there is a strong association between secondary infections with a different DENV serotype and severe dengue. Subsequent infections with different serotypes are associated with severe forms of the disease and pose serious complications, including

mortality risk.⁽⁴³⁾ The involved pathogenesis may be related to antibody-dependent enhancement (ADE), and certain serotypes, such as DENV-2, 3, and 4, appear to be linked to greater severity in patients who have previously had dengue.⁽⁴⁴⁾ Laboratory identification of the serotype causing the infection provides information that contributes to better risk assessment by the healthcare team, facilitating appropriate management of patients during subsequent infections with different serotypes.⁽⁴⁵⁾

In this context, the laboratory results from virological tests (viral RNA detection and serotype identification) and serological tests (detection of NS1, IgM, and IgG) play a key role in dengue surveillance and outbreak management. Expanding active and passive vector surveillance activities, using geospatial management of dengue cases with early identification of regions with high transmissibility, can be achieved by more effectively utilizing the supporting infrastructure available in universities and reference centers, forming a network integrated with the Unified Health System (SUS - Sistema Único de Saúde). Modern techniques of genomic sequencing of samples should also be encouraged, as comparisons with existing sequences in databases may help determine epidemiological changes that lead to increased potential for dissemination or severity.⁽⁴⁶⁾

The availability of dengue vaccines marked a new epidemiological and laboratory context. In 2015, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) approved the Dengvaxia vaccine (Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda.), which in 2017 underwent a change in its labeling to indicate its use only for individuals who had previously contracted dengue. This change was made due to the potential for exacerbation linked to the temporary cross-reactive immunological memory mentioned earlier. As a result, healthcare professionals were required to conduct a more thorough evaluation and, if necessary, request serological tests for patients without a confirmed history of dengue virus exposure.

In 2023, ANVISA approved a new dengue vaccine, Qdenga (Takeda), which became available in the public health system in 2024, targeting children and adolescents aged 10 to 14 years. Additionally, new vaccines are in advanced stages of development, such as the vaccine from the Instituto Butantan, Brazil. Therefore, clinical laboratories, when performing a serological test for dengue, must be mindful of the possibility that the patient may have already received the dengue vaccine.

This situation underscores the need for access to methodologies that allow for differential and complementary

diagnoses to distinguish between natural infections and vaccine responses, ensuring effective epidemiological surveillance.

FINAL CONSIDERATIONS

Although most arboviral infections are asymptomatic or self-limiting, laboratory diagnosis of dengue plays a crucial role in this context. As dengue is the most common arboviral disease, accurate diagnosis and proper management are essential given the potential risk of complications such as dengue hemorrhagic fever (DHF). The use of advanced techniques, such as RT-PCR, detection of the NS1 viral protein, and IgM serology (IgM capture), ensures both speed and precision in diagnosis.

However, several important factors must be considered to ensure that the chosen diagnostic methodology is effective. The timing of biological sample collection, taking into account the day of symptom onset, is the primary critical factor for achieving a safe and accurate laboratory diagnosis. Other important considerations include the epidemiological situation of the disease, whether dengue cases occur periodically in the region, seasonality, the use of dengue vaccines, and the circulation of other flaviviruses in the same region.

The development of diagnostic tools that are more sensitive, specific, rapid, and cost-effective, coupled with easy application in the field for relatively underdeveloped regions of the world, is of increasing importance.

Continuous professional updates, including tracking epidemiological information published by national health agencies, are crucial for correlating results. Participation in scientific events, training programs, and following scientific literature are fundamental for staying updated on current diagnostic methodologies and any future ones with better specificity and sensitivity.

REFERENCES

1. Postler TS, Beer M, Blitvich BJ, Bukh J, de Lamballerie X, Drexler JF, et al. Renaming of the genus *Flavivirus* to *Orthoflavivirus* and extension of binomial species names within the family *Flaviviridae*. *Arch Virol* [Internet]. 2023 Sep 10; 168(9):224. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05835-1>
2. Wong JM, Adams LE, Durbin AP, Muñoz-Jordán JL, Poehling KA, Sánchez-González LM, et al. Dengue: A Growing Problem With New Interventions. *Pediatrics* [Internet]. 2022; 149(6):e2021055522. Available at: <https://doi.org/10.1542/peds.2021-055522>
3. Messina JP, Brady OJ, Golding N, Kraemer MUG, Wint GRW, Ray SE, et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue. *Nat Microbiol* [Internet]. 2019; 4(9):1508-15. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41564-019-0476-8>

4. Pan American Health Organization. Situation Report No 50 - Dengue Epidemiological Situation in the Region of the Americas - Epidemiological Week 50, 2024 [Internet]. 2025 [Accessed January 3, 2025]; 1-3. Available at: <https://www.paho.org/en/documents/situation-report-no-50-dengue-epidemiological-situation-region-americas-epidemiological>
5. WHO. Dengue - Global situation [Internet]. World Heal. Organ.2023 [Accessed June 17, 2024];(December 2023):1-16. Available at: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498#:~:text=Since the beginning of 2023,%2C South-East Asia%2C Western>
6. Brasil. Dengue [Internet]. Ministério da Saúde2024 [Accessed September 6, 2024]; Available at: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue>
7. World Health Organization. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control [Internet]. World Heal. Organ.2009 [Accessed October 1, 2024]; Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547871>
8. Raafat N, Blacksell SD, Maude RJ. A review of dengue diagnostics and implications for surveillance and control. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [Internet] 2019; 113(11):653-60. Available at: <https://academic.oup.com/trstmh/article/113/11/653/5542180>
9. Brasil. Dengue: Diagnóstico e Manejo Clínico - Adulto e criança [Internet]. 2024. Available at: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_
10. World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control [Internet]. 1997 [Accessed October 1, 2024]; Available at: <https://iris.who.int/handle/10665/41988>
11. De Paula SO, Fonseca BAL da. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Brazilian J Infect Dis* [Internet] 2004;8(6):390-8. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702004000600002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
12. Eltzov E, Atias D, Gheber L, Marks RS. Dengue Virus Diagnostics [Internet]. In: Viola Magni M, editor. Dordrecht: Springer Netherlands; 2010. page 275-95. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-90-481-8544-3_12
13. AnandaRao R, Swaminathan S, Fernando S, Jana AM, Khanna N. A custom-designed recombinant multi-epitope protein as a dengue diagnostic reagent. *Protein Expr Purif* [Internet] 2005; 41(1):136-47. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1046592805000112>
14. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med* [Internet] 2004;10(S12):S98-109. Available at: <https://www.nature.com/articles/nm1144>
15. WHO. Dengue Diagnostics: Proceedings of an International Workshop, 4-6 October 2004, WHI/TDR Geneva, Switzerland. [Internet]. *Dengue Bull.* 2005 [Accessed October 1, 2024]. Available at: <https://iris.who.int/handle/10665/164132>
16. Kuberski TT, Rosen L. A Simple Technique for the Detection of Dengue Antigen in Mosquitoes by Immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1977; 26(3):533-7. Available at: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/26/3/article-p533.xml>
17. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam A V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* [Internet] 1992; 30(3):545-51. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.30.3.545-551.1992>
18. Harris E, Roberts TG, Smith L, Selle J, Kramer LD, Valle S, et al. Typing of Dengue Viruses in Clinical Specimens and Mosquitoes by Single-Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR. *J Clin Microbiol* [Internet] 1998; 36(9):2634-9. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.36.9.2634-2639.1998>
19. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* [Internet] 2002; 2(9):519-29. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309902003687>
20. Sambri V, Capobianchi M, Cavrini F, Charrel R, Donoso-Mantke O, Escadafal C, et al. Diagnosis of West Nile Virus Human Infections: Overview and Proposal of Diagnostic Protocols Considering the Results of External Quality Assessment Studies. *Viruses* [Internet] 2013; 5(10):2329-48. Available at: <https://www.mdpi.com/1999-4915/5/10/2329>
21. Bessoff K, Delorey M, Sun W, Hunsperger E. Comparison of Two Commercially Available Dengue Virus (DENV) NS1 Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assays Using a Single Clinical Sample for Diagnosis of Acute DENV Infection. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2008; 15(10):1513-8. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CVI.00140-08>
22. Guzman MG, Jaenisch T, Gaczowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, Kroeger A, et al. Multi-Country Evaluation of the Sensitivity and Specificity of Two Commercially-Available NS1 ELISA Assays for Dengue Diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2010; 4(8):e811. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000811>
23. Hermann LL, Thaisomboonsuk B, Poolpanichupatam Y, Jarman RG, Kalayanaroj S, Nisalak A, et al. Evaluation of a Dengue NS1 Antigen Detection Assay Sensitivity and Specificity for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2014; 8(10):e3193. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003193>
24. Lima M da RQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FB dos. Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet] 2010; 4(7):e738. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000738>
25. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virology* [Internet] 2010; 7(1):361. Available at: <https://virology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-7-361>
26. Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B, et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet] 2009; 65(3):247-53. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0732889309003241>
27. Pan American Health Organization. Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas [Internet]. Pan American Health Organization; 2022 [Accessed October 1, 2024]. Available at: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/56321>
28. Balmaseda A, Guzmán MG, Hammond S, Robleto G, Flores C, Téllez Y, et al. Diagnosis of Dengue Virus Infection by Detection of Specific Immunoglobulin M (IgM) and IgA Antibodies in Serum and Saliva. *Clin Vaccine Immunol* [Internet] 2003; 10(2):317-22. Available at: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CDLI.10.2.317-322.2003>
29. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, et al. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Characterize Dengue Infections Where Dengue and Japanese Encephalitis Co-Circulate. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1989; 40(4):418-27. Available at: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/40/4/article-p418.xml>
30. Chow L, Hsu ST. [MAC-ELISA for the detection of IgM antibodies to dengue type I virus (rapid diagnosis of dengue type I virus infection)]. *Chinese J Microbiol Immunol* [Internet] 1989; 22(4):278-85. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2700156>
31. WHO. Dengue Diagnostics: Proceedings of an International Workshop, 4-6 October 2004, WHI/TDR Geneva, Switzerland. [Internet]. 2004 [Accessed October 7, 2024]. Available at: <https://iris.who.int/handle/10665/164132>
32. Kerkhof K, Falconi-Agapito F, Van Esbroeck M, Talledo M, Ariën KK. Reliable Serological Diagnostic Tests for Arboviruses: Feasible or Utopia? *Trends Microbiol* [Internet] 2020; 28(4):276-92. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966842X19302914>

33. Basile AJ, Goodman C, Horiuchi K, Sloan A, Johnson BW, Kosoy O, et al. Multi-laboratory comparison of three commercially available Zika IgM enzyme-linked immunosorbent assays. *J Virol Methods* [Internet] 2018; 260:26-33. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166093418301216>
34. Vaughn DW, Nisalak A, Solomon T, Kalayanaroj S, Nguyen MD, Kneen R, et al. Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 1999; 60(4):693-8. Available at: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/60/4/article-p693.xml>
35. Vazquez S, Hafner G, Ruiz D, Calzada N, Guzman MG. Evaluation of immunoglobulin M and G capture enzyme-linked immunosorbent assay Panbio kits for diagnostic dengue infections. *J Clin Virol* [Internet] 2007; 39(3):194-8. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138665320700131X>
36. Balmaseda A, Stettler K, Medialdea-Carrera R, Collado D, Jin X, Zambrana JV, et al. Antibody-based assay discriminates Zika virus infection from other flaviviruses. *Proc Natl Acad Sci* [Internet] 2017; 114(31):8384-9. Available at: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1704984114>
37. Stettler K, Beltramello M, Espinosa DA, Graham V, Cassotta A, Bianchi S, et al. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Science* [Internet] 2016; 353(6301):823-6. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaf8505>
38. Centers for Disease Control and Prevention. Prolonged IgM Antibody Response in People Infected with Zika Virus : Implications for Interpreting Serologic Testing Results for Pregnant. 2017 [Accessed October 1, 2024]; 5-7. Available at: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/45492>
39. Gibney KB, Kosoy OI, Fischer M, Edupuganti S, Lanciotti RS, Delorey MJ, et al. Detection of Anti-Yellow Fever Virus Immunoglobulin M Antibodies at 3-4 Years Following Yellow Fever Vaccination. *Am J Trop Med Hyg* [Internet] 2012; 87(6):1112-5. Available at: <https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.2012.12-0182>
40. Griffin I, Martin SW, Fischer M, Chambers TV, Kosoy O, Falise A, et al. Zika Virus IgM Detection and Neutralizing Antibody Profiles 12-19 Months after Illness Onset. *Emerg Infect Dis* [Internet] 2019; 25(2):299-303. Available at: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/25/2/18-1286_article.htm
41. PAHO. Diagnóstico por laboratorio de la infección por Virus de la Fiebre Amarilla. Organ Panam la Salud , Organ Panam la Salud 2018;(Figura 1):1-8.
42. Hunsperger EA, Muñoz-Jordán J, Beltran M, Colón C, Carrión J, Vazquez J, et al. Performance of Dengue Diagnostic Tests in a Single-Specimen Diagnostic Algorithm. *J Infect Dis* [Internet] 2016; 214(6):836-44. Available at: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jiw103>
43. Thomas L, Najioullah F, Besnier F, Valentino R, Césaire JRR, Cabié A, et al. Clinical Presentation of Dengue by Serotype and Year of Epidemic in Martinique. *Am Soc Trop Med Hyg* [Internet]. 2014 Jul 2; 91(1):138-45. Available at: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/91/1/article-p138.xml>
44. Tsheten T, Clements ACA, Gray DJ, Adhikary RK, Furuya-Kanamori L, Wangdi K. Clinical predictors of severe dengue: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty* [Internet]. 2021 Dec 9; 10(1):123. Available at: <https://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-021-00908-2>
45. Soo KM, Khalid B, Ching SM, Chee HY. Meta-Analysis of Dengue Severity during Infection by Different Dengue Virus Serotypes in Primary and Secondary Infections. Huy NT, editor. *PLoS One* [Internet]. 2016 May 23; 11(5):e0154760. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0154760>
46. Paradkar PN, Sahasrabudhe PR, Ghag Sawant M, Mukherjee S, Blasdel KR. Towards Integrated Management of Dengue in Mumbai. *Viruses* [Internet]. 2021 Dec 4; 13(12):2436. Available at: <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/12/2436>

Tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T

Treatment of lymphoid neoplasms with CAR-T cells

Andreza de J. Silva¹, Patrick Menezes², Diogo Felipe Corecha do Nascimento³

¹ Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy" – UNIGRANRIO AFYA, Curso de Biomedicina. Duque de Caxias, RJ, Brasil.

² Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG-UNIRio/Ebserh), Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica. Preceptor Científico do Curso de Biomedicina. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Laboratório de Citologia. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

Objetivo: Destacar a relevância do tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T como uma abordagem inovadora e promissora no campo da onco-hematologia. **Métodos:** Este estudo se baseou em uma revisão da literatura atual e em uma análise crítica dos estudos clínicos e experimentais relacionados ao uso de células CAR-T no tratamento de neoplasias linfoides. Foram considerados os princípios de funcionamento, a eficácia, a segurança e as limitações dessa terapia. **Resultados:** Os estudos analisados revelaram que as células CAR-T têm mostrado resultados promissores no tratamento de neoplasias linfoides. A capacidade de direcionar células T modificadas para reconhecer especificamente antígenos presentes nas células cancerígenas oferece uma abordagem terapêutica altamente direcionada. Além disso, foram observados altos índices de resposta completa em alguns ensaios clínicos. **Conclusão:** O tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T representa uma abordagem que oferece uma nova esperança para pacientes com doenças hematológicas graves. Embora haja desafios a serem superados, os resultados até o momento são encorajadores. O futuro da terapia CAR-T no tratamento de neoplasias linfoides dependerá do desenvolvimento de estratégias mais seguras e acessíveis, bem como de uma pesquisa contínua para melhorar sua eficácia.

Palavras-chave: Células CAR-T, leucemia linfoblástica, linfoma.

Abstract

Objective: To highlight the relevance of the treatment of lymphoid neoplasms with antigen-specific CAR-T cells as an innovative and promising approach in the field of oncohematology. **Methods:** This study was based on a comprehensive review of current literature and a critical analysis of clinical and experimental studies related to the use of CAR-T cells in the treatment of lymphoid neoplasms. The operating principles, efficacy, safety and limitations of this therapy were considered. **Results:** The analyzed studies revealed that antigen-specific CAR-T cells have shown promising results in the treatment of lymphoid neoplasms. The ability to target engineered T cells to specifically recognize antigens present on cancer cells offers a highly targeted therapeutic approach. In addition, high complete response rates have been observed in some clinical trials. **Conclusion:** The treatment of lymphoid neoplasms with antigen-specific CAR-T cells represents an approach that offers new hope for patients with severe hematological diseases. Although there are challenges to be overcome, the results so far are encouraging. The future of CAR-T therapy in the treatment of lymphoid neoplasms will depend on the development of safer and more affordable strategies, as well as continued research to improve their effectiveness.

Keywords: CAR-T cells, lymphoblastic leukemia, lymphoma.

Correspondência

Patrick Menezes

E-mail: patrickbioclinico@gmail.com

Recebido em 31/01/2024

Aprovado em 21/05/2024

DOI: 10.21877/2448-3877.202500164.pt

INTRODUÇÃO

As neoplasias linfoides originam-se da transformação maligna de células do tecido linfóide em diferentes estágios do seu processo natural de maturação.⁽¹⁾ Desta forma, podemos destacar entre essas neoplasias a leucemia linfoblástica aguda (LLA), que tem origem em uma célula progenitora linfóide capaz de se diferenciar em linfócitos T ou B, a leucemia linfocítica crônica (LLC), que surge com a transformação de um progenitor mais maduro do linfócito B, e o mieloma, que envolve uma célula em um estágio ainda mais tardio na maturação do linfócito B.⁽²⁾ A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece uma variedade de neoplasias linfoides, classificadas de acordo com suas características imunofenotípicas, genéticas e clínicas.^(3,4)

As neoplasias deste grupo apresentam, além de uma grande diversidade morfológica, um amplo espectro de manifestações clínicas.⁽¹⁾ Essa diversidade se reflete nos tratamentos aos quais essas patologias são responsivas.⁽¹⁾ Nos casos de falha na resposta ou recaída após o tratamento inicial, é considerado o transplante de células-tronco.⁽¹⁾ Doença refratária e recaída são dois dos principais desafios no tratamento de neoplasias hematológicas.⁽¹⁾ Diversas modalidades de imunoterapia têm se mostrado promissoras na tentativa de induzir remissão de longo prazo em neoplasias refratárias ou recaídas.^(5,6)

Apesar dos evidentes avanços terapêuticos nos últimos anos, as neoplasias linfoides ainda apresentam um mau prognóstico e alternativas terapêuticas tem sido alvo de pesquisas e ensaios clínicos.⁽⁵⁾ Nesse contexto, a terapia com células T apresentando receptor quimérico de antígeno (CAR-T) tem alcançado resultados promissores, tendo o FDA aprovado cinco tratamentos baseados em células CAR-T para neoplasias hematológicas.⁽⁵⁾ Esse tratamento baseia-se na reprogramação das células do próprio paciente e direcionamento destas contra as células tumorais.⁽⁷⁾

As células CAR-T são células do sistema imunológico geneticamente modificadas (Figura 1) para expressar um receptor quimérico específico para um antígeno de superfície encontrado nas células malignas.⁽⁸⁾ Esses receptores quiméricos são projetados para direcionar e reconhecer especificamente as células tumorais, ativando uma resposta imune direcionada e mais potente contra as células malignas (Figura 2).^(9,10) No caso das neoplasias linfoides, as células CAR-T são direcionadas a antígenos específicos encontrados nas células linfoides neoplásicas.⁽¹⁰⁾ Esses antígenos alvo podem variar conforme o tipo de neoplasia linfóide.⁽¹¹⁾ Ao direcionar esses antígenos, as células CAR-T podem eliminar seletivamente as células tumorais (Figura 3),⁽¹²⁾ poupando as células saudáveis do sistema linfático.⁽¹³⁾

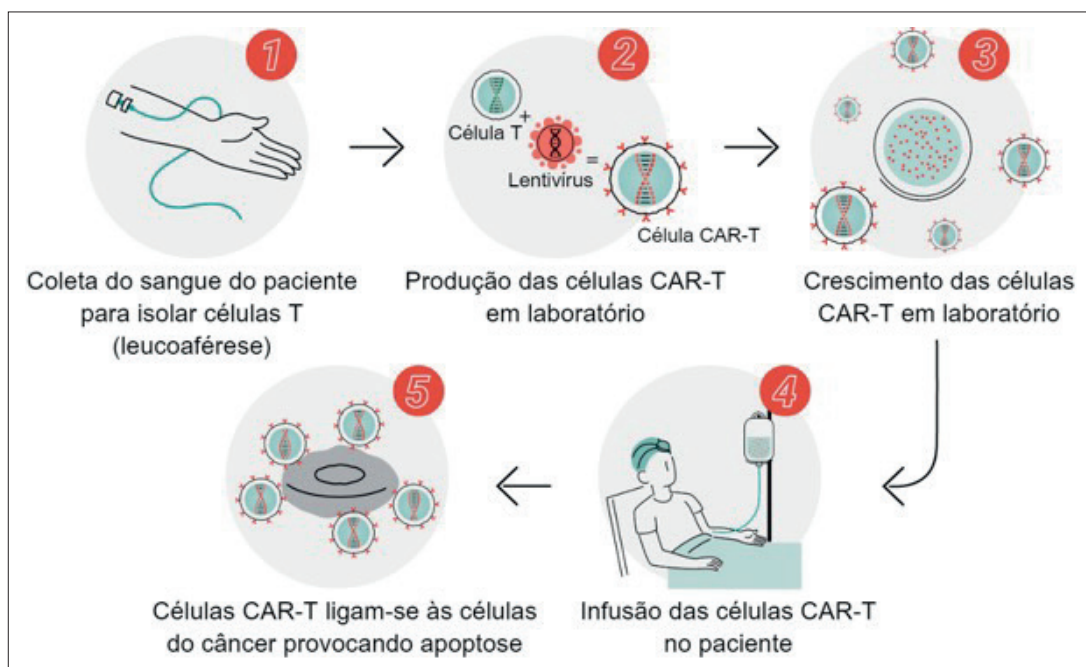


Figura 1

Processo de produção das células CAR-T.

Fonte: Adaptado de Butantan; USP; Hemocentro de Ribeirão Preto, 2022.

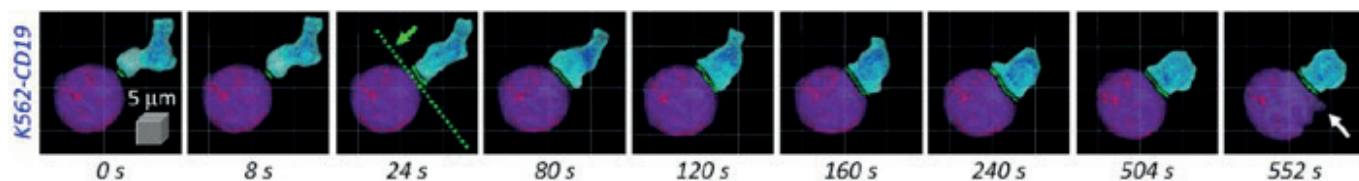


Figura 2

Mecanismo de ação das células CAR-T.

Fonte: Lee et al., 2020.

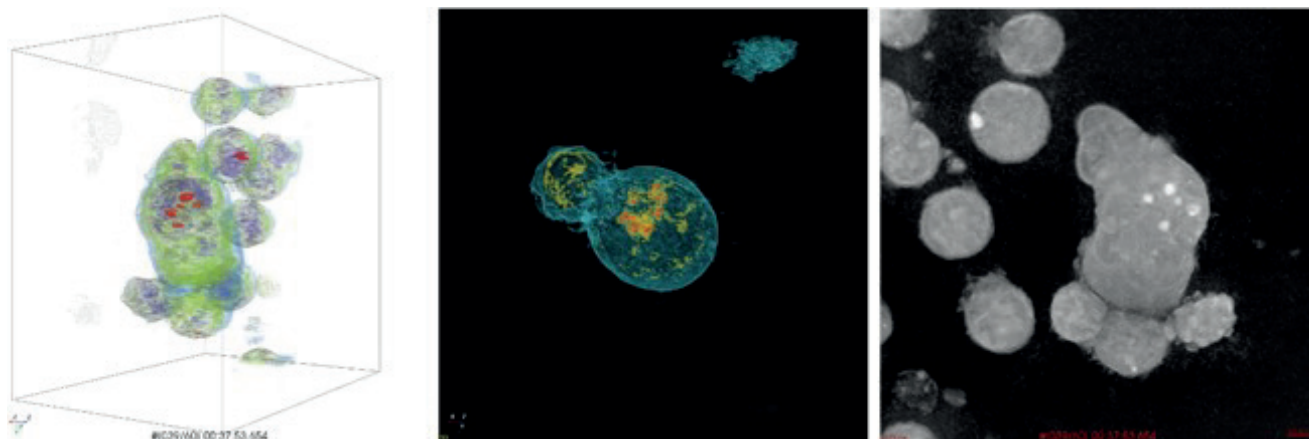


Figura 3

Visualização da holotomografia, técnica de microscopia que permite se obter imagens tridimensionais e em tempo real do comportamento das células CAR-T diante das células alvo.

Fonte: Lee et al., 2019.

A trajetória da terapia CAR-T (Figura 4), desde suas origens até sua disseminação no Brasil, é uma narrativa de inovação e esperança no tratamento do câncer.⁽¹⁴⁾ Nesse contexto, o objetivo desta revisão foi analisar estudos

relacionados às células CAR-T, leucemia linfoblástica e linfoma, no período de cinco anos. A pesquisa utilizou o banco de dados PubMed como fonte de informações para se observar o estado da arte.

1987	Criado o primeiro receptor quimérico de antígeno (CAR) Neste ano, cientistas realizaram um avanço fundamental ao desenvolver o primeiro CAR, também conhecido como Receptor Quimérico de Antígeno. Esse CAR foi incorporado às células T, criando as células CAR-T. Essas células modificadas passaram a expressar receptores específicos, permitindo que identificassem e se ligassem aos tumores. Essa descoberta desencadeou uma revolução na terapia do câncer.
1992	Uso de vetores retrovirais para introdução de genes nas células T O imunologista americano Michael Sadelain, do MID, começou a utilizar vetores retrovirais para introduzir genes nas células T. O objetivo era modificar essas células para que atacassem tumores específicos.
1994	Isolamento de células T específicas Pesquisadores do Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) em Nova York aprenderam a isolar células T específicas para uso em transplantes de células tronco, visando prevenir tumores causados por vírus.
1998	Introdução da molécula coestimuladora CD-28 A equipe de Michael Sadelain introduziu a molécula coestimuladora CD-28 em células T modificadas (CAR-T), o que permitiu que elas permanecessem ativas no organismo, tornando-as mais eficazes na luta contra o câncer.
2002	Construção das primeiras células CAR-T eficazes <i>in vitro</i> Pesquisadores do MSK construíram as primeiras células CAR-T eficazes, direcionadas contra antígenos específicos do câncer. Essas células demonstraram a capacidade de sobreviver, se multiplicar e matar células cancerosas em testes laboratoriais, validando a viabilidade da terapia.
2003	Células CAR-T matam células de leucemia em animais O grupo de pesquisadores do MIT demonstrou que as células CAR-T contendo a molécula coestimuladora CD-19 eram capazes de matar células leucêmicas em camundongos.
2009	Estabelecimento do processo de fabricação de células CAR-T A mesma equipe do MIT foi pioneira no desenvolvimento do processo de fabricação de células CAR-T contendo a molécula CD-19, destinadas ao tratamento de pacientes com leucemia resistente à quimioterapia e recidiva. O sucesso do processo e a eficácia das células foram comprovados.
2010	Primeiros pacientes com leucemia curados com CAR-T Dois pacientes com leucemia linfoblástica crônica em estágio terminal foram voluntários no primeiro ensaio clínico da terapia CAR-T, realizado na Universidade da Pensilvânia. Ambos alcançaram remissão completa e permaneceram livres do câncer até hoje. As células CAR-T ainda são detectáveis em seus organismos uma década depois.
2012	Primeira criança com leucemia recebe a CAR-T Emily Whitehead, com 7 anos na época, se tornou a primeira criança a receber a terapia CAR-T. Ela estava internada com leucemia terminal e foi tratada com sucesso pela equipe de Stephan Grupp, no Hospital Infantil da Filadélfia. As células CAR-T salvaram sua vida, e a remissão dos tumores foi completa.
2017	Aprovação da CAR-T pela FDA Após vários ensaios clínicos bem-sucedidos, a Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos aprovou a terapia CAR-T para o tratamento de casos terminais de leucemia e linfoma. Atualmente, a FDA já aprovou cinco terapias CAR-T diferentes.
2019	Primeiros pacientes recebem CAR-T no Brasil O Centro de Terapia Celular do Hemocentro de Ribeirão Preto (CTC-USP) aplicou a terapia experimentalmente em pacientes com cânceres do sangue, como linfoma e leucemia, que não tinham mais opções de tratamento. A maioria desses pacientes alcançou remissão.
2022	Criação do Programa de Terapia Celular do Instituto Butantan, USP e Hemocentro A tecnologia CAR-T se difundiu no Brasil com a criação de novos centros de produção de terapia celular para câncer pelo Instituto Butantan, pela Universidade de São Paulo (USP) e pelo Hemocentro de Ribeirão Preto. Essas unidades têm capacidade para tratar centenas de pacientes por ano, representando um marco importante no acesso à terapia CAR-T no país.

Figura 4

Os principais marcos na jornada do tratamento com células CAR-T.

Fonte: Adaptado de Moon, 2023.⁽¹⁴⁾

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada exclusivamente com textos científicos para revisão da literatura que recorreram exclusivamente às fontes bibliográficas, de cunho acadêmico-científico, após a experiência dos autores com a temática em um centro especializado de onco-hematologia que, conforme a Resolução CNS n.º 510, de 2016, são dispensadas de registro e avaliação pelo Sistema CEP/Conep: O objetivo foi analisar estudos relacionados às células CAR-T, leucemia linfoblástica e linfoma, no período de cinco anos. A pesquisa utilizou o banco de dados PubMed como fonte de informações para se observar o estado da arte.

Para a seleção dos estudos, foram estabelecidos critérios de inclusão que englobaram a disponibilidade de texto completo gratuito e a inclusão de ensaios clínicos. Por outro lado, os critérios de exclusão abrangeram estudos que envolviam outros tipos de neoplasias.

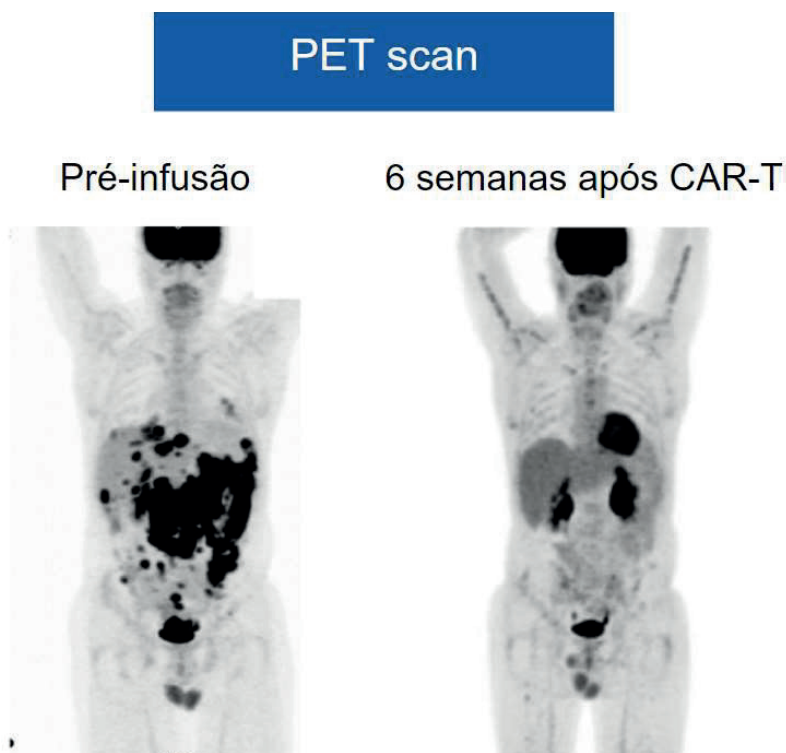
Essa pesquisa teve como intuito fornecer uma visão atualizada sobre o uso das células CAR-T no tratamento da leucemia linfoblástica e do linfoma, explorando os ensaios clínicos disponíveis na literatura científica nos últimos cinco anos. A revisão da literatura permitiu a compilação e análise de estudos relevantes para a área, contribuindo para a compreensão dos avanços e desafios nesse campo.

RESULTADOS

Ramos et al. (2018) detalharam um caso clínico extremamente relevante envolvendo um paciente do sexo masculino, com 52 anos, que recebeu um diagnóstico de linfoma difuso de grandes células B.⁽¹⁰⁾ O contexto histórico do paciente revelou informações importantes sobre sua jornada de tratamento.⁽¹⁰⁾ O histórico clínico do paciente é notável por seu tratamento anterior.⁽¹⁰⁾ O transplante autólogo de células-tronco é um procedimento padrão que envolve a coleta das próprias células-tronco do paciente, seguida

de uma intensa quimioterapia de alta dose, e, por fim, a reinfusão das células-tronco para ajudar na recuperação do sistema hematopoiético.⁽¹⁰⁾ No entanto, é preocupante observar que, apesar desse tratamento anterior, o paciente experimentou uma recaída da doença.⁽¹⁰⁾ Uma recaída indica que o linfoma voltou a se manifestar após um período inicial de remissão, sugerindo que o tratamento anterior não foi suficiente para controlar a progressão da doença de forma duradoura.⁽¹⁰⁾ Nesse contexto, a descrição do caso clínico sugere que as células CAR-T foram consideradas como uma opção de tratamento subsequente à falha do tratamento anterior.⁽¹⁰⁾ Essa abordagem é notável porque as terapias CAR-T têm demonstrado eficácia em tratar certos tipos de linfomas, especialmente quando outros tratamentos não foram bem-sucedidos.⁽¹⁰⁾

O paciente em questão passou por um tratamento que incluiu a terapia com células CAR-T após uma etapa de quimioterapia linfodepletora.⁽¹⁰⁾ A linfodepleção é um passo importante antes da infusão das células CAR-T, pois ajuda a criar um ambiente mais propício para que essas células modificadas atuem de forma eficaz, diminuindo a competição com as células do sistema imunológico do paciente.⁽¹⁰⁾ Uma etapa crucial na avaliação da resposta ao tratamento foi a realização de um segundo PET scan (Figura 5), que ocorreu 6 semanas após a infusão das células CAR-T.⁽¹⁰⁾ Esse exame é fundamental para monitorar a disseminação do câncer e para avaliar a eficácia do tratamento.⁽¹⁰⁾ Os resultados desse segundo PET scan foram altamente encorajadores, indicando uma resposta completa (RC).⁽¹⁰⁾ Uma resposta completa no PET scan é um marco significativo no tratamento de pacientes com câncer.⁽¹⁰⁾ Isso significa que, segundo as imagens obtidas, não foram identificadas áreas no corpo que demonstrassem atividade metabólica anormal, o que sugere a eliminação quase completa das células cancerígenas.⁽¹⁰⁾ Essa é uma conquista notável, indicando que o tratamento com células CAR-T teve um impacto extremamente positivo no controle e na regressão do linfoma difuso de grandes células.⁽¹⁰⁾

**Figura 5**

Visualização do PET scan na fase pré-infusão de CAR-T e 6 semanas pós-infusão apresentando uma resposta completa.

Fonte: Adaptado de Ramos et al., 2018.

Ramos et al. (2018) também apresentam um caso clínico envolvendo um paciente masculino de 67 anos diagnosticado com linfoma difuso de grandes células B.⁽¹⁰⁾ O histórico desse paciente é notável por sua trajetória complexa de tratamento.⁽¹⁰⁾ Após não conseguir avançar para o transplante de células-tronco, apesar de ter passado por dois regimes de resgate, o paciente foi submetido a um protocolo que envolveu linfodepleção seguida da infusão de células CAR-T.⁽¹⁰⁾ No entanto, a evolução do paciente após o tratamento com células CAR-T foi marcada por complicações notáveis.⁽¹⁰⁾ Dez dias após a infusão das células CAR-T, ele desenvolveu febre e taquipneia, o que levou à sua internação no hospital.⁽¹⁰⁾ A ocorrência desses sintomas é preocupante, pois pode sugerir uma reação adversa ao tratamento ou a presença de complicações associadas à terapia CAR-T.⁽¹⁰⁾ Ao analisar os marcadores inflamatórios do paciente, incluindo a proteína C-reativa (PC-R), que atingiu um pico de 12,2mg/dL no 11º dia, e a interleucina 6, que aumentou de 6,3pg/mL no início do estudo para um pico de 91,2pg/mL no 11º dia,

foi identificada uma elevação.⁽¹⁰⁾ Esses resultados indicam que o paciente estava experimentando uma síndrome de liberação de citocinas (SLC) leve.⁽¹⁰⁾

Abdo et al. (2020) apresentaram gráficos de Kaplan-Meier que foram utilizados para comparar e analisar os resultados de dois grupos de pacientes tratados com diferentes abordagens terapêuticas relacionadas às células CAR-T.⁽¹⁵⁾ Um aspecto notável desse estudo foi que os pacientes foram divididos em dois grupos distintos: um que recebeu células CAR-T recém-modificadas usando a abordagem *point-of-care* e outro que recebeu células CAR-T que foram expandidas durante 8 dias e cultivadas conforme o protocolo tradicional.⁽¹⁵⁾

DISCUSSÃO

A avaliação por estudo de imagem realizada 6 semanas após a infusão de CAR-T é uma etapa essencial no acompanhamento de pacientes submetidos a esse tratamento,⁽¹⁰⁾ e normalmente é conduzida por meio de um PET scan ou

tomografia por emissão de pósitrons.⁽¹⁰⁾ O PET scan é uma ferramenta altamente sensível que permite a detecção de áreas do corpo que continuam metabolicamente ativas.⁽¹⁰⁾ Essa atividade metabólica pode indicar a presença de células cancerígenas remanescentes, o que é fundamental para avaliar a eficácia do tratamento com células CAR-T.⁽¹⁰⁾ A interpretação dos resultados do PET scan é fundamental para categorizar o progresso da doença e determinar a resposta ao tratamento.⁽¹⁰⁾ Os critérios estabelecidos como resposta completa, resposta parcial, doença progressiva e doença estável, servem como uma base objetiva para avaliar a eficácia do tratamento.⁽¹⁰⁾ A resposta completa indica a eliminação completa das células cancerígenas, enquanto a resposta parcial sugere uma redução significativa no tumor.⁽¹⁰⁾ Por outro lado, a doença progressiva indica que a condição do paciente está piorando, e a doença estável sugere que não houve mudanças significativas na doença.⁽¹⁰⁾ A combinação de tecnologia de imagem avançada, como o PET scan, e critérios de resposta bem definidos permite uma avaliação precisa e objetiva da eficácia da terapia com células CAR-T.⁽¹⁰⁾ Isso, por sua vez, auxilia na tomada de decisões clínicas importantes e na adaptação do tratamento para atender às necessidades específicas de cada paciente, contribuindo assim para melhorar os resultados.⁽¹⁰⁾

A combinação da linfodepleção por quimioterapia seguida pela infusão de CAR-T, acompanhada por ensaios de citotoxicidade utilizando a proteína C-reativa (PC-R) e a interleucina 6 (IL-6), representa uma abordagem completa e integrada para o tratamento e avaliação da eficácia em pacientes que passam por terapia CAR-T.⁽¹⁶⁾ A inclusão desses marcadores biológicos, PC-R e IL-6, nos ensaios clínicos pode ser significativa por várias razões importantes.⁽¹⁶⁾ Primeiramente, a PC-R é uma proteína produzida em resposta a inflamações no corpo.⁽¹⁶⁾ Quando os níveis de PC-R aumentam após a infusão de CAR-T, isso pode ser um indicativo de uma reação inflamatória em resposta à destruição das células cancerígenas pelas células CAR-T.⁽¹⁶⁾ Essa informação é valiosa, pois pode ajudar a monitorar e entender as respostas imunológicas do paciente ao tratamento.⁽¹⁶⁾ Um aumento acentuado nos níveis de PC-R pode sugerir uma resposta robusta do sistema imunológico, o que pode ser desejável em certos contextos terapêuticos, enquanto níveis moderados ou estáveis podem indicar uma resposta mais controlada.⁽¹⁶⁾ Em segundo lugar, a interleucina 6 (IL-6) é uma citocina que desempenha um papel fundamental na regulação da resposta imunológica e na modulação da inflamação.⁽¹⁶⁾ Medir os níveis de IL-6 pode fornecer informações importantes sobre como o

sistema imunológico está sendo ativado ou modulado pelas células CAR-T.⁽¹⁶⁾ Isso é essencial para entender não apenas a eficácia do tratamento, mas também os potenciais efeitos colaterais e complicações associadas à terapia CAR-T.⁽¹⁶⁾ O controle adequado da resposta inflamatória e imunológica é crucial para a segurança e o bem-estar dos pacientes.⁽¹⁶⁾ Portanto, a inclusão da PC-R e da IL-6 nos ensaios clínicos relacionados à terapia CAR-T fornece uma visão detalhada da resposta do corpo ao tratamento.⁽¹⁶⁾ Esses marcadores podem auxiliar os profissionais de saúde a ajustar e personalizar a terapia conforme as necessidades individuais do paciente, maximizando os benefícios terapêuticos e minimizando os riscos potenciais.⁽¹⁶⁾ Além disso, essa abordagem integrada contribui para o avanço do conhecimento científico na área e para o aprimoramento contínuo da terapia CAR-T como uma opção de tratamento eficaz para pacientes com câncer.⁽¹⁰⁾

Uma abordagem comum na pesquisa pré-clínica para avaliar a eficácia e a segurança da terapia CAR-T envolve a utilização de modelos de camundongos imunodeficientes que foram previamente enxertados com diferentes tipos de leucemia de células B.⁽¹⁵⁾ O processo de modificação genética utilizado nesses estudos é mediado por um transposon conhecido como "Sleeping Beauty" e um aspecto notável é a aplicação da técnica *point-of-care*, que se refere a um processo rápido e localizado, realizado no próprio laboratório, sem a necessidade de enviar amostras ou experimentos para instalações distantes.⁽¹⁵⁾

O exame de PET scan é uma ferramenta essencial no estágio pré-infusão para mapear a disseminação do câncer e identificar áreas de atividade tumoral.⁽¹⁰⁾ É um exame que utiliza uma substância radioativa chamada radiofármaco para visualizar as células do corpo que consomem mais glicose, como as células cancerosas.⁽¹⁰⁾ A obtenção de uma resposta completa no PET scan após o tratamento com células CAR-T é um resultado altamente positivo e indica a eficácia do tratamento.⁽¹⁰⁾ Quando falamos em uma resposta completa, estamos nos referindo ao fato de que não há evidências visíveis de atividade tumoral em nenhuma parte do corpo que tenha sido avaliada.⁽¹⁰⁾ Isso significa que todas as lesões tumorais anteriores, que eram detectáveis no PET scan pré-tratamento, não estão mais presentes ou não mostram atividade metabólica, o que é um sinal encorajador de que o tratamento está sendo bem-sucedido.⁽¹⁰⁾

Comparar os resultados de um exame PET scan realizado após 6 semanas da infusão CAR-T com um estudo anterior de 6 meses pós-infusão nos permitiu avaliar duas fases distintas do tratamento e fornecer informações valiosas sobre o progresso

do paciente.⁽¹⁷⁾ O exame de 6 semanas avalia a resposta inicial e a eficácia aguda do tratamento.⁽¹⁷⁾ Neste ponto, observa-se como as células CAR-T estão respondendo imediatamente ao câncer.⁽¹⁷⁾ É uma janela crítica para identificar qualquer sinal precoce de sucesso ou desafio no tratamento.⁽¹⁷⁾ Por outro lado, o estudo de 6 meses pós-infusão se concentra na estabilidade da resposta completa e na observação da remissão a longo prazo.⁽¹⁷⁾ Isso é fundamental para determinar se o tratamento CAR-T está mantendo sua eficácia ao longo do tempo e se o paciente está experimentando uma remissão duradoura.⁽¹⁷⁾ Ambos os momentos são cruciais no acompanhamento do progresso do paciente após a terapia CAR-T, fornecendo uma visão desde a resposta imediata até o cenário de longo prazo.⁽¹⁷⁾

Com isso, no PET scan realizado 6 semanas após a infusão das células CAR-T, a eficácia inicial é essencial para avaliar a resposta inicial ao tratamento.⁽¹⁷⁾ Durante a avaliação da resposta aguda, é possível observar a eliminação da maioria das células alvo, o que resulta em uma redução significativa na atividade metabólica do tumor.⁽¹⁷⁾ Já a resposta completa inicial indica que o tratamento foi eficaz, mas é importante ressaltar que ainda se faz necessário um acompanhamento a longo prazo para garantir a durabilidade dessa resposta e monitorar possíveis recidivas.⁽¹⁷⁾

Entretanto, 6 meses após a infusão das células CAR-T, a avaliação da resposta a longo prazo assume um papel crucial. Essa avaliação visa determinar a estabilidade da resposta completa ao longo do tempo.⁽¹⁷⁾ Quando se observa a consolidação da remissão, isso significa que a resposta inicial persiste e se mantém, indicando uma remissão completa ao longo do tempo.⁽¹⁷⁾ É importante ressaltar que o prognóstico favorável está associado à resposta completa sustentada.⁽¹⁷⁾ Isso significa que, se a resposta persistir, há uma perspectiva otimista em relação ao desfecho do tratamento, com uma redução significativa do risco de recidiva, proporcionando maior esperança e qualidade de vida ao paciente.⁽¹⁷⁾

Feng et al. (2020) observaram que a ativação intensa das células CAR-T após a infusão pode desencadear a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Figura 6) na corrente sanguínea.⁽¹⁶⁾ Isso, por sua vez, pode resultar na ocorrência da síndrome de liberação de citocinas, que geralmente se manifesta nos primeiros dias após a infusão das células CAR-T.⁽¹⁶⁾ Essa síndrome envolve a rápida liberação de citocinas, como a interleucina 6, e pode ser monitorada através dos níveis da proteína C-reativa, que desempenha um papel crucial na avaliação da resposta imunológica e inflamatória.⁽¹⁶⁾ Portanto, é importante acompanhar de perto esses marcadores para gerenciar os efeitos colaterais potenciais da terapia com células CAR-T.⁽¹⁶⁾

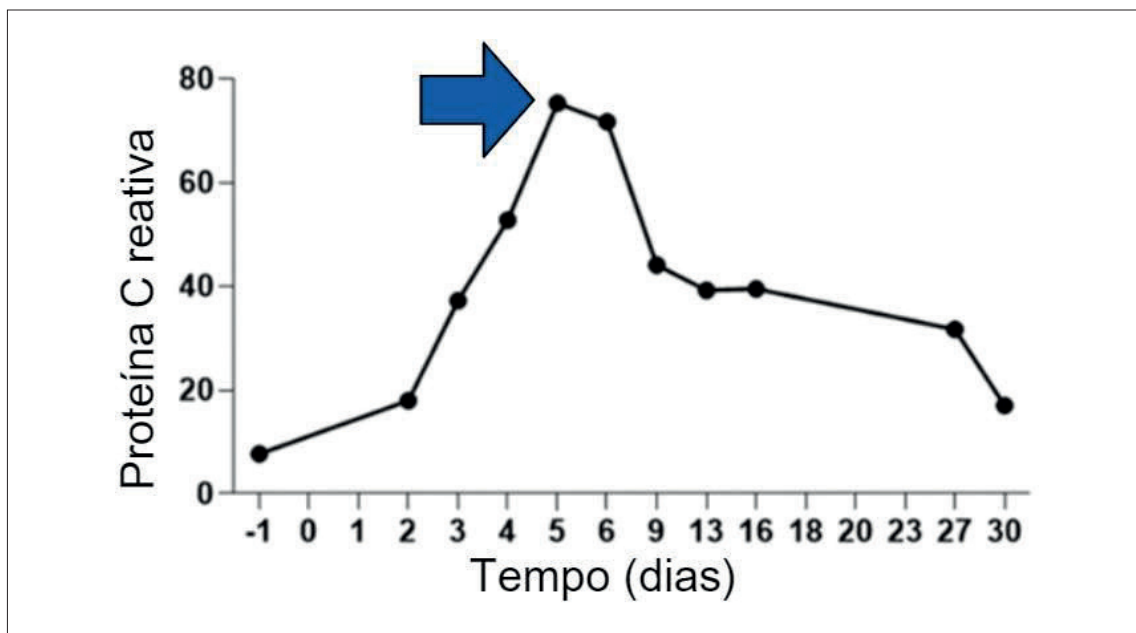


Figura 6

Medição da proteína C-reativa, demonstrando uma leve toxicidade de síndrome de liberação de citocinas de grau I após terapia com células CAR-T.

Fonte: Adaptado de Feng et al., 2020.

CONCLUSÕES

Com base nas informações e dados apresentados, conclui-se que os estudos e ensaios clínicos realizados na presente revisão da literatura científica demonstram que a terapia com células CAR-T possui o potencial de proporcionar remissão duradoura em pacientes com neoplasias linfoides e que a administração dos efeitos colaterais é um aspecto crucial no tratamento.^(18,19)

A avaliação da resposta com o PET scan antes e após a infusão das células CAR-T é fundamental para avaliar a disseminação do câncer e a eficácia do tratamento.⁽²⁰⁾ Uma resposta completa no PET scan é indicativa de um tratamento eficaz e é um marco positivo no acompanhamento do paciente.⁽²¹⁾ Comparar resultados de PET scans realizados em diferentes momentos após a infusão das células CAR-T é crucial.⁽²²⁾ O PET scan realizado 6 semanas após a infusão avalia a resposta inicial e a eficácia aguda do tratamento, enquanto um PET scan realizado 6 meses após a infusão examina a estabilidade da resposta completa e o prognóstico a longo prazo.^(23,24)

A síndrome de liberação de citocinas é um efeito colateral potencial da terapia com células CAR-T, que está associada ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 6, e da proteína C-reativa.⁽²⁵⁾ O monitoramento desses marcadores é importante para a identificação e o gerenciamento da SLC.⁽²⁶⁾

Em resumo, os estudos apresentados destacam a importância da avaliação cuidadosa da resposta ao tratamento com células CAR-T, os desafios associados à síndrome de liberação de citocinas e a viabilidade do *point-of-care* como uma abordagem mais acessível e eficaz.⁽²⁷⁾ Esses avanços têm o potencial de melhorar significativamente o tratamento de pacientes com câncer, proporcionando melhores resultados e acessibilidade.⁽²⁸⁾

REFERÊNCIAS

- Okikiolu J & McNamara C. (2015). Lymphoid neoplasms. Hematology (Amsterdam, Netherlands), 20(3), 182–183. <https://doi.org/10.1179/1024533215z.000000000351>
- Hanel W, Shindiapina P, Bond DA, Sawalha Y, Epperla N, Voorhees T, Welkie RL, et al. (2023). A phase 2 trial of ibrutinib and nivolumab in patients with relapsed or refractory classical Hodgkin's lymphoma. Cancers, 15(5), 1437. <https://doi.org/10.3390/cancers15051437>
- Morton LM, Turner JJ, Cerhan JR, Linet MS, Treseler PA, Clarke CA, Jack A, et al. (2007). Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). Blood, 110(2), 695–708. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-11-051672>
- Duffield AS, Mullighan CG & Borowitz MJ (2023). International Consensus Classification of acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. Virchows Archiv: An International Journal of Pathology, 482(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s00428-022-03448-8>
- Pasqui DM, Latorraca CdOC, Pacheco RL & Riera R (2022). CAR-T cell therapy for patients with hematological malignancies. A systematic review. European Journal of Haematology, 109(6), 601–618. <https://doi.org/10.1111/ejh.13851>
- Tang L, Huang Z, Mei H & Hu Y (2023). Immunotherapy in hematologic malignancies: achievements, challenges and future prospects. Signal Transduction and Targeted Therapy, 8(1), 1–39. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01521-5>
- Haslauer T, Greil R, Zaborsky N & Geisberger R (2021). CART-cell therapy in hematological malignancies. International Journal of Molecular Sciences, 22(16), 8996. <https://doi.org/10.3390/ijms22168996>
- Butantan; USP; Hemocentro de Ribeirão Preto. Terapia contra o câncer com células CAR-T. Butantan, 2022. <https://terapiacelular.butantan.gov.br/>
- Lee M, Lee Y-H, Song J, Kim G, Jo Y, Min H, Kim CH & Park Y (2020). Deep-learning-based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of CAR-T cells. eLife, 9. <https://doi.org/10.7554/elife.49023>
- Ramos CA, Rouce R, Robertson CS, Reyna A, Narala N, Vyas G, Mehta B, et al. (2018). In vivo fate and activity of second- versus third-generation CD19-specific CAR-T cells in B cell non-Hodgkin's lymphomas. Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy, 26(12), 2727–2737. <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2018.09.009>
- Gong W-J, Qiu Y, Li M-H, Chen L-Y, Li Y-Y, Yu J-Q, Kang L-Q, et al. (2022). Investigation of the risk factors to predict cytokine release syndrome in relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia patients receiving IL-6 knocking down anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy. Frontiers in immunology, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.922212>
- Lee M, Lee Y-H, Song J, Kim G, Jo Y, Min H, Kim CH & Park Y (2019). Deep-learning based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of chimeric antigen receptor T cells. Em bioRxiv (p. 539858). <https://doi.org/10.1101/539858>
- Zhao L & Cao YJ (2019). Engineered T cell therapy for cancer in the clinic. Frontiers in Immunology, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02250>
- Moon P. A história da terapia CAR-T: 60 anos de evolução e pioneirismo em direção à cura do câncer. Butantan, 2023. <https://butantan.gov.br/noticias/a-historia-da-terapia-car-t-60-anos-de-evolucao-e-pioneirismo-em-direcao-a-cura-do-cancer>
- de Macedo Abdo L, Barros LRC, Saldanha Viegas M, Vieira Codeço Marques L, de Sousa Ferreira P, Chicaybam L & Bonamino MH (2020). Development of CAR-T cell therapy for B-ALL using a point-of-care approach. Oncoimmunology, 9(1). <https://doi.org/10.1080/2162402x.2020.1752592>
- Feng J, Xu H, Cinquina A, Wu Z, Chen Q, Zhang P, Wang X, et al. (2021). Treatment of aggressive T cell lymphoblastic lymphoma/leukemia using anti-CD5 CAR T cells. Stem Cell Reviews and Reports, 17(2), 652–661. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10092-9>
- Spiegel JY, Patel S, Muffly L, Hossain NM, Oak J, Baird JH, Frank MJ, et al. (2021). CART cells with dual targeting of CD19 and CD22 in adult patients with recurrent or refractory B cell malignancies: a phase 1 trial. Nature Medicine, 27(8), 1419–1431. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01436-0>
- Tudor T, Binder ZA & O'Rourke DM (2021). CAR T cells. Neurosurgery Clinics of North America, 32(2), 249–263. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2020.12.005>
- Jin Z, MacPherson K, Liu Z & Vu LP (2023). RNA modifications in hematological malignancies. International Journal of Hematology, 117(6), 807–820. <https://doi.org/10.1007/s12185-023-03576-0>

20. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, et al (2016). The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, 127(20), 2375-2390. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>
21. Jia J, Wang X, Song Z, Meng S, Fei Y, Yu J, Liu X, et al. (2024). A retrospective analysis of mature T- and NK-cell lymphomas. *Cancer biology & medicine*, 21(3), 223-229. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0464>
22. Ferrand C & Rambaldi A (2022). Myeloid Malignancies. Em *The EBMT/ EHA CAR-T Cell Handbook* (p. 97-103). Springer International Publishing. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-94353-0_18#DOI
23. Barros LRC, Couto SCF, da Silva Santurio D, Paixão EA, Cardoso F, da Silva VJ, Klinger P, et al. (2022). Systematic review of available CAR-T cell trials around the world. *Cancers*, 14(11), 2667. <https://doi.org/10.3390/cancers14112667>
24. Lima MFde, Lisboa MdeO, Terceiro LEL, Rangel-Pozzo A & Mai S (2022). Chromosome territories in hematological malignancies. *Cells (Basel, Switzerland)*, 11(8), 1368. <https://doi.org/10.3390/cells11081368>
25. Brudno JN & Kochenderfer JN (2019). Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood Reviews*, 34, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.11.002>
26. Qi Y, Zhao M, Hu Y, Wang Y, Li P, Cao J, Shi M., et al. (2022). Efficacy and safety of CD19-specific CAR T cell-based therapy in B-cell acute lymphoblastic leukemia patients with CNSL. *Blood*, 139(23), 3376-3386. <https://doi.org/10.1182/blood.2021013733>
27. Meng Y, Deng B, Rong L, Li C, Song W, Ling Z, Xu J, et al. (2021). Short-interval sequential CAR-T cell infusion may enhance prior CAR-T cell expansion to augment anti-lymphoma response in B-NHL. *Frontiers in oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.640166>
28. Polyatskin IL, Artemyeva AS & Krivolapov YA (2019). Revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2017 (4th edition): lymphoid tumors. *Arkiv Patologii*, 81(3), 59. <https://doi.org/10.17116/patol20198103159>

Treatment of lymphoid neoplasms with CAR-T cells

Tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T

Andreza de J. Silva¹, Patrick Menezes², Diogo Felipe Corecha do Nascimento³

¹ Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy" – UNIGRANRIO AFYA, Curso de Biomedicina. Duque de Caxias, RJ, Brazil.

² Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG-UNIRio/Ebserh), Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica. Preceptor Científico do Curso de Biomedicina. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

³ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Laboratório de Citologia. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Abstract

Objective: To highlight the relevance of the treatment of lymphoid neoplasms with antigen-specific CAR-T cells as an innovative and promising approach in the field of oncohematology. **Methods:** This study was based on a comprehensive review of current literature and a critical analysis of clinical and experimental studies related to the use of CAR-T cells in the treatment of lymphoid neoplasms. The operating principles, efficacy, safety and limitations of this therapy were considered. **Results:** The analyzed studies revealed that antigen-specific CAR-T cells have shown promising results in the treatment of lymphoid neoplasms. The ability to target engineered T cells to specifically recognize antigens present on cancer cells offers a highly targeted therapeutic approach. In addition, high complete response rates have been observed in some clinical trials. **Conclusion:** The treatment of lymphoid neoplasms with antigen-specific CAR-T cells represents an approach that offers new hope for patients with severe hematological diseases. Although there are challenges to be overcome, the results so far are encouraging. The future of CAR-T therapy in the treatment of lymphoid neoplasms will depend on the development of safer and more affordable strategies, as well as continued research to improve their effectiveness.

Keywords: CAR-T cells, lymphoblastic leukemia, lymphoma.

Resumo

Objetivo: Destacar a relevância do tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T como uma abordagem inovadora e promissora no campo da onco-hematologia. **Métodos:** Este estudo se baseou em uma revisão da literatura atual e em uma análise crítica dos estudos clínicos e experimentais relacionados ao uso de células CAR-T no tratamento de neoplasias linfoides. Foram considerados os princípios de funcionamento, a eficácia, a segurança e as limitações dessa terapia. **Resultados:** Os estudos analisados revelaram que as células CAR-T têm mostrado resultados promissores no tratamento de neoplasias linfoides. A capacidade de direcionar células T modificadas para reconhecer especificamente antígenos presentes nas células cancerígenas oferece uma abordagem terapêutica altamente direcionada. Além disso, foram observados altos índices de resposta completa em alguns ensaios clínicos. **Conclusão:** O tratamento de neoplasias linfoides com células CAR-T representa uma abordagem que oferece uma nova esperança para pacientes com doenças hematológicas graves. Embora haja desafios a serem superados, os resultados até o momento são encorajadores. O futuro da terapia CAR-T no tratamento de neoplasias linfoides dependerá do desenvolvimento de estratégias mais seguras e acessíveis, bem como de uma pesquisa contínua para melhorar sua eficácia.

Palavras-chave: Células CAR-T, leucemia linfoblástica, linfoma.

Correspondence

Patrick Menezes

E-mail: patrickbioclinico@gmail.com

Received on 31/01/2024

Approved on 21/05/2024

DOI: 10.21877/2448-3877.202500164.en

INTRODUCTION

Lymphoid neoplasms arise from the malignant transformation of cells in the lymphoid tissue at various stages of their natural maturation process.⁽¹⁾ Among these neoplasms, we can highlight acute lymphoblastic leukemia (ALL), which originates from a lymphoid progenitor cell capable of differentiating into T or B lymphocytes; chronic lymphocytic leukemia (CLL), which arises from the transformation of a more mature B lymphocyte progenitor; and multiple myeloma, which involves a cell at an even later stage in B lymphocyte maturation.⁽²⁾ The World Health Organization (WHO) recognizes a variety of lymphoid neoplasms, classified according to their immunophenotypic, genetic, and clinical characteristics.^(3,4)

Neoplasms in this group exhibit not only a great morphological diversity but also a broad spectrum of clinical manifestations.⁽¹⁾ This diversity is reflected in the treatments to which these pathologies are responsive.⁽¹⁾ In cases of treatment failure or relapse after the initial treatment, stem cell transplantation is considered.⁽¹⁾ Refractory disease and relapse are two of the main challenges in the treatment of hematological neoplasms.⁽¹⁾ Several immunotherapy

modalities have shown promise in attempting to induce long-term remission in refractory or relapsed neoplasms.^(5,6)

Despite significant therapeutic advances in recent years, lymphoid neoplasms still present a poor prognosis, and therapeutic alternatives have been the focus of research and clinical trials.⁽⁵⁾ In this context, chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) therapy has shown promising results, with the FDA (U.S. Food and Drug Administration) approving five CAR-T cell-based treatments for hematological neoplasms.⁽⁵⁾ This treatment relies on the reprogramming of the patient's own cells and directing them against tumor cells.⁽⁷⁾

CAR-T cells are genetically modified immune system cells (Figure 1) designed to express a chimeric receptor specific to a surface antigen found on malignant cells.⁽⁸⁾ These chimeric receptors are engineered to specifically target and recognize tumor cells, activating a more potent and targeted immune response against the malignant cells (Figure 2).^(9,10) In the case of lymphoid neoplasms, CAR-T cells are directed towards specific antigens found on neoplastic lymphoid cells.⁽¹⁰⁾ These target antigens can vary depending on the type of lymphoid neoplasm.⁽¹¹⁾ By targeting these antigens, CAR-T cells can selectively eliminate tumor cells (Figure 3),⁽¹²⁾ sparing healthy cells of the lymphatic system.⁽¹³⁾

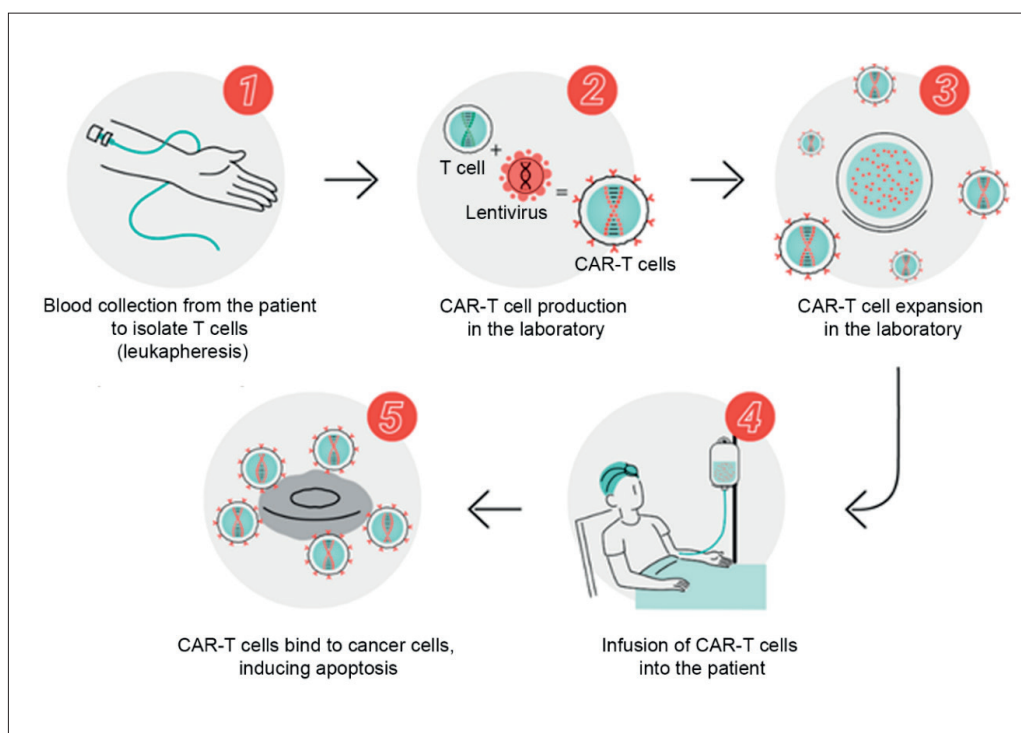


Figure 1

CAR-T cell production process.

Source: Adapted from Butantan; USP; Hemocentro de Ribeirão Preto, 2022.

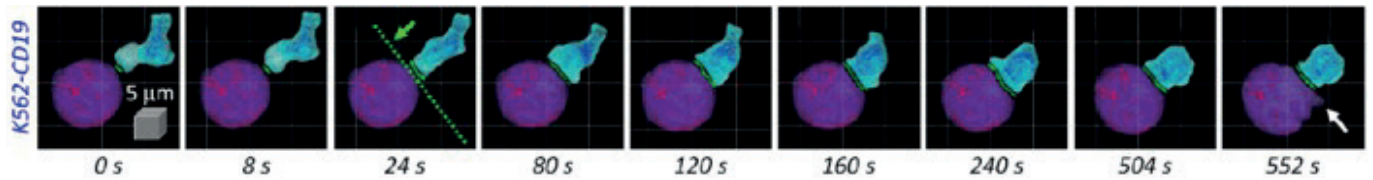


Figure 2

Mechanism of action of CAR-T cells.

Source: Lee et al., 2020.

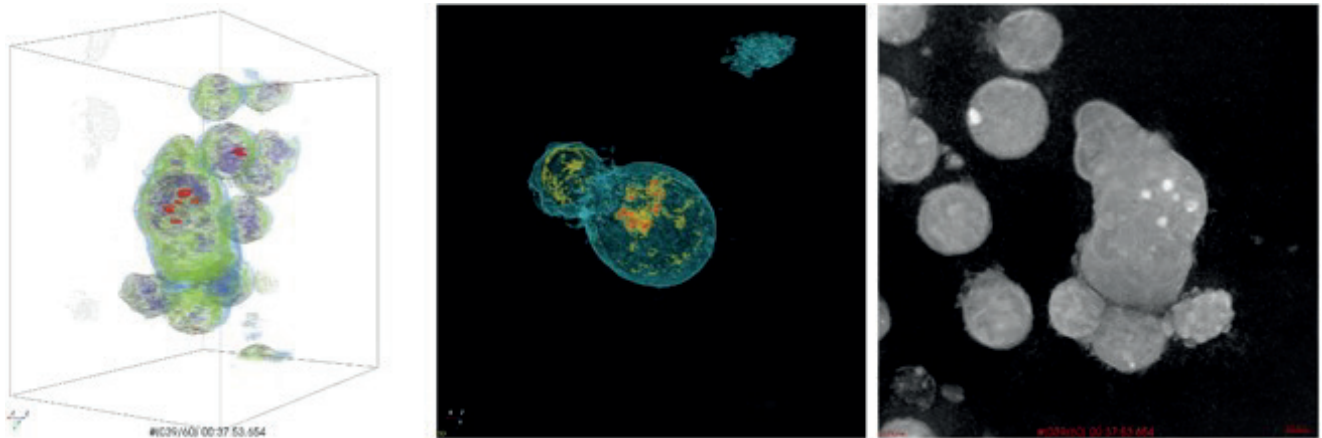


Figure 3

Visualization of holotomography, a microscopy technique that allows real-time, three-dimensional imaging of CAR-T cell behavior in response to target cells.

Source: Lee et al., 2019

The trajectory of CAR-T therapy (Figure 4), from its origins to its spread in Brazil, is a narrative of innovation and hope in cancer treatment.⁽¹⁴⁾ In this context, the objective of this review was to analyze studies related to CAR-T cells,

lymphoblastic leukemia, and lymphoma over a five-year period. The research utilized the PubMed database as a source of information to observe the state of the art.

1987	Creation of the first chimeric antigen receptor (CAR) In this year, scientists made a fundamental breakthrough by developing the first CAR, also known as the Chimeric Antigen Receptor. This CAR was incorporated into T cells, creating CAR-T cells. These modified cells began to express specific receptors, allowing them to identify and bind to tumors. This discovery sparked a revolution in cancer therapy.
1992	Use of retroviral vectors to introduce genes into T cells American immunologist Michael Sadelain, from MIT, began using retroviral vectors to introduce genes into T cells. The goal was to modify these cells to target specific tumors.
1994	Isolation of specific T cells Researchers at Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) in New York learned to isolate specific T cells for use in stem cell transplants, aiming to prevent virus-induced tumors.
1998	Introduction of the co-stimulatory molecule CD-28 Michael Sadelain's team introduced the co-stimulatory molecule CD-28 into modified T cells (CAR-T), allowing them to remain active in the body and making them more effective in fighting cancer.
2002	Construction of the first effective CAR-T cells in vitro Researchers at Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) constructed the first effective CAR-T cells, targeting specific cancer antigens. These cells demonstrated the ability to survive, multiply, and kill cancer cells in laboratory tests, validating the viability of the therapy.
2003	CAR-T cells kill leukemia cells in animals The research group at MIT demonstrated that CAR-T cells targeting CD-19 were capable of killing leukemia cells in mice.
2009	Establishment of the CAR-T cell manufacturing process The same MIT team pioneered the development of the CAR-T cell manufacturing process, engineering the cells to target CD-19 for the treatment of patients with chemotherapy-resistant and relapsed leukemia. The success of the process and the effectiveness of the cells were confirmed.
2010	First leukemia patients cured with CAR-T therapy Two patients with terminal-stage chronic lymphocytic leukemia volunteered for the first clinical trial of CAR-T therapy, conducted at the University of Pennsylvania. Both achieved complete remission and remain cancer-free to this day. CAR-T cells are still detectable in their bodies a decade later.
2012	First child with leukemia receives CAR-T therapy At the age of 7, Emily Whitehead became the first child to receive CAR-T therapy. She was hospitalized with terminal leukemia and was successfully treated by Stephan Grupp's team at the Children's Hospital of Philadelphia. The CAR-T cells saved her life, and she achieved complete remission.
2017	FDA approval of CAR-T After several successful clinical trials, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved CAR-T for the treatment of terminal cases of leukemia and lymphoma. Currently, the FDA has approved five different CAR-T therapies.
2019	First patients receive CAR-T in Brazil The Cell Therapy Center at the Hemocentro de Ribeirão Preto (CTC-USP) administered experimental CAR-T therapy to patients with blood cancers, such as lymphoma and leukemia, who had no other treatment options. Most of these patients achieved remission.
2022	Creation of the Cell Therapy Program at the Butantan Institute, USP, and Hemocentro CAR-T technology spread throughout Brazil with the establishment of new cell therapy production centers for cancer by the Butantan Institute, the Universidade de São Paulo (USP), and the Hemocentro de Ribeirão Preto. These units have the capacity to treat hundreds of patients annually, marking an important milestone in access to CAR-T therapy in the country.

Figure 4

Key milestones in the journey of CAR-T cell therapy.

Source: Adapted from Moon, 2023.⁽¹⁴⁾

MATERIALS AND METHODS

The research was conducted exclusively using scientific texts for the literature review, which relied solely on academic-scientific bibliographic sources. This approach was based on the authors' experience with the topic at a specialized onco-hematology center, which, according to the Resolution of the National Health Council (CNS) number 510 of 2016, is exempt from registration and evaluation by the CEP/Conep System. The objective was to analyze studies related to CAR-T cells, lymphoblastic leukemia, and lymphoma over a five-year period. The research utilized the PubMed database as a source of information to assess the state of the art.

For the selection of studies, inclusion criteria were established, which encompassed the availability of free full-text articles and the inclusion of clinical trials. Conversely, exclusion criteria included studies involving other types of neoplasms.

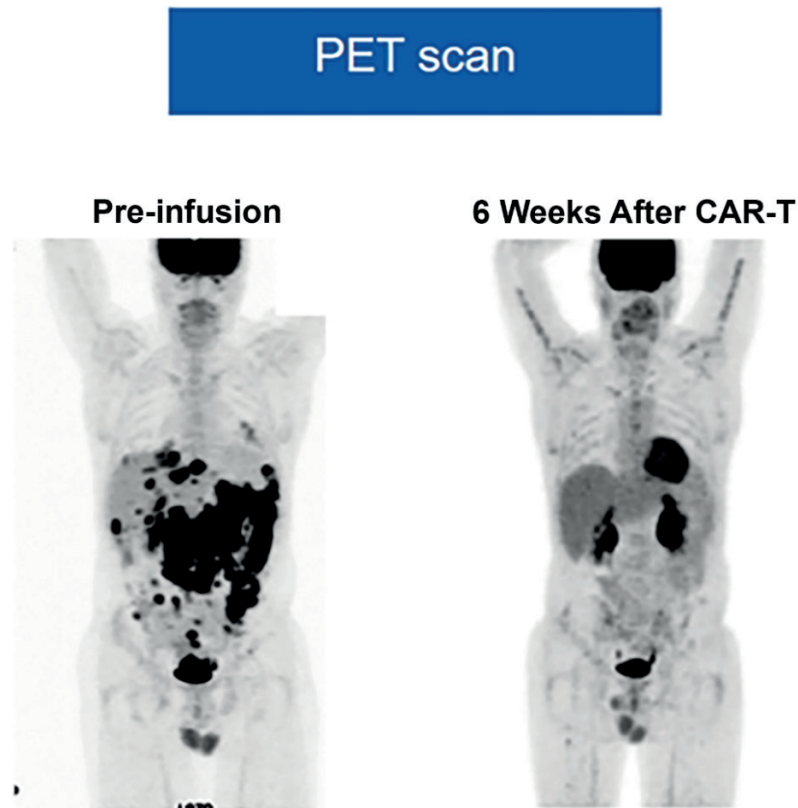
The aim of this research was to provide an updated overview of the use of CAR-T cells in the treatment of lymphoblastic leukemia and lymphoma, exploring the clinical trials available in the scientific literature over the last five years. The literature review enabled the compilation and analysis of relevant studies in the field, contributing to the understanding of advances and challenges in this area.

RESULTS

Ramos et al. (2018) detailed an extremely relevant clinical case involving a 52-year-old male patient diagnosed with diffuse large B-cell lymphoma.⁽¹⁰⁾ The patient's historical context provided important information about his treatment journey.⁽¹⁰⁾ The patient's clinical history is noteworthy due to his previous treatment.⁽¹⁰⁾ Autologous stem cell transplantation is a standard procedure that involves the

collection of the patient's own stem cells, followed by high-dose chemotherapy, and ultimately the reinfusion of the stem cells to aid in the recovery of the hematopoietic system.⁽¹⁰⁾ However, it is concerning to observe that despite this previous treatment, the patient experienced a relapse of the disease.⁽¹⁰⁾ A relapse indicates that the lymphoma reappeared after an initial period of remission, suggesting that the previous treatment was insufficient to control the disease's progression in the long term.⁽¹⁰⁾ In this context, the clinical case description suggests that CAR-T cells were considered as a treatment option following the failure of the prior treatment.⁽¹⁰⁾ This approach is noteworthy because CAR-T therapies have shown efficacy in treating certain types of lymphomas, especially when other treatments have been unsuccessful.⁽¹⁰⁾

The patient in question underwent a treatment that included CAR-T cell therapy following a lymphodepleting chemotherapy phase.⁽¹⁰⁾ Lymphodepletion is an important step prior to CAR-T cell infusion, as it helps create a more favorable environment for these modified cells to act effectively, reducing competition with the patient's immune system cells.⁽¹⁰⁾ A crucial step in evaluating the response to treatment was the performance of a second PET scan (Figure 5), which took place 6 weeks after the CAR-T cell infusion.⁽¹⁰⁾ This examination is essential for monitoring cancer spread and evaluating treatment efficacy.⁽¹⁰⁾ The results of this second PET scan were highly encouraging, indicating a complete response (CR).⁽¹⁰⁾ A complete response on a PET scan is a significant milestone in the treatment of cancer patients.⁽¹⁰⁾ This means that, according to the images obtained, no areas were identified in the body showing abnormal metabolic activity, suggesting the near-complete elimination of cancer cells.⁽¹⁰⁾ This is a remarkable achievement, indicating that the CAR-T cell treatment had an extremely positive impact on the control and regression of diffuse large B-cell lymphoma.⁽¹⁰⁾

**Figure 5**

PET scan visualization before CAR-T infusion and 6 weeks post-infusion, showing a complete response.

Source: Adapted from Ramos et al., 2018.

Ramos et al. (2018) also present a clinical case involving a 67-year-old male patient diagnosed with diffuse large B-cell lymphoma.⁽¹⁰⁾ The patient's history is notable for his complex treatment journey.⁽¹⁰⁾ After failing to proceed to stem cell transplantation despite undergoing two rescue regimens, the patient was subjected to a protocol involving lymphodepletion followed by CAR-T cell infusion.⁽¹⁰⁾ However, the patient's progress after CAR-T cell therapy was marked by notable complications.⁽¹⁰⁾ Ten days after the CAR-T cell infusion, he developed fever and tachypnea, which led to his hospitalization.⁽¹⁰⁾ The occurrence of these symptoms is concerning, as it may suggest an adverse reaction to the treatment or the presence of complications associated with CAR-T therapy.⁽¹⁰⁾ Analyzing the patient's inflammatory markers, including C-reactive protein (CRP), which peaked at 12.2 mg/dL on day 11, and interleukin 6, which increased from 6.3 pg/mL at the beginning of the study to a peak of 91.2 pg/mL on day 11, revealed an elevation.⁽¹⁰⁾ These results

indicate that the patient was experiencing mild cytokine release syndrome (CRS).⁽¹⁰⁾

Abdo et al. (2020) presented Kaplan-Meier graphs used to compare and analyze the outcomes of two patient groups treated with different therapeutic approaches related to CAR-T cells.⁽¹⁵⁾ A notable aspect of this study was that the patients were divided into two distinct groups: one that received newly modified CAR-T cells using the point-of-care approach, and another that received CAR-T cells that were expanded for 8 days and cultured according to the traditional protocol.⁽¹⁵⁾

DISCUSSION

The imaging study conducted 6 weeks after the infusion of CAR-T cells is an essential step in monitoring patients undergoing this treatment,⁽¹⁰⁾ typically carried out through a PET scan or positron emission tomography.⁽¹⁰⁾ The PET scan is a highly sensitive tool that allows the detection of areas in

the body that remain metabolically active.⁽¹⁰⁾ This metabolic activity may indicate the presence of residual cancerous cells, which is crucial for evaluating the effectiveness of CAR-T cell therapy.⁽¹⁰⁾ The interpretation of the PET scan results is fundamental in categorizing the disease's progression and determining the treatment response.⁽¹⁰⁾ The established criteria—complete response, partial response, progressive disease, and stable disease—serve as an objective basis for assessing treatment efficacy.⁽¹⁰⁾ A complete response indicates the total elimination of cancerous cells, while a partial response suggests a significant reduction in the tumor.⁽¹⁰⁾ In contrast, progressive disease indicates that the patient's condition is worsening, and stable disease suggests no significant changes in the disease.⁽¹⁰⁾ The combination of advanced imaging technology, such as the PET scan, and well-defined response criteria allows for a precise and objective assessment of the effectiveness of CAR-T cell therapy.⁽¹⁰⁾ This, in turn, aids in making important clinical decisions and adapting treatment to meet each patient's specific needs, thereby improving outcomes.⁽¹⁰⁾

The combination of chemotherapy-induced lymphodepletion followed by CAR-T infusion, along with cytotoxicity assays using CRP and interleukin 6 (IL-6), represents a comprehensive and integrated approach for the treatment and evaluation of efficacy in patients undergoing CAR-T therapy.⁽¹⁶⁾ The inclusion of these biological markers, CRP and IL-6, in clinical trials may be significant for several important reasons.⁽¹⁶⁾ First, CRP is a protein produced in response to inflammation in the body.⁽¹⁶⁾ When CRP levels increase after CAR-T infusion, this may indicate an inflammatory response to the destruction of cancer cells by CAR-T cells.⁽¹⁶⁾ This information is valuable as it can help monitor and understand the patient's immune responses to the treatment.⁽¹⁶⁾ A sharp increase in CRP levels may suggest a robust immune response, which could be desirable in certain therapeutic contexts, while moderate or stable levels may indicate a more controlled response.⁽¹⁶⁾ Secondly, interleukin 6 (IL-6) is a cytokine that plays a fundamental role in regulating the immune response and modulating inflammation.⁽¹⁶⁾ Measuring IL-6 levels can provide important insights into how the immune system is being activated or modulated by CAR-T cells.⁽¹⁶⁾ This is essential for understanding not only the treatment's effectiveness but also the potential side effects and complications associated with CAR-T therapy.⁽¹⁶⁾ Proper control of the inflammatory and immune response is crucial for the safety and well-being of patients.⁽¹⁶⁾ Therefore, the inclusion of CRP and IL-6 in clinical

trials related to CAR-T therapy provides a detailed view of the body's response to the treatment.⁽¹⁶⁾ These markers can help healthcare professionals adjust and personalize therapy according to each patient's individual needs, maximizing therapeutic benefits and minimizing potential risks.⁽¹⁶⁾ Furthermore, this integrated approach contributes to the advancement of scientific knowledge in the field and the continuous improvement of CAR-T therapy as an effective treatment option for cancer patients.⁽¹⁰⁾

A common approach in preclinical research to assess the efficacy and safety of CAR-T therapy involves the use of immunodeficient mouse models that have been previously engrafted with different types of B-cell leukemia.⁽¹⁵⁾ The genetic modification process used in these studies is mediated by a transposon known as "Sleeping Beauty," and a notable aspect is the application of the point-of-care technique, which refers to a rapid and localized process carried out in the laboratory itself, without the need to send samples or experiments to distant facilities.⁽¹⁵⁾

The PET scan examination is an essential tool in the pre-infusion stage for mapping cancer spread and identifying areas of tumor activity.⁽¹⁰⁾ It is an exam that uses a radioactive substance called a radiopharmaceutical to visualize the body's cells that consume more glucose, such as cancer cells.⁽¹⁰⁾ Achieving a complete response on the PET scan after CAR-T cell treatment is a highly positive outcome and indicates the treatment's efficacy.⁽¹⁰⁾ When we refer to a complete response, we mean that there is no visible evidence of tumor activity in any part of the body that has been evaluated.⁽¹⁰⁾ This means that all previous tumor lesions, which were detectable on the pre-treatment PET scan, are no longer present or show no metabolic activity, which is an encouraging sign that the treatment is succeeding.⁽¹⁰⁾

Comparing the results of a PET scan performed 6 weeks after CAR-T infusion with a previous study conducted 6 months post-infusion allowed us to evaluate two distinct phases of treatment and provide valuable insights into the patient's progress.⁽¹⁷⁾ The 6-week scan assesses the initial response and acute efficacy of the treatment.⁽¹⁷⁾ At this point, it shows how the CAR-T cells are responding immediately to the cancer.⁽¹⁷⁾ It is a critical window to identify any early signs of success or challenges in the treatment.⁽¹⁷⁾ Conversely, the 6-month post-infusion study focuses on the stability of the complete response and long-term remission observation.⁽¹⁷⁾ This is crucial for determining whether CAR-T therapy is maintaining its efficacy over time and whether the patient is experiencing a durable

remission.⁽¹⁷⁾ Both time points are essential for monitoring the patient's progress after CAR-T therapy, providing a view from the immediate response to the long-term scenario.⁽¹⁷⁾

Therefore, in the PET scan conducted 6 weeks after the infusion of CAR-T cells, the initial efficacy is essential to assess the early response to treatment.⁽¹⁷⁾ During the evaluation of the acute response, it is possible to observe the elimination of most target cells, leading to a significant reduction in tumor metabolic activity.⁽¹⁷⁾ The initial complete response indicates that the treatment was effective, but it is important to emphasize that long-term follow-up is still necessary to ensure the durability of this response and to monitor for potential recurrences.⁽¹⁷⁾

However, 6 months after the infusion of CAR-T cells, evaluating the long-term response becomes crucial. This assessment aims to determine the stability of the complete response over time.⁽¹⁷⁾ When remission consolidation is observed, it means that the initial response persists and is

maintained, indicating a complete remission over time.⁽¹⁷⁾ It is important to highlight that a favorable prognosis is associated with a sustained complete response.⁽¹⁷⁾ This means that if the response persists, there is an optimistic outlook regarding the treatment outcome, with a significant reduction in the risk of relapse, providing greater hope and quality of life for the patient.⁽¹⁷⁾

Feng et al. (2020) observed that the intense activation of CAR-T cells after infusion can trigger the release of pro-inflammatory cytokines (Figure 6) into the bloodstream.⁽¹⁶⁾ This, in turn, can lead to the occurrence of cytokine release syndrome, which typically manifests in the first days following CAR-T cell infusion.⁽¹⁶⁾ This syndrome involves the rapid release of cytokines, such as interleukin 6, and can be monitored through levels of CRP, which plays a crucial role in evaluating the immune and inflammatory response.⁽¹⁶⁾ Therefore, it is important to closely monitor these markers to manage the potential side effects of CAR-T cell therapy.⁽¹⁶⁾

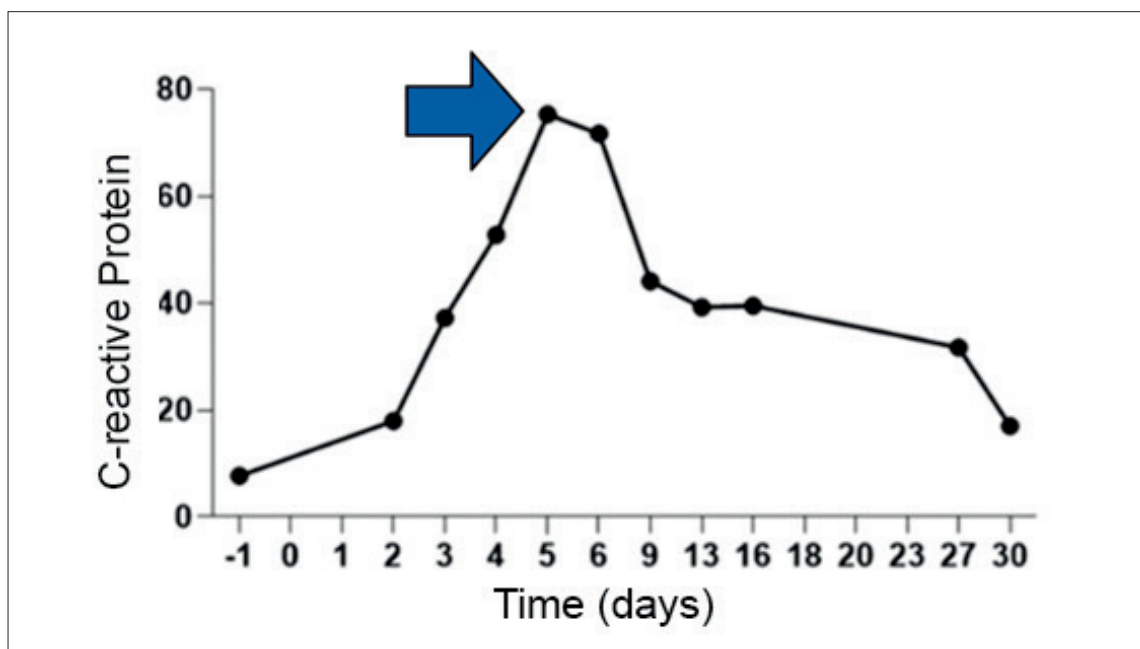


Figure 6

Measurement of C-reactive protein, showing mild cytokine release syndrome toxicity of grade I after CAR-T cell therapy.

Source: Adapted from Feng et al., 2020.

CONCLUSIONS

Based on the information and data presented, it is concluded that the studies and clinical trials conducted in this literature review demonstrate that CAR-T cell therapy has the potential to provide long-lasting remission in patients with lymphoid neoplasms, and that the management of side effects is a crucial aspect of the treatment.^(18,19)

The assessment of response with PET scan before and after CAR-T cell infusion is essential for evaluating cancer spread and treatment efficacy.⁽²⁰⁾ A complete response on PET scan indicates an effective treatment and is a positive milestone in patient monitoring.⁽²¹⁾ Comparing PET scan results performed at different time points after CAR-T cell infusion is crucial.⁽²²⁾ The PET scan performed 6 weeks after the infusion evaluates the initial response and acute efficacy of the treatment, while a PET scan performed 6 months after the infusion examines the stability of the complete response and long-term prognosis.^(23,24)

Cytokine release syndrome is a potential side effect of CAR-T cell therapy, which is associated with elevated levels of pro-inflammatory cytokines, such as interleukin 6, and C-reactive protein.⁽²⁵⁾ Monitoring these markers is important for the identification and management of cytokine release syndrome.⁽²⁶⁾

In summary, the studies presented highlight the importance of careful evaluation of the response to CAR-T cell therapy, the challenges associated with cytokine release syndrome, and the viability of point-of-care as a more accessible and effective approach.⁽²⁷⁾ These advancements have the potential to significantly improve the treatment of cancer patients, providing better outcomes and accessibility.⁽²⁸⁾

REFERENCES

- Okikiolu J & McNamara C. (2015). Lymphoid neoplasms. *Hematology* (Amsterdam, Netherlands), 20(3), 182–183. Available at: <https://doi.org/10.1179/1024533215z.000000000351>
- Hanel W, Shindiapina P, Bond DA, Sawalha Y, Epperla N, Voorhees T, Welkie RL, et al. (2023). A phase 2 trial of ibrutinib and nivolumab in patients with relapsed or refractory classical Hodgkin's lymphoma. *Cancers*, 15(5), 1437. <https://doi.org/10.3390/cancers15051437>
- Morton LM, Turner JJ, Cerhan JR, Linet MS, Treseler PA, Clarke CA, Jack A, et al. (2007). Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). *Blood*, 110(2), 695–708. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2006-11-051672>
- Duffield AS, Mullighan CG & Borowitz MJ (2023). International Consensus Classification of acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology*, 482(1), 11–26. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00428-022-03448-8>
- Pasqui DM, Latorraca CdOC, Pacheco RL & Riera R (2022). CAR-T cell therapy for patients with hematological malignancies. A systematic review. *European Journal of Haematology*, 109(6), 601–618. Available at: <https://doi.org/10.1111/ejh.13851>
- Tang L, Huang Z, Mei H & Hu Y (2023). Immunotherapy in hematologic malignancies: achievements, challenges and future prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 1–39. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01521-5>
- Haslauer T, Greil R, Zaborsky N & Geisberger R (2021). CART-cell therapy in hematological malignancies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8996. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22168996>
- Butantan; USP; Hemocentro de Ribeirão Preto. Terapia contra o câncer com células CAR-T. Butantan, 2022. Available at: <https://terapiacelular.butantan.gov.br/>
- Lee M, Lee Y-H, Song J, Kim G, Jo Y, Min H, Kim CH & Park Y (2020). Deep-learning-based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of CAR-T cells. *eLife*, 9. Available at: <https://doi.org/10.7554/elife.49023>
- Ramos CA, Rouce R, Robertson CS, Reyna A, Narala N, Vyas G, Mehta B, et al. (2018). In vivo fate and activity of second- versus third-generation CD19-specific CAR-T cells in B cell non-Hodgkin's lymphomas. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 26(12), 2727–2737. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.09.009>
- Gong W-J, Qiu Y, Li M-H, Chen L-Y, Li Y-Y, Yu J-Q, Kang L-Q, et al. (2022). Investigation of the risk factors to predict cytokine release syndrome in relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia patients receiving IL-6 knocking down anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Frontiers in immunology*, 13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.922212>
- Lee M, Lee Y-H, Song J, Kim G, Jo Y, Min H, Kim CH & Park Y (2019). Deep-learning based three-dimensional label-free tracking and analysis of immunological synapses of chimeric antigen receptor T cells. *Em bioRxiv* (p. 539858). Available at: <https://doi.org/10.1101/539858>
- Zhao L & Cao YJ (2019). Engineered T cell therapy for cancer in the clinic. *Frontiers in Immunology*, 10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02250>
- Moon P. A história da terapia CAR-T: 60 anos de evolução e pioneirismo em direção à cura do câncer. Butantan, 2023. Available at: <https://butantan.gov.br/noticias/a-historia-da-terapia-car-t-60-anos-de-evolucao-e-pioneirismo-em-direcao-a-cura-do-cancer>
- de Macedo Abdo L, Barros LRC, Saldanha Viegas M, Vieira Codeço Marques L, de Sousa Ferreira P, Chicaybam L & Bonamino MH (2020). Development of CAR-T cell therapy for B-ALL using a point-of-care approach. *Oncoimmunology*, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1080/2162402x.2020.1752592>
- Feng J, Xu H, Cinquina A, Wu Z, Chen Q, Zhang P, Wang X, et al. (2021). Treatment of aggressive T cell lymphoblastic lymphoma/leukemia using anti-CD5 CAR T cells. *Stem Cell Reviews and Reports*, 17(2), 652–661. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10092-9>
- Spiegel JY, Patel S, Muffly L, Hossain NM, Oak J, Baird JH, Frank MJ, et al. (2021). CAR T cells with dual targeting of CD19 and CD22 in adult patients with recurrent or refractory B cell malignancies: a phase 1 trial. *Nature Medicine*, 27(8), 1419–1431. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01436-0>
- Tudor T, Binder ZA & O'Rourke DM (2021). CAR T cells. *Neurosurgery Clinics of North America*, 32(2), 249–263. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nec.2020.12.005>
- Jin Z, MacPherson K, Liu Z & Vu LP (2023). RNA modifications in hematological malignancies. *International Journal of Hematology*, 117(6), 807–820. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12185-023-03576-0>
- Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, Advani R, et al. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, 127(20), 2375–2390. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>

21. Jia J, Wang X, Song Z, Meng S, Fei Y, Yu J, Liu X, et al. (2024). A retrospective analysis of mature T- and NK-cell lymphomas. *Cancer biology & medicine*, 21(3), 223-229. Available at: <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0464>
22. Ferrand C & Rambaldi A (2022). Myeloid Malignancies. Em *The EBMT/ EHA CAR-T Cell Handbook* (p. 97-103). Springer International Publishing. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-94353-0_18#DOI
23. Barros LRC, Couto SCF, da Silva Santurio D, Paixão EA, Cardoso F, da Silva VJ, Klinger P, et al. (2022). Systematic review of available CAR-T cell trials around the world. *Cancers*, 14(11), 2667. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14112667>
24. Lima MFde, Lisboa MdeO, Terceiro LEL, Rangel-Pozzo A & Mai S (2022). Chromosome territories in hematological malignancies. *Cells (Basel, Switzerland)*, 11(8), 1368. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells11081368>
25. Brudno JN & Kochenderfer JN (2019). Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood Reviews*, 34, 45-55. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.11.002>
26. Qi Y, Zhao M, Hu Y, Wang Y, Li P, Cao J, Shi M., et al. (2022). Efficacy and safety of CD19-specific CAR T cell-based therapy in B-cell acute lymphoblastic leukemia patients with CNSL. *Blood*, 139(23), 3376-3386. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood.2021013733>
27. Meng Y, Deng B, Rong L, Li C, Song W, Ling Z, Xu J, et al. (2021). Short-interval sequential CAR-T cell infusion may enhance prior CAR-T cell expansion to augment anti-lymphoma response in B-NHL. *Frontiers in oncology*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.640166>
28. Polyatskin IL, Artemyeva AS & Krivolapov YA (2019). Revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2017 (4th edition): lymphoid tumors. *Arkiv Patologii*, 81(3), 59. Available at: <https://doi.org/10.17116/patol20198103159>

Atividade antibacteriana dos canabinoides sobre a bactéria causadora da tuberculose: uma revisão sistemática

Antibacterial activity of cannabinoids on the bacteria that cause tuberculosis: a systematic review

Gisele Aparecida Soares Cunha de Souza¹, Rubia Laine de Paula Andrade², Giordano Novak Rossi³, Rafael Guimarães dos Santos⁴, Jaime E. C. Hallak⁴, Nathalia Halax Orfão⁵

¹ Curso de Medicina, Núcleo de Saúde, Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, RO, Brasil.

² Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³ Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

⁴ Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brasil. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Medicina Translacional. Ribeirão Preto, SP, Brasil.

⁵ Departamento de Medicina, Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, RO, Brasil.

Resumo

Objetivo: Identificar a existência de atividade antibacteriana dos canabinoides sobre *Mycobacterium tuberculosis*. **Métodos:** A partir da pergunta norteadora "Os canabinoides têm atividade antibacteriana sobre a *Mycobacterium tuberculosis*?", realizamos uma revisão sistemática para investigar o tema. Consideraram-se estudos experimentais, pré-clínicos e clínicos que avaliaram os efeitos de fitocannabinoides ou canabinoides sintéticos em *M. tuberculosis*, tendo sido excluídas investigações com endocannabinoides. A seleção dos estudos foi feita por dois revisores independentes, e os artigos selecionados foram submetidos a uma avaliação de qualidade. **Resultados:** Foram encontradas 486 publicações, das quais duas foram incluídas nesta revisão: um estudo pré-clínico *in vitro* e um estudo pré-clínico em animais. Os dois estudos identificaram atividade antibacteriana do canabidiol (CBD) para a *M. tuberculosis* em diferentes concentrações. **Conclusão:** Verificamos evidências preliminares de ação antimicrobiana do CBD sobre *M. tuberculosis*. Apesar dos resultados promissores, ainda são necessárias mais investigações sobre o assunto para se verificar uma possível aplicação terapêutica e os possíveis efeitos de outros canabinoides.

Palavras-chave: Canabinoides, Canabidiol, Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, Antibacteriano.

Abstract

Objective: Identify any antibacterial activity of cannabinoids against *Mycobacterium tuberculosis*. **Methods:** Based on the guiding question "Do cannabinoids have antibacterial activity against *M. tuberculosis*?", we carried out a systematic review to investigate the topic. We searched for experimental, pre-clinical and clinical studies that evaluated the effects of phytocannabinoids or synthetic cannabinoids on *M. tuberculosis*. Studies that addressed the effects of endocannabinoids were excluded. Two independent reviewers carried out the studies selection, which after inclusion were subjected to a quality assessment. **Results:** 486 publications were found, of which two were included in this review: a pre-clinical *in vitro* study and a pre-clinical study with animals. Both studies identified an antibacterial activity of cannabidiol (CBD) against *M. tuberculosis* at different concentrations. **Conclusion:** We found preliminary evidence of the antimicrobial action of CBD on *M. tuberculosis*. Despite the promising results, further investigations on the subject are still warranted to verify a possible therapeutic application and the possible effects of other cannabinoids.

Keywords: Cannabinoids, Cannabidiol, Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Antibacterial.

Correspondência

Gisele Aparecida Soares Cunha de Souza

E-mail: gisele.souza.unir@gmail.com

Recebido em 22/11/2023

Aprovado em 23/11/2023

DOI: 10.21877/2448-3877.202300154.pt

INTRODUÇÃO

Os estudos do potencial farmacêutico dos princípios ativos da *Cannabis*, descritos mais de 100 atualmente, têm aumentado após a descoberta do sistema endocanabinoide e dos receptores endógenos CB1 e CB2 que, quando ativados, interferem em diversas vias de sinalização, ocasionando diferentes efeitos nos tecidos e órgãos.⁽¹⁾

Os canabinoides se envolvem em processos fisiopatológicos (dor e inflamação), podendo atuar nos sistemas gastrointestinal (modificando a mobilidade e secreção, utilizados como antieméticos⁽²⁾), cardíaco (diminuindo a contração atrial e provocando hipotensão por meio da ativação dos receptores canabinoides⁽³⁾), pulmonar (com efeito anti-inflamatório mediado por vias metabólicas dos endocanabinoides⁽⁴⁾), dentre outros.

Estudos mostram que os receptores CB1 e CB2 estão presentes nos pulmões e brônquios, respondendo a endocanabinoides, canabinoides sintéticos e fitocanabinoides.⁽⁵⁾ O tetra-hidrocanabinol (THC), por exemplo, pode ativar esses receptores, enquanto o canabidiol (CBD) e o canabinol (CBN) modulam funções celulares.⁽⁴⁾ A exposição de tecido pulmonar ao endocanabinoide anandamida, por exemplo, causa vasoconstrição pulmonar hipóxica,⁽⁶⁾ enquanto os canabinoides sintéticos induzem a inflamação pulmonar.⁽⁷⁾

A infecção dos pulmões pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* é controlada com eficácia na maioria dos indivíduos por causa da resposta imunológica dos macrófagos, células dendríticas e fibroblastos, formando um granuloma e impedindo a progressão da infecção para a doença tuberculosa, denominada infecção latente.⁽⁸⁾

Um estudo mostrou que a formação do granuloma e a contenção da doença é dependente da migração precoce dos macrófagos alveolares para o interstício induzido pela interleucina 1 (IL-1R), o que define se a resposta imunológica será Th1 ou Th17 (mais rápida ou lenta, respectivamente), determinando a gravidade da doença.⁽⁹⁾ Os metabólitos de COX-2 de endocanabinoides regulam as funções dos macrófagos alveolares que possuem tanto os receptores CB1 como os CB2 nas membranas.^(4,10,11)

Os impactos dos (endo)canabinoides ao ativarem esses receptores no pulmão ainda são pouco claros. Entretanto,

um estudo mostra que a ativação dos receptores canabinoides dos macrófagos alveolares inibe a liberação de fatores angiogênicos e linfogênicos de forma seletiva, o que pode auxiliar na remodelação vascular durante inflamação crônica.⁽¹⁰⁾ Outro estudo, por sua vez, mostrou que o CBD melhora a função pulmonar e diminui a inflamação em um modelo com camundongos.⁽¹²⁾

Frente ao exposto, esse estudo teve como objetivo identificar a existência da atividade antibacteriana dos canabinoides sobre *M. tuberculosis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura científica com registro no International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews (PROSPERO) sob o nº CRD42021253894, seguindo as orientações preconizadas pelo Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses (PRISMA).⁽¹³⁾

A pergunta norteadora “Os canabinoides têm atividade antibacteriana para a *Mycobacterium tuberculosis*?” foi definida por meio da utilização do acrônimo PEO,⁽¹⁴⁾ no qual P (População) correspondeu à *Mycobacterium tuberculosis*, E (Exposição), aos canabinoides, e O (Outcome - Desfecho) relacionou-se à atividade antibacteriana.

Considerou-se como critérios de inclusão estudos experimentais, pré-clínicos e clínicos que avaliaram os efeitos de fitocanabinoides ou canabinoides sintéticos sobre a *Mycobacterium tuberculosis*. Foram excluídos artigos que abordavam os efeitos de endocanabinoides bem como aqueles que avaliaram o risco de adquirir tuberculose com a utilização recreativa de canabinoides. Ressalta-se que para alcançar um maior número de publicações sobre o tema, não foi estabelecido nenhum recorte temporal, país/continente ou idioma de publicação para o levantamento bibliográfico.

Para a expressão de busca, utilizou-se o vocabulário livre e controlado, composto pelos termos indexados nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), Medical Subject Headings (MeSH) e Embase Subject Headings (Emtree), com seus respectivos sinônimos em português, inglês e espanhol, combinados por meio dos operadores booleanos OR e AND (Quadro 1).

Quadro 1

Estratégia de busca simplificada em inglês utilizadas nas bases de dados.

Acrônimo	Palavra-chave	Vocabulário para busca
População	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	"Mycobacterium tuberculosis"
Exposição	Canabinoides	(Cannabis OR Bhang OR Bhangs OR Cannabi OR "Cannabis indica" OR "Cannabis indicas" OR "Cannabis sativa" OR "Cannabis sativas" OR Ganja OR Ganjas OR Hashish OR Hashishs OR Hemp OR "Hemp Plant" OR "Hemp Plants" OR Hamps OR "indicas, Cannabis" OR Marihuana OR Marihuanas OR Marijuana OR Marijuanas OR "Plant, Hemp" OR "Plants, Hemp" OR "sativas, Cannabis" OR Cannabinoids OR phytocannabinoids OR Canabidiol OR cannabidiol OR Drabinol OR THC OR Tetra-Hidrocanabinol OR Tetraidrocanabinol OR Canabigerol OR canabicromeno OR canabiciol OR canabielsoin OR canabinol OR canabinodiol OR canabitol OR "Medical Marijuana" OR "Marijuana, Medical" OR "Medical Cannabis" OR "Cannabis, Medical" OR "Marijuana Treatment" OR "Treatment, Marijuana" OR "Medical Cannabis" OR "Cannabis, Medical" OR "Marijuana Dispensaries" OR "Dispensaries Marijuana")
Outcome*	Atividade antibacteriana	("Antibacterial Agents" OR "Antimycobacterial Agents" OR "Anti-Bacterial Compounds" OR "Bacteriocidal Agents" OR Bactericide OR "Bacteriostatic" OR "antitubercular Agents" OR "Anti-Tuberculosis Agent" OR "Tuberculostatic Agent" OR "Antitubercular Antibiotics")

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

As buscas foram realizadas em 22 agosto de 2022, nas bases de dados LILACS, PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science, PsycINFO, BioMed Central Journals da BMC, Cochrane Library, Epistemonikos, Health Systems Evidence e Center for Review Dissemination. Na LILACS, a busca foi feita nos idiomas inglês, português e espanhol. Nas demais bases de dados, utilizou-se o vocabulário em inglês. Ademais, a literatura cinzenta foi limitada a bancos de dados de registro de protocolo de estudo recomendados nas Diretrizes Metodológicas do Ministério da Saúde,⁽¹⁵⁾ como o Clinical Trials e os bancos de dados de literatura cinzenta Open Grey, Grey Literature Report, Repositório Científico de Acesso Aberto de Portugal (RCAAP), Banco Digital Brasileiro de teses e Dissertações (BDTD), e Google Scholar. Também foi realizada busca manual por meio da verificação das referências citadas nos artigos incluídos.

Posteriormente, as publicações foram exportadas para o gerenciador de referências online Rayyan QCRI da Qatar Computing Research Institute⁽¹⁶⁾ para seleção dos estudos. Essa seleção foi feita por meio da leitura e análise de títulos e resumos por dois revisores independentes, cujas discordâncias foram resolvidas por um terceiro revisor.

Os artigos selecionados seguiram para a etapa de leitura na íntegra e a confirmação da elegibilidade ocorreu com os artigos que apresentavam a descrição dos efeitos antibacterianos dos canabinoides na tuberculose. Posteriormente,

para a extração e análise dos dados, foi elaborada uma matriz de síntese com autor, ano, objetivo e delineamento do estudo, além dos principais resultados, qualidade do artigo, qualidade metodológica e relevância. Incluiu-se, ainda, a avaliação do risco de viés, a qual foi realizada por meio do instrumento ROBIS⁽¹⁷⁾ que avalia três domínios, a saber: pré intervenção (confusão, seleção dos participantes do estudo), no momento da intervenção (viés na classificação da intervenção), e pós intervenção (desvio da intervenção pretendida, dados faltantes, mensuração do desfecho, relato seletivo de resultados).

RESULTADOS

Foram encontradas 486 publicações, das quais 379 foram identificadas nas bases de dados, 104 na literatura cinzenta e 3 por meio da busca manual. Dentre estas, 15 publicações foram excluídas por duplicação e 471 foram consideradas para a leitura do título e resumo, sendo que 11 estudos foram selecionados para leitura na íntegra. Desses 11, foram excluídos 5 por serem estudos secundários, 3 por não abordarem o uso de canabinoides (Hops, Polygonatum officinale e rimonabant), e 1 por não responder à pergunta norteadora. Dessa forma, 2 artigos foram considerados elegíveis para nossa revisão. A Figura 1 demonstra o processo de seleção e inclusão e exclusão dos artigos.

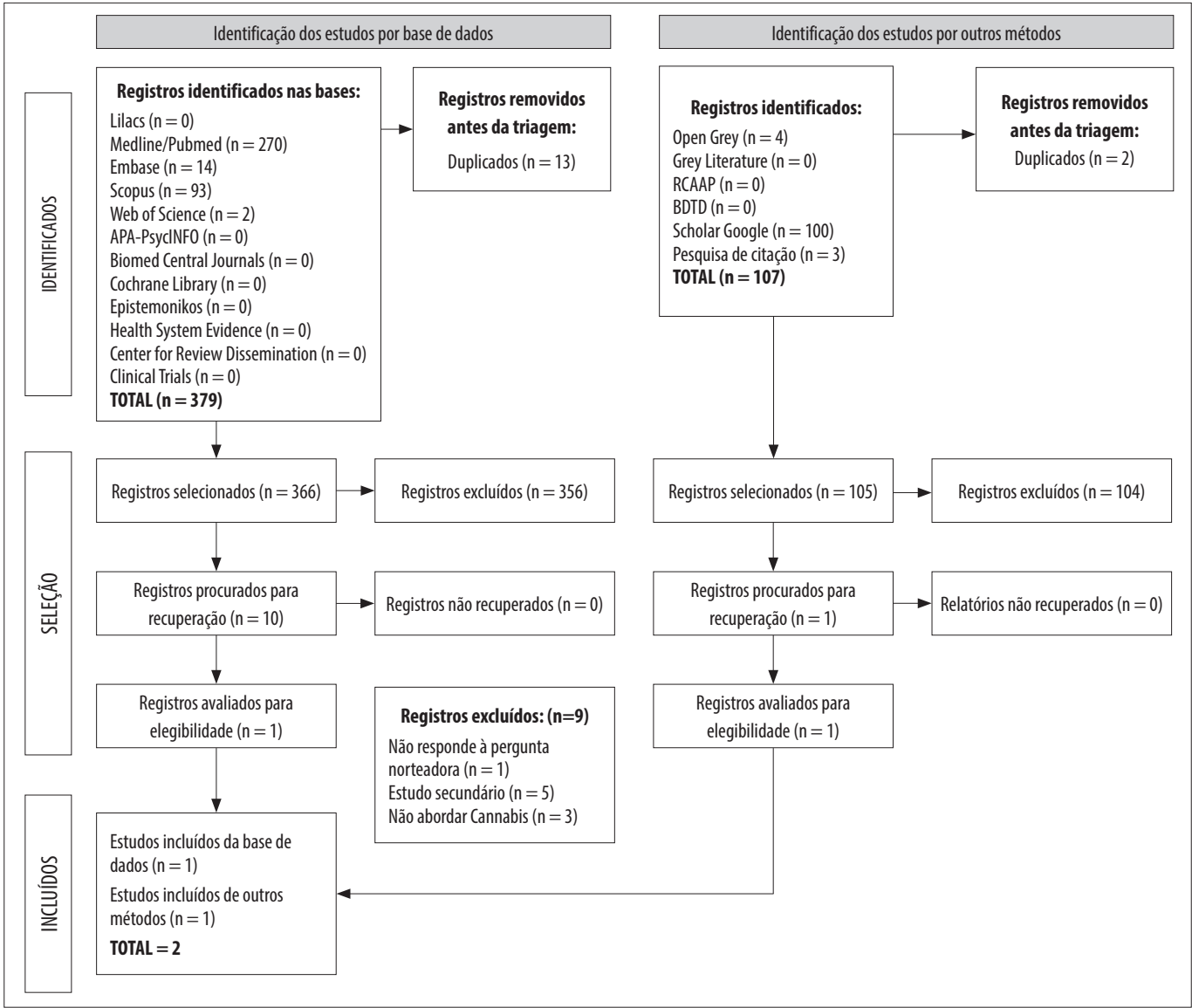


Figura 1
Fluxograma dos artigos incluídos nesta revisão sistemática, 2022.

Fonte: Modificado de Page et al. (2020)⁽¹³⁾

Na presente revisão, foram incluídos um estudo pré-clínico *in vitro*⁽¹⁸⁾ e um estudo pré-clínico feito com animais.⁽¹⁹⁾ Identificou-se atividade antibacteriana do CBD nos dois estudos, apesar de essa ter sido menos evidente no estudo por Blaskovich et al. (2021).⁽¹⁹⁾ Os resultados com mais detalhes estão apresentados no Quadro 2.

Quando se verificou a qualidade dos artigos, Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ foram avaliados com nota final de 58,7%,

pois não citaram a pureza e solubilidade do teste, o número de passagem celular, as medidas tomadas para evitar a contaminação pelo micoplasma, bactéria, fungo e vírus, a densidade celular, os métodos estatísticos, os *softwares* utilizados, as fontes de financiamento e conflito de interesses. O artigo por Blaskovich et al. (2021)⁽¹⁹⁾ recebeu nota final de 91,9%, por não citarem a solubilidade do teste e a competência metabólica.

Quadro 2

Síntese dos resultados dos artigos incluídos nesta revisão sistemática.

Autor/ ano	Objetivo do estudo	Delineamento do estudo	Principais resultados	Qualidade do artigo	Qualidade metodológica	Relevância
Abichabki et al., 2021 ⁽¹⁸⁾	Avaliar a atividade antibacteriana do canabidiol ultrapuro (CBD) contra uma ampla diversidade de bactérias Gram-negativas (GN) e Gram-positivas (GP) (44 espécies diferentes, 95 cepas), compreendendo cepas padrão e clínicas isoladas, e investigar a atividade antibacteriana da combinação CBD + PB contra bactérias GN, incluindo GNB cromossômico e adquirido por plasmídeo resistente a PB e intrinsecamente resistente a PB.	In vitro	O CBD exibiu atividade antibacteriana contra diferentes espécies de bactérias, dentre elas a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , causadora da TB, numa concentração inibitória mínima de CBB para <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv (MIC = $9,37 \pm 1,88 \mu\text{g} / \text{mL}$) 117 e MDR <i>M. tuberculosis</i> CF86 (MIC = $18,78 \pm 5,95 \mu\text{g} / \text{mL}$), a qual deve ser inserida em ensaios clínicos com eficácia promissora.	58,7	100	Diretamente relevante
Blaskovich M. A. T., et. al, 2021 ⁽¹⁹⁾	Verificar a atividade antimicrobiana do CBD em diferentes bactérias Gram positivas/ negativas	In vivo	O CBD apresentou atividade discreta contra <i>M. tuberculosis</i> H37Rv (MIC > $64 \mu\text{g} \text{ mL}^{-1}$, embora com inibição de 70% a $64 \mu\text{g} \text{ mL}^{-1}$)	91,9	100	Diretamente relevante

DISCUSSÃO

Apesar da ampla busca realizada na literatura, foram identificados apenas dois estudos que abordavam o efeito dos canabinoides como agente antimicrobiano para a *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose. Frente a este achado, cabe destacar a necessidade de mais estudos clínicos e pré-clínicos que investiguem tal efeito, principalmente ao considerar que um dos referidos artigos⁽¹⁸⁾ apresentou baixo percentual de aprovação em relação à sua qualidade.

Quanto aos resultados dos dois estudos, houve diferença na concentração inibitória mínima (CIM) de CBD para que fosse observado o efeito antimicrobiano para cepa *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, sendo o estudo Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ menor que o Blaskovich et al. (2021)⁽¹⁹⁾ ($9,37 \mu\text{g} / \text{mL}$ e $<64 \mu\text{g} / \text{mL}$, respectivamente). Esta diferença pode estar relacionada ao método de estudo, uma vez que o primeiro foi *in vitro* e no segundo realizou-se a infecção do tecido de porco e tratamento posterior com CBD.

Ademais, houve diferença entre o tempo de incubação e adição de outros componentes: no estudo de Blaskovich et al. (2021),⁽¹⁹⁾ houve adição de resazurina 0,02% e Tween-80

em cada poço com incubação de 5 dias; no estudo de Abichabki et al. (2021),⁽¹⁸⁾ não houve adição de resazurina, e a incubação foi de 7 dias. O efeito do CBD em relação à cepa *Mycobacterium tuberculosis multidrogarresistente* CF86 também foi analisado no estudo de Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ e apresentou CIM de $18,78 \mu\text{g} / \text{mL}$.

A principal limitação dessa revisão é o baixo número de artigos encontrados. Sendo apenas dois, o resultado de nossa busca demonstra que se sabe muito pouco ainda sobre os possíveis efeitos terapêuticos do CBD para o tratamento de tuberculose e evidencia a necessidade de mais investigações na área.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados preliminares relatados, parece haver um possível efeito terapêutico do CBD para o tratamento de tuberculose. Apesar disso, não se sabe se outros canabinoides possuem esse potencial e nem qual deles supostamente seria mais eficaz. Dessa forma, essa revisão é limitada pelas evidências disponíveis e deixa clara a necessidade de outros estudos envolvendo o uso de canabinoides e seus efeitos em *M. tuberculosis*.

REFERÊNCIAS

1. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W. The endocannabinoid system: a potential target for the treatment of various diseases. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(17):9472. doi: 10.3390/ijms22179472.
2. Hasenoehl C, Taschler U, Storr M, Schicho R. The gastrointestinal tract – a central organ of cannabinoid signaling in health and disease. *Neurogastroenterol Motil.* 2016; 28(12):1765-80. doi: 10.1111/nmo.12931.
3. Bonz A, Laser M, Kullmer S, Kniech S, Babin-Ebell J, Poop V, et al. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003; 41(4):657-64. doi: 10.1097/00005344-200304000-00020.
4. Turcotte C, Blanchet MR, Laviolette M, Flamand N. Impact of cannabis, cannabinoids, and endocannabinoids in the lung. *Front Pharmacol.* 2016; 7:317. doi: 10.3389/fphar.2016.00317
5. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussosoy D, Carriere D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995; 232(1):54-61. doi: 10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x.
6. Welzen D, Matthey M, Bindila L, Lerner R, Lutz B, Zimmer A, et al. Endocannabinoid anandamide mediates hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(46):18710-5. doi: 10.1073/pnas.1308130110.
7. Zawatsky CN, Abdalla J, Cinar R. Synthetic cannabinoids induce acute lung inflammation via cannabinoid receptor 1 activation. *ERJ Open Res.* 2020; 6(3):00121-2020. doi: 10.1183/23120541.00121-2020.
8. Moutinho ILD. Tuberculosis: immunological aspects in the infection and in the disease. *Revista Med Minas Gerais.* 2011; 21(1):42-8. Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/289>.
9. Lovey A, Verma S, Kaipilyawar V, Ribeiro-Rodrigues R, Husain S, Palaci M, et al. Early alveolar macrophage response and IL-1R-dependent T cell priming determine transmissibility of *Mycobacterium tuberculosis* strains. *Nat Commun.* 2022; 13(1):884. doi: 10.1038/s41467-022-28506-2.
10. Staiano RI, Loffredo S, Borriello F, Iannotti FA, Piscitelli F, Orlando P, et al. Human lung-resident macrophages express CB₁ and CB₂ receptors whose activation inhibits the release of angiogenic and lymphangiogenic factors. *J Leukoc Biol.* 2016; 99(4):531-40. doi: 10.1189/jlb.3HI1214-584R
11. Matias I, Pochard P, Orlando P, Salzet M, Pestel J, Di Marzo V. Presence and regulation of the endocannabinoid system in human dendritic cells. *Eur J Biochem.* 2002; 269(15):3771-8. Doi: 10.1046/j.1432-1033.2002.03078.x.
12. Ribeiro A, Almeida VI, Costola-de-Souza C, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, et al. Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2015; 37(1):35-41. doi: 10.3109/08923973.2014.976794.
13. Page MJ, Moher D, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021; 372:n160. doi:10.1136/bmj.n160.
14. Moola S, Munn Z, Sears K, Stefcu R, Currie M, et al. Conducting systematic reviews of association (etiology): the Joanna Briggs Institute's approach. *Int J Evid Based Healthc.* 2015; 13(3):163-9. Doi: 10.1097/XEB.0000000000000064.
15. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciências, tecnologia, inovação e insumos estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Acesso: https://rebrats.saude.gov.br/images/Documentos/2021/20210622_Diretriz_Revisao_Sistematica_2021.pdf
16. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016; 5(1):210. doi: <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>.
17. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomized studies of interventions. *BMJ* 2016; 355:i4919. doi: 10.1136/bmj.i4919.
18. Abichabki N, Zacharias LV, Moreira NC, Bellissimo-Rodrigues F, Moreira FL, Benzi JRL, et al. Cannabidiol (CBD) repurposing as antibacterial: promising therapy of CBD plus polymyxin B against superbugs. *Sci Rep.* 2022; 12(1):6454. doi: 10.1038/s41598-022-10393-8.
19. Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zang B, Ramu S, Amado M, et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Commun Biol.* 2021; 4(1):7. doi: 10.1038/s42003-020-01530-y.

Antibacterial activity of cannabinoids on the bacteria that cause tuberculosis: a systematic review

Atividade antibacteriana dos canabinoides sobre a bactéria causadora da tuberculose: uma revisão sistemática

Gisele Aparecida Soares Cunha de Souza¹, Rubia Laine de Paula Andrade², Giordano Novak Rossi³, Rafael Guimarães dos Santos⁴, Jaime E. C. Hallak⁴, Nathalia Halax Orfão⁵

¹ Curso de Medicina, Núcleo de Saúde, Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, RO, Brazil.

² Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brazil.

³ Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

⁴ Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Medicina Translacional, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

⁵ Departamento de Medicina, Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, RO, Brazil.

Abstract

Objective: Identify any antibacterial activity of cannabinoids against *Mycobacterium tuberculosis*. **Methods:** Based on the guiding question “Do cannabinoids have antibacterial activity against *M. tuberculosis*?”, we carried out a systematic review to investigate the topic. We searched for experimental, pre-clinical and clinical studies that evaluated the effects of phytocannabinoids or synthetic cannabinoids on *M. tuberculosis*. Studies that addressed the effects of endocannabinoids were excluded. Two independent reviewers carried out the studies selection, which after inclusion were subjected to a quality assessment. **Results:** 486 publications were found, of which two were included in this review: a pre-clinical *in vitro* study and a pre-clinical study with animals. Both studies identified an antibacterial activity of cannabidiol (CBD) against *M. tuberculosis* at different concentrations. **Conclusion:** We found preliminary evidence of the antimicrobial action of CBD on *M. tuberculosis*. Despite the promising results, further investigations on the subject are still warranted to verify a possible therapeutic application and the possible effects of other cannabinoids.

Keywords: Cannabinoids, Cannabidiol, Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Antibacterial.

Resumo

Objetivo: Identificar a existência de atividade antibacteriana dos canabinoides sobre *Mycobacterium tuberculosis*. **Métodos:** A partir da pergunta norteadora “Os canabinoides têm atividade antibacteriana sobre a *Mycobacterium tuberculosis*?”, realizamos uma revisão sistemática para investigar o tema. Consideraram-se estudos experimentais, pré-clínicos e clínicos que avaliaram os efeitos de fitocanabinoides ou canabinoides sintéticos em *M. tuberculosis*, tendo sido excluídas investigações com endocanabinoides. A seleção dos estudos foi feita por dois revisores independentes, e os artigos selecionados foram submetidos a uma avaliação de qualidade. **Resultados:** Foram encontradas 486 publicações, das quais duas foram incluídas nesta revisão: um estudo pré-clínico *in vitro* e um estudo pré-clínico em animais. Os dois estudos identificaram atividade antibacteriana do canabidiol (CBD) para a *M. tuberculosis* em diferentes concentrações. **Conclusão:** Verificamos evidências preliminares de ação antimicrobiana do CBD sobre *M. tuberculosis*. Apesar dos resultados promissores, ainda são necessárias mais investigações sobre o assunto para se verificar uma possível aplicação terapêutica e os possíveis efeitos de outros canabinoides.

Palavras-chave: Canabinoides, Canabidiol, Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, Antibacteriano.

Correspondence

Gisele Aparecida Soares Cunha de Souza

E-mail: gisele.souza.unir@gmail.com

Received on 11/22/2023

Approved on 11/23/2023

DOI: 10.21877/2448-3877.202300154.en

INTRODUCTION

Studies of the pharmaceutical potential of Cannabis' active ingredients have increased after the discovery of the endocannabinoid system and the endogenous CB1 and CB2 receptors which, when activated, interfere with various signaling pathways, causing different effects on tissues and organs.⁽¹⁾

Cannabinoids are involved in pathophysiological processes (pain and inflammation) and can act on the gastrointestinal (modifying mobility and secretion, used as antiemetics⁽²⁾), cardiac (reducing atrial contraction and causing hypotension through the activation of cannabinoid receptors⁽³⁾), and pulmonary systems (with anti-inflammatory effect mediated by endocannabinoid metabolic pathways⁽⁴⁾), among others.

Studies show that CB1 and CB2 receptors are present in the lungs and bronchi, responding to endocannabinoids, synthetic cannabinoids, and phytocannabinoids.⁽⁵⁾ Tetrahydrocannabinol (THC), for example, can activate these receptors, while cannabidiol (CBD) and cannabinol (CBN) modulate cellular functions⁽⁴⁾. Exposure of lung tissue to the endocannabinoid anandamide, for example, causes hypoxic pulmonary vasoconstriction⁽⁶⁾, while synthetic cannabinoids induce lung inflammation.⁽⁷⁾

Infection of the lungs by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis* is effectively controlled in most individuals due to the immune response of macrophages, dendritic cells, and fibroblasts, forming a granuloma and preventing the progression of the infection to tuberculous disease, called latent infection.⁽⁸⁾ A study showed that granuloma formation and disease containment is dependent on the early migration of alveolar macrophages to the interstitium induced by interleukin 1 (IL-1R), which defines whether the immune response will be Th1 or Th17 (faster or slower, respectively), determining the severity of the disease.⁽⁹⁾ COX-2 metabolites of endocannabinoids regulate the functions of alveolar macrophages that have CB1 and CB2 receptors on their membranes.^(4,10,11)

The impacts of (endo)cannabinoids when activating these receptors in the lung are still unclear. However, one study shows that the activation of cannabinoid receptors on alveolar macrophages selectively inhibits the release of angiogenic and lymphogenic factors, which may assist in vascular remodeling during chronic inflammation.⁽¹⁰⁾ Another study, in turn, showed that the CBD improves lung function and decreases inflammation in a mouse model.⁽¹²⁾

Given the above, this study aimed to identify the existence of the antibacterial activity of cannabinoids against *M. tuberculosis*.

MATERIAL AND METHODS

This is a systematic review of scientific literature registered in the International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews (PROSPERO) under the ID CRD42021253894, following the guidelines recommended by the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses (PRISMA).⁽¹³⁾

The guiding question "Do cannabinoids have antibacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*?" was defined using the acronym PEO,⁽¹⁴⁾ in which P (Population) corresponded to *M. tuberculosis*, E (Exposure), to cannabinoids, and O (Outcome) was related to antibacterial activity.

The inclusion criteria were experimental, pre-clinical and clinical studies that evaluated the effects of phytocannabinoids or synthetic cannabinoids on *M. tuberculosis*. Articles that addressed the effects of endocannabinoids were excluded, as well as those that assessed the risk of acquiring tuberculosis with the recreational use of cannabinoids. It should be noted that in order to reach a greater number of publications on the topic, no time frame, country/continent or language of publication was established for the bibliographic survey.

For the search expression, free and controlled vocabulary was used, composed of terms indexed in the Health Sciences Descriptors (DeCS), Medical Subject Headings (MeSH) and Embase Subject Headings (Emtree), with their respective synonyms in Portuguese, English and Spanish, combined using the Boolean operators OR and AND (Table 1).

Table 1

Simplified search strategy in English used in databases.

Acronym	Keyword	Search vocabulary
Population	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	"Mycobacterium Tuberculosis"
Exhibition	Canabinoids	(Cannabis OR Bhang OR Bhangs OR Cannabi OR " <i>Cannabis indica</i> " OR "Cannabis indicas" OR " <i>Cannabis sativa</i> " OR "Cannabis sativas" OR Ganja OR Ganjas OR Hashish OR Hashishs OR Hemp OR "Hemp Plant" OR "Hemp Plants" OR Hamps OR "indicas, Cannabis" OR Marihuana OR Marihuanas OR Marijuana OR Marijuanas OR "Plant, Hemp" OR "Plants, Hemp" OR "sativas, Cannabis" OR Cannabinoids OR phytocannabinoids OR Canabidiol OR cannabidiol OR Drabinol OR THC OR Tetra-Hidrocanabinol OR Tetraidrocanabinol OR Canabigerol OR canabicromeno OR canabiciol OR canabielsoin OR canabinol OR canabinodiol OR canabitril OR "Medical Marijuana" OR "Marijuana, Medical" OR "Medical Cannabis" OR "Cannabis, Medical" OR "Marijuana Treatment" OR "Treatment, Marijuana" OR "Medical Cannabis" OR "Cannabis, Medical" OR "Marijuana Dispensaries" OR "Dispensaries Marijuana")
Outcome	Antibacterial activity	("Antibacterial Agents" OR "Antimycobacterial Agents" OR "Anti-Bacterial Compounds" OR "Bacteriocidal Agents" OR Bactericide OR "Bacteriostatic" OR "antitubercular Agents" OR "Anti-Tuberculosis Agent" OR "Tuberculostatic Agent" OR "Antitubercular Antibiotics")

Made by the authors

The search was carried out on August 22, 2022 in the databases LILACS, PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science, PsycINFO, BMC's BioMed Central Journals, Cochrane Library, Epistemonikos, Health Systems Evidence and Center for Review Dissemination. At LILACS, the search was carried out in English, Portuguese and Spanish. In the other databases, English was used. Furthermore, gray literature was limited to study protocol registration databases recommended in the Methodological Guidelines of the Ministry of Health,⁽¹⁵⁾ such as Clinical Trials and the gray literature databases Open Grey, Gray Literature Report, Scientific Repository of Open Access of Portugal (RCAAP), Brazilian Digital Bank of Theses and Dissertations (BDTD), and Google Scholar. A manual search was also carried out by checking the references cited in the included articles.

Subsequently, the publications were exported to the Qatar Computing Research Institute's Rayyan QCRI online reference manager⁽¹⁶⁾ for study selection. This selection was made through reading and analysis of titles and abstracts by two independent reviewers, whose disagreements were resolved by a third reviewer.

The selected articles proceeded to the full reading stage and confirmation of eligibility occurred with the articles that presented a description of the antibacterial effects of cannabinoids in tuberculosis. Subsequently, for data extraction

and analysis, a synthesis matrix was created with author, year, objective and study design, in addition to the main results, article quality, methodological quality and relevance. The risk of bias assessment was also included, which was carried out using the ROBIS⁽¹⁷⁾ an instrument which evaluates three domains: pre-intervention (confounding, selection of study participants), at the time of the intervention (bias in the classification of the intervention), and post-intervention (deviation from the intended intervention, missing data, measurement of the outcome, selective reporting of results).

RESULTS

486 publications were found, of which 379 were identified in databases, 104 in gray literature and 3 through manual search. Among these, 15 publications were excluded due to duplication and 471 were considered for reading the title and abstract, with 11 studies being selected for reading in full. Of these 11, 5 were excluded because they were secondary studies, 3 because they did not address the use of cannabinoids (Hops, *Polygonatum officinale* and rimonabant), and 1 for not answering the guiding question. Therefore, 2 articles were considered eligible for our review. Figure 1 demonstrates the selection and inclusion and exclusion process of articles.

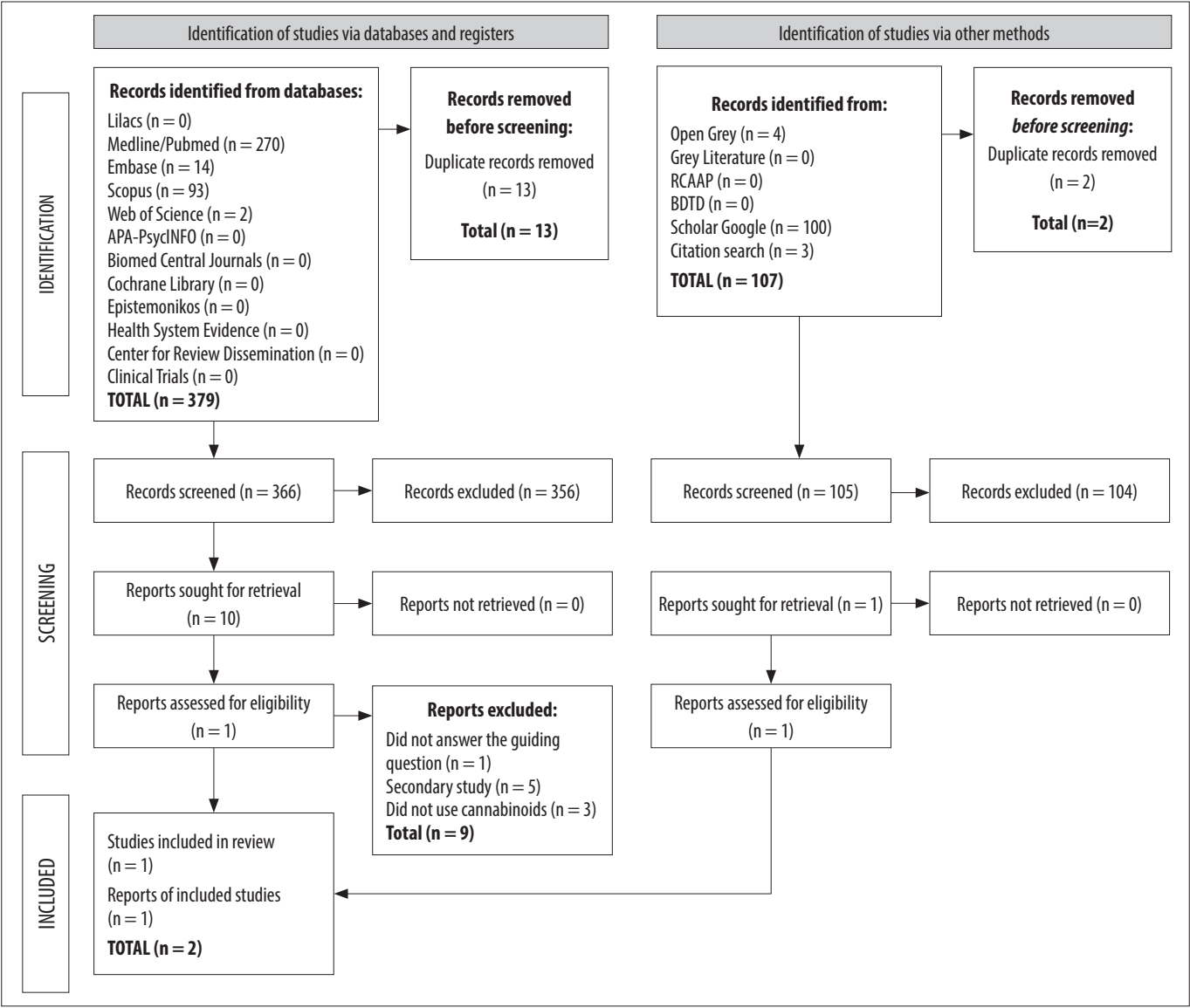


Figure 1
Flowchart of articles included in this systematic review, 2022

Modified from Page et al. (2020)⁽¹³⁾

In the present review, a pre-clinical *in vitro* study⁽¹⁸⁾ and a pre-clinical study carried out with animals were included.⁽¹⁹⁾ The antibacterial activity of CBD was identified in both studies, although this was less evident in the study due to Blaskovich et al. (2021).⁽¹⁹⁾ The results in more detail are presented in Table 2.

When the quality of the articles was verified, Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ were evaluated with a final grade of 58.7%,

as they did not mention the purity and solubility of the test, the cell passage number, the measures taken to avoid contamination by mycoplasma, bacteria, fungi and viruses, the cell density, statistical methods, software used, funding sources and conflict of interests. The article by Blaskovich et al. (2021)⁽¹⁹⁾ received a final grade of 91.9%, as they did not mention the test's solubility and metabolic competence.

Table 2

Summary of the results of the articles included in this systematic review.

Author and year	Objective	Design	Main results	Article quality	Method quality	Relevance
Abichabki et al., 2021 ⁽¹⁸⁾	To evaluate the antibacterial activity of ultrapure cannabidiol (CBD) against a wide diversity of Gram-negative (GN) and Gram-positive (GP) bacteria (44 different species, 95 strains), comprising standard strains and clinical isolates, and to investigate the antibacterial activity of the CBD + PB combination against GN bacteria, including chromosomal and plasmid-acquired PB-resistant and intrinsically PB-resistant GNB.	In vitro	CBD exhibited antibacterial activity against different species of bacteria, including <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , which causes TB, at a minimum inhibitory concentration of CBB for <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv (MIC = $9.37 \pm 1.88 \mu\text{g} / \text{mL}$) 117 and MDR <i>M. tuberculosis</i> CF86 (MIC = $18.78 \pm 5.95 \mu\text{g} / \text{mL}$), which should be included in clinical trials with promising efficacy.	58,7	100	Directly relevant
Blaskovich et al., 2021 ⁽¹⁹⁾	Verify the antimicrobial activity of CBD in different Gram-positive/negative bacteria	In vivo	CBD showed discrete activity against <i>M. tuberculosis</i> H37Rv (MIC > $64 \mu\text{g} \text{ mL}^{-1}$), although with 70% inhibition at $64 \mu\text{g} \text{ mL}^{-1}$)	91,9	100	Directly relevant

DISCUSSION

Despite the extensive search carried out in the literature, only two studies were identified that addressed the effect of cannabinoids as an antimicrobial agent for *Mycobacterium tuberculosis*, the causative agent of tuberculosis. In view of this finding, it is worth highlighting the need for more clinical and pre-clinical studies that investigate this effect, especially considering that one of the aforementioned articles⁽¹⁸⁾ presented a low percentage of approval in relation to its quality.

Regarding the results of the two studies, there was a difference in the minimum inhibitory concentration (MIC) of CBD to observe the antimicrobial effect for the *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv strain, with the study Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ smaller than Blaskovich et al. (2021)⁽¹⁹⁾ ($9.37 \mu\text{g} / \text{mL}$ and $<64 \mu\text{g} / \text{mL}$, respectively). This difference may be related to the study method, since the first was *in vitro* and the second involved infection of pig tissue and subsequent treatment with CBD.

Furthermore, there was a difference between the incubation time and addition of other components: in the study by Blaskovich et al. (2021),⁽¹⁹⁾ 0.02% resazurin and Tween-80 were added to each well with incubation for 5

days; in the study by Abichabki et al. (2021),⁽¹⁸⁾ there was no addition of resazurin, and the incubation was 7 days. The effect of CBD in relation to the multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain CF86 was also analyzed in the study by Abichabki et al. (2021)⁽¹⁸⁾ and presented an MIC of $18.78 \mu\text{g} / \text{mL}$.

The main limitation of this review is the low number of articles found. There are only two of them, the results of our search demonstrate that very little is still known about the possible therapeutic effects of CBD for the treatment of tuberculosis and highlights the need for further investigations in the area.

CONCLUSION

From the preliminary results reported, there appears to be a possible therapeutic effect of CBD for the treatment of tuberculosis. Despite this, it is not known whether other cannabinoids have this potential or which one is supposed to be more effective. Therefore, this review is limited by the available evidence and makes clear the need for other studies involving the use of cannabinoids and their effects on *M. tuberculosis*.

REFERENCES

1. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W. The endocannabinoid system: a potential target for the treatment of various diseases. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(17):9472. doi: 10.3390/ijms22179472.
2. Hasenoehl C, Taschler U, Storr M, Schicho R. The gastrointestinal tract – a central organ of cannabinoid signaling in health and disease. *Neurogastroenterol Motil.* 2016; 28(12):1765-80. doi: 10.1111/nmo.12931.
3. Bonz A, Laser M, Kullmer S, Kniech S, Babin-Ebell J, Poop V, et al. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003; 41(4):657-64. doi: 10.1097/00005344-200304000-00020.
4. Turcotte C, Blanchet MR, Laviolette M, Flamand N. Impact of cannabis, cannabinoids, and endocannabinoids in the lung. *Front Pharmacol.* 2016; 7:317. doi: 10.3389/fphar.2016.00317
5. Galieue S, Mary S, Marchand J, Dussosoy D, Carriere D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995; 232(1):54-61. doi: 10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x.
6. Welzen D, Matthey M, Bindila L, Lerner R, Lutz B, Zimmer A, et al. Endocannabinoid anandamide mediates hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(46):18710-5. doi: 10.1073/pnas.1308130110.
7. Zawatsky CN, Abdalla J, Cinar R. Synthetic cannabinoids induce acute lung inflammation via cannabinoid receptor 1 activation. *ERJ Open Res.* 2020; 6(3):00121-2020. doi: 10.1183/23120541.00121-2020.
8. Moutinho ILD. Tuberculosis: immunological aspects in the infection and in the disease. *Revista Med Minas Gerais.* 2011; 21(1):42-8. Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/289>.
9. Lovey A, Verma S, Kaipilyawar V, Ribeiro-Rodrigues R, Husain S, Palaci M, et al. Early alveolar macrophage response and IL-1R-dependent T cell priming determine transmissibility of *Mycobacterium tuberculosis* strains. *Nat Commun.* 2022; 13(1):884. doi: 10.1038/s41467-022-28506-2.
10. Staiano RI, Loffredo S, Borriello F, Iannotti FA, Piscitelli F, Orlando P, et al. Human lung-resident macrophages express CB₁ and CB₂ receptors whose activation inhibits the release of angiogenic and lymphangiogenic factors. *J Leukoc Biol.* 2016; 99(4):531-40. doi: 10.1189/jlb.3HI1214-584R
11. Matias I, Pochard P, Orlando P, Salzet M, Pestel J, Di Marzo V. Presence and regulation of the endocannabinoid system in human dendritic cells. *Eur J Biochem.* 2002; 269(15):3771-8. Doi: 10.1046/j.1432-1033.2002.03078.x.
12. Ribeiro A, Almeida VI, Costola-de-Souza C, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, et al. Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2015; 37(1):35-41. doi: 10.3109/08923973.2014.976794.
13. Page MJ, Moher D, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021; 372:n160. doi:10.1136/bmj.n160.
14. Moola S, Munn Z, Sears K, Stefcu R, Currie M, et al. Conducting systematic reviews of association (etiology): the Joanna Briggs Institute's approach. *Int J Evid Based Healthc.* 2015; 13(3):163-9. Doi: 10.1097/XEB.0000000000000064.
15. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciências, tecnologia, inovação e insumos estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Acesso: https://rebrats.saude.gov.br/images/Documentos/2021/20210622_Diretriz_Revisao_Sistematica_2021.pdf
16. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016; 5(1):210. doi: <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>.
17. Sterne JA, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomized studies of interventions. *BMJ* 2016; 355:i4919. doi: 10.1136/bmj.i4919.
18. Abichabki N, Zacharias LV, Moreira NC, Bellissimo-Rodrigues F, Moreira FL, Benzi JRL, et al. Cannabidiol (CBD) repurposing as antibacterial: promising therapy of CBD plus polymyxin B against superbugs. *Sci Rep.* 2022; 12(1):6454. doi: 10.1038/s41598-022-10393-8.
19. Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zang B, Ramu S, Amado M, et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Commun Biol.* 2021; 4(1):7. doi: 10.1038/s42003-020-01530-y.

Infecção por *Candida auris* em crianças e neonatos: uma revisão integrativa de literatura

Candida auris infection in children and neonates: an integrative literature review

Brennda Araújo Nogueira¹, Tiffany Nogueira Sampaio², Antônio Victor Paz Ibiapina², Monique Maria de Souza Frota², Victoria Maria Paz Ibiapina², Francisco Yuri Neves Filizola², João Carlos Carneiro de Aguiar², Beatriz Araújo Nogueira³, Francinaldo Filho Castro Monteiro⁴, Paulo Henrique Soares Peixoto⁵, Olga Samara Silva Cavalcante⁶, Carla Ceres Azevedo Araújo Melo Miranda⁷

¹ Faculdade de Medicina Estácio (IDOMED), Graduação em Medicina. Canindé, CE, Brasil.

² Centro Universitário Inta (UNINTA), Graduação em Medicina. Sobral, CE, Brasil.

³ Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Graduação em Farmácia. Fortaleza, CE, Brasil.

⁴ Hospital Universitário Walter Cantídio, Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará (UFC), Residência em Terapia Intensiva. Fortaleza, CE, Brasil.

⁵ Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), Microbiologia. Fortaleza, CE, Brasil.

⁶ Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), Farmácia Clínica. Fortaleza, CE, Brasil.

⁷ Centro Universitário Inta (UNINTA), Docência. Sobral, CE, Brasil.

Resumo

Introdução: As espécies de fungos do gênero *Candida* são a causa predominante de infecções fúngicas nosocomiais e a quarta principal causa de todas as infecções hospitalares. **Objetivo:** Realizar um estudo exploratório na literatura acerca das implicações associadas à infecção por *Candida auris* em indivíduos na faixa etária pediátrica. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional e descritivo com abordagem qualitativa do tipo revisão integrativa de literatura. **Resultados:** Foram encontrados 117 trabalhos nas bases de dados selecionadas, 71 resultados na PubMed e 46 na BVS. Na base de dados do SciELO não houve resultado. Após triagem pelo título foram selecionadas 57 publicações, destas, 5 eram duplicadas nas bases de dados. Após leitura do resumo e texto completo foram excluídas 44 publicações e 8 estudos foram selecionados. **Discussão:** Na população pediátrica, a infecção mais comum por *C. auris* é a de corrente sanguínea; a incidência é maior no sexo masculino e a média de mortalidade nos estudos com crianças e neonatos é de aproximadamente 40%, com associações a outras complicações. **Conclusões:** *Candida auris* é um patógeno de relevância a nível global, visto seu impacto na saúde humana. O elenco terapêutico para tratamento da candidemia por *C. auris* é reduzido e a tendência é o aumento da resistência aos antifúngicos disponíveis. O controle de infecções nosocomiais e surtos intra-hospitalares deve ser priorizado.

Palavras-chave: *Candida auris*; Pediatria; Criança; Neonato.

Abstract

Introduction: Fungal species of the genus *Candida* are the predominant cause of nosocomial fungal infections and are the fourth leading cause of all nosocomial infections. **Objective:** To carry out an exploratory study in the literature on the implications associated with *Candida auris* infection in individuals in the pediatric age group. **Methodology:** This is an observational and descriptive study with a qualitative approach of the integrative literature review type. **Results:** 117 works were found in the selected databases, 71 results in Pubmed and 46 in the VHL. There were no results in the SciELO database. After screening by title, 57 publications were selected, of which 5 were duplicates in the databases. After reading the abstract and full text, 44 publications were excluded and 8 studies were selected. **Discussion:** In the pediatric population, the most common *C. auris* infection is bloodstream, the incidence is higher in males and the average mortality rate in studies with children and newborns is approximately 40%, with associations with other complications. **Conclusions:** *Candida auris* is a globally relevant pathogen due to its impact on human health. The therapeutic range for treating candidemia caused by *C. auris* is reduced and the tendency is for resistance to available antifungals to increase. The control of nosocomial infections and intra-hospital outbreaks must be prioritized.

Keywords: *Candida auris*; Pediatrics; Children; Newborn.

Correspondência

Olga Samara Silva Cavalcante

E-mail: olgasamarasc@hotmail.com

Recebido em 02/05/2024 | Aprovado em 19/10/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400178.pt

INTRODUÇÃO

As infecções causadas por fungos vêm tomando grande importância na medicina nas últimas décadas por impactarem negativamente na saúde, sobretudo em pacientes com imunossupressão ou hospitalizados com doenças graves associadas. As espécies de fungos do gênero *Candida* são a causa predominante de infecções fúngicas nosocomiais e a quarta principal causa de todas as infecções hospitalares.^(1,2) De acordo com Du et al.⁽¹⁾ (2020), anualmente ocorrem aproximadamente 400.000 infecções por corrente sanguínea (IPCS) causadas por *Candida* spp. em todo o mundo, com taxas de mortalidade superiores a 40%.

A levedura *Candida auris* foi isolada pela primeira vez no Japão em 2009 a partir da secreção auditiva de uma paciente do sexo feminino. Nos anos seguintes, infecções causadas por *C. auris* tornaram-se uma ameaça global de saúde pública devido a sua rápida disseminação ao redor do mundo e do tipo de resistência a múltiplos fármacos antifúngicos exibido por essa levedura. A candidemia tem sido o tipo de infecção invasiva mais frequentemente relatada por *C. auris*, com mortalidade variando de 30% a 60%.^(1,2)

Com relação ao público pediátrico, devido à presença de um sistema imunológico imaturo, no geral, pode aumentar a suscetibilidade a doenças infecciosas. No ambiente hospitalar, a necessidade de ventilação mecânica, sedação, uso de sondas, aspiração recorrente, hospitalização prolongada e a presença de comorbidades são fatores de risco reconhecidos para o desenvolvimento de infecções nosocomiais.⁽³⁾

Apesar de uma taxa de incidência menor, infecções fúngicas em recém-nascidos e crianças são uma realidade alarmante devido à morbidade e mortalidade associadas e poucas opções de terapia farmacológica.^(3,4) Em um estudo de Almazeedi et al.⁽³⁾ (2023), na avaliação das infecções hospitalares em uma unidade de terapia intensiva pediátrica, foi relatado que a taxa de mortalidade das infecções por fungos foi superior em comparação a infecções bacterianas. Vale

ressaltar que todas as espécies de fungos relatadas neste estudo são do gênero *Candida*.

Dessa forma, o objetivo desta pesquisa é realizar um estudo exploratório na literatura acerca das implicações associadas à infecção por *Candida auris* em indivíduos na faixa etária pediátrica.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo observacional e descritivo com abordagem qualitativa do tipo revisão integrativa de literatura. A seleção dos artigos científicos para compor esta revisão foi feita nas seguintes bases de dados eletrônicas: National Library of Medicine (PubMed), BVS Brasil (Biblioteca Virtual em Saúde - Brasil) e SciELO (Scientific Electronic Library Online). Para a busca cruzou-se o descritor "*Candida auris*" com "*pediatrics*", "*children*" e "*neonatal*"; o cruzamento se deu por meio do operador booleano AND.

Foram considerados estudos em qualquer idioma, pesquisas com seres humanos na faixa etária pediátrica ou com correlações e publicados nos últimos cinco anos (2020 a 2024). Como critérios de exclusão foram adotados: trabalhos que não se adequassem ao objetivo da pesquisa, revisões de literatura, *pre-print* e fora dos demais critérios de inclusão.

RESULTADOS

Foram encontrados 117 trabalhos nas bases de dados selecionadas dos quais, 71 resultados na PubMed e 46 na BVS. Na base de dados do SciELO não houve resultado. Após triagem pelo título foram selecionadas 57 publicações, destas, 5 eram duplicadas nas bases de dados.

Após leitura do resumo e texto completo foram excluídas 44 publicações e 8 estudos foram selecionados como mostra a Figura 1. Os 8 estudos selecionados que avaliaram os impactos da infecção por *C. auris* em populações pediátricas encontram-se descritos no Quadro 1.

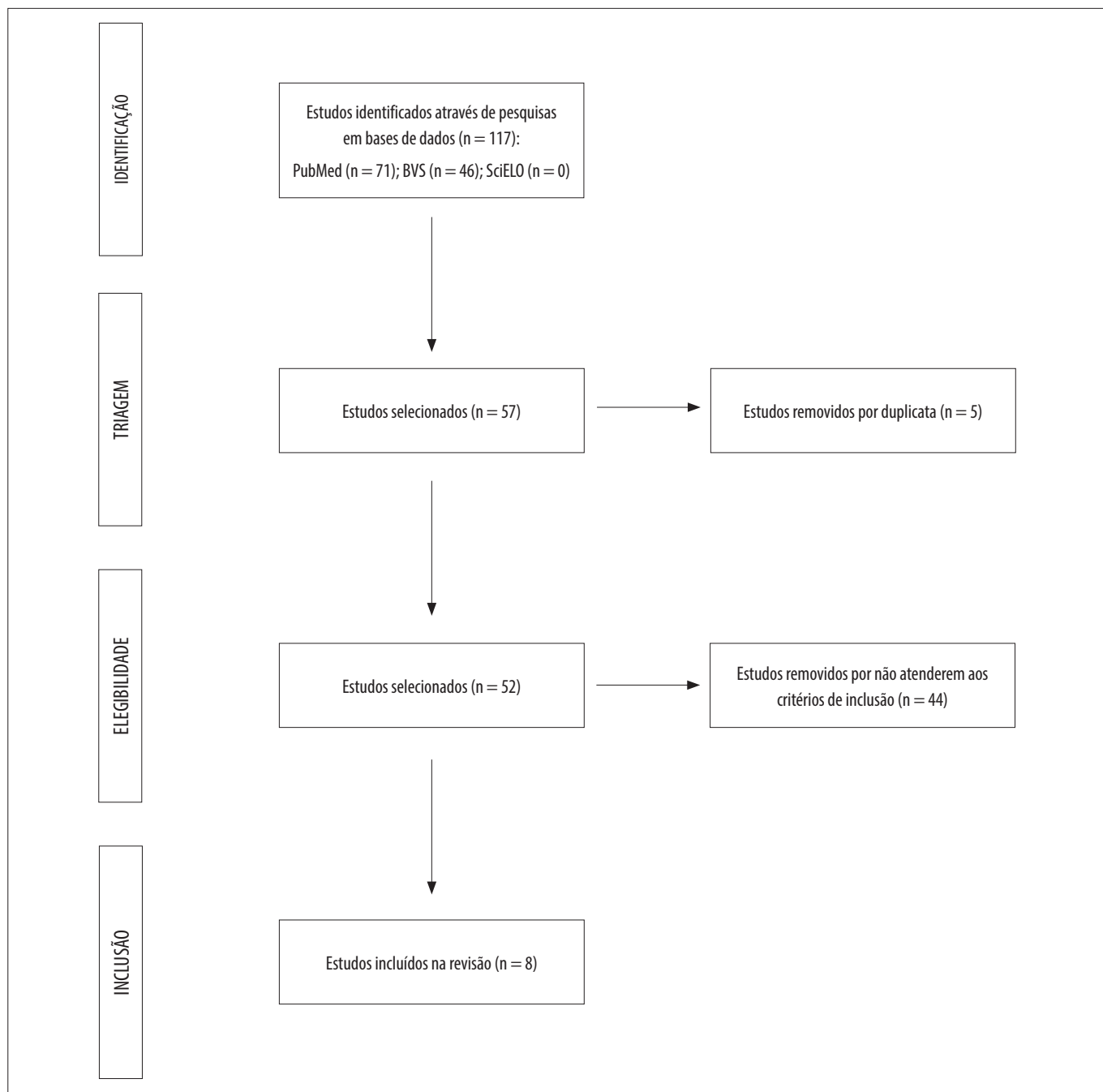


Figura 1

Fluxograma de pesquisa

Fonte: Elaborada pelos autores.

Quadro 1

Estudos que avaliaram os impactos da infecção por *C. auris* em populações pediátricas.

AUTOR	TÍTULO	TIPO DE ESTUDO	RESULTADOS
Berio et al. ⁽⁵⁾ (2020)	Bloodstream infections with <i>Candida auris</i> among children in Colombia: Clinical characteristics and outcomes of 34 cases	Estudo retrospectivo	Das 34 crianças com candidemia por <i>C. auris</i> . 65% dos pacientes eram do sexo masculino, 47% tinham idade entre 29 e 365 dias. 82% tinham CVC. A mortalidade hospitalar associada foi de 41%, incluindo 57% em neonatos, 50% em bebês não neonatais, 17% em crianças de 1 a 5 anos e 20% naquelas com idade acima de 5 anos. O tempo médio desde a ICS por <i>Candida</i> até a morte foi de 10 dias (IQR, 6-23 dias).
Chandramati et al. ⁽⁶⁾ (2020)	Neonatal <i>Candida auris</i> infection: Management and prevention strategies - A single centre experience	Estudo retrospectivo	A gestação média foi de 32,4 ± 4,9 semanas com mortalidade geral de 41%. As características clínicas eram indistinguíveis de outras causas de sepse. <i>C. auris</i> foi sensível à micafungina, mas resistente ao fluconazol e teve sensibilidade variável ao voriconazol e à anfotericina. A sobrevivência melhorou para 83% quando os bebês foram tratados com uma combinação de micafungina e anfotericina B. Os não sobreviventes tinham menor peso ao nascer e apresentavam outros fatores de risco.
Escandón et al. ⁽⁷⁾ (2021)	Laboratory-based surveillance of <i>Candida auris</i> in Colombia, 2016-2020	Estudo retrospectivo	Foram identificados 1.720 casos de <i>C. auris</i> . A idade média dos pacientes foi de 34 anos; 317 (18%) casos eram crianças menores de 16 anos, 54% eram do sexo masculino. A suscetibilidade antifúngica foi testada em 379 isolados; 35% dos isolados eram resistentes ao fluconazol, 33% eram resistentes à anfotericina B e 0,3% dos isolados eram resistentes à anidulafungina, 12% eram multirresistentes e nenhum isolado pan-resistente foi identificado.
Kekana et al. ⁽⁸⁾ (2023)	<i>Candida auris</i> Clinical Isolates Associated with Outbreak in Neonatal Unit of Tertiary Academic Hospital, South Africa	Estudo transversal	Dos 287 casos com infecção por <i>C. auris</i> confirmada por cultura e identificados através de vigilância laboratorial, 207 (72%) tinham isolados viáveis e 188 (66%) foram processados para sequenciação do genoma completo. Os isolados clado III (118/188, 63%) e IV (70/188, 37%) cocircularam no hospital. Todos os 181/188 isolados que apresentavam CIM de fluconazol > 32µg/mL apresentavam mutações no <i>ERG11</i> . Dominado pelo clado III, o surto em unidades neonatais foi responsável por 32% (91/287) de todos os casos durante o período do estudo.
Mohsin et al. ⁽⁹⁾ 2020	A Cluster of <i>Candida auris</i> Blood Stream Infections in a Tertiary Care Hospital in Oman from 2016 to 2019	Estudo retrospectivo	Dos 23 pacientes com fungemia por <i>C. auris</i> , 2 eram pacientes pediátricos. Todas as amostras isoladas não foram suscetíveis ao fluconazol, mas eram sensíveis às equinocandinas e estas foram utilizadas como terapia de primeira linha. <i>C. auris</i> afeta adultos e crianças com uma variedade de fatores de risco, incluindo cateteres venosos centrais e uso excessivo de antibióticos.
Moin et al. ⁽¹⁰⁾ (2021)	<i>C. auris</i> and non- <i>C. auris</i> candidemia in hospitalized adult and pediatric COVID-19 patients; single center data from Pakistan	Estudo de coorte retrospectivo	Um total de 26 casos de candidemia (4 <i>C. auris</i> , 22 não- <i>C. auris</i>) em 2.438 internados por COVID-19 e 59 casos de candidemia (6 <i>C. auris</i> , 53 não- <i>C. auris</i>) em internados foram identificados pacientes não-COVID-19. Quatro dos 26 dos pacientes com candidemia e com COVID-19 tinham idade ≤ 15 anos (10 meses a 15 anos). Os pacientes com candidemia por <i>C. auris</i> tiveram uma permanência mais longa no hospital antes da candidemia (20 vs. 9 dias) e maior taxa de isolamento de bactérias multirresistentes (100 vs. 50%) Tanto os pacientes com COVID-19 com <i>C. auris</i> quanto os não- <i>C. auris</i> tiveram taxa de mortalidade semelhante (67 vs. 65%).
Shuping et al. ⁽¹¹⁾ (2023)	High Prevalence of <i>Candida auris</i> Colonization during Protracted Neonatal Unit Outbreak, South Africa	Estudo transversal	Avaliação e vigilância infecciosa de 195 crianças. A sensibilidade de uma PCR para detecção rápida de colonização foi de 44% em comparação com a cultura. A taxa de incidência de infecção diminuiu 85% após a pesquisa e implementação do isolamento/coorte.
Socarras et al. ⁽¹²⁾ (2021)	A Cluster of Neonatal Infections Caused by <i>Candida auris</i> at a Large Referral Center in Colombia	Série de casos	É relatada uma série de casos de 8 pacientes neonatos e infantis que foram atendidos em um grande centro de referência na Colômbia e que desenvolveram infecções invasivas causadas por <i>C. haemulonii</i> e <i>C. auris</i> .

Fonte: Elaborado pelos autores.

Legenda: CVC: cateter venoso central; ICS: infecção de corrente sanguínea; CIM: concentração inibitória mínima

DISCUSSÃO

Quando *C. auris* foi identificado pela primeira vez em 2009, a infecção pelo patógeno era considerada rara, contudo, na última década, a espécie distribuiu-se globalmente, causando surtos em unidades de saúde em mais de 50 países. As maiores problemáticas associadas são: fácil transmissão e resistência a vários medicamentos antifúngicos disponíveis.⁽¹³⁾

Nesse contexto, Berrio et al.⁽⁵⁾ (2021) conduziram um estudo retrospectivo, que acompanhou 34 crianças com candidemia por *C. auris*, sendo 65% do sexo masculino e 47% com idade entre 29 e 365 dias. A maioria possuía cateter venoso central (CVC), somando 82%, que é um dos principais fatores associados à infecção fúngica em crianças, sobretudo em um ambiente de cuidados intensivos. Pacientes pediátricos onco-hematológicos que necessitam utilizar CVC por longo tempo tendem a desenvolver infecções recorrentes por *Candida* spp. Outros fatores de risco vistos clinicamente que também influenciam no desenvolvimento de infecções fúngicas são: idade, doença de base, neutropenia, imunodeficiência, uso de corticoides e de nutrição parenteral total.

No estudo, 97% receberam tratamento antifúngico específico para IPCS por *C. auris*. Desses, 47% receberam desoxicolato de anfotericina B, 29% receberam azóis e 21% receberam caspofungina. O teste de suscetibilidade antifúngica foi realizado em 13 isolados. 54% eram resistentes à anfotericina B, 15% eram resistentes ao fluconazol e 8% eram resistentes à anidulafungina e também resistentes à anfotericina B, mas suscetíveis à caspofungina e à micafungina. A anfotericina B é amplamente utilizada em pacientes graves clinicamente pelo amplo espectro de ação, contudo um perfil de resistência como descrito no estudo e a demora no crescimento das culturas microbiológicas fazem com que os pacientes não tenham acesso a uma farmacoterapia efetiva.

Na prática clínica, pacientes com sinais e sintomas evidentes de infecção fúngica usam antifúngicos empiricamente devido à demora nos resultados laboratoriais microbiológicos. Frequentemente iniciam com fluconazol, contudo logo escalonam para micafungina ou anfotericina B em casos de instabilidade clínica, plaquetopenia grave, cirurgias abdominais. O acompanhamento laboratorial e de imagem são imprescindíveis para o diagnóstico rápido da patologia quando há forte suspeita clínica, hemogramas com plaquetopenia, leucocitose e aumento das formas imaturas destes. Raio-X, ultrassonografia, tomografia computadorizada e fundo de olho são arcabouços utilizados para pesquisa de focos profundos.

Neste mesmo estudo, a mortalidade hospitalar associada foi de 41%, incluindo 57% em neonatos, 50% em bebês não neonatais, 17% em crianças de 1 a 5 anos e 20% naquelas com idade acima de 5 anos. O tempo médio desde a infecção de corrente sanguínea por *Candida* spp. até a morte foi de 10 dias (IQR, 6-23 dias). Neonatos prematuros, sobretudo de baixo peso ou muito baixo peso, são pacientes que tendem a ter quadros clínicos mais graves e maior tendência a candidemia, devido ao uso prolongado de antibióticos, sistema imunológico imaturo e malformações do trato gastrointestinal. Portanto, são pacientes que vão ao óbito mais rápido quando infectados por fungos do que crianças de idade superior.

Ademais, na população pediátrica, a infecção mais comum por *C. auris* é a de corrente sanguínea, a incidência é maior no sexo masculino e a média de mortalidade nos estudos com crianças e neonatos é de aproximadamente 40%, com associações a outras complicações.⁽¹⁴⁾ Na pesquisa de Berrio et al.⁽⁵⁾ (2020), 26% dos pacientes eram prematuros, 59% estavam desnutridos, 12% tinham câncer, 3% tinham um transplante de órgão sólido e 3% tinham doença renal subjacente; 82% receberam transfusão de sangue 7 dias antes da infecção de corrente sanguínea e 9% entraram em hemodiálise. O câncer mais prevalente na infância é a LLA frequentemente associada a internações recorrentes, sobretudo por neutropenia febril e o uso prolongado de CVC para a realização de quimioterapia. Esses fatores citados anteriormente concomitante à baixa imunidade favorecem a infecção por *Candida* spp. Em consonância, devido a fragilidade geral do quadro clínico, a mortalidade tende a ser significativa nessa população.

Chandramati et al.⁽⁶⁾ (2020) obtiveram resultados similares, em uma avaliação com neonatos; a gestação média foi de 32,4 ($\pm$ 4,9) semanas com mortalidade geral de 41%. As características clínicas eram indistinguíveis de outras causas de sepse. *Candida auris* presente nas amostras foi sensível à micafungina, mas resistente ao fluconazol e teve sensibilidade variável ao voriconazol e à anfotericina B. A sobrevivência melhorou para 83%, quando os bebês foram tratados com uma combinação de micafungina e anfotericina B. Os que foram a óbito tinham menor peso ao nascer e apresentavam outros fatores de risco.

Em consonância, Socarras et al.⁽¹²⁾ (2021) avaliaram uma série de 8 casos, cuja mortalidade foi de 37,5%. No entanto, esse resultado foi secundário à doença de base. O autor cita, ainda, que infecções invasivas causadas por *C. auris* aumentam provavelmente a mortalidade se a terapia

antifúngica não for otimizada e associada a outras medidas, como a remoção de dispositivos colonizados invasivos, devido à formação de biofilme.⁽¹²⁾

O uso da terapia antibacteriana de amplo espectro foi um fator de risco crítico compartilhado por todos os casos da série relatados neste estudo, no qual é reconhecido como um fator de risco para candidíase invasiva. Este risco é compartilhado com muitas classes de antimicrobianos, mas há evidências de que o uso de piperacilina/tazobactam é um importante fator de risco predisponente para candidíase sistêmica. Além disso, neonatos com malformações gastrointestinais (o intestino é um dos reservatórios de *Candida* spp.) e lactentes com doenças cardíacas complexas apresentam risco aumentado de infecções fúngicas invasivas, principalmente aqueles submetidos a transplante cardíaco em uso de imunossupressores e pacientes cardiopatas com repercussão pulmonar.⁽¹²⁾

Ashkenazi-Hoffnung e Rosenberg Danziger⁽¹⁴⁾ (2023) relataram em sua revisão sobre o tema que vários clones de *C. auris* surgiram e foram identificados na última década. Análises filogenéticas baseadas no polimorfismo de nucleotídeo único em todo o genoma identificaram cinco clados principais em todo o mundo: Sul da Ásia (I), Leste Asiático (II), Sul-africano (III), Sul-americano (IV) e um novo clado de Irã (V). Foi demonstrado que os clados apresentam características clínicas e microbiológicas únicas. Até agora, surtos nosocomiais e infecções invasivas têm sido associados aos clados I, III e IV de *C. auris*.⁽¹⁴⁾

Na pesquisa de Kekana et al.⁽⁸⁾ (2023) que avaliou, em um hospital terciário da África do Sul, 287 casos com infecção por *C. auris*, foi verificado que, destes, 66% foram processados para sequenciamento do genoma completo e identificaram a presença do clado III e IV de *C. auris*. O clado III foi mais prevalente nas infecções neonatais (32%). Nesta pesquisa, das 188 amostras avaliadas geneticamente, 181 apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) de fluconazol > 32µg/mL e mutações no *ERG11*.

No que se refere ao tratamento para infecções por *Candida* spp., normalmente devem ser usados antifúngicos azólicos que atuam inativando o lanosterol 14α-desmetilase, inibindo assim a biossíntese de ergosterol, um composto essencial para a membrana fúngica e integridade celular. A resistência aos azóis é comumente associada ao uso indiscriminado de antimicrobianos, mas também pode ocorrer por fatores intrínsecos, como alterações ou mutações na expressão de genes, como o *ERG11* e *ERG3*, que codificam proteínas envolvidas na biossíntese de ergosterol. Mutações

nestes dois genes podem alterar criticamente a eficácia dos antifúngicos azólicos.^(15,16)

Na avaliação de Escandón et al.⁽⁷⁾ (2021) foram identificados 1.720 casos de *C. auris* na Colômbia entre 2016 e 2020. A idade média dos pacientes foi de 34 anos, dentre estes 18% eram crianças menores de 16 anos e 54% eram do sexo masculino. A suscetibilidade antifúngica foi testada em 379 isolados, destes 35% dos isolados eram resistentes ao fluconazol, 33% eram resistentes à anfotericina B e 0,3% dos isolados eram resistentes à anidulafungina, 12% eram multirresistentes e nenhum isolado pan-resistente foi identificado.⁽¹²⁾

O estudo de Mohsin et al.⁽⁹⁾ (2020) também avaliou a terapia antifúngica de pacientes, nesse caso com um total de 23 amostras em um hospital terciário de Oman, com fungemia por *C. auris*. Dos 23 pacientes com fungemia por *C. auris*, 2 eram pacientes pediátricos. Todas as amostras isoladas não foram suscetíveis ao fluconazol, confirmando a resistência da levedura a azóis, mas eram sensíveis às equinocandinas e estas foram utilizadas como terapia de primeira linha.

Apesar de muitos estudos demonstrarem a sensibilidade de *C. auris* a equinocandinas como anidulafungina, caspofungina e micafungina, estas opções terapêuticas podem não ser suficientes no futuro, visto que a resistência a essa classe medicamentosa vem aumentando, o que irá limitar ainda mais o arsenal terapêutico.^(12,14)

Além disso, bebês hospitalizados em unidades de terapia intensiva neonatal correm alto risco de candidíase invasiva, sendo a segunda causa mais comum de morte relacionada a infecção, com uma taxa de mortalidade de 24% a 26%. Como a depuração da micafungina ajustada ao peso corporal é maior em neonatos do que em crianças mais velhas e adultos, os bebês necessitam de doses de micafungina mais altas com base no peso corporal.⁽¹⁷⁾

Auriti et al.⁽¹⁷⁾ (2021) avaliaram, em um estudo clínico com 35 neonatos e lactentes jovens colonizados por *Candida* spp., a eficácia e segurança da micafungina nesta população. Em 20% dos pacientes foi observado aumento transitório das transaminases. A micafungina na dose de 8 mg/kg por dia foi eficaz e bem tolerada. O sucesso do tratamento com micafungina foi alcançado em 61,9% dos pacientes, independentemente da duração do tratamento, e em pacientes que completaram um mínimo de 14 dias de terapia com micafungina o sucesso foi de 86,7%. Fungemias requerem um tempo maior de utilização e acompanhamento rotineiro de exames laboratoriais e de culturas microbiológicas.

Medidas para o controle de surtos por fungemia também são válidas, foi o que Shuping et al.⁽¹¹⁾ (2023) avaliaram, com a

vigilância infecciosa de 195 crianças em uma unidade neonatal na África do Sul. A sensibilidade da PCR para detecção rápida de colonização foi de 44% em comparação com a cultura. A taxa de incidência de infecção diminuiu 85% após a pesquisa e implementação do isolamento/coorte.

Candida spp. pode ser transferida de superfícies ambientais para as mãos. *Candida auris* demonstrou persistir em plásticos por pelo menos 14 dias, com testes de viabilidade indicando que as células também são capazes de entrar em um ambiente metabolicamente ativo, mas não cultivável. Dada a propensão de *C. auris* causar surtos, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos enfatiza a adesão a uma boa higiene das mãos, combinada com precauções padrão e de contato, isolamento de pacientes infectados em quartos privados, realização de limpeza diária completa e desinfecção de salas terminais.⁽¹⁸⁾

Dez anos após a identificação de *C. auris*, foi reportado o primeiro caso de COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2. As coinfeções por patógenos são extremamente alarmantes, a persistência de *C. auris* nas superfícies hospitalares e sua alta resistência aos antifúngicos, associadas às complicações causadas pela COVID-19, podem ser drásticas e resultar em óbitos. Os pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) correm maior risco de colonização/infecção por *C. auris*.⁽¹⁹⁾

Moin et al.⁽¹⁰⁾ (2021) avaliaram casos de candidemia associados ou não à COVID-19. Um total de 26 casos de candidemia (4 *C. auris*, 22 não-*C. auris*) em 2.438 internados por COVID-19 e 59 casos de candidemia (6 *C. auris*, 53 não-*C. auris*) em internados foram identificados pacientes não-COVID. Quatro dos 26 dos pacientes com candidemia por COVID-19 tinham idade ≤ 15 anos (10 meses a 15 anos). Os pacientes com candidemia por *C. auris* tiveram uma permanência mais longa no hospital antes da candidemia (20 vs. 9 dias) e maior taxa de isolamento de bactérias multirresistentes (100 vs. 50%). Tanto os pacientes com COVID-19 não-*C. auris* quanto os com *C. auris* tiveram taxa de mortalidade semelhante (65 vs. 67%).

CONCLUSÕES

Candida auris é um patógeno de relevância a nível global, devido ao seu impacto na saúde humana. O elenco terapêutico para tratamento da candidemia por *C. auris* é reduzido e a tendência é o aumento da resistência aos antifúngicos disponíveis. O controle de infecções nosocomiais e surtos intra-hospitalares deve ser priorizado.

A associação *C. auris* e outras condições dos pacientes, como doenças adjacentes, com destaque para COVID-19, favorece o aumento da morbidade e da mortalidade, estando a morbidade associada a danos neurológicos em bebês.

O uso indiscriminado de antimicrobianos foi destaque entre os estudos analisados, como preditor de infecção por *Candida spp.*, em indivíduos com sistema imunológico em formação, como neonatos e crianças, sendo imprescindível um cuidado multiprofissional associado para minimizar quaisquer danos aos pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Du H, Bing J, Hu T, Ennis CL, Nobile CJ, Huang G. *Candida auris*: Epidemiologia, biologia, resistência antifúngica e virulência. *PLoS Pathog*. 2020 Oct;16(10):e1008921. doi: 10.1371/journal.ppat.1008921
2. Kordalewska M, Perlin DS. Identification of Drug Resistant *Candida auris*. *Front. Microbiol*. 2019 Aug;10:1918. doi: 10.3389/fmicb.2019.01918
3. Almazeedi MA, Ghadeer HAAI, Bugshan AS, Alhrthi HL, Alshuaibi MK, Albarqi HH et al. Pattern and Frequency of Nosocomial Infections in the Pediatric Intensive. *Cureus*. 2023 Oct;15(10):e47561. doi: 10.7759/cureus.47561
4. Ochoa S, Constantine GM, Lionakis MS. Genetic susceptibility to fungal infection in children. *Current opinion in pediatrics*. *Curr Opin Pediatr*. 2020 Dec;32(6):780–789. doi: 10.1097/MOP.0000000000000948
5. Berrio B, Caceres DH, Coronell WR, Salcedo S, Mora L, Marin A, et al. Bloodstream Infections With *Candida auris* Among Children in Colombia: Clinical Characteristics and Outcomes of 34 Cases. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2021 Feb;10(Issue 2):151–154. doi: 10.1093/jpids/piaa038
6. Chandramati J, Sadanandan L, Kumar A, Ponthenkandath S. Neonatal *Candida auris* infection: Management and prevention strategies - A single centre experience. *J Paediatr Child Health*. 2020 Oct;56(10):1565–1569. doi: 10.1111/jpc.15019
7. Escandón P, Cáceres DH, Lizarazo D, Lockhart SR, Lyman M, Duarte C. Laboratory-based surveillance of *Candida auris* in Colombia, 2016–2020. *Mycoses*. 2022 Oct;65:222–225. doi: 10.1111/myc.13390
8. Kekana D, Naicker SD, Shuping L, Velaphi S, Nakwa FL, Wadula J, et al. *Candida auris* Clinical Isolates Associated with Outbreak in Neonatal Unit of Tertiary Academic Hospital, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2023 Oct;29(10):2044–2053. doi: 10.3201/eid2910.230181
9. Mohsin J, Weerakoon S, Ahmed S, Puts Y, Al Balushi Z, Meis JF, et al. A Cluster of *Candida auris* Blood Stream Infections in a Tertiary Care Hospital in Oman from 2016 to 2019. *Antibiotics*. 2020 Sep;9(10):638. doi: 10.3390/antibiotics9100638
10. Moin S, Farooqi J, Rattani S, Nasir N, Zaka S, Jabeen K. *C. auris* and non-*C. auris* candidemia in hospitalized adult and pediatric COVID-19 patients; single center data from Pakistan. *Medical Mycology*. 2021 Dec;59(Issue12):1238–1242. doi: 10.1093/mmy/nyab057
11. Shuping L, Maphanga TG, Naicker SD, Mpembe R, Ngoma N, Velaphi S, et al. High Prevalence of *Candida auris* Colonization during Protracted Neonatal Unit Outbreak, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2023 Sep;29(9):1913–1916. doi: 10.3201/eid2909.230393
12. Socarras JLA, Soler JAV, Paredes CF, Lamus KCV, Torres JPR, Morales AJR. A Cluster of Neonatal Infections Caused by *Candida auris* at a Large Referral Center in Colombia. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2021 May;10(Issue5): 549–555. doi: 10.1093/jpids/piaa152

13. Jenull S, Shivarathri R, Tsymala I, Penninger P, Trinh PC, Nogueira F, et al. Transcriptomics and Phenotyping Define Genetic Signatures Associated with Echinocandin Resistance in *Candida auris*. *mBio*. 2022 Aug;13(4):e0079922. doi: 10.1128/mbio.00799-22
14. Ashkenazi-Hoffnung L, Rosenberg Danziger C. Navigating the New Reality: A Review of the Epidemiological, Clinical, and Microbiological Characteristics of *Candida auris*, with a Focus on Children. *J Fungi (Basel)*. 2023 Jan;9(2):176. doi: 10.3390%2Fjof9020176
15. Oliveira JMV. Detecção e quantificação da expressão do gene ERG11 de *Candida albicans* sob diferentes concentrações de fluconazol[dissertation]. Alfenas: Instituto de Ciências da Natureza, Universidade Federal Alfenas; 2017. 67 p.
16. Benedetti VP, Savi DC, Aluizio R, Adamoski D, Kava V, Galli-Terasawa LV, et al. ERG11 gene polymorphisms and susceptibility to fluconazole in *Candida* isolates from diabetic and kidney transplant patients. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. 2019 Jan;52:e20180473. doi: 10.1590/0037-8682-0473-2018
17. Auriti C, Goffredo BM, Ronchetti MP, Piersigilli F, Cairoli S, Bersani I, et al. High-Dose Micafungin in Neonates and Young Infants with Invasive Candidiasis: Results of a Phase 2 Study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Mar;65(4):e02494-20. doi: 10.1128/AAC.02494-20
18. Spivak ES, Hanson KE. *Candida auris*: an Emerging Fungal Pathogen. *J Clin Microbiol*. 2018 Jan;56(2):e01588-17. doi: 10.1128/JCM.01588-17
19. Auriti C, Goffredo BM, Ronchetti MP, Piersigilli F, Cairoli S, Bersani I, et al. High-Dose Micafungin in Neonates and Young Infants with Invasive Candidiasis: Results of a Phase 2 Study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Mar;65(4):e02494-20. doi: 10.1128/AAC.02494-20

Candida auris infection in children and neonates: an integrative literature review

Infecção por Candida auris em crianças e neonatos: uma revisão integrativa de literatura

Brennda Araújo Nogueira¹, Tiffany Nogueira Sampaio², Antônio Victor Paz Ibiapina², Monique Maria de Souza Frota², Victoria Maria Paz Ibiapina², Francisco Yuri Neves Filizola², João Carlos Carneiro de Aguiar², Beatriz Araújo Nogueira³, Francinaldo Filho Castro Monteiro⁴, Paulo Henrique Soares Peixoto⁵, Olga Samara Silva Cavalcante⁶, Carla Ceres Azevedo Araújo Melo Miranda⁷

¹ Faculdade de Medicina Estácio (IDOMED), Graduação em Medicina. Canindé, CE, Brazil.

² Centro Universitário Inta (UNINTA), Graduação em Medicina. Sobral, CE, Brazil.

³ Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Graduação em Farmácia. Fortaleza, CE, Brazil.

⁴ Hospital Universitário Walter Cantídio, Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará (UFC), Residência em Terapia Intensiva. Fortaleza, CE, Brazil.

⁵ Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), Microbiologia. Fortaleza, CE, Brazil.

⁶ Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS), Farmácia Clínica. Fortaleza, CE, Brazil.

⁷ Centro Universitário Inta (UNINTA), Docência. Sobral, CE, Brazil.

Abstract

Introduction: Fungal species of the genus *Candida* are the predominant cause of nosocomial fungal infections and are the fourth leading cause of all nosocomial infections. **Objective:** To carry out an exploratory study in the literature on the implications associated with *Candida auris* infection in individuals in the pediatric age group. **Methodology:** This is an observational and descriptive study with a qualitative approach of the integrative literature review type. **Results:** 117 works were found in the selected databases, 71 results in Pubmed and 46 in the VHL. There were no results in the SciELO database. After screening by title, 57 publications were selected, of which 5 were duplicates in the databases. After reading the abstract and full text, 44 publications were excluded and 8 studies were selected. **Discussion:** In the pediatric population, the most common *C. auris* infection is bloodstream, the incidence is higher in males and the average mortality rate in studies with children and newborns is approximately 40%, with associations with other complications. **Conclusions:** *Candida auris* is a globally relevant pathogen due to its impact on human health. The therapeutic range for treating candidemia caused by *C. auris* is reduced and the tendency is for resistance to available antifungals to increase. The control of nosocomial infections and intra-hospital outbreaks must be prioritized.

Keywords: *Candida auris*; Pediatrics; Children; Newborn.

Resumo

Introdução: As espécies de fungos do gênero *Candida* são a causa predominante de infecções fúngicas nosocomiais e a quarta principal causa de todas as infecções hospitalares. **Objetivo:** Realizar um estudo exploratório na literatura acerca das implicações associadas à infecção por *Candida auris* em indivíduos na faixa etária pediátrica. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional e descritivo com abordagem qualitativa do tipo revisão integrativa de literatura. **Resultados:** Foram encontrados 117 trabalhos nas bases de dados selecionadas, 71 resultados na PubMed e 46 na BVS. Na base de dados do SciELO não houve resultado. Após triagem pelo título foram selecionadas 57 publicações, destas, 5 eram duplicadas nas bases de dados. Após leitura do resumo e texto completo foram excluídas 44 publicações e 8 estudos foram selecionados. **Discussão:** Na população pediátrica, a infecção mais comum por *C. auris* é a de corrente sanguínea; a incidência é maior no sexo masculino e a média de mortalidade nos estudos com crianças e neonatos é de aproximadamente 40%, com associações a outras complicações. **Conclusões:** *Candida auris* é um patógeno de relevância a nível global, visto seu impacto na saúde humana. O elenco terapêutico para tratamento da candidemia por *C. auris* é reduzido e a tendência é o aumento da resistência aos antifúngicos disponíveis. O controle de infecções nosocomiais e surtos intra-hospitalares deve ser priorizado.

Palavras-chave: *Candida auris*; Pediatria; Criança; Neonato.

Correspondência

Olga Samara Silva Cavalcante

E-mail: olgasamarasc@hotmail.com

Received on 05/02/2024

Approved on 10/19/2024

DOI: 10.21877/2448-3877.202400178.en

INTRODUCTION

Fungal infections have gained significant importance in medicine over the past decades due to their negative impact on health, particularly in immunosuppressed patients or those hospitalized with severe comorbidities. Fungal species of the *Candida* genus are the predominant cause of nosocomial fungal infections and the fourth leading cause of all hospital-acquired infections.^(1,2) According to Du et al.⁽¹⁾ (2020), approximately 400,000 bloodstream infections (BSIs) caused by *Candida* spp. occur annually worldwide, with mortality rates exceeding 40%.

The yeast *Candida auris* was first isolated in Japan in 2009 from the ear secretion of a female patient. In the following years, infections caused by *C. auris* became a global public health threat due to its rapid spread worldwide and its resistance to multiple antifungal drugs. Candidemia has been the most frequently reported type of invasive infection caused by *C. auris*, with mortality rates ranging from 30% to 60%.^(1,2)

In the pediatric population, the presence of an immature immune system generally increases susceptibility to infectious diseases. In the hospital setting, the need for mechanical ventilation, sedation, use of catheters, recurrent aspiration, prolonged hospitalization, and the presence of comorbidities are recognized risk factors for the development of nosocomial infections.⁽³⁾

Although the incidence rate is lower, fungal infections in newborns and children are an alarming reality due to the associated morbidity and mortality, as well as the limited pharmacological treatment options available.^(3,4) In a study by Almazeedi et al.⁽³⁾ (2023), which assessed nosocomial infections in a pediatric intensive care unit, it was reported that the mortality rate for fungal infections was higher compared to bacterial infections. It is worth noting that all fungal species reported in this study belong to the *Candida* genus.

Thus, the objective of this research is to conduct an exploratory study of the literature on the implications associated with *Candida auris* infection in individuals within the pediatric age group.

MATERIALS AND METHODS

This study is an observational and descriptive research with a qualitative approach, classified as an integrative literature review. The selection of scientific articles for this review was conducted using the following electronic databases: National Library of Medicine (PubMed), Virtual Health Library – Brazil (BVS Brasil), and Scientific Electronic Library Online (SciELO). The search strategy combined the descriptor "*Candida auris*" with "pediatrics," "children," and "neonatal," using the Boolean operator AND.

Studies in any language were considered, provided they involved human research within the pediatric age group or presented relevant correlations and were published within the last five years (2020–2024). Exclusion criteria included studies that did not align with the research objective, literature reviews, preprints, and those that did not meet the remaining inclusion criteria.

RESULTS

A total of 117 studies were retrieved from the selected databases, including 71 results from PubMed and 46 from the Virtual Health Library (BVS). No results were found in the SciELO database. After title screening, 57 publications were selected; among these, five were duplicates across the databases.

Following the abstract and full-text review, 44 publications were excluded, and eight studies were selected, as shown in Figure 1. The eight selected studies, which assessed the impact of *C. auris* infection in pediatric populations, are described in Chart 1.

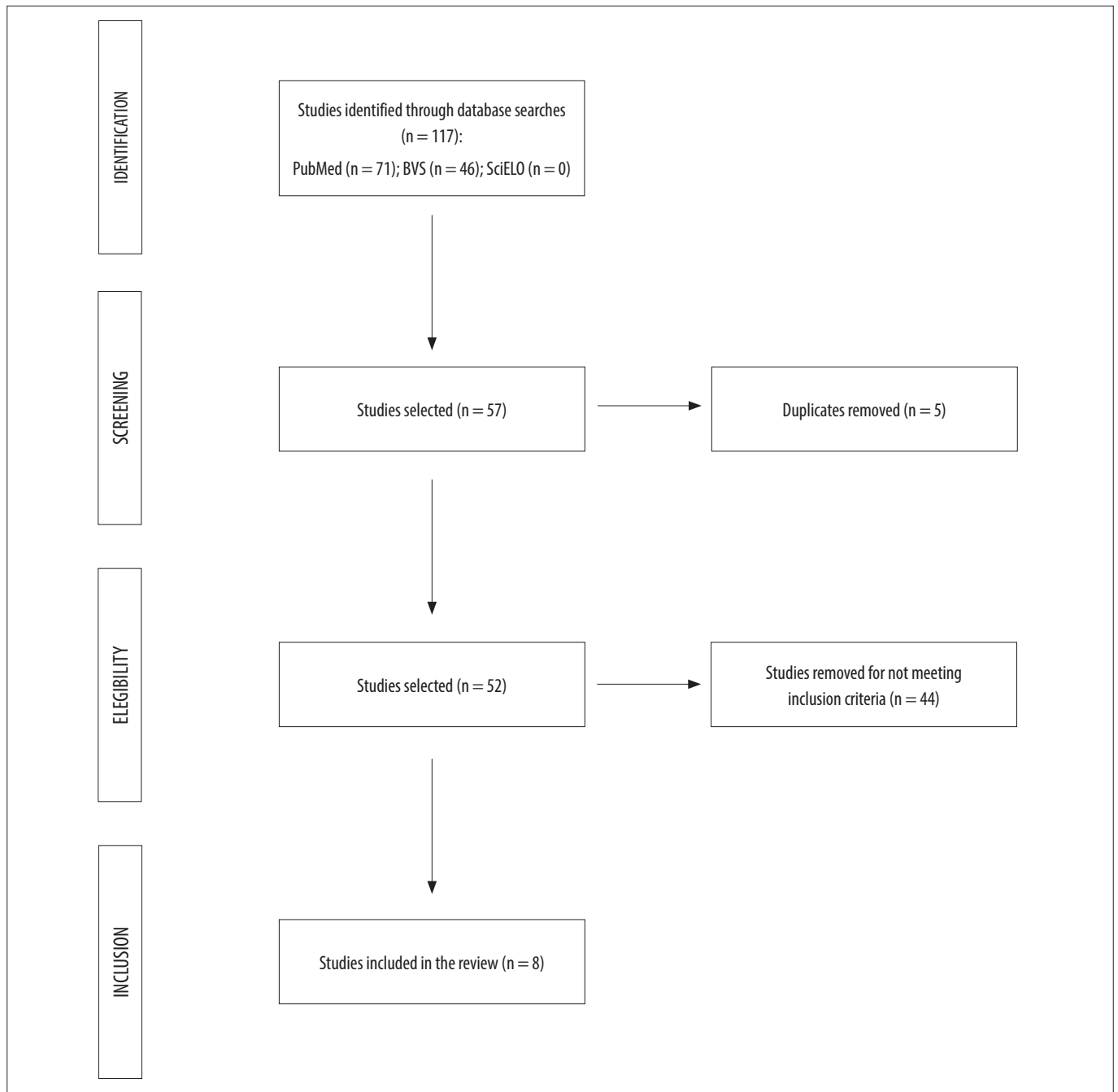


Figure 1
Research flowchart.

Source: Authors.

Chart 1

Studies that assessed the impacts of *C. auris* infection in pediatric populations.

AUTHOR	TITLE	STUDY TYPE	RESULTS
Berrio et al. ⁽⁵⁾ (2020)	Bloodstream infections with <i>Candida auris</i> among children in Colombia: Clinical characteristics and outcomes of 34 cases	Retrospective Study	Of the 34 children with candidemia caused by <i>C. auris</i> , 65% of the patients were male, and 47% were aged between 29 and 365 days. 82% had CVC. The associated hospital mortality was 41%, including 57% in neonates, 50% in non-neonatal infants, 17% in children aged 1 to 5 years, and 20% in those older than 5 years. The median time from <i>Candida</i> BSI to death was 10 days (IQR, 6-23 days).
Chandramati et al. ⁽⁶⁾ (2020)	Neonatal <i>Candida auris</i> infection: Management and prevention strategies - A single centre experience	Retrospective Study	The mean gestational age was 32.4 ± 4.9 weeks, with an overall mortality rate of 41%. The clinical features were indistinguishable from other causes of sepsis. <i>C. auris</i> was sensitive to micafungin but resistant to fluconazole, and it showed variable sensitivity to voriconazole and amphotericin. Survival improved to 83% when infants were treated with a combination of micafungin and amphotericin B. Non-survivors had lower birth weight and presented other risk factors.
Escandón et al. ⁽⁷⁾ (2021)	Laboratory-based surveillance of <i>Candida auris</i> in Colombia, 2016-2020	Retrospective Study	A total of 1,720 cases of <i>C. auris</i> were identified. The mean age of the patients was 34 years; 317 (18%) cases were children under 16 years old, and 54% were male. Antifungal susceptibility was tested in 379 isolates; 35% of the isolates were resistant to fluconazole, 33% were resistant to amphotericin B, and 0.3% of the isolates were resistant to anidulafungin. 12% were multidrug-resistant, and no pan-resistant isolates were identified.
Kekana et al. ⁽⁸⁾ (2023)	<i>Candida auris</i> Clinical Isolates Associated with Outbreak in Neonatal Unit of Tertiary Academic Hospital, South Africa	Cross-sectional study	Of the 287 cases of <i>C. auris</i> infection confirmed by culture and identified through laboratory surveillance, 207 (72%) had viable isolates, and 188 (66%) were processed for whole-genome sequencing. Clade III (118/188, 63%) and IV (70/188, 37%) isolates cocirculated in the hospital. All 181/188 isolates with fluconazole MIC > 32 µg/mL had mutations in ERG11. Dominated by clade III, the outbreak in neonatal units accounted for 32% (91/287) of all cases during the study period.
Mohsin et al. ⁽⁹⁾ 2020	A Cluster of <i>Candida auris</i> Blood Stream Infections in a Tertiary Care Hospital in Oman from 2016 to 2019	Retrospective Study	Of the 23 patients with <i>C. auris</i> fungemia, 2 were pediatric patients. All isolated samples were resistant to fluconazole but sensitive to echinocandins, which were used as the first-line therapy. <i>C. auris</i> affects both adults and children with a variety of risk factors, including central venous catheters and excessive use of antibiotics.
Moin et al. ⁽¹⁰⁾ (2021)	<i>C. auris</i> and non- <i>C. auris</i> candidemia in hospitalized adult and pediatric Covid-19 patients; single center data from Pakistan	Retrospective cohort study	A total of 26 cases of candidemia (4 <i>C. auris</i> , 22 non- <i>C. auris</i>) in 2,438 patients hospitalized for Covid-19 and 59 cases of candidemia (6 <i>C. auris</i> , 53 non- <i>C. auris</i>) in patients hospitalized for non-Covid-19 conditions were identified. Four of the 26 patients with candidemia and Covid-19 were aged ≤ 15 years (10 months to 15 years). Patients with <i>C. auris</i> candidemia had a longer hospital stay before the onset of candidemia (20 vs. 9 days) and a higher rate of multidrug-resistant bacterial isolation (100% vs. 50%). Both patients with Covid-19 and <i>C. auris</i> and those with non- <i>C. auris</i> candidemia had similar mortality rates (67% vs. 65%).
Shuping et al. ⁽¹¹⁾ (2023)	High Prevalence of <i>Candida auris</i> Colonization during Protracted Neonatal Unit Outbreak, South Africa	Cross-sectional study	Evaluation and infectious surveillance of 195 children. The sensitivity of a PCR for rapid detection of colonization was 44% compared to culture. The infection incidence rate decreased by 85% after the research and implementation of isolation/cohort strategies.
Socarras et al. ⁽¹²⁾ (2021)	A Cluster of Neonatal Infections Caused by <i>Candida auris</i> at a Large Referral Center in Colombia	Case series	A case series is reported involving 8 neonatal and pediatric patients who were treated at a large referral center in Colombia and developed invasive infections caused by <i>C. haemulonii</i> and <i>C. auris</i> .

Source: Authors.

Legend: CVC: central venous catheter; BSI: bloodstream infection; MIC: minimum inhibitory concentration.

DISCUSSION

When *C. auris* was first identified in 2009, infection by this pathogen was considered rare. However, over the past decade, the species has spread globally, causing outbreaks in healthcare facilities across more than 50 countries. The main concerns associated with *C. auris* infection include its high transmissibility and resistance to multiple available antifungal drugs.⁽¹³⁾

In this context, Berrio et al.⁽⁵⁾ (2021) conducted a retrospective study that followed 34 children with *C. auris* candidemia, of whom 65% were male and 47% were between 29 and 365 days old. The majority (82%) had a central venous catheter (CVC), which is one of the primary factors associated with fungal infection in children, especially in intensive care settings. Pediatric onco-hematologic patients requiring prolonged CVC use tend to develop recurrent infections caused by *Candida* spp. Other clinically observed risk factors that influence the development of fungal infections include age, underlying disease, neutropenia, immunodeficiency, corticosteroid use, and total parenteral nutrition.

In the study, 97% of patients received specific antifungal treatment for *C. auris* bloodstream infections. Among them, 47% were treated with amphotericin B deoxycholate, 29% with azoles, and 21% with caspofungin. Antifungal susceptibility testing was performed on 13 isolates, revealing resistance in 54% for amphotericin B, 15% for fluconazole, and 8% for anidulafungin, which were also resistant to amphotericin B but remained susceptible to caspofungin and micafungin. Amphotericin B is widely used in critically ill patients due to its broad-spectrum activity; however, resistance profiles such as those described in the study, combined with the slow growth of microbiological cultures, limit access to effective pharmacotherapy.

In clinical practice, patients with evident signs and symptoms of fungal infection are often treated empirically with antifungal agents due to delays in microbiological laboratory results. Treatment frequently begins with fluconazole; however, escalation to micafungin or amphotericin B is common in cases of clinical instability, severe thrombocytopenia, or abdominal surgeries. Laboratory and imaging follow-ups are essential for a rapid diagnosis of the condition when there is strong clinical suspicion. Tests such as complete blood counts showing thrombocytopenia, leukocytosis, and increased immature forms, as well as imaging modalities including X-rays, ultrasound, computed

tomography, and fundoscopy, are commonly used to investigate deep-seated infection sites.

In the same study, the associated hospital mortality rate was 41%, including 57% in neonates, 50% in non-neonatal infants, 17% in children aged 1 to 5 years, and 20% in those over 5 years of age. The median time from *Candida* spp. bloodstream infection to death was 10 days (IQR, 6–23 days). Premature neonates, particularly those with low or very low birth weight, tend to present more severe clinical conditions and have a higher likelihood of developing candidemia due to prolonged antibiotic use, immature immune systems, and gastrointestinal tract malformations. Consequently, these patients succumb more quickly to fungal infections than older children.

Additionally, in the pediatric population, the most common *C. auris* infection is bloodstream infection, with a higher incidence in males. The average mortality rate in studies involving children and neonates is approximately 40%, often associated with additional complications.⁽¹⁴⁾ In the study by Berrio et al.⁽⁵⁾ (2020), 26% of patients were premature, 59% were malnourished, 12% had cancer, 3% had undergone solid organ transplantation, and 3% had underlying kidney disease. Moreover, 82% received a blood transfusion within seven days before developing bloodstream infection, and 9% required hemodialysis. The most prevalent childhood cancer is acute lymphoblastic leukemia (ALL), which is frequently associated with recurrent hospitalizations, mainly due to febrile neutropenia and prolonged CVC use for chemotherapy administration. These factors, combined with weakened immunity, facilitate *Candida* spp. infections. Given the overall fragility of this clinical population, mortality tends to be significant.

Chandramati et al.⁽⁶⁾ (2020) obtained similar results in a study involving neonates, with a mean gestational age of 32.4 ($\pm$ 4.9) weeks and an overall mortality rate of 41%. The clinical characteristics were indistinguishable from other causes of sepsis. *C. auris* detected in the samples was susceptible to micafungin but resistant to fluconazole, with variable susceptibility to voriconazole and amphotericin B. Survival improved to 83% when infants were treated with a combination of micafungin and amphotericin B. Those who succumbed had lower birth weights and presented with additional risk factors.

Similarly, Socarras et al.⁽¹²⁾ (2021) analyzed a series of eight cases, reporting a mortality rate of 37.5%. However, this outcome was secondary to the underlying disease. The

authors also noted that invasive infections caused by *C. auris* likely increase mortality if antifungal therapy is not optimized and combined with other measures, such as the removal of colonized invasive devices, due to biofilm formation.⁽¹²⁾

The use of broad-spectrum antibacterial therapy was a critical risk factor shared by all the cases in the series reported in this study, recognized as a risk factor for invasive candidiasis. This risk is associated with multiple antimicrobial classes, but there is evidence that the use of piperacillin/tazobactam is a significant predisposing factor for systemic candidiasis. Additionally, neonates with gastrointestinal malformations (the intestine being one of the reservoirs of *Candida* spp.) and infants with complex heart diseases are at increased risk of invasive fungal infections, particularly those who undergo heart transplantation while on immunosuppressants, as well as patients with cardiac diseases causing pulmonary complications.⁽¹²⁾

Ashkenazi-Hoffnung and Rosenberg Danziger⁽¹⁴⁾ (2023) reported in their review on the topic that various clones of *C. auris* have emerged and been identified over the past decade. Phylogenetic analyses based on single nucleotide polymorphism (SNP) across the genome identified five main clades worldwide: South Asian (I), East Asian (II), South African (III), South American (IV), and a newly identified clade from Iran (V). It has been demonstrated that these clades exhibit unique clinical and microbiological characteristics. So far, nosocomial outbreaks and invasive infections have been associated with *C. auris* clades I, III, and IV.⁽¹⁴⁾

In the study by Kekana et al.⁽⁸⁾ (2023), which evaluated 287 cases of *C. auris* infection at a tertiary hospital in South Africa, it was found that 66% of the cases underwent whole-genome sequencing and identified the presence of *C. auris* clades III and IV. Clade III was more prevalent in neonatal infections (32%). In this study, among the 188 genetically evaluated samples, 181 exhibited a minimum inhibitory concentration (MIC) for fluconazole > 32 µg/mL and mutations in the ERG11 gene.

Regarding the treatment of *Candida* spp. infections, azole antifungals are typically used, as they inactivate lanosterol 14 α -demethylase, thereby inhibiting the biosynthesis of ergosterol, an essential component of fungal membranes and cellular integrity. Resistance to azoles is commonly associated with the indiscriminate use of antimicrobials but can also arise from intrinsic factors, such as mutations or alterations in the expression of genes like ERG11 and ERG3, which encode proteins involved in ergosterol biosynthesis. Mutations in these genes can critically affect the efficacy of azole antifungals.^(15,16)

In the study by Escandón et al.⁽⁷⁾ (2021), 1,720 cases of *C. auris* were identified in Colombia between 2016 and 2020. The median age of patients was 34 years, with 18% being children under 16 years old and 54% being male. Antifungal susceptibility was tested in 379 isolates, of which 35% were resistant to fluconazole, 33% to amphotericin B, and 0.3% to anidulafungin. Additionally, 12% were multidrug-resistant, and no pan-resistant isolates were identified.⁽¹²⁾

The study by Mohsin et al.⁽⁹⁾ (2020) also evaluated antifungal therapy, analyzing 23 samples from a tertiary hospital in Oman with *C. auris* fungemia. Among the 23 patients, two were pediatric. All isolated samples were nonsusceptible to fluconazole, confirming the yeast's resistance to azoles. However, they were susceptible to echinocandins, which were used as first-line therapy.

Although many studies demonstrate the susceptibility of *C. auris* to echinocandins such as anidulafungin, caspofungin, and micafungin, these therapeutic options may not suffice in the future, given the increasing resistance to this drug class, which will further limit the therapeutic arsenal.^(12,14)

Additionally, neonates hospitalized in neonatal intensive care units are at high risk for invasive candidiasis, which is the second most common cause of infection-related mortality, with a mortality rate ranging from 24% to 26%. Since micafungin clearance adjusted for body weight is higher in neonates than in older children and adults, neonates require higher weight-based doses of micafungin.⁽¹⁷⁾

Auriti et al.⁽¹⁷⁾ (2021) evaluated the efficacy and safety of micafungin in a clinical study involving 35 neonates and young infants colonized by *Candida* spp. A transient increase in transaminases was observed in 20% of patients. Micafungin at a dose of 8 mg/kg per day was effective and well tolerated. Treatment success with micafungin was achieved in 61.9% of patients regardless of treatment duration, and among those who completed at least 14 days of therapy, the success rate was 86.7%. Fungemia requires a longer treatment duration and routine monitoring of laboratory tests and microbiological cultures.

Measures for controlling fungemia outbreaks are also effective, as demonstrated by Shuping et al.⁽¹¹⁾ (2023), who conducted infectious surveillance of 195 children in a neonatal unit in South Africa. The sensitivity of PCR for rapid detection of colonization was 44% compared to culture. The infection incidence rate decreased by 85% following surveillance and the implementation of isolation/cohort measures.

Candida spp. can be transferred from environmental surfaces to hands. *Candida auris* has been shown to persist

on plastics for at least 14 days, with viability tests indicating that the cells can also enter a metabolically active but non-cultivable state. Given the propensity of *C. auris* to cause outbreaks, the U.S. Centers for Disease Control and Prevention emphasizes adherence to proper hand hygiene, combined with standard and contact precautions, isolation of infected patients in private rooms, thorough daily cleaning, and terminal room disinfection.⁽¹⁸⁾

Ten years after the identification of *C. auris*, the first case of Covid-19, a disease caused by the SARS-CoV-2 virus, was reported. Co-infections with pathogens are extremely alarming; the persistence of *C. auris* on hospital surfaces and its high resistance to antifungal agents, combined with the complications caused by Covid-19, can be severe and lead to fatalities. Patients admitted to Intensive Care Units (ICUs) are at higher risk of *C. auris* colonization/infection.⁽¹⁹⁾

Moin et al.⁽¹⁰⁾ (2021) evaluated cases of candidemia associated or not with Covid-19. A total of 26 cases of candidemia (4 *C. auris*, 22 non-*C. auris*) among 2,438 hospitalized Covid-19 patients and 59 cases of candidemia (6 *C. auris*, 53 non-*C. auris*) among non-Covid patients were identified. Four of the 26 patients with Covid-19-associated candidemia were ≤15 years old (10 months to 15 years). Patients with *C. auris* candidemia had a longer hospital stay before the onset of candidemia (20 vs. 9 days) and a higher rate of multidrug-resistant bacterial isolation (100% vs. 50%). Both non-*C. auris* Covid-19 patients and *C. auris* Covid-19 patients exhibited similar mortality rates (65 vs. 67%).

CONCLUSIONS

Candida auris is a pathogen of global concern due to its impact on human health. The therapeutic options for treating *C. auris* candidemia are limited, and resistance to available antifungals is increasing. Controlling nosocomial infections and in-hospital outbreaks should be prioritized.

The association between *C. auris* and other patient conditions, such as comorbidities, particularly COVID-19, contributes to increased morbidity and mortality, with morbidity linked to neurological damage in infants.

The indiscriminate use of antimicrobials was highlighted in the analyzed studies as a predictor of *Candida* spp. infection in individuals with developing immune systems, such as neonates and children. A multidisciplinary approach is essential to minimize harm to these patients.

REFERENCES

1. Du H, Bing J, Hu T, Ennis CL, Nobile CJ, Huang G. *Candida auris*: Epidemiologia, biologia, resistência antifúngica e virulência. *PLoS Pathog*. 2020 Oct;16(10):e1008921. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008921>
2. Kordalewska M, Perlin DS. Identification of Drug Resistant *Candida auris*. *Front. Microbiol*. 2019 Aug;10:1918. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01918>
3. Almazeedi MA, Ghadeer HAAI, Bugshan AS, Alhrthi HL, Alshuaibi MK, Albarqi HH et al. Pattern and Frequency of Nosocomial Infections in the Pediatric Intensive. *Cureus*. 2023 Oct;15(10):e47561. Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.47561>
4. Ochoa S, Constantine GM, Lionakis MS. Genetic susceptibility to fungal infection in children. Current opinion in pediatrics. *Curr Opin Pediatr*. 2020 Dec;32(6):780–789. Available at: <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000948>
5. Berrio B, Caceres DH, Coronell WR, Salcedo S, Mora L, Marin A, et al. Bloodstream Infections With *Candida auris* Among Children in Colombia: Clinical Characteristics and Outcomes of 34 Cases. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2021 Feb;10(Issue 2):151–154. Available at: <https://doi.org/10.1093/jpids/piaa038>
6. Chandramati J, Sadanandan L, Kumar A, Ponthenkandath S. Neonatal *Candida auris* infection: Management and prevention strategies - A single centre experience. *J Paediatr Child Health*. 2020 Oct;56(10):1565–1569. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpc.15019>
7. Escandón P, Cáceres DH, Lizarazo D, Lockhart SR, Lyman M, Duarte C. Laboratory-based surveillance of *Candida auris* in Colombia, 2016–2020. *Mycoses*. 2022 Oct;65:222–225. Available at: <https://doi.org/10.1111/myc.13390>
8. Kekana D, Naicker SD, Shuping L, Velaphi S, Nakwa FL, Wadula J, et al. *Candida auris* Clinical Isolates Associated with Outbreak in Neonatal Unit of Tertiary Academic Hospital, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2023 Oct;29(10):2044–2053. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2910.230181>
9. Mohsin J, Weerakoon S, Ahmed S, Puts Y, Al Balushi Z, Meis JF, et al. A Cluster of *Candida auris* Blood Stream Infections in a Tertiary Care Hospital in Oman from 2016 to 2019. *Antibiotics*. 2020 Sep;9(10):638. Available at: <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100638>
10. Moin S, Farooqi J, Rattani S, Nasir N, Zaka S, Jabeen K. *C. auris* and non-*C. auris* candidemia in hospitalized adult and pediatric COVID-19 patients; single center data from Pakistan. *Medical Mycology*. 2021 Dec;59(Issue12):1238–1242. Available at: <https://doi.org/10.1093/mmy/myab057>
11. Shuping L, Maphanga TG, Naicker SD, Mpembe R, Ngoma N, Velaphi S, et al. High Prevalence of *Candida auris* Colonization during Protracted Neonatal Unit Outbreak, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2023 Sep;29(9):1913–1916. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid2909.230393>
12. Socarras JLA, Soler JAV, Paredes CF, Lamus KCV, Torres JPR, Morales AJR. A Cluster of Neonatal Infections Caused by *Candida auris* at a Large Referral Center in Colombia. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2021 May;10(Issue5): 549–555. Available at: <https://doi.org/10.1093/jpids/piaa152>
13. Jenull S, Shivarathri R, Tsymala I, Penninger P, Trinh PC, Nogueira F, et al. Transcriptomics and Phenotyping Define Genetic Signatures Associated with Echinocandin Resistance in *Candida auris*. *mBio*. 2022 Aug;13(4):e0079922. Available at: <https://doi.org/10.1128/mbio.00799-22>
14. Ashkenazi-Hoffnung L, Rosenberg Danziger C. Navigating the New Reality: A Review of the Epidemiological, Clinical, and Microbiological Characteristics of *Candida auris*, with a Focus on Children. *J Fungi (Basel)*. 2023 Jan;9(2):176. Available at: <https://doi.org/10.3390%2Fjof9020176>

15. Oliveira JMV. Detecção e quantificação da expressão do gene ERG11 de *Candida albicans* sob diferentes concentrações de fluconazol[dissertation]. Alfenas: Instituto de Ciências da Natureza, Universidade Federal Alfenas; 2017. 67 p.
16. Benedetti VP, Savi DC, Aluizio R, Adamoski D, Kava V, Galli-Terasawa LV, et al. ERG11 gene polymorphisms and susceptibility to fluconazole in *Candida* isolates from diabetic and kidney transplant patients. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. 2019 Jan;52:e20180473. Available at: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0473-2018>
17. Auriti C, Goffredo BM, Ronchetti MP, Piersigilli F, Cairoli S, Bersani I, et al. High-Dose Micafungin in Neonates and Young Infants with Invasive Candidiasis: Results of a Phase 2 Study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Mar;65(4):e02494-20. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.02494-20>
18. Spivak ES, Hanson KE. *Candida auris*: an Emerging Fungal Pathogen. *J Clin Microbiol*. 2018 Jan;56(2):e01588-17. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.01588-17>
19. Auriti C, Goffredo BM, Ronchetti MP, Piersigilli F, Cairoli S, Bersani I, et al. High-Dose Micafungin in Neonates and Young Infants with Invasive Candidiasis: Results of a Phase 2 Study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021 Mar;65(4):e02494-20. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.02494-20>

Eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada para monitoramento do controle glicêmico no *diabetes mellitus*: uma revisão sistemática

Effectiveness of fructosamine and glycated albumin tests for monitoring glycemic control in diabetes mellitus: a systematic review

Ana Livia Lucinda Sousa¹, Caroline Pereira Domingueti²

^{1,2} Universidade Federal de São João Del Rei – Campus Centro Oeste. Divinópolis, MG, Brasil.

Resumo

Objetivo: Avaliar a eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada (AG) para monitoramento glicêmico no *diabetes mellitus* (DM). **Métodos:** A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados Medline/PubMed, Web of Science, Embase e Biblioteca Virtual em Saúde. Os critérios de elegibilidade foram coortes que compararam a eficácia dos exames frutossamina e/ou AG com a hemoglobina glicada (HbA1c) para monitoramento glicêmico no DM. O padrão de referência do monitoramento glicêmico consistiu em automonitoramento da glicemia ou sensor de monitoramento contínuo de glicose ou glicemia avaliada em pelo menos 3 dias durante pelo menos 2 meses. **Resultados:** Dentre os 11 estudos que avaliaram pacientes com doença renal crônica dialítica ou não dialítica, 7 encontraram maior eficácia da AG e/ou frutossamina em relação à HbA1c, 3 encontraram eficácia semelhante e 1 menor eficácia. A anemia ferropriva ou deficiência de eritropoietina foi avaliada por 3 estudos e todos verificaram que a AG e/ou frutossamina foram mais eficazes do que a HbA1c. Dentre os 5 estudos que avaliaram pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentavam condições clínicas que interferem na HbA1c, 4 encontraram eficácia semelhante entre AG e/ou frutossamina e HbA1c e 1 observou maior eficácia da AG. **Conclusão:** A frutossamina e a AG apresentam eficácia semelhante à HbA1c para monitoramento do controle glicêmico em pacientes com DM1 ou DM2 que não possuem condições clínicas que interferem na HbA1c, entretanto, nas situações em que há alteração na quantidade ou meia-vida das hemácias, a frutossamina e a AG apresentam eficácia superior à HbA1c.

Palavras-chave: *Diabetes Mellitus*. Frutossamina. Albumina Sérica Glicada. Glicemia. Controle Glicêmico.

Abstract

Objective: To evaluate the effectiveness of fructosamine and glycated albumin (GA) tests for glycemic monitoring in *diabetes mellitus* (DM). **Methods:** The search for articles was carried out in the Medline/PubMed, Web of Science, Embase and Virtual Health Library databases. The eligibility criteria were cohorts that compared the effectiveness of fructosamine and/or AG tests with glycosylated hemoglobin (HbA1c) for glycemic monitoring in DM. The reference standard for glycemic monitoring consisted of self-monitoring of blood glucose or continuous sensor glucose monitoring or blood glucose assessed on at least three days for at least two months. **Results:** Among the 11 studies that evaluated patients with dialysis or non-dialysis chronic kidney disease, 7 found greater efficacy of AG and/or fructosamine in relation to HbA1c, 3 found similar efficacy and 1 found lower efficacy. Iron deficiency anemia or erythropoietin deficiency was evaluated in 3 studies and all found that AG and/or fructosamine were more effective than HbA1c. Among the 5 studies that evaluated patients with T1DM or T2DM who did not have clinical conditions that interfere with HbA1c, 4 found similar efficacy between AG and/or fructosamine and HbA1c and 1 observed greater effectiveness of AG. **Conclusion:** Fructosamine and AG have similar efficacy to HbA1c for monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who do not have clinical conditions that interfere with HbA1c, however, in situations where there is a change in the quantity or half-life of red blood cells, fructosamine and AG are more effective than HbA1c.

Keywords: *Diabetes Mellitus*. Fructosamine. Glycated Serum Albumin. Blood Glucose. Glycemic Control.

Correspondência

Caroline Pereira Domingueti

E-mail: caroldomingueti@ufsj.edu.br

Recebido em 21/06/2024 | Aprovado em 09/01/2025 | DOI: 10.21877/2448-3877.202500189.pt

INTRODUÇÃO

O exame hemoglobina glicada (HbA1c) é o mais recomendado para monitoramento do controle glicêmico de pacientes com *diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). A HbA1c é resultante de um processo não enzimático e irreversível de glicação da hemoglobina, e reflete a glicemia média dos últimos 3 a 4 meses, já que a meia-vida das hemácias é de aproximadamente 120 dias, possibilitando, assim, a avaliação do controle glicêmico a longo prazo.⁽¹⁾

No entanto, o exame de HbA1c possui algumas limitações, já que algumas situações clínicas caracterizadas por alterações no número ou meia-vida das hemácias podem interferir no resultado do exame, o qual não refletirá o real controle glicêmico do paciente com *diabetes mellitus* (DM). Alguns fatores podem resultar em níveis falsamente reduzidos de HbA1c, como anemias hemolíticas; comprometimento da medula óssea por radiação, toxinas ou tumores; perda sanguínea; deficiência de eritropoietina secundária à doença renal crônica (DRC); administração de doses elevadas de vitamina C ou E, as quais inibem a glicação da hemoglobina; uso de medicamentos antirretrovirais, ribavirina ou dapsona, os quais promovem uma diminuição da meia-vida das hemácias; e gestação. Durante a gestação, ocorre aumento da volemia, que resulta em diminuição da concentração das hemácias e em anemia fisiológica, levando a uma falsa redução dos níveis de HbA1c.^(2,3)

Por outro lado, outros fatores podem resultar em níveis falsamente aumentados de HbA1c, como deficiência de ferro, vitamina B12 ou ácido fólico, que leva ao aumento da sobrevivência das hemácias; presença de hemoglobina carbamylada em pacientes com doença renal; presença de hemoglobina acetilada em pacientes que utilizam doses elevadas de ácido acetilsalicílico; alcoolismo crônico; uso de fenobarbital, o qual aumenta a reatividade da glicose à hemoglobina; condições que promovem aumento do número de hemácias e/ou do hematócrito.^(2,3)

Algumas hemoglobinopatias podem resultar em valores falsamente aumentados, falsamente reduzidos ou ainda não causar interferência na dosagem da HbA1c, dependendo do método utilizado para a sua dosagem laboratorial. Além disso, a variabilidade glicêmica ao longo do dia não pode ser avaliada com a utilização da HbA1c, visto que pacientes que apresentam picos de hiper e hipoglicemia podem apresentar níveis de HbA1c dentro da meta terapêutica.⁽²⁾

Diante das limitações da dosagem da HbA1c, a frutossamina e a albumina glicada (AG) têm se destacado como

exames alternativos para monitoramento da glicemia nos pacientes com DM. A frutossamina consiste nas proteínas plasmáticas ligadas de modo irreversível à glicose, sendo que a maior parte corresponde à albumina, enquanto a AG corresponde à dosagem apenas da albumina plasmática ligada irreversivelmente à glicose. Como a albumina possui meia vida de aproximadamente 21 dias, a AG e a frutossamina refletem o controle glicêmico das últimas 2 a 3 semanas, possibilitando o monitoramento do controle glicêmico a curto prazo.⁽⁴⁾

Estes exames não sofrem interferência das condições clínicas que cursam com alterações na meia-vida ou número das hemácias. Além disso, a taxa de glicação não enzimática da albumina é cerca de dez vezes maior que a da hemoglobina. Diante disso, tem-se uma flutuação maior da AG quando comparada à HbA1c, possibilitando a detecção mais rápida de alterações da glicemia. Contudo, condições que alteram os níveis das proteínas plasmáticas, como síndrome nefrótica, hepatite crônica e doenças da tireoide, podem interferir nos níveis de frutossamina e AG. Porém o emprego da relação AG/albumina total minimiza esta interferência.⁽⁴⁾

Diante das limitações da utilização da HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM e da necessidade do emprego de métodos alternativos, principalmente em pacientes que possuem condições clínicas que cursam com alteração da meia-vida ou número das hemácias, é importante a realização de uma revisão sistemática que avalie a eficácia dos exames frutossamina e AG para monitoramento do controle glicêmico no DM.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento do estudo

Revisão sistemática conduzida de acordo com as recomendações Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA)⁽⁵⁾ e Preferred Reporting Items for a Systematic Review and Meta-analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies (PRISMA-DTA).⁽⁶⁾

Estratégia de busca

Seleção de artigos no Medline (PubMed), Web of Science, Embase e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) empregando os descritores “fructosamine” e “glycated serum albumin” e seus respectivos *entry terms*, em combinação com o descritor “diabetes mellitus” e seus *entry terms* utilizando “AND” entre os termos, os quais foram definidos de acordo com o Medical Subject Headings (MeSH).

Critérios de Elegibilidade

Os critérios de elegibilidade foram estabelecidos de acordo com a recomendação PRISMA-DTA⁽⁶⁾ e consistem em coortes prospectivas ou retrospectivas que avaliaram a eficácia dos exames frutossamina e AG, em comparação com a HbA1c, para o monitoramento do controle glicêmico no DM.

Foram incluídos na revisão sistemática apenas os estudos cujo delineamento experimental permitiu a distinção dos pontos a seguir, de acordo com o acrônimo PIRTS:

- **Participants:** pacientes com DM.
- **Index test:** frutossamina e/ou AG comparados com HbA1c.
- **Reference standard:** Média da glicemia avaliada por meio de automonitoramento da glicemia ou sensor de monitoramento contínuo da glicemia (MCG) ou glicemia avaliada em pelo menos 3 dias diferentes durante pelo menos 2 meses.
- **Target conditions:** eficácia na avaliação do controle glicêmico.
- **Study design:** coorte prospectiva ou retrospectiva.
- A busca dos artigos nas bases de dados foi realizada no período de 11/05/2023 a 14/09/2023, sem limitação de ano de publicação ou idioma.

Seleção dos artigos

A seleção dos estudos foi feita em duas etapas, ambas realizadas por duas pessoas, de modo independente. Na primeira etapa, os artigos repetidos foram excluídos, e então foi realizada uma leitura preliminar do título e do resumo dos artigos com o objetivo de incluir apenas aqueles que são coortes prospectivas ou retrospectivas e que avaliam a eficácia dos exames frutossamina e AG para monitoramento do controle glicêmico no DM. Na segunda etapa, os artigos pré-selecionados foram lidos na íntegra, para avaliar a inclusão dos mesmos no estudo de acordo com os critérios de elegibilidade. Então, foi construído um fluxograma resumindo a quantidade de artigos incluídos e excluídos em cada etapa segundo os critérios estabelecidos, de acordo com a recomendação PRISMA.⁽⁵⁾

Extração de dados dos artigos selecionados

Os seguintes dados foram extraídos dos estudos para a construção de tabelas: autor, ano da publicação, país, desenho do estudo, características dos pacientes, idade, tamanho amostral, métodos utilizados para dosagem de HbA1c, AG e frutossamina, método utilizado para avaliação do monitoramento glicêmico; eficácia da AG e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico e resultados.

Avaliação da Qualidade dos Estudos

A avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão sistemática foi realizada por duas pessoas de modo independente. A ferramenta Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2),⁽⁷⁾ a qual avalia o risco de viés para estudos de acurácia de teste de diagnóstico, foi empregada para a avaliação da qualidade dos estudos. Esta ferramenta apresenta quatro domínios: seleção do paciente, *index test*, padrão de referência, fluxo e tempo. Todos os domínios são avaliados com relação ao risco de viés e os três primeiros domínios ainda são avaliados com relação à aplicabilidade do estudo. O risco de viés e a aplicabilidade dos estudos podem ser classificados como “baixo”, “alto” ou “incerto”.

RESULTADOS

As etapas de seleção dos artigos estão apresentadas em um fluxograma (Figura 1). Após avaliação dos critérios de elegibilidade, foram incluídos 19 estudos de coorte na revisão sistemática, sendo 17^(8-15,17-22,24-26) coortes prospectivas (89,5%) e 2^(16,23) coortes retrospectivas (10,5%).

A Tabela 1 apresenta a localização, desenho do estudo, características dos pacientes, tamanho amostral, idade, métodos utilizados para dosagem de HbA1c, AG e frutossamina, e para avaliação do monitoramento glicêmico dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Com relação ao local de realização dos estudos, 6 destes^(8,17,20,22,24,25) (31,6%) foram realizados no Japão, 4^(12,14,15,26) (21,1%) nos Estados Unidos, e 1 estudo (5,3%) foi conduzido em cada um dos seguintes países: Noruega,⁽⁹⁾ Grécia,⁽¹⁰⁾ Itália,⁽¹¹⁾ Egito,⁽¹³⁾ Brasil,⁽¹⁶⁾ Taiwan,⁽¹⁹⁾ Nova Zelândia⁽²¹⁾ e Coreia.⁽²³⁾ O tamanho amostral dos estudos variou de 21 a 903 pacientes.

Com relação às características dos pacientes, 2 estudos (10,6%) avaliaram pacientes com DM2 em hemodiálise (HD) e sem nefropatia,^(17,24) e cada um dos seguintes grupos de pacientes foram avaliados em 1 estudo (5,3%): pacientes com DM2,⁽²²⁾ pacientes com e sem DM2,⁽²⁶⁾ pacientes com DM2 em HD,⁽⁸⁾ pacientes com DM2 com e sem DRC,⁽¹⁴⁾ pacientes com DM2 com DRC com anemia ferropriva ou com deficiência de eritropoietina,⁽¹⁸⁾ adolescentes obesos com pré-diabetes ou DM2,⁽¹⁵⁾ crianças com DM1 com e sem anemia ferropriva,⁽¹³⁾ adultos com DM1,⁽²⁰⁾ pacientes com DM1 ou DM2,⁽¹²⁾ pacientes com DM1 ou DM2 em HD,⁽¹¹⁾ gestantes com diabetes pré-gestacional (DM1 ou DM2 ou diabetes familiar com idade de diagnóstico precoce (MODY),⁽⁹⁾ gestantes com DM1 ou DM2 ou *diabetes mellitus* gestacional (DMG ou *overt*

diabetes,⁽¹⁶⁾ pacientes em HD com e sem DM,⁽¹⁰⁾ pacientes com DM em diálise peritoneal (DP),⁽¹⁹⁾ pacientes com DM com e sem DRC,⁽²³⁾ pacientes com DM em HD e sem nefropatia,⁽²¹⁾ pacientes com DM com DRC em estágio terminal (DRCT) (pré-dialítica ou dialítica) e sem nefropatia.⁽²⁵⁾

Com relação à faixa etária, 2 estudos^(13,15) (10,5%) incluíram crianças e adolescentes com faixa etária de 5 a 18 anos. Os outros 17 estudos^(8-12,14,16-26) (89,5%) realizaram suas pesquisas com adultos e idosos.

O método mais utilizado para a avaliação da HbA1c foi a cromatografia líquida de alta eficiência, a qual foi empregada por 15 estudos^(9,10,12,14-23,25,26) (78,9%), ao passo que 1 estudo⁽¹¹⁾ (5,3%) utilizou a eletroforese capilar, 1 estudo⁽¹³⁾ (5,3%) o método colorimétrico, 1 estudo⁽²⁴⁾ (5,3%) a imunotubidimetria e 1⁽²⁴⁾ estudo (5,3%) não informou o método utilizado.

O método enzimático foi o mais utilizado para avaliação da AG, tendo sido utilizado por 12 estudos^(8,13-15,17,18,20-25) (63,2%), 2 estudos^(11,12) (10,5%) utilizaram o método colorimétrico, 1

estudo⁽¹⁰⁾ (5,3%) o ELISA, 1 estudo⁽⁹⁾ (5,3%) a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa, 1 estudo⁽¹⁹⁾ (5,3%) a imunoturbidimetria e 2 estudos^(16,26) (10,5%) não informaram o método utilizado para esta análise.

O método colorimétrico foi o mais utilizado para avaliação da frutossamina, tendo sido utilizado por 7 estudos^(14-16,18,19,21,26) (36,8%), e apenas 1 estudo⁽¹²⁾ (5,26%) empregou o método enzimático, e 11 estudos^(8-11,13,17,20,22-25) (57,9%) não informaram o método usado para esta dosagem.

A avaliação do controle glicêmico foi realizada por meio de sensor de MCG por 11 estudos^(8-10,14,15,17-21,26) (57,9%), 5 estudos^(12,13,16,22,25) (26,3%) utilizaram o automonitoramento com glicosímetro e 3 estudos^(11,23,24) (15,8%) mediram a glicemia em diferentes momentos da pesquisa.

A Tabela 2 descreve os principais resultados e indica se a AG e/ou frutossamina foram eficazes ou não para monitoramento do controle glicêmico nos estudos incluídos na revisão sistemática.

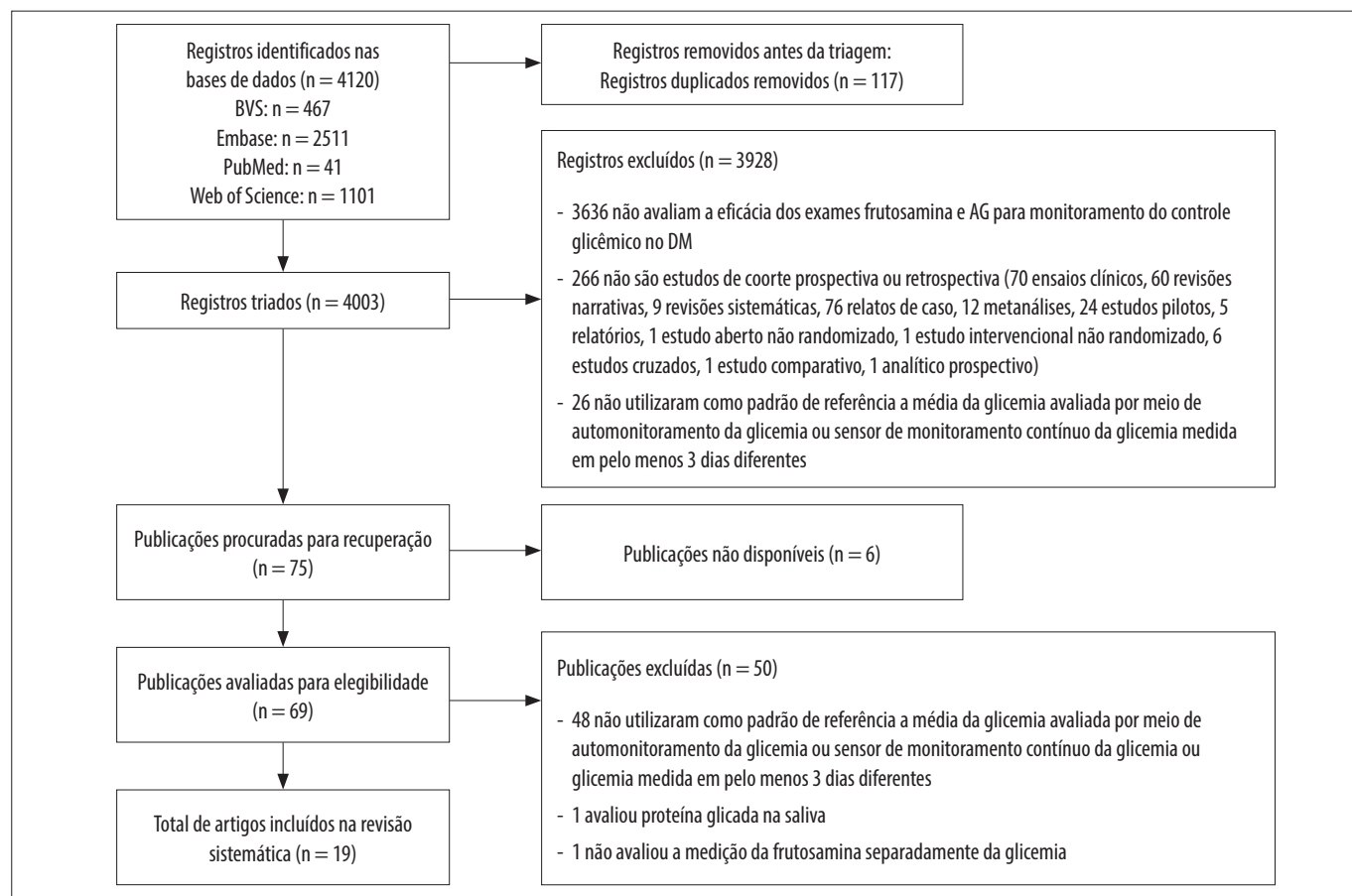


Figura 1

Fluxograma da seleção dos artigos que avaliam a eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada para monitoramento do controle glicêmico no *diabetes mellitus* e que foram incluídos na revisão sistemática.

Tabela 1

Localização, desenho do estudo, características dos pacientes, tamanho amostral, idade, métodos utilizados para dosagem de HbA1c, albumina glicada e frutossamina, e para avaliação do monitoramento glicêmico dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autor, ano	País	Desenho do estudo	Características dos pacientes e tamanho amostral	Idade (anos)	Métodos utilizados para dosagem da HbA1c; albumina glicada; frutossamina	Método utilizado para avaliação do monitoramento glicêmico
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	Japão	Coorte prospectiva	107 pacientes com DM2 em HD	62 ± 12	NI; Enzimático; NA	Uso de sensor de MCG durante 48 horas. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG. A porcentagem de tempo em que a glicemia estava entre 70 e 180 mg/dL foi considerado TIR, < 70 mg/dL como TBR, e > 180 mg/dL como TAR.
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	Noruega	Coorte prospectiva	40 gestantes com diabetes pré-gestacional (23 com DM1, 13 com DM2, 1 com MODY)	30,9 ± 5,5	HPLC LC-MS/MS; NA	Uso de sensor de MCG. As concentrações de glicose no sangue foram estimadas a cada 10 ou 15 minutos a partir dos níveis de glicose intersticial durante 14 dias anteriores a cada coleta de sangue nas semanas 12, 20, 24, 28, 32 e 36 da gravidez. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG. A porcentagem de tempo em que a glicemia estava < 63 mg/dL foi definida como TBR, > 140 mg/dL como TAR e < 54 mg/dL como TBR2.
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	Grécia	Coorte prospectiva	37 pacientes com DM1 ou DM2 em HD	62,0 ± 17,3	HPLC; ELISA; NA	Uso de sensor de MCG. As concentrações de glicose no sangue foram estimadas a cada 5 minutos a partir dos níveis de glicose intersticial durante 7 dias. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG. A glicemia entre 70 e 180 mg/dL < 50% das leituras foi considerada TIR, < 70 mg/dL em > 10% das leituras como TBR, e > 250 mg/dL > 1% das leituras como TAR.
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	Itália	Coorte prospectiva	160 pacientes em HD (60 com DM, 98 sem DM, 2 com tolerância diminuída à glicose)	64,1 ± 12,6	Eletroforese capilar; Colorimétrico; NA	A glicemia foi avaliada em 5 momentos: T0, T1 (após 30 dias), T2 (após 60 dias), T3 (após 90 dias) e T4 (após 6 meses).
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	Estados Unidos	Coorte prospectiva	150 pacientes com DM (73 com DM1 e 77 com DM2)	50,5 ± 15,63	HPLC; Colorimétrico; Enzimático	A glicemia de jejum foi avaliada nas semanas 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20 e 24. Automonitoramento da glicemia capilar foi realizado 7 vezes, pelo menos 1 dia por semana, utilizando glicosímetro.
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	Egito	Coorte prospectiva	147 crianças com DM1 (72 com anemia ferropriva e 75 sem anemia ferropriva)	9,9 ± 3,40 com anemia 10,4 ± 2,91 sem anemia	Colorimétrico; Enzimático; NA	Automonitoramento glicêmico, aferindo a glicemia capilar sete vezes ao dia durante 30 dias, utilizando glicosímetro. Foi calculada a glicemia média de 30 dias.
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	Estados Unidos	Coorte prospectiva	105 pacientes com DM2 (81 com DRC moderada a grave e 24 sem DRC)	68,4 ± 9,6 com DRC 64,3 ± 10,3 sem DRC	HPLC; Enzimático; Colorimétrico	Uso de sensor de MCG durante dois períodos não consecutivos de 6 dias separados por 2 semanas. As concentrações de glicose no sangue foram estimadas a cada 5 minutos a partir dos níveis de glicose intersticial. A glicemia média estimada de MCG foi calculada a partir de todas as medidas válidas de MCG em ambos os períodos.
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	Estados Unidos	Coorte prospectiva	56 adolescentes obesos com pré-diabetes ou DM2	14,3 (12,5 – 15,9)	HPLC; Enzimático; Colorimétrico	Uso de sensor de MCG durante 72 horas. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG.
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	Brasil	Coorte retrospectiva	158 gestantes (11 com DM1, 36 com DM2, 109 com DMG, 2 <i>overt</i> diabetes)	NI	HPLC; NA; Colorimétrico	Automonitoramento glicêmico, aferindo a glicemia capilar de quatro a sete vezes ao dia, a depender do uso de insulina durante 20 dias. Foram calculadas a frequência de hiperglicemias (glicemias acima da meta terapêutica para o horário de aferição) e de hipoglicemias (glicemias < 70 mg/dL).
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	Japão	Coorte prospectiva	97 pacientes com DM2 (41 em HD, 56 sem nefropatia)	60,2 ± 11,7 em HD 55,9 ± 16,7 sem nefropatia	HPLC; Enzimático; NA	Uso de sensor de MCG durante 72 horas. Foram calculadas a glicemia média estimada de MCG e o desvio padrão glicêmico. Foram calculados os seguintes marcadores de variabilidade glicêmica: diferença entre os níveis mais altos e mais baixos de glicose, índice J (combinação da média e desvio padrão de todos os valores de glicose), amplitude média das excursões de glicemia, grau de dissociação do nível ideal de glicemia, índice de controle glicêmico (soma dos índices hiperglicêmico e hipoglicêmico), média da diferença diária entre os valores de glicose no mesmo horário do dia em 2 dias consecutivos.

Tabela 1 (continuação)

Autor, ano	País	Desenho do estudo	Características dos pacientes e tamanho amostral	Idade (anos)	Métodos utilizados para dosagem da HbA1c; albumina glicada; frutossamina	Método utilizado para avaliação do monitoramento glicêmico
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	Reino Unido	Coorte prospectiva	30 pacientes com DM2 e DRC estágios 3b ou 4 (15 anemia ferropriva e 15 deficiência de eritropoietina)	72 (68 – 74) anemia ferropriva 70 (62 – 75) deficiência eritropoietina	HPLC; Enzimático; Colorimétrico	Uso de sensor de MCG 1 mês antes do início da terapia com ferro ou agente estimulante da eritropoiese e 1 mês após o término da terapia. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG.
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	Taiwan	Coorte prospectiva	25 pacientes com DM em DP	59 ± 13	HPLC; Imunoturbidimetria; Colorimétrico	Uso de sensor de MCG durante 3 dias. As concentrações de glicose no sangue foram estimadas a cada 5 minutos. Foi calculada a AUC da média de 3 dias de glicemia.
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	Japão	Coorte prospectiva	21 pacientes com DM1	42 (25 – 75)	HPLC; Enzimático; NA	Uso de sensor de MCG durante 72 horas. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG, o desvio padrão glicêmico e o coeficiente de variação. Foram calculados os seguintes marcadores de variabilidade glicêmica: AUC para níveis de glicose > 180 mg/dL e < 70 mg/dL, TAR (porcentagem de tempo em que a glicemia ficou > 180 mg/dL), TBR (porcentagem de tempo em que a glicemia ficou < 70 mg/dL), índice J (combinação de da média e desvio padrão de todos os valores de glicose), índice de glicemia elevada, índice de glicemia reduzida, grau de dissociação do nível ideal de glicemia, índice de controle glicêmico (soma dos índices hiperglicêmico e hipoglicêmico), média da diferença diária entre os valores de glicose no mesmo horário do dia em 2 dias consecutivos.
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	Nova Zelândia	Coorte prospectiva	50 pacientes com DM (25 com DRC estágios 4 ou 5 e 25 sem DRC)	60,2 (32 – 79) com DRC 59,3 (40 – 76) sem DRC	HPLC; Enzimático; Colorimétrico	Uso de sensor de MCG durante 48 horas. As concentrações de glicose no sangue foram estimadas a cada 5 minutos. Foi calculada a glicemia média estimada de MCG.
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	Japão	Coorte prospectiva	40 pacientes com DM2	66,2 ± 8,8	HPLC; Enzimático; NA	Automonitoramento de glicemia 3 vezes ao dia por mais de 2 dias durante 1 a 2 semanas e 3 a 4 semanas antes da medida mensal de HbA1c e albumina glicada, as quais medidas mensalmente durante 4 meses.
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	Coreia	Coorte retrospectiva	108 pacientes com DM (70 em HD e 38 sem DRC)	58,4 ± 12,8 em HD 56,8 ± 11,6 sem DRC	HPLC; Enzimático; NA	Medidas da glicemia de 1 mês atrás, 2 meses atrás e 3 meses atrás
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	Japão	Coorte prospectiva	903 pacientes com DM2 (538 em HD e 365 sem DRC)	NI	Imunoturbidimetria; Enzimático; NA	Os valores médios de 3 medidas mensais de glicemia casual obtidas durante os 2 meses antes da dosagem de HbA1c e albumina glicada.
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	Japão	Coorte prospectiva	86 pacientes com DM com DRCT (49 pré-dialítico e 37 dialítico) e 40 com DM sem DRC	63,9 ± 13,1 pré-dialítico 64,4 ± 11,1 dialítico 57,7 ± 14,4 sem DRC	HPLC; Enzimático; NA	Automonitoramento da glicemia 7 vezes ao dia e foi calculada a glicemia média.
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	Estados Unidos	Coorte prospectiva	40 com DM2 16 sem DM	78 ± 2 com DM2 83 ± 3 sem DM	HPLC; NA Colorimétrico	A glicemia em jejum foi avaliada mensalmente por 4 meses. Uso de sensor de MCG por 13 dos pacientes com DM2. Foi calculada a glicemia capilar média de MCG.

DM1 = diabetes mellitus tipo 1, DM2 = diabetes mellitus tipo 2, DMG = diabetes mellitus gestacional, DM = diabetes mellitus, DP = diálise peritoneal, DRC = doença renal crônica, DRCT = doença renal crônica terminal, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay (ensaio de imunoabsorção enzimática), HbA1c = hemoglobina glicada, HD = hemodálise, LC-MS/MS = cromatografia líquida acoplada a espectrometria massa, MCG = monitoramento contínuo da glicemia, NA = não avaliado, NI = não informado, TAR = time above range (tempo acima da faixa), TBR = time below range (tempo abaixo da faixa), TIR = time in range (tempo na faixa), HPLC = high performance liquid chromatography (cromatografia líquida de alto desempenho), AUC = área sobre a curva, T0 = tempo zero, T1 = tempo um, T2 = tempo dois, T3 = tempo três, T4 = tempo quatro.

Tabela 2

Principais resultados e eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autor, ano	Resultados	Eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	Quanto maior o TIR, menores foram os níveis de HbA1c e albumina glicada. Não houve correlações significativas entre TBR e HbA1c, e TBR e albumina glicada ($R^2 = 0,030$, $p = 0,0749$; $R^2 = 0,032$, $p = 0,0652$, respectivamente). Houve correlações significativas entre TAR e HbA1c, e TAR e albumina glicada ($R^2 = 0,45$, $p < 0,0001$; $R^2 = 0,26$, $p < 0,0001$, respectivamente).	Albumina glicada e HbA1c foram igualmente efetivas para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 em HD
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	Foram observadas correlações entre albumina glicada e glicemia média 0,49 (0,28, 0,62), TIR -0,58 (-0,77, -0,27), TAR 0,56 (0,35, 0,71) e TBR -0,09 (-0,47, -0,25), e entre HbA1c e glicemia média 0,63 (0,32, 0,79), TAR 0,58 (0,22, 0,77) e TBR -0,44 (-0,64, -0,14). As AUCs ajustadas para albumina glicada na detecção de TIR < 70%, TAR > 25%, TBR > 4% e TBR2 > 1% foram 0,78 (0,60 - 0,95), 0,82 (0,70 - 0,94), 0,56 (0,31 - 0,82) e 0,66 (0,42 - 0,90), respectivamente. As AUCs ajustadas para HbA1c na detecção de TIR < 70%, TAR > 25%, TBR > 4% e TBR2 > 1% foram 0,60 (0,41 - 0,78), 0,72 (0,54 - 0,90), 0,30 (0,13 - 0,47) e 0,32 (0,13 - 0,52), respectivamente. O valor de corte ideal da albumina glicada para detectar TIR < 70% foi > 10,5%, com sensibilidade de 68% (52% - 83%) e especificidade de 73% (51% - 95%). O ponto de corte ideal da albumina glicada para detectar TAR > 25% foi > 11% com sensibilidade de 70% (54% - 87%) e especificidade de 79% (62% - 96%).	Albumina glicada foi mais efetiva do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de gestantes com diabetes pré-gestacional, pois a albumina glicada foi mais precisa do que a HbA1c para detectar TIR < 70% e TAR > 25%
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	Os níveis de albumina glicada foram maiores em pacientes com TIR < 50% ($21,9 \pm 4,6$ %) do que naqueles com TIR $\geq$ 50% ($15,0 \pm 4,1$) ($p < 0,001$). Os níveis de HbA1c não diferiram entre pacientes com TIR < 50% ($7,1 \pm 1,3$ %) em comparação com aqueles com TIR $\geq$ 50% ($6,3 \pm 1,4$ %) ($p = 0,10$). A AUC para albumina glicada e HbA1c para detectar TIR < 50% foi 0,878 (0,728 - 0,962) e 0,682 (0,508 - 0,825), respectivamente. A AUC para albumina glicada foi significativamente maior que a AUC para HbA1c, sendo a diferença entre áreas de 0,196 (0,062 - 0,330) ($p < 0,01$). O ponto de corte ideal para albumina glicada foi > 18,96%, com sensibilidade de 90,9% e especificidade de 88,4%, com índice de Youden de 0,793. O ponto de corte ideal para HbA1c foi > 6,29%, o que não proporcionou uma combinação satisfatória de sensibilidade (81,8%) e especificidade (61,5%) na detecção de TIR > 50%. O índice de Youden foi de 0,433, indicando menor eficiência diagnóstica de HbA1c. A AUC para albumina glicada e HbA1c na detecção de um TAR > 10% foi 0,939 (0,808 - 0,991) e 0,854 (0,699 - 0,945), respectivamente. A diferença nas AUCs não foi estatisticamente significativa, sendo a diferença entre áreas de 0,085 (-0,034 - 0,204) ($p = 0,16$). O ponto de corte ideal para albumina glicada foi > 16,27%, com 100% de sensibilidade e 79,2% de especificidade, com índice de Youden de 0,791. O ponto de corte ideal para HbA1c foi > 6,29%, com sensibilidade de 92,3% e especificidade de 70,8%, com um índice de Youden de 0,631. A AUC na detecção de uma TBR > 1% foi 0,712 (0,539 - 0,848) para albumina glicada e 0,740 (0,570 - 0,870) para HbA1c. Nem albumina glicada e nem HbA1c tiveram uma combinação satisfatória de sensibilidade e especificidade na detecção de TBR > 1%. O índice de Youden foi 0,429 e 0,471 para albumina glicada e HbA1c, indicando menor eficiência de ambos os biomarcadores na detecção de hipoglicemia.	Albumina glicada foi mais efetiva do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2 em HD, pois a albumina glicada foi mais precisa do que a HbA1c para detectar TIR < 50% e TAR > 10%
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	Para o ponto de corte de 14,5% de albumina glicada, a sensibilidade foi 84,77 e a especificidade foi 77,95. Para o ponto de corte de 48 mmol/mol de HbA1c, a sensibilidade foi 39,51 e a especificidade foi 99,55. As curvas ROC de albumina glicada e HbA1c apresentaram AUC de 0,883 e 0,927, respectivamente ($p < 0,001$). Nos pacientes urêmicos, diabéticos e não diabéticos, as discrepâncias entre albumina glicada e HbA1c encontradas foram de 21,2% e 20,8%, respectivamente. Elas foram caracterizadas por valores de albumina glicada acima do ponto de corte já em T0 e por valores de HbA1c na faixa normal em T0 com aumento progressivo nos tempos de medição subsequentes.	Albumina glicada foi mais efetiva do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes em HD com e sem DM, pois a albumina glicada apresentou maior capacidade preditiva na detecção precoce de glicometabólicos do que a HbA1c

Tabela 2 (continuação)

Autor, ano	Resultados	Eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	Nos pacientes com HbA1c entre 7,5% e 12,0% (n = 98), durante os primeiros 3 meses do estudo, as correlações de Spearman foram de 0,481 entre albumina glicada e glicemia média e 0,233 entre HbA1c e glicemia média, com uma diferença significativa de 0,249 (0,130 - 0,367) (p < 0,0001). As correlações de Kendall (analisam a direção em que ocorreu a mudança nos índices glicêmicos) foram maiores entre albumina glicada e glicemia média (0,341) do que entre HbA1c e glicemia média (0,160), com uma diferença significativa de 0,181 (0,096 - 0,265) (p < 0,0001). Embora tenha havido um alto nível de concordância entre albumina glicada e frutossamina, conforme medido pelas correlações de Pearson (0,9198), Spearman (0,9491) e Kendall (0,7639), a albumina glicada apresentou consistentemente correlações mais altas com HbA1c e glicemia média do que a frutossamina. As correlações entre albumina glicada e HbA1c (0,585) e entre albumina glicada e glicemia média (0,548) foram significativamente maiores do que aquelas observadas entre frutossamina e HbA1c (0,395) e entre frutossamina e glicemia média (0,413) (p < 0,001). As mudanças na albumina glicada foram concordantes (aumentou ou diminuiu na mesma direção) com alterações de glicemia média em 60,8% das vezes, com a frutossamina em 55,5%, e com HbA1c em 45,5%.	Albumina glicada foi mais efetiva do que HbA1c e a frutossamina para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2, pois a albumina glicada apresentou maior correlação com a glicemia média do que a HbA1c e a frutossamina
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	A glicemia média apresentou correlações significativas com HbA1c (r = 0,73, p < 0,01) e albumina glicada (r = 0,47, p < 0,01) nos pacientes sem anemia ferropriva. A glicemia média apresentou correlação apenas com albumina glicada nos pacientes com anemia ferropriva (r = 0,52, p < 0,01). A análise da curva ROC de HbA1c e albumina glicada para predição de DM não controlado nos pacientes com anemia ferropriva mostrou que a albumina glicada em um ponto de corte > 16,9% teve sensibilidade de 87,2% e especificidade de 75,8%, enquanto a HbA1c em um ponto de corte de > 7,09% teve sensibilidade de 80,0% e de especificidade de 57,6%.	Albumina glicada foi mais efetiva do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM1 e anemia ferropriva, pois a albumina glicada apresentou maior correlação com a glicemia média e maior sensibilidade e especificidade para predição de DM não controlado do que a HbA1c
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	As correlações de Pearson de HbA1c, albumina glicada e frutossamina com a glicemia média estimada foram semelhantes entre si tanto para pacientes sem DRC (r = 0,76; r = 0,72; r = 0,63; respectivamente) quanto para aqueles com DRC (r = 0,78; r = 0,78; r = 0,71; respectivamente). Os valores de HbA1c, albumina glicada e frutossamina ficaram dentro de 10% do valor previsto pela glicemia média estimada em 78%, 52% e 43% das vezes, respectivamente, para pacientes sem DRC. Os valores de HbA1c, albumina glicada e frutossamina ficaram dentro de 10% do valor previsto pela glicemia média estimada em 75%, 55% e 64% das vezes, respectivamente, para pacientes com DRC. A HbA1c, a albumina glicada e a frutossamina foram significativamente mais variáveis como marcadores de glicemia média estimada para pacientes com menor TFG. Para pacientes com a mesma glicemia média estimada, os níveis de albumina glicada e frutossamina foram menores naqueles de menor idade, maior IMC, menor ferro sérico, menor saturação da transferrina, menor albumina sérica e maior albuminúria, enquanto os níveis de HbA1c foram menores naqueles com maior albuminúria. A mudança na glicemia média estimada nos dois períodos foi mais fortemente correlacionada com a mudança na albumina glicada (r = 0,67) do que com mudança na frutossamina (r = 0,48) ou HbA1c (r = 0,26).	Albumina glicada e frutossamina foram menos efetiva do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 e DRC, pois não apresentaram menor variabilidade do que a HbA1c e apresentaram mais fontes de viés
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	A frutossamina se correlacionou com a glicemia média (r = 0,42, p = 0,002), pico de glicemia (r = 0,34, p = 0,01), (amplitude média das excursões glicêmicas (r = 0,33, p = 0,01) porcentagem de tempo de glicemia > 120 mg/dL (r = 0,40, p = 0,002), > 140 mg/dL (r = 0,33, p = 0,01) e > 200 mg/dL (r = 0,37, p = 0,006). A albumina glicada se correlacionou com a glicemia média (r = 0,34, p = 0,001), pico de glicemia (r = 0,38, p = 0,004), AUC > 180 (r = 0,33, p = 0,01), desvio padrão glicêmico (r = 0,41, p = 0,002) amplitude média das excursões glicêmicas (r = 0,45, p = 0,0006) porcentagem de tempo de glicemia > 120 mg/dL (r = 0,43, p = 0,02), > 140 mg/dL (r = 0,37, p = 0,005) e > 200 mg/dL (r = 0,43, p = 0,001). A HbA1c se correlacionou com a glicemia média (r = 0,36, p = 0,006), desvio padrão glicêmico (r = 0,32, p = 0,02) amplitude média das excursões glicêmicas (r = 0,38, p = 0,003) porcentagem de tempo de glicemia > 120 mg/dL (r = 0,32, p = 0,02) e > 140 mg/dL (r = 0,34, p = 0,01).	Albumina glicada, frutossamina e HbA1c foram igualmente efetiva para monitorar o controle glicêmico de adolescentes obesos com pré-diabetes ou DM2

Tabela 2 (continuação)

Autor, ano	Resultados	Eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	Os coeficientes τ de Kendall obtidos foram de $T = 0,19$ entre frutossamina e HbA1c ($p < 0,001$); $T = 0,29$ entre frutossamina e frequência de hiperglicemias ($p < 0,001$); $T = 0,09$ entre frutossamina e frequência de hipoglicemias ($p = 0,046$); $T = 0,50$ entre HbA1c e frequência de hiperglicemias ($p < 0,001$); e $T = 0,25$ entre HbA1c e frequência de hipoglicemias ($p < 0,001$). Para a predição da frequência de hiperglicemias, a medida da frutossamina apresentou coeficiente de correlação linear $R^2 = 0,26$ ($p < 0,001$) e a medida da HbA1c apresentou coeficiente de correlação linear $R^2 = 0,513$ ($p < 0,001$). Um aumento de 1% na dosagem da HbA1c prediz em 51,3% das vezes um aumento de 17,2% (15,15 - 19,24%) ($p < 0,001$) na frequência de hiperglicemias. Um aumento de 1 $\mu\text{mol/L}$ na dosagem de frutossamina prediz em 26,5% das vezes um aumento de 0,29% (0,24 - 0,35) ($p < 0,001$) na frequência de hiperglicemias. A medida da frutossamina apresentou coeficiente de correlação linear $R^2 = 0,033$ para predição da frequência de hipoglicemias ($p = 0,003$) e a medida da HbA1c apresentou coeficiente de correlação linear $R^2 = 0,059$ para predição da frequência de hipoglicemias ($p < 0,001$). Apenas 3,3% da variação na frequência de hipoglicemias pode ser explicada pela variação da dosagem de frutossamina e 5,9% pela variação da HbA1c.	Frutossamina foi menos efetiva do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de gestantes com DM1 ou DM2 ou DMG ou <i>overt</i> diabetes, pois a frutossamina apresentou menor correlação com a frequência de hiper e hipoglicemias do que a HbA1c
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	A glicemia média se correlacionou com HbA1c nos pacientes em HD ($r = 0,59$, $p < 0,0001$) e naqueles sem nefropatia ($r = 0,40$, $p < 0,005$). A glicemia média se correlacionou com albumina glicada nos pacientes em HD ($r = 0,42$, $p < 0,01$) e naqueles sem nefropatia ($r = 0,60$, $p < 0,0001$). HbA1c se correlacionou com o desvio padrão glicêmico nos pacientes em HD ($r = 0,47$, $p = 0,005$), mas não naqueles sem nefropatia. Albumina glicada se correlacionou com o desvio padrão glicêmico nos pacientes em HD ($r = 0,68$, $p = 0,0001$) e naqueles sem nefropatia ($r = 0,31$, $p = 0,05$). HbA1c e albumina glicada se correlacionaram com os marcadores de variabilidade glicêmica.	Albumina glicada e HbA1c foram igualmente efetiva para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 em HD
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	Nos pacientes com anemia ferropriva, os níveis de HbA1c diminuíram de 7,4% (5,5 – 8,9%) para 7,0% (5,1 – 8,6%) após a terapia com ferro ($p < 0,001$), contudo, os níveis de albumina glicada, frutossamina e glicemia média estimada não alteraram após a terapia com ferro. Os níveis de HbA1c diminuíram de 7,3% (5,5 – 9,7%) para 6,6% (5,1 – 8,7%) após a terapia com agente estimulante da eritropoiese ($p = 0,01$), contudo, os níveis de albumina glicada, frutossamina e glicemia média estimada não alteraram após a terapia com agente estimulante da eritropoiese.	Albumina glicada e frutossamina foram mais efetivas do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 e DRC estágios 3b ou 4 com anemia ferropriva ou deficiência de eritropoietina
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	A AUC da média de 3 dias de glicemia se correlacionou com frutossamina ($r = 0,45$, $p = 0,05$), frutossamina corrigida pela albumina ($r = 0,54$, $p = 0,01$) e HbA1c ($r = 0,51$, $p < 0,01$). A AUC da média de 3 dias de glicemia não correlacionou com albumina glicada ($r = -0,26$, $p = 0,26$) e com glicemia de jejum ($r = 0,36$, $p = 0,08$).	Frutossamina corrigida pela albumina e HbA1c foram igualmente efetivas para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM em DP e foram mais eficazes do que albumina glicada
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	A glicemia média se correlacionou com HbA1c ($r = 0,59$, $p = 0,0052$) e com albumina glicada ($r = 0,58$, $p = 0,0055$). Albumina glicada se correlacionou com os marcadores de variabilidade glicêmica: desvio padrão glicêmico, AUC para níveis de glicose > 180 mg/dL, TAR > 180 mg/dL, índice J, índice de glicemia elevada, grau de dissociação do nível ideal de glicemia, índice de controle glicêmico. A HbA1c se correlacionou com os marcadores de variabilidade glicêmica: AUC para níveis de glicose > 180 mg/dL, TAR > 180 mg/dL, índice de glicemia elevada, grau de dissociação do nível ideal de glicemia.	Albumina glicada e HbA1c foram igualmente efetivas para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM1
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	A glicemia média se correlacionou com albumina glicada nos pacientes sem DRC ($r = 0,49$, $p < 0,05$) e naqueles com DRC ($r = 0,54$, $p < 0,01$). A glicemia média se correlacionou com frutossamina nos pacientes sem DRC ($r = 0,44$, $p < 0,05$) e naqueles com DRC ($r = 0,56$, $p < 0,01$). A glicemia média se correlacionou com HbA1c nos pacientes sem DRC ($r = 0,66$, $p < 0,001$), mas não naqueles com DRC nefropatia ($r = 0,38$, $p = 0,07$).	Albumina glicada e frutossamina foram mais efetivas do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM e DRC, pois se correlacionaram com a glicemia média

Tabela 2 (continuação)

Autor, ano	Resultados	Eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	A HbA1c se correlacionou com glicemia média de jejum de 4 semanas ($R = 0,68$, R^2 ajustado = $0,46$, $p < 0,0001$) e com a glicemia média 1 e 2 horas após café da manhã de 4 semanas ($R = 0,58$, R^2 ajustado = $0,31$, $p < 0,0001$). A albumina glicada se correlacionou com a glicemia média de jejum de 4 semanas ($R = 0,51$, R^2 ajustado = $0,26$, $p < 0,0001$) e com a glicemia média 1 e 2 horas após café da manhã de 4 semanas ($R = 0,74$, R^2 ajustado = $0,52$, $p < 0,0001$). A análise de regressão multivariada demonstrou que a glicemia de jejum é o preditor mais forte da HbA1c e a glicemia pós prandial é o preditor mais forte da albumina glicada.	Albumina glicada e HbA1c foram igualmente efetivas para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	Os coeficientes de correlação entre a HbA1c e a média ponderada da glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês nos pacientes sem DRC foram 0,735 (0,543-0,854), 0,766 (0,592-0,872) e 0,783 (0,618-0,882), respectivamente. Os coeficientes de correlação entre a albumina glicada e a média ponderada da glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês nos pacientes sem DRC foram 0,640 (0,402-0,796), 0,641 (0,404-0,797) e 0,677 (0,457-0,820), respectivamente. Os coeficientes de correlação entre a HbA1c e a média ponderada da glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês nos pacientes em HD foram 0,625 (0,457-0,750), 0,597 (0,422-0,730) e 0,568 (0,385-0,709), respectivamente. Os coeficientes de correlação entre a albumina glicada e a média ponderada da glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês nos pacientes em HD foram 0,713 (0,574-0,812), 0,691 (0,544-0,796) e 0,682 (0,532-0,790), respectivamente. A inclinação da equação de regressão linear simples entre HbA1c e a média ponderada de glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês foi de 0,014 (0,010-0,018), 0,014 (0,009-0,018) e 0,012 (0,008-0,017) nos pacientes em HD, respectivamente, e de 0,032 (0,024-0,040), 0,031 (0,024-0,038) e 0,029 (0,022-0,035) nos pacientes sem DRC, respectivamente, e houve diferença significativa entre as inclinações nos dois grupos ($p=0,001$, $0,001$ e $<0,001$). A inclinação da equação de regressão linear simples entre a albumina glicada e a média ponderada de glicemia de 3 meses, 2 meses e 1 mês foi de 0,090 (0,066-0,115), 0,089 (0,064-0,114) e 0,080 (0,055-0,104) nos pacientes em HD, respectivamente, e de 0,147 (0,111-0,184), 0,141 (0,106-0,176) e 0,130 (0,097-0,162) nos pacientes sem DRC, respectivamente, e não houve diferença significativa entre as inclinações nos dois grupos ($p=0,224$, $0,335$ e $0,139$).	Albumina glicada foi mais efetiva do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes em HD, pois a albumina glicada se correlacionou melhor com a média ponderada da glicemia de 3 meses do que a HbA1c
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	A glicemia média se correlacionou com albumina glicada ($r = 0,539$, $p < 0,001$) e com HbA1c ($r = 0,520$, $p < 0,001$) nos pacientes com DM em HD. A glicemia média se correlacionou com albumina glicada ($r = 0,498$, $p < 0,001$) e com HbA1c ($r = 0,630$, $p < 0,001$) nos pacientes com DM sem DRC. A inclinação da regressão linear entre HbA1c e glicemia média foi significativamente menor nos pacientes com DM em HD naqueles com DM e sem DRC ($p < 0,001$), enquanto a inclinação entre albumina glicada e glicemia média não diferiu significativamente entre pacientes com DM em HD e aqueles sem DRC ($p = 0,10$). Os pacientes com DM em HD foram divididos em quatro categorias de acordo com os valores de HbA1c: Excelente ($< 6,0\%$), bom (6,0 a 7,0%), regular (7,0 a 8,0%) e ruim ($> 8,0\%$). Foram 307 (57,1%), 128 (23,7%), 65 (12,1%) e 38 (7,1%) pacientes em cada grupo, respectivamente. Os pacientes com DM em HD foram divididos em quatro categorias de acordo com os valores de albumina glicada: Excelente ($< 18,0\%$), bom (18,0 a 21,0%), regular (21,0 a 24,0%) e ruim ($> 24,0\%$). Foram 152 (28,3%), 106 (19,7%), 84 (15,6%) e 196 (36,4%) pacientes em cada grupo, respectivamente. As proporções de controle glicêmico baseadas na HbA1c foram significativamente diferentes daquelas baseadas na albumina glicada ($p < 0,001$). HbA1c se correlacionou com a dose semanal de eritropoietina ($r = 0,159$, $p < 0,001$) em pacientes com DM2 em HD, enquanto que a albumina glicada GA se correlacionou ($r = 0,055$, $p = 0,201$). A glicemia média e a albumina glicada não diferiram significativamente entre os pacientes com DM2 em HD que recebiam eritropoietina e aqueles que não recebiam eritropoietina. A HbA1c foi significativamente menor nos pacientes com DM2 em HD que recebiam eritropoietina do que naqueles que não recebiam eritropoietina ($p < 0,05$).	Albumina glicada foi mais efetiva do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 em HD, pois a albumina glicada não apresentou alteração significativa nas inclinações de regressão para pacientes em HD e sem DRC e não sofreu interferência da anemia decorrente da deficiência de eritropoietina.

Tabela 2 (continuação)

Autor, ano	Resultados	Eficácia da albumina glicada e/ou frutossamina para monitoramento do controle glicêmico
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	HbA1c se correlacionou com a glicemia média nos pacientes pré-dialíticos ($r = 0,47$, $p < 0,0005$), dialíticos ($r = 0,42$, $p < 0,01$) e sem DRC ($r = 0,67$, $p < 0,0001$). A inclinação da linha de regressão para os pacientes com DRCT (pré-dialíticos e dialíticos) foi menor quando comparada com a dos pacientes sem DRC e foi observada diferença significativa ($p = 0,045$) entre as três inclinações de regressão na análise de variância, indicando que, nos pacientes com DRCT, os níveis de HbA1c foram inferiores ao indicado pela glicemia média. Albumina glicada se correlacionou com glicemia média nos pacientes em pré-dialíticos ($r = 0,56$, $p < 0,0001$), dialíticos ($r = 0,50$, $p < 0,0005$) e sem DRC ($r = 0,68$, $p < 0,0001$). Não houve diferença significativa entre as três inclinações de regressão na análise de variância.	Albumina glicada foi mais efetiva do que HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM com DRCT, pois a albumina glicada não apresentou alteração significativa nas inclinações de regressão para pacientes com DRCT e sem DRC
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	A glicemia média de jejum de 4 meses se correlacionou com a frutossamina ($r = 0,79$, $p < 0,001$) e com a HbA1c ($r = 0,78$, $p < 0,001$). A glicemia capilar média de MCG se correlacionou com a frutossamina ($r = 0,66$, $p < 0,001$) e com a HbA1c ($r = 0,74$, $p < 0,001$).	Frutossamina e HbA1c foram igualmente efetiva para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2

DM1 = diabetes mellitus tipo 1, DM2 = diabetes mellitus tipo 2, DMG = diabetes mellitus gestacional, DM = diabetes mellitus, DP = diálise peritoneal, DRC = doença renal crônica, DRCT = doença renal crônica terminal, HbA1c = hemoglobina glicada, HD = hemodiálise, MCG = monitoramento contínuo da glicemia, TAR = *time above range* (tempo acima da faixa), TBR = *time below range* (tempo abaixo da faixa), TIR = *time in range* (tempo na faixa), AUC = área sob a curva.

Dentre os 6 estudos^(8,10,11,17,23,24) (31,6%) que avaliaram pacientes em HD, 4 estudos^(10,11,23,24) (66,7%) encontraram maior eficácia da AG em relação à HbA1c e em 2 estudos^(8,17) (33,3%) a AG apresentou eficácia igual à HbA1c. Apenas 1 estudo⁽¹⁹⁾ (5,3%) avaliou pacientes em diálise peritoneal (DP) e verificou que a frutossamina corrigida pela AG e a HbA1c foi igualmente efetiva no monitoramento glicêmico. Dentre os 4 estudos^(14,18,21,25) (21,0%) que avaliaram a DRC, 3 estudos^(18,21,25) (75,0%) observaram maior eficácia da AG e da frutossamina para monitoramento glicêmico quando comparada com a HbA1c e 1 estudo⁽¹⁴⁾ (25,0%) verificou menor eficácia da AG e da frutossamina em relação à HbA1c.

Dentre os 2 (10,5%) estudos^(9,16) que avaliaram gestantes, 1 estudo⁽⁹⁾ (50,0%) verificou que a AG apresentou maior eficácia no monitoramento glicêmico quando comparada com a HbA1c. Enquanto que o outro estudo⁽¹⁶⁾ (50,0%) observou que a frutossamina foi menos efetiva do que a HbA1c. A presença de anemia ferropriva ou deficiência de eritropoietina foi avaliada por 3 estudos^(13,18,24) (15,9%) e todos estes (100,0%) verificaram que a AG e a frutossamina foram mais eficazes no monitoramento glicêmico quando comparadas com a HbA1c.

Dentre os 5 estudos^(12,15,20,22,26) que avaliaram pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentavam condições clínicas que interferem no exame de HbA1c, 4 estudos^(20,22,26)

(80,0%) verificaram que a AG e/ou frutossamina apresentaram eficácia igual à da HbA1c para o monitoramento glicêmico, e 1 estudo⁽¹²⁾ (20,0%) observou maior eficácia da AG para o monitoramento glicêmico quando comparada à HbA1c.

Com relação ao risco de viés, a avaliação da qualidade dos artigos incluídos na revisão sistemática demonstrou que todos⁽⁸⁻²⁶⁾ apresentaram alto risco de viés para os tópicos teste índice. Os resultados do teste índice (frutossamina, AG e HbA1c) foram interpretados com conhecimento prévio dos resultados do padrão de referência (monitoramento da glicemia) e os pontos de corte utilizados não foram pré-definidos; e fluxo e temporização, pois apesar do teste índice e do padrão de referência terem sido avaliados simultaneamente, o padrão de referência diferiu entre os estudos.

Por outro lado, todos os artigos⁽⁸⁻²⁶⁾ apresentaram baixo risco de viés para os tópicos seleção dos pacientes, pois os pacientes foram incluídos de modo consecutivo ou randômico, todos os estudos são coortes e não foram realizadas exclusões inapropriadas; e padrão de referência, pois o padrão de referência possibilitou a correta avaliação do monitoramento da glicemia e foi interpretado sem conhecimento prévio dos resultados do teste índice.

Com relação à aplicabilidade, a avaliação da qualidade demonstrou que todos os estudos⁽⁸⁻²⁶⁾ apresentaram alto risco

para o tópico “padrão de referência”, pois o padrão de referência foi interpretado utilizando diferentes pontos de corte. Para o tópico “seleção dos pacientes”, 11 estudos^(8,10,11,14,17-19,21,23-25) apresentaram alto risco, pois os pacientes apresentavam DRC dialítica ou não dialítica, a qual pode interferir nos exames de frutossamina e AG, e 8 estudos^(9,12,13,15,16,20,22,26) apresentaram baixo risco, pois os pacientes não apresentavam condições clínicas que pudessem interferir nos exames de frutossamina e AG. Para o tópico “teste índice”, 16 estudos^(9,10,12,14-26)

apresentaram baixo risco, pois utilizaram metodologias adequadas para dosagem da HbA1c (HPLC ou imunoturbidimetria), 2 estudos^(11,13) apresentaram alto risco, pois não utilizaram metodologias adequadas para dosagem da HbA1c (método colorimétrico ou eletroforese capilar) e 1 estudo⁽⁸⁾ apresentou risco incerto, pois não informou a metodologia utilizada para dosagem da HbA1c.

A Tabela 3 apresenta a avaliação da qualidade dos estudos realizada com emprego da ferramenta QUADAS-2.⁽⁷⁾

Tabela 3

Avaliação da qualidade dos estudos de acordo com a ferramenta QUADAS-2.⁽⁷⁾

Autor/Ano	Risco de Viés				Aplicabilidade		
	Seleção dos Pacientes	Teste Índice	Padrão de Referência	Fluxo e Temporização	Seleção dos Pacientes	Teste Índice	Padrão de Referência
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	B	A	B	A	A	?	A
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	B	A	B	A	B	B	A
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	B	A	B	A	A	B	A
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	B	A	B	A	A	A	A
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	B	A	B	A	B	B	A
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	B	A	B	A	B	A	A
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	B	A	B	A	A	B	A
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	B	A	B	A	B	B	A
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	B	A	B	A	B	B	A
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	B	A	B	A	A	B	A
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	B	A	B	A	A	B	A
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	B	A	B	A	A	B	A
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	B	A	B	A	B	B	A
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	B	A	B	A	A	B	A
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	B	A	B	A	B	B	A
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	B	A	B	A	A	B	A
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	B	A	B	A	A	B	A
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	B	A	B	A	A	B	A
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	B	A	B	A	B	B	A

B – Baixo risco; A – Alto risco; ? – Risco incerto⁽⁷⁾.

DISCUSSÃO

Os estudos incluídos nesta revisão sistemática observaram que a frutossamina e a AG, de modo geral, apresentam eficácia semelhante à HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentam condições clínicas que interferem na dosagem da HbA1c. Tsutsumi e cols. (2013)⁽²⁰⁾ demonstraram que as correlações da glicemia média com a HbA1c ($r = 0,59$, $p = 0,0052$) e com a AG ($r = 0,58$, $p = 0,0055$) foram semelhantes em pacientes com DM1. Cefalu e cols. (1989)⁽²⁶⁾ verificaram fortes correlações entre a glicemia média de jejum de 4 meses e a frutossamina ($r = 0,79$, $p < 0,001$) ou a HbA1c ($r = 0,78$, $p < 0,001$), e entre a glicemia capilar média de MCG e a frutossamina ($r = 0,66$, $p < 0,001$) ou a HbA1c ($r = 0,74$, $p < 0,001$) em pacientes com DM2. Chan e cols (2017)⁽¹⁵⁾ também observaram uma boa correlação entre a glicemia média e a frutossamina ($r = 0,42$, $p = 0,002$), a AG ($r = 0,34$, $p = 0,001$) e a HbA1c ($r = 0,36$, $p = 0,006$) em adolescentes obesos com pré-diabetes ou DM2.

Sakuma e cols. (2011)⁽²²⁾ ainda observaram que a HbA1c e a AG se correlacionaram com a glicemia média de jejum de 4 semanas (HbA1c: $R = 0,68$, R^2 ajustado = $0,46$, $p < 0,0001$; AG: $R = 0,51$, R^2 ajustado = $0,26$, $p < 0,0001$) e com a glicemia média 1 e 2 horas após café da manhã de 4 semanas (HbA1c: $R = 0,58$, R^2 ajustado = $0,31$, $p < 0,0001$; AG: $R = 0,74$, R^2 ajustado = $0,52$, $p < 0,0001$) em pacientes com DM2. Demonstraram também que a glicemia de jejum é o preditor mais forte da HbA1c, enquanto a glicemia pós-prandial é o preditor mais forte da AG nestes pacientes. Desouza e cols. (2020)⁽¹²⁾ por sua vez, verificaram uma melhor correlação entre a AG e a glicemia média ($r = 0,481$) do que entre a HbA1c e a glicemia média ($r = 0,233$) durante os primeiros 3 meses de estudo em pacientes com DM1 ou DM2 com mau controle glicêmico (HbA1c entre 7,5% e 12,0%) cujo tratamento havia sido modificado visando um melhor controle glicêmico, sendo a diferença entre as correlações de $0,249$ ($0,130 - 0,367$) ($p < 0,0001$). Os autores também observaram que as correlações de Kendall, as quais analisam a direção em que ocorreu a mudança nos índices glicêmicos, foram maiores entre a AG e a glicemia média ($0,341$) do que entre a HbA1c e a glicemia média ($0,160$), com uma diferença entre as correlações de $0,181$ ($0,096 - 0,265$) ($p < 0,0001$). Estes achados demonstram que a AG é um marcador interessante para avaliar rapidamente o efeito de alterações no tratamento sobre o controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2.

Diante da eficácia semelhante entre a HbA1c e os exames de AG e frutossamina para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2 que não possuem condições que interferem no exame de HbA1c, a HbA1c deve ser utilizada rotineiramente para o monitoramento do controle glicêmico a longo prazo destes pacientes, de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022).⁽²⁷⁾ Os exames de frutossamina e AG podem ser empregados nas situações em que é necessária a avaliação do controle glicêmico a curto prazo, como no pré-operatório, início do tratamento ou mudança na terapia, visto que a frutossamina reflete a média da glicemia das últimas 2 a 3 semanas.⁽⁴⁾

Em pacientes com DRC, o aumento de produtos urêmicos leva a uma diminuição da meia-vida das hemácias. Além disso, a lesão nos rins afeta a produção da eritropoietina, levando, consequentemente, a uma baixa produção de hemácias. Diante disso, há uma menor quantidade de hemoglobina na circulação sistêmica, resultando em falsa redução dos níveis de HbA1c, pois uma menor quantidade de eritrócitos estará disponível para se ligar à glicose.⁽²⁸⁾ Ademais, os pacientes com DRC apresentam um estado inflamatório, o qual resulta em resistência da medula à ação da eritropoietina. Este estado inflamatório promove, também, um aumento da produção de hepcidina, um peptídeo que inibe a absorção intestinal do ferro e a mobilização do ferro do sistema reticuloendotelial, resultando em deficiência ferro absoluta ou funcional, respectivamente, e em anemia.^(28,29)

A maioria dos estudos incluídos nesta revisão sistemática que avaliou pacientes com DM com DRC não dialítica ou dialítica verificou que a frutossamina e a AG apresentam maior eficácia do que a HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico. Vos e cols. (2012)⁽²¹⁾ observaram que a AG ($r = 0,54$, $p < 0,01$) e a frutossamina ($r = 0,56$, $p < 0,01$) se correlacionaram com a glicemia média nos pacientes com DRC, entretanto a HbA1c não apresentou correlação significativa com a glicemia média nestes pacientes ($r = 0,38$, $p = 0,07$). Park e cols. (2009)⁽²³⁾ ainda verificaram que a AG se correlacionou melhor com a média ponderada da glicemia de 3 meses do que a HbA1c em pacientes em HD.

Chujo e cols. (2006)⁽²⁵⁾ observaram que tanto a HbA1c quanto a AG se correlacionaram com glicemia média nos pacientes pré-dialíticos, dialíticos e sem DRC. Contudo, a inclinação da linha de regressão na análise de variância da HbA1c foi menor para os pacientes pré-dialíticos e dialíticos do que para os pacientes sem DRC, indicando que os níveis de HbA1c foram inferiores ao indicado pela glicemia média

nos pacientes com DRCT. Por outro lado, não houve diferença significativa entre as três inclinações de regressão na análise de variância da AG. Inaba e cols. (2007)⁽²⁴⁾ também observaram que a inclinação da regressão linear entre HbA1c e glicemia média foi menor nos pacientes em HD do que naqueles sem DRC ($p < 0,001$), enquanto que a inclinação entre AG e glicemia média não diferiu significativamente entre os dois grupos ($p = 0,10$).

Divani e cols. (2021)⁽¹⁰⁾ ainda demonstraram que a AG foi mais precisa do que a HbA1c para detectar tempo no faixa $< 50\%$ e tempo acima do alvo $> 15\%$ nos pacientes com DM1 ou DM2 em HD, e Martino e cols. (2021)⁽¹¹⁾ observaram que a AG apresentou maior capacidade preditiva na detecção precoce de glicometabólicos do que a HbA1c. Em pacientes com deficiência de eritropoietina, Konya e cols. (2013)⁽¹⁸⁾ verificaram que os níveis de HbA1c reduziram significativamente após terapia com agente estimulante da eritropoiese, sendo que não houve alteração nos níveis de frutossamina e AG. Inaba e cols. (2007)⁽²⁴⁾ também demonstraram que a HbA1c foi significativamente menor nos pacientes em HD que recebiam eritropoietina do que naqueles que não recebiam eritropoietina, ao passo que a AG não diferiu significativamente entre os dois grupos.

Hayashi e cols. (2016)⁽¹⁷⁾ e (2023),⁽¹⁸⁾ observaram que a AG e a HbA1c foram igualmente eficazes para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes em HD, e Lee e cols. (2013)⁽¹⁹⁾ demonstraram que a frutossamina corrigida pela albumina e a HbA1c foram igualmente eficazes para monitorar o controle glicêmico de pacientes em DP, porém foram mais eficazes do que a AG. A maior eficácia da frutossamina corrigida pela albumina em relação à AG pode ser explicada pelo fato de que os níveis de AG sofrem interferência da perda de albumina na urina, sendo que esta interferência pode ser minimizada ao se dividir os níveis de frutossamina pelos níveis de albumina.⁽¹⁹⁾

Por outro lado, Zelnick e cols. (2020)⁽¹⁴⁾ verificaram que a AG e a frutossamina foram menos eficientes do que a HbA1c para monitorar o controle glicêmico de pacientes com DM2 e DRC, pois apresentaram maior variabilidade do que a HbA1c e mais fontes de viés, o que pode ser decorrente do fato de que a frutossamina e a AG refletem o controle glicêmico a curto prazo apresentando maior interferência do uso de medicamentos e intervenções médicas recentes do que a HbA1c.⁽¹⁴⁾ Contudo, estes autores observaram que as correlações entre HbA1c, AG e frutossamina com a glicemia média estimada foram semelhantes entre si tanto para pacientes sem DRC

($r = 0,76$; $r = 0,72$; $r = 0,63$; respectivamente) quanto para aqueles com DRC ($r = 0,78$; $r = 0,78$; $r = 0,71$; respectivamente).

A anemia ferropriva é uma das deficiências mais comuns em países em desenvolvimento, afetando em sua maioria mulheres e crianças.⁽³⁰⁾ A carência de ferro no organismo é decorrente de uma deficiência nutricional e armazenamento insuficiente, perdas excessivas ou utilização inadequada desse oligoelemento.⁽³¹⁾ A anemia ferropriva pode resultar em um falso aumento dos níveis de HbA1c, pois a deficiência de ferro no organismo pode levar à glicação terminal da prolina, alterando a estrutura dos eritrócitos, reduzindo sua taxa de renovação, levando estes a permanecerem mais tempo no plasma expostos a se ligar com a glicose. Além disso, a carência de ferro pode induzir a peroxidação e acelerar a glicação, resultando em aumento dos níveis de HbA1c em pacientes com e sem DM que possuem anemia ferropriva.⁽³²⁾

Ambos os estudos incluídos nesta revisão sistemática que avaliaram pacientes com DM com anemia ferropriva verificaram que a frutossamina e a AG apresentam maior eficácia do que a HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico. Mahgoob e Moussa (2020)⁽¹³⁾ observaram que a glicemia média se correlacionou com a AG, mas não com a HbA1c em pacientes com anemia ferropriva, e que a AG apresentou maior sensibilidade e especificidade para predição de DM não controlado nos pacientes com anemia ferropriva do que a HbA1c. Konya e cols. (2013)⁽¹⁸⁾ ainda verificaram que em pacientes com anemia ferropriva os níveis de HbA1c diminuíram significativamente após terapia com ferro, enquanto que os níveis de frutossamina e AG não se alteraram.

Portanto, nas situações clínicas em que há alteração na quantidade ou tempo de meia-vida dos eritrócitos, como DRC dialítica ou não dialítica e anemia ferropriva, levando a interpretações errôneas da HbA1c, é necessário o uso de alternativas como a frutossamina e a AG para o monitoramento glicêmico de indivíduos com DM1 ou DM2.

Em mulheres grávidas, ocorrem diversas alterações metabólicas nas primeiras semanas de gestação, sendo a principal delas a resistência à insulina. Essas modificações são atribuídas a diversos fatores humorais de origem materna e placentária que buscam, com isso, aumentar a demanda de nutrientes para o feto.⁽³³⁾ Além disso, ocorre o aumento do volume sanguíneo, resultando em hemodiluição e em uma anemia fisiológica, levando a uma falsa redução dos níveis de HbA1c.^(2,3) Devido ao aumento da hematopoiese e da volumia, ocorre uma diluição da glicose no sangue, diminuindo os níveis de glicose em jejum. Diante destas alterações nos

níveis glicêmicos e de HbA1c ao longo da gestação, e como ainda não foram estabelecidos valores de referência dos níveis de HbA1c para cada trimestre gestacional, a HbA1c apresenta-se limitada para monitoramento do controle glicêmico durante a gestação.⁽³⁴⁾

Em gestantes com diabetes pré-gestacional, Toft e cols. (2020)⁽⁹⁾ observaram que a AG foi mais precisa do que a HbA1c para detectar tempo na faixa < 70% e tempo acima do alvo > 25%. Contudo, Fujimoto e cols. (2016)⁽¹⁶⁾ verificaram que a frutossamina apresentou menor correlação com a frequência de hiper e hipoglicemias do que a HbA1c em gestantes com DM1, DM2 ou DMG ou *overt diabetes*.

Diante das limitações do uso da HbA1c para monitoramento glicêmico durante a gestação, a Sociedade Brasileira de Diabetes (2023)⁽³⁴⁾ recomenda que as gestantes realizem o automonitoramento glicêmico até o parto. As gestantes com DM pré-gestacional devem medir a glicemia capilar antes e uma hora após as três refeições principais e ao deitar-se. As gestantes com DMG em tratamento não farmacológico devem realizar as medições em jejum e 1 hora após as refeições principais e aquelas em tratamento farmacológico devem medir a glicemia antes e 1 hora após as refeições principais. Tais medidas visam monitorar a glicemia, evitando eventos de hipoglicemia graves, além de avaliar a eficácia e a adesão da terapia, o que não pode ser avaliado adequadamente pela HbA1c, pois esta fornece dados retrospectivos das médias glicêmicas, porém não avaliando as variabilidades da glicemia ao longo do dia.⁽³⁴⁾

Em relação aos métodos utilizados para avaliação do monitoramento glicêmico, a maioria dos estudos^(8-10,12-22,25,26) incluídos nesta revisão sistemática utilizou o MCG ou o automonitoramento da glicemia capilar, sendo que estes consistem nos melhores métodos para avaliação do controle glicêmico e das variações glicêmicas em pacientes com DM.⁽³⁴⁾ Apenas 3 estudos^(11,23,24) não utilizaram estes métodos para avaliar o monitoramento glicêmico. No entanto, todos os 3 estudos avaliaram a glicemia dos pacientes em pelo menos três momentos diferentes durante no mínimo 2 meses.

Com relação ao método utilizado para dosagem de HbA1c, a maioria dos estudos empregou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou imunoturbidimetria, os quais consistem em métodos padronizados e recomendados para a dosagem da HbA1c.⁽³⁵⁾ Para dosagem da AG foram utilizados os métodos enzimático, imunoturbidimétrico, colorimétrico, ELISA e cromatografia líquida, e os métodos enzimático e colorimétrico foram empregados para dosagem

da frutossamina, os quais consistem em métodos precisos e adequados para realização destas dosagens.⁽⁴⁾

Os artigos incluídos nesta revisão sistemática apresentaram grande diversidade com relação às características clínicas dos pacientes. Enquanto alguns incluíram pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentavam condições clínicas que interferem na dosagem da HbA1c, outros incluíram pacientes com DM que apresentavam condições clínicas que podem interferir no exame de HbA1c, como DRC dialítica ou não dialítica, anemia ferropriva e gestação. Além disso, houve grande variação entre os estudos com relação à faixa etária dos pacientes, ao método utilizado para o monitoramento da glicemia e à metodologia utilizada para análise estatística dos resultados. A avaliação da qualidade dos artigos incluídos na revisão sistemática ainda demonstrou que todos os estudos apresentaram alto risco viés para os domínios teste índice e fluxo e temporização e um alto risco de aplicabilidade para o domínio padrão de referência, pois os pontos de corte da frutossamina e da AG não foram pré-definidos, o padrão de referência diferiu entre os estudos e ainda foi interpretado utilizando diferentes pontos de corte. Estas adversidades consistem em limitações do presente trabalho, as quais impossibilitaram a realização de meta-análises.

É importante ressaltar que a ferramenta QUADAS-2⁽⁷⁾ foi desenvolvida para avaliar o risco de viés de estudos de acurácia de teste de diagnóstico, e os estudos incluídos nesta revisão sistemática possuem como objetivo avaliar a eficácia dos exames AG e frutossamina para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes previamente diagnosticados com DM. Na ausência de uma ferramenta específica para avaliação da qualidade de estudos que se propõem à avaliação do monitoramento do controle glicêmico, optamos por utilizar a ferramenta QUADAS-2, apesar de suas limitações para esta finalidade, o que pode ter resultado em alto risco de viés para alguns tópicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A frutossamina e a AG apresentam eficácia semelhante à HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentam condições clínicas que interferem na dosagem da HbA1c. Recomenda-se que a HbA1c seja utilizada para o monitoramento do controle glicêmico a longo prazo destes pacientes, seguindo as diretrizes nacionais e internacionais, e que os exames de frutossamina e AG sejam empregados nas situações em que é necessária a avaliação do controle glicêmico a curto prazo.

Por outro lado, a frutossamina e a AG apresentam eficácia superior à HbA1c para o monitoramento do controle glicêmico de pacientes com DM1 ou DM2 que apresentam condições clínicas em que há alteração na quantidade ou tempo de meia-vida das hemácias, como DRC dialítica ou não dialítica e anemia ferropriva. Nestas situações, recomenda-se o emprego dos exames frutossamina ou AG para o monitoramento glicêmico.

REFERÊNCIAS

- Pititio B, Dias M, Moura F, Lamounier R, Calliari S, Bertoluci M. Metas no tratamento do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). doi: 10.29327/557753.2022-3.
- Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD. 2017/2018. Atualização sobre Hemoglobina Glicada (A1C) para Avaliação do Controle Glicêmico e para o Diagnóstico do Diabetes: Aspectos Clínicos e Laboratoriais. 2018.
- Sumita NM. Interferences and methodological limitations with glycated hemoglobin measurements (A1C). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2012; 48(5):1-2. Doi: 10.1590/S1676-24442012000500001
- Danese E, Montagnana M, Nouvenne A, Giuseppe L. Advantages and Pitfalls of Fructosamine and Glycated Albumin in the Diagnosis and Treatment of Diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 2015; 9(2):1-8. doi: 10.1177/1932296814567227
- Page MJ, Mcknzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffman TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021, 372:71. doi: 10.1136/bmj.n71
- McInnes MDF, Moher D, Thombs BD, McGrath TA, Bossuyt PM, The Prisma-DTA Group, et al. Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies: the PRISMA-DTA statement. *JAMA*. 2018, 319(4):388-396. doi: 10.1001/jama.2017.19163
- Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Geeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Annals of Internal Medicine*. 2011, 155(8):529-536. doi: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009
- Hayashi A, Shimizu N, Suzuki A, Fujishima R, Maratoba K, Moriguchi I. Novel clinical associations between time in range and microangiopathies in people with type 2 diabetes mellitus on hemodialysis. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2023; 37(5):1-4. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2023.108470
- Toft J, Dalen I, Skadberg O, Goransson L, Okaland D, Bleskestad I. Glycated albumin and continuous glucose monitoring metrics across pregnancy in women with pre-gestational diabetes. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism*. 2022; 19; 5:1-4. doi: 10.1002/edm2.376
- Divani M, Georgianos P, Didangelos T, Liakopoulos V, Makedou K, Lijadis F, et al. Assessment of Hyperglycemia, Hypoglycemia and Inter-Day Glucose Variability Using Continuous Glucose Monitoring among Diabetic Patients on Chronic Hemodialysis. *Revista de Medicina Clínica*. 2021; 1-12. doi: 10.3390/jcm10184116
- Martino F, Vitillo M, Pieri M, Marrone J, Gangeri F, Ansali F, et al. Biomarkers of Glyco-Metabolic Control in Hemodialysis Patients: Glycated Hemoglobin vs. Glycated Albumin. *Revista de Medicina Kaunas*. 2020; 677-687. doi: 10.3390/medicina57070712
- Desouza C, Holcomb R, Rosenstock J, Frias J, Hsia S, Klein E. Results of a Study Comparing Glycated Albumin to Other Glycemic Indices. *Journal of clinical endocrinology & Metabolism*. 2019; 1-12. doi: 10.1210/clinem/dgz087
- Mahgoob M, Maussa M. Glycated albumin versus HbA1c as indicators of glycemic control in type I diabetic children with iron deficiency anemia. *Official Journal of the Japanese Society of Pediatric Endocrinology*. 2020; 1-9. doi: 10.1297/cpe.29.151
- Zelnick L, Batacchi Z, Ahmad I, Dighe A, Litte R, Trencé D, et al., Continuous Glucose Monitoring and Use of Alternative Markers To Assess Glycemia in Chronic Kidney Disease. *Diabetes Care*. 2020; 1-9. doi: 10.2337/dc20-0915
- Chan C, Pyle L, Kelsey M, Newnes L, Baugartner A, Zeitler P, Nadeau K. Alternate glycemic markers reflect glycemic variability in continuous glucose monitoring in youth with prediabetes and type 2 diabetes. *Pediatric Diabetes*. 2017; 1-11. doi: 10.1111/pedi.12475
- Fujimoto C, Costa R, Zeccara T, Paganotti C, Francisco R. Correlation of the Levels of Fructosamine and Glycated Hemoglobin with the Blood Glucose Profile in Pregnant Women with Diabetes Mellitus. *Revista da Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia* 2016; 1-7. doi: 10.1055/s-0035-1570108
- Hayashi A, Takano K, Masaki T, Yoshino S, Ogawa A, Schiri M. Distinct biomarker roles for HbA1c and glycated albumin in patients with type 2 diabetes on hemodialysis. *Jornal de Diabetes e Suas Complicações* 2016; 30:1-10. doi:10.1016/j.jdiacomp.2016.08.015
- Konya J, Cooke Jm, Lewis N, Bhandari S, Atkin SI, Kilpatrick ES. Use of complementary markers in assessing glycaemic control in people with diabetic kidney disease undergoing iron or erythropoietin treatment: *Diabetic medicine: a journal of the british Diabetic association*. *Diabetic Medicine*. 2013; 1-8. doi: 10.1111/dme.12249
- Lee S, Che Y, Tsai I, Yen C, Chueh S, Chueh S, Chueh S, Chuang H, et al. Glycosylated hemoglobin and albumin-corrected fructosamine are good indicators for glycemic control in peritoneal dialysis patients. *Plos One*. 2013; 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0057762
- Tsutsumi C, Imagawa A, Onishi M, Sano H, Nakagawa S, Mishiba Y. Glycated albumin as a useful clinical biomarker for glycemic variability in type 1 diabetes assessed by continuous glucose monitoring. *Diabetology International*. 2013; 1-8 doi: 10.1007/s13340-013-0142-y
- Vos F, Schhollum J, Coulter C, Manning P, Dufful S, Waerlk R. Assessment of markers of glycaemic control in diabetic patients with chronic kidney disease using continuous glucose monitoring. *Nephrology homepage*. 2012; 17:1-11. doi: 10.1111/j.1440-1797.2011.01517.x
- Sakuma N, Omura M, Oda E, Saito T. Converse contributions of fasting and postprandial glucose to HbA1c and glycated albumin. *Biabetology International*. 2011; 2:162-171 doi: 10.1007/s13340-011-0036-9
- Park H, Kim Y, Lee J, Kim Y, Shin S. Performance characteristics of glycated albumin and its clinical usefulness in diabetic patients on hemodialysis. *The Koren Journal of Laboratory Medicine*. 2009; 2:1-12. doi: 10.3343/kjlm.2009.29.5.406
- Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007; 2:1-6. doi: 10.1681/ASN.2006070772
- Chujo K, Shima K, Tada H, Oohashi T, Minaluchi J, Kawashima S. Indicators for blood glucose control in diabetics with end-stage chronic renal disease: GHb vs. glycated albumin (GA). *Journal of Medical Investigation*. 2006; 53:223-228. doi: 10.2152/jmi.53.223

26. Cefalu WT, MD, Kale L, Prather BS, Willian A, Trudyt B, Pakerp RN. Clinical evaluation of serum fructosamine in monitoring elderly diabetic outpatients. *Jornal da Sociedade Americana de Geriatria*. 1989; 37(9):1-10. doi: 10.1111/j.1532-5415.1989.tb02262.x
27. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes – Update 2/2023 Aprovado pelo Comitê Central – doi: 10.29327/5238993 / ISBN: 978-85-5722-906-8
28. Mazzaferro GS, Lunardelli A. Frutossamina como principal parâmetro glicêmico do paciente diabético em hemodiálise. *CIÊNCIA & SAÚDE* [Internet]. 2016 . doi: 10.15448/1983-652X.2016.2.22734.
29. Abensur H. Deficiência de ferro na doença renal crônica: Iron deficiency in chronic kidney disease. *Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular* 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000047>.
30. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Anemia. Biblioteca virtual em Ministério da Saúde. 2004.
31. SANTOS AT, MARCIEL MAS, BARTOLI S. Anemia e suas implicações na interpretação dos níveis de hemoglobina glicada em idosos institucionalizados. *Brazilian Journal of Development* 2019. doi: 10.34117/bjdv7n5-128.
32. GOU W, ZHOU Q, JIA Y, XU J. Increased Levels of Glycated Hemoglobin A1c and Iron Deficiency Anemia: A Review. *Medical Science Monitor* 2019; 25:8371-8378. doi: 10.12659/MSM.916719.
33. Golbert A, Campos MAA. Type 1 diabetes mellitus and pregnancy. *SciELO - Scientific Electronic Library* 2008. doi: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302008000200018>.
34. Zajdenverg L, Façanha C, Dualib P, Goldbert A, Negrato C, Bertoluci M. Planejamento, metas e monitorização do diabetes durante a gestação. *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes* (2023). doi: 10.29327/557753.2022-12, ISBN: 978-85-5722-906-8.
35. Panarroto D, Toles AMM, Toss AR. Survey on methods of analysis of glycated hemoglobin used by laboratories from Serra Gaúcha. *Scientia Medica*. 2005 Sep 01 ;25(3):137-140.

Effectiveness of fructosamine and glycated albumin tests for monitoring glycemic control in diabetes mellitus: a systematic review

Eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada para monitoramento do controle glicêmico no diabetes mellitus: uma revisão sistemática

Ana Livia Lucinda Sousa¹, Caroline Pereira Domingueti²

^{1,2} Universidade Federal de São João Del Rei – Campus Centro Oeste. Divinópolis, MG, Brazil.

Abstract

Objective: To evaluate the effectiveness of fructosamine and glycated albumin (GA) tests for glycemic monitoring in *diabetes mellitus* (DM). **Methods:** The search for articles was carried out in the Medline/PubMed, Web of Science, Embase and Virtual Health Library databases. The eligibility criteria were cohorts that compared the effectiveness of fructosamine and/or AG tests with glycated hemoglobin (HbA1c) for glycemic monitoring in DM. The reference standard for glycemic monitoring consisted of self-monitoring of blood glucose or continuous sensor glucose monitoring or blood glucose assessed on at least three days for at least two months. **Results:** Among the 11 studies that evaluated patients with dialysis or non-dialysis chronic kidney disease, 7 found greater efficacy of AG and/or fructosamine in relation to HbA1c, 3 found similar efficacy and 1 found lower efficacy. Iron deficiency anemia or erythropoietin deficiency was evaluated in 3 studies and all found that AG and/or fructosamine were more effective than HbA1c. Among the 5 studies that evaluated patients with T1DM or T2DM who did not have clinical conditions that interfere with HbA1c, 4 found similar efficacy between AG and/or fructosamine and HbA1c and 1 observed greater effectiveness of AG. **Conclusion:** Fructosamine and AG have similar efficacy to HbA1c for monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who do not have clinical conditions that interfere with HbA1c, however, in situations where there is a change in the quantity or half-life of red blood cells, fructosamine and AG are more effective than HbA1c.

Keywords: *Diabetes Mellitus*. Fructosamine. Glycated Serum Albumin. Blood Glucose. Glycemic Control.

Resumo

Objetivo: Avaliar a eficácia dos exames frutossamina e albumina glicada (AG) para monitoramento glicêmico no *diabetes mellitus* (DM). **Métodos:** A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados Medline/PubMed, Web of Science, Embase e Biblioteca Virtual em Saúde. Os critérios de elegibilidade foram coortes que compararam a eficácia dos exames frutossamina e/ou AG com a hemoglobina glicada (HbA1c) para monitoramento glicêmico no DM. O padrão de referência do monitoramento glicêmico consistiu em automonitoramento da glicemia ou sensor de monitoramento contínuo de glicose ou glicemia avaliada em pelo menos 3 dias durante pelo menos 2 meses. **Resultados:** Dentre os 11 estudos que avaliaram pacientes com doença renal crônica dialítica ou não dialítica, 7 encontraram maior eficácia da AG e/ou frutossamina em relação à HbA1c, 3 encontraram eficácia semelhante e 1 menor eficácia. A anemia ferropriva ou deficiência de eritropoietina foi avaliada por 3 estudos e todos verificaram que a AG e/ou frutossamina foram mais eficazes do que a HbA1c. Dentre os 5 estudos que avaliaram pacientes com DM1 ou DM2 que não apresentavam condições clínicas que interferem na HbA1c, 4 encontraram eficácia semelhante entre AG e/ou frutossamina e HbA1c e 1 observou maior eficácia da AG. **Conclusão:** A frutossamina e a AG apresentam eficácia semelhante à HbA1c para monitoramento do controle glicêmico em pacientes com DM1 ou DM2 que não possuem condições clínicas que interferem na HbA1c, entretanto, nas situações em que há alteração na quantidade ou meia-vida das hemácias, a frutossamina e a AG apresentam eficácia superior à HbA1c.

Palavras-chave: *Diabetes Mellitus*. Frutossamina. Albumina Sérica Glicada. Glicemia. Controle Glicêmico.

Correspondence

Caroline Pereira Domingueti

E-mail: caroldomingueti@ufsj.edu.br

Received on 06/21/2024

Approved on 01/09/2025

DOI: 10.21877/2448-3877.202500189.en

INTRODUCTION

The glycated hemoglobin (HbA1c) test is the most recommended method for monitoring glycemic control in patients with type 1 (T1DM) and type 2 *Diabetes mellitus* (T2DM). HbA1c results from a non-enzymatic and irreversible glycation process of hemoglobin, reflecting the average blood glucose levels over the past 3 to 4 months, as the lifespan of red blood cells is approximately 120 days. This allows for long-term glycemic control evaluation.⁽¹⁾

However, the HbA1c test has certain limitations, as some clinical conditions characterized by alterations in red blood cell count or lifespan may interfere with test results, preventing it from accurately reflecting actual glycemic control in patients with *Diabetes mellitus* (DM). Several factors can lead to falsely reduced HbA1c levels, including hemolytic anemias; bone marrow impairment due to radiation, toxins, or tumors; blood loss; erythropoietin deficiency secondary to chronic kidney disease (CKD); administration of high doses of vitamin C or E, which inhibit hemoglobin glycation; use of antiretroviral drugs, ribavirin, or dapsone, which reduce red blood cell lifespan; and pregnancy. During pregnancy, increased blood volume leads to a decrease in red blood cell concentration and physiological anemia, resulting in a falsely reduced HbA1c level.^(2,3)

Conversely, other factors can result in falsely elevated HbA1c levels, such as iron, vitamin B12, or folic acid deficiency, which increases red blood cell lifespan; the presence of carbamylated hemoglobin in patients with kidney disease; the presence of acetylated hemoglobin in patients using high doses of acetylsalicylic acid; chronic alcoholism; the use of phenobarbital, which enhances glucose reactivity with hemoglobin; and conditions that lead to an increase in red blood cell count and/or hematocrit levels.^(2,3)

Some hemoglobinopathies may result in falsely elevated or falsely reduced values, or may not interfere with HbA1c measurement at all, depending on the method used for its laboratory measurement. Additionally, glycemic variability throughout the day cannot be assessed using HbA1c, as patients who experience episodes of both hyperglycemia and hypoglycemia may still present HbA1c levels within the therapeutic target range.⁽²⁾

Given the limitations of HbA1c measurement, fructosamine and glycated albumin (GA) have emerged as alternative tests for monitoring blood glucose levels in patients with DM. Fructosamine consists of plasma proteins irreversibly bound to glucose, with the majority corresponding

to albumin, whereas GA specifically measures plasma albumin irreversibly bound to glucose. Since albumin has a half-life of approximately 21 days, GA and fructosamine reflect glycemic control over the past 2 to 3 weeks, allowing for short-term monitoring of glycemic control.⁽⁴⁾

These tests are not affected by clinical conditions that alter red blood cell lifespan or count. Additionally, the non-enzymatic glycation rate of albumin is approximately ten times higher than that of hemoglobin. As a result, GA exhibits greater fluctuation compared to HbA1c, allowing for the faster detection of glycemic changes. However, conditions that alter plasma protein levels, such as nephrotic syndrome, chronic hepatitis, and thyroid diseases, may interfere with fructosamine and GA levels. Nevertheless, the use of the GA/total albumin ratio helps minimize this interference.⁽⁴⁾

Given the limitations of using HbA1c for monitoring glycemic control in patients with DM and the need for alternative methods—especially for patients with clinical conditions affecting red blood cell lifespan or count—conducting a systematic review to assess the efficacy of fructosamine and GA tests for glycemic control monitoring in DM is essential.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

A systematic review conducted following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)⁽⁵⁾ and the Preferred Reporting Items for a Systematic Review and Meta-analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies (PRISMA-DTA) recommendations.⁽⁶⁾

Search Strategy

Article selection was conducted in Medline (PubMed), Web of Science, Embase, and the Virtual Health Library (VHL) using the descriptors “fructosamine” and “glycated serum albumin” along with their respective entry terms, in combination with the descriptor “diabetes mellitus” and its entry terms, applying “AND” between terms. The descriptors were defined according to Medical Subject Headings (MeSH).

Eligibility Criteria

The eligibility criteria were established following the PRISMA-DTA⁽⁶⁾ recommendations and consisted of prospective or retrospective cohort studies that assessed the effectiveness of fructosamine and GA tests compared to HbA1c for glycemic control monitoring in DM.

Only studies whose experimental design allowed for the distinction of the following points, as per the PIRTS acronym, were included in the systematic review:

- **Participants:** Patients with DM.
- **Index test:** Fructosamine and/or GA compared to HbA1c.
- **Reference standard:** Average blood glucose assessed through self-monitoring of blood glucose, continuous glucose monitoring (CGM) sensor, or blood glucose measured on at least three different days over at least two months.
- **Target conditions:** Effectiveness in assessing glycemic control.
- **Study design:** Prospective or retrospective cohort study.
- The article search in the databases was conducted from May 11, 2023, to September 14, 2023, with no restrictions on publication year or language.

Article Selection

The study selection was carried out in two stages, both conducted independently by two reviewers. In the first stage, duplicate articles were removed, followed by a preliminary screening of titles and abstracts to include only prospective or retrospective cohort studies evaluating the effectiveness of fructosamine and GA tests for glycemic control monitoring in DM. In the second stage, the pre-selected articles were read in full to assess their eligibility based on the predefined criteria. A flowchart was then developed summarizing the number of articles included and excluded at each stage according to the established criteria, following PRISMA recommendations.⁽⁵⁾

Data Extraction from Selected Articles

The following data were extracted from the studies for table construction: author, year of publication, country, study design, patient characteristics, age, sample size, methods used for HbA1c, GA, and fructosamine measurement, method used for glycemic monitoring assessment, effectiveness of GA and/or fructosamine for glycemic control monitoring, and results.

Assessment of Study Quality

The methodological quality assessment of the studies included in the systematic review was conducted independently by two reviewers. The Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2) tool,⁽⁷⁾ which evaluates the risk of bias in diagnostic accuracy studies, was used for the assessment of study quality. This tool comprises four domains: patient selection, index test, reference standard,

and flow and timing. All domains are assessed for risk of bias, and the first three domains are also evaluated for study applicability. The risk of bias and study applicability are classified as “low,” “high,” or “uncertain.”

RESULTS

The stages of the article selection process are presented in a flowchart (Figure 1). After applying the eligibility criteria, 19 cohort studies were included in the systematic review, of which 17^(8-15,17-22,24-26) were prospective cohorts (89.5%) and 2^(16,23) were retrospective cohorts (10.5%).

Table 1 presents the location, study design, patient characteristics, sample size, age, methods used for HbA1c, GA, and fructosamine measurement, and the evaluation of glycemic monitoring in the studies included in the systematic review.

Regarding the location of the studies, 6 of them^(8,17,20,22,24,25) (31.6%) were conducted in Japan, 4^(12,14,15,26) (21.1%) in the United States, and one study (5.3%) was conducted in each of the following countries: Norway,⁽⁹⁾ Greece,⁽¹⁰⁾ Italy,⁽¹¹⁾ Egypt,⁽¹³⁾ Brazil,⁽¹⁶⁾ Taiwan,⁽¹⁹⁾ New Zealand,⁽²¹⁾ and South Korea.⁽²³⁾ The sample size of the studies ranged from 21 to 903 patients.

Regarding patient characteristics, 2 studies (10.6%) assessed patients with T2DM undergoing hemodialysis (HD) and without nephropathy.^(17,24) Each of the following patient groups was assessed in one study (5.3%): patients with T2DM,⁽²²⁾ patients with and without T2DM,⁽²⁶⁾ patients with T2DM undergoing HD,⁽⁸⁾ patients with T2DM with and without CKD,⁽¹⁴⁾ patients with T2DM and CKD with iron deficiency anemia or erythropoietin deficiency,⁽¹⁸⁾ obese adolescents with prediabetes or T2DM,⁽¹⁵⁾ children with T1DM with and without iron deficiency anemia,⁽¹³⁾ adults with T1DM,⁽²⁰⁾ patients with T1DM or T2DM,⁽¹²⁾ patients with T1DM or T2DM undergoing HD,⁽¹¹⁾ pregnant women with pre-gestational diabetes (T1DM or T2DM or maturity-onset diabetes of the young [MODY]),⁽⁹⁾ pregnant women with T1DM or T2DM or gestational *Diabetes mellitus* (GDM) or overt diabetes,⁽¹⁶⁾ patients undergoing HD with and without diabetes,⁽¹⁰⁾ patients with diabetes undergoing peritoneal dialysis (PD),⁽¹⁹⁾ patients with diabetes with and without CKD,⁽²³⁾ patients with diabetes undergoing HD without nephropathy,⁽²¹⁾ and patients with diabetes with end-stage CKD (ESCKD) (pre-dialytic or dialytic) without nephropathy.⁽²⁵⁾

Regarding age range, 2 studies^(13,15) (10.5%) included children and adolescents aged 5 to 18 years. The other 17 studies^(8-12,14,16-26) (89.5%) conducted their research with adults and older adults.

The most commonly used method for evaluating HbA1c was high-performance liquid chromatography, employed by 15 studies^(9,10,12,14-23,25,26) (78.9%). One study⁽¹¹⁾ (5.3%) used capillary electrophoresis, one study⁽¹³⁾ (5.3%) used the colorimetric method, one study⁽²⁴⁾ (5.3%) used immunoturbidimetry, and one study⁽²⁴⁾ (5.3%) did not report the method used.

The enzymatic method was the most commonly used for evaluating GA, utilized by 12 studies^(8,13-15,17,18,20-25) (63.2%). Two studies^(11,12) (10.5%) used the colorimetric method, one study⁽¹⁰⁾ (5.3%) used ELISA, one study⁽⁹⁾ (5.3%) used liquid chromatography-mass spectrometry, one study (19) (5.3%) used immunoturbidimetry, and two studies^(16,26) (10.5%) did not report the method used for this analysis.

The colorimetric method was the most commonly used for evaluating fructosamine, employed by 7 studies^(14-16,18,19,21,26) (36.8%). Only one study⁽¹²⁾ (5.26%) used the enzymatic method, and 11 studies^(8-11,13,17,20,22-25) (57.9%) did not report the method used for this measurement.

Glycemic control assessment was conducted using CGM sensors in 11 studies^(8-10,14,15,17-21,26) (57.9%), 5 studies^(12,13,16,22,25) (26.3%) used self-monitoring with a glucometer, and 3 studies^(11,23,24) (15.8%) measured blood glucose at different times during the research.

Table 2 describes the main results and indicates whether GA and/or fructosamine were effective or not for monitoring glycemic control in the studies included in the systematic review.

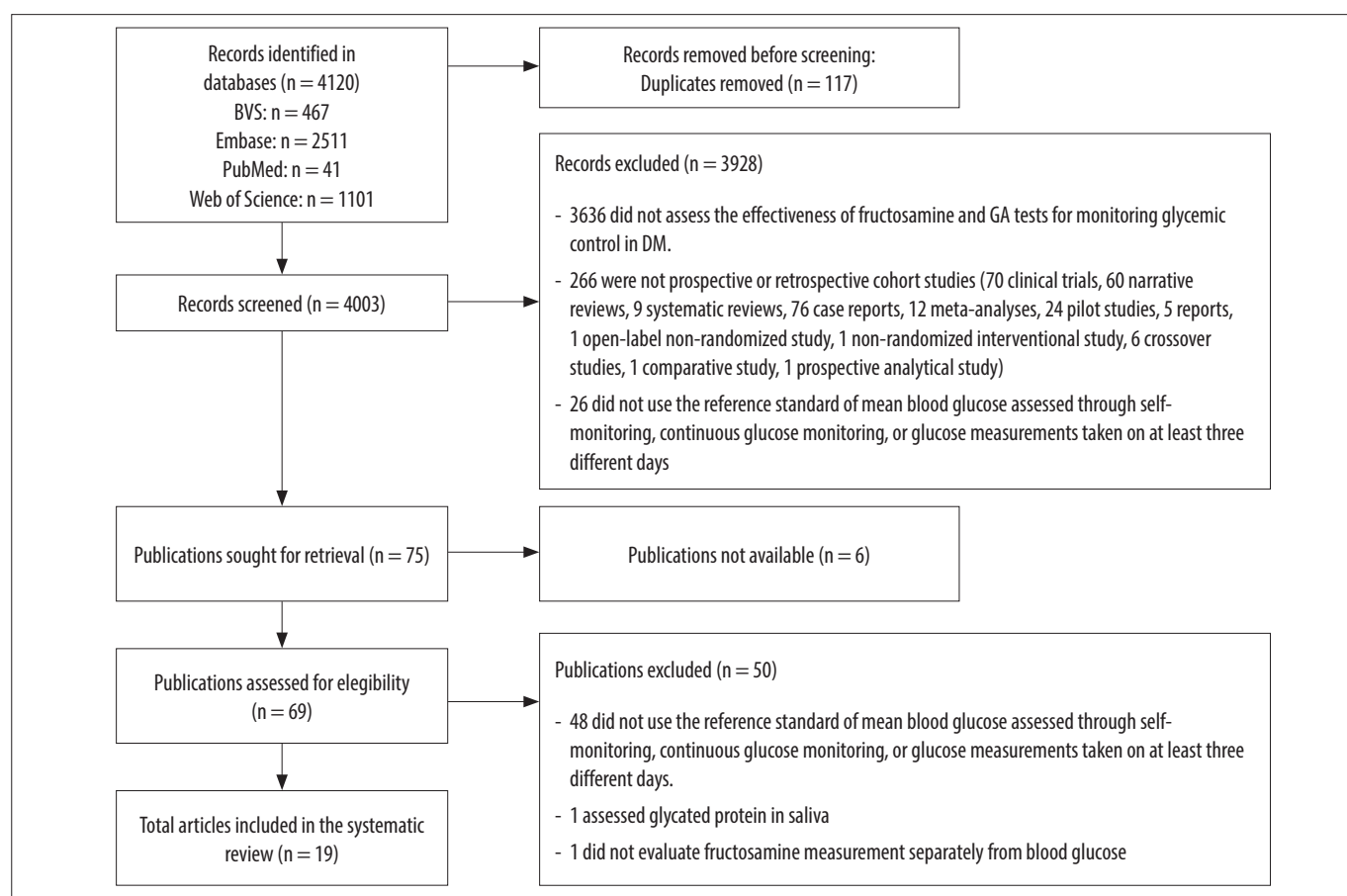


Figure 1

Flowchart of the article selection process for studies evaluating the effectiveness of fructosamine and glycated albumin tests in monitoring glycemic control in *Diabetes mellitus*, included in the systematic review. Source: Authors.

Table 1

Location, study design, patient characteristics, sample size, age, methods used for measuring HbA1c, glycated albumin, and fructosamine, and for assessing glycemic monitoring in the studies included in the systematic review.

Author, Year	Country	Study Design	Patient characteristics and sample size	Age (years)	Methods used for measuring HbA1c, glycated albumin, and fructosamine	Method used for assessing glycemic monitoring
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	Japan	Prospective Cohort	107 patients with T2DM on HD	62 ± 12	NI; Enzymatic; NA	Use of CGM sensor for 48 hours. The estimated mean CGM glucose level was calculated. The percentage of time glucose levels were between 70 and 180 mg/dL was considered TIR, <70 mg/dL as TBR, and >180 mg/dL as TAR.
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	Norway	Prospective Cohort	40 pregnant women with pregestational diabetes (23 with T1DM, 13 with T2DM, 1 with MODY)	30.9 ± 5.5	HPLC LC-MS/MS; NA	Use of CGM sensor. Blood glucose concentrations were estimated every 10 or 15 minutes from interstitial glucose levels during the 14 days preceding each blood sample collection at weeks 12, 20, 24, 28, 32, and 36 of pregnancy. The estimated mean CGM glucose level was calculated. The percentage of time with glucose levels <63 mg/dL was defined as TBR, >140 mg/dL as TAR, and <54 mg/dL as TBR2.
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	Greek	Prospective Cohort	37 patients with T1DM or T2DM on HD	62.0 ± 17.3	HPLC; ELISA; NA	Use of CGM sensor. Blood glucose concentrations were estimated every 5 minutes from interstitial glucose levels over 7 days. The estimated mean CGM glucose level was calculated. Glycemia between 70 and 180 mg/dL in <50% of readings was considered TIR, <70 mg/dL in >10% of readings as TBR, and >250 mg/dL in >1% of readings as TAR.
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	Italy	Prospective Cohort	160 patients on HD (60 with DM, 98 without DM, 2 with impaired glucose tolerance).	64.1 ± 12.6	Capillary electrophoresis; Colorimetric; NA	Glycemia was assessed at five time points: T0, T1 (after 30 days), T2 (after 60 days), T3 (after 90 days), and T4 (after 6 months).
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	United States	Prospective Cohort	150 patients with DM (73 with T1DM and 77 with T2DM).	50.5 ± 15.63	HPLC; Colorimetric; Enzymatic.	Fasting glucose was assessed at weeks 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20, and 24. Self-monitoring of capillary blood glucose was performed 7 times, at least 1 day per week, using a glucometer.
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	Egypt	Prospective Cohort	147 children with T1DM (72 with iron deficiency anemia and 75 without iron deficiency anemia).	9.9 ± 3.40 years with anemia; 10.4 ± 2.91 years without anemia.	Colorimetric; Enzymatic; NA	Self-monitoring of blood glucose by measuring capillary glucose seven times a day for 30 days using a glucometer. The 30-day mean glucose level was calculated.
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	United States	Prospective Cohort	105 patients with T2DM (81 with moderate to severe CKD and 24 without CKD).	68.4 ± 9.6 years with CKD; 64.3 ± 10.3 years without CKD.	HPLC; Enzymatic; Colorimetric.	Use of CGM sensor during two non-consecutive 6-day periods separated by 2 weeks. Blood glucose concentrations were estimated every 5 minutes from interstitial glucose levels. The estimated mean CGM glucose level was calculated from all valid CGM measurements in both periods.
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	United States	Prospective Cohort	56 obese adolescents with prediabetes or T2DM.	14.3 (12.5 – 15.9)	HPLC; Enzymatic; Colorimetric.	Use of CGM sensor for 72 hours. The estimated mean CGM glucose level was calculated.
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	Brazil	Prospective Cohort	158 pregnant women (11 with T1DM, 36 with T2DM, 109 with GDM, 2 with overt diabetes).	NI	HPLC; NA; Colorimetric	Self-monitoring of blood glucose, measuring capillary glucose four to seven times a day, depending on insulin use, for 20 days. The frequency of hyperglycemia (glucose levels above the therapeutic target for the time of measurement) and hypoglycemia (glucose levels <70 mg/dL) was calculated.
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	Japan	Prospective Cohort	97 patients with T2DM (41 on HD, 56 without nephropathy).	60.2 ± 11.7 years on HD; 55.9 ± 16.7 years without nephropathy.	HPLC; Enzymatic; NA	Use of CGM sensor for 72 hours. The estimated mean CGM glucose level and the glucose standard deviation were calculated. The following markers of glucose variability were calculated: difference between the highest and lowest glucose levels, J index (combination of the mean and standard deviation of all glucose values), mean amplitude of glucose excursions, degree of dissociation from the ideal glucose level, glycemic control index (sum of hyperglycemic and hypoglycemic indices), and the average daily difference between glucose values at the same time of day on two consecutive days.
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	United Kingdom	Prospective Cohort	30 patients with T2DM and CKD stages 3b or 4 (15 with iron deficiency anemia and 15 with erythropoietin deficiency).	72 (68-74) years with iron deficiency anemia; 70 (62-75) years with erythropoietin deficiency.	HPLC; Enzymatic; Colorimetric.	Use of CGM sensor 1 month before the start of therapy with iron or erythropoiesis-stimulating agent and 1 month after the end of therapy. The estimated mean CGM glucose level was calculated.

Table 1 (continuation)

Author, Year	Country	Study Design	Patient characteristics and sample size	Age (years)	Methods used for measuring HbA1c, glycated albumin, and fructosamine	Method used for assessing glycemic monitoring
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	Taiwan	Prospective Cohort	25 patients with DM on PD.	59 ± 13	HPLC; Immunoturbidimetry; Colorimetric.	Use of CGM sensor for 3 days. Blood glucose concentrations were estimated every 5 minutes. The AUC of the 3-day mean glucose level was calculated.
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	Japan	Prospective Cohort	21 patients with T1DM.	42 (25- 75)	HPLC; Enzymatic; NA	Use of CGM sensor for 72 hours. The estimated mean CGM glucose level, glucose standard deviation, and coefficient of variation were calculated. The following markers of glucose variability were calculated: AUC for glucose levels > 180 mg/dL and < 70 mg/dL, TAR (percentage of time glucose was > 180 mg/dL), TBR (percentage of time glucose was < 70 mg/dL), J index (combination of the mean and standard deviation of all glucose values), high glucose index, low glucose index, degree of dissociation from the ideal glucose level, glycemic control index (sum of hyperglycemic and hypoglycemic indices), and the average daily difference between glucose values at the same time of day on two consecutive days.
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	New Zealand	Prospective Cohort	50 patients with DM (25 with CKD stages 4 or 5 and 25 without CKD).	60.2 (32-79) years with CKD; 59.3 (40-76) years without CKD.	HPLC; Enzymatic; Colorimetric.	Use of CGM sensor for 48 hours. Blood glucose concentrations were estimated every 5 minutes. The estimated mean CGM glucose level was calculated.
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	Japan	Prospective Cohort	40 patients with T2DM	66.2 ± 8.8	HPLC; Enzymatic; NA	Self-monitoring of blood glucose 3 times a day for more than 2 days during 1 to 2 weeks and 3 to 4 weeks prior to the monthly measurement of HbA1c and glycated albumin, which were measured monthly for 4 months.
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	Korea	Prospective Cohort	108 patients with DM (70 in HD and 38 without CKD).	58.4 ± 12.8 years in HD; 56.8 ± 11.6 years without CKD.	HPLC; Enzymatic; NA	Blood glucose measurements from 1 month ago, 2 months ago, and 3 months ago.
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	Japan	Prospective Cohort	903 patients with T2DM (538 in HD and 365 without CKD).	NI	Immunoturbidimetry; Enzymatic; NA.	The average values of 3 casual blood glucose measurements obtained during the 2 months prior to the HbA1c and glycated albumin measurements.
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	Japan	Prospective Cohort	86 patients with DM with ESKD (49 pre-dialysis and 37 on dialysis) and 40 with DM without CKD	63.9 ± 13.1 pre-dialysis; 64.4 ± 11.1 on dialysis; 57.7 ± 14.4 without CKD.	HPLC; Enzymatic; NA	Self-monitoring of blood glucose 7 times a day and the mean blood glucose was calculated.
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	United States	Prospective Cohort	40 with T2DM 16 without DM	78 ± 2 with T2DM 83 ± 3 without DM	HPLC; NA; Colorimetric	Fasting blood glucose was evaluated monthly for 4 months. Use of CGM sensor by 13 patients with T2DM. The average capillary glucose from CGM was calculated.

T1DM = Type 1 *Diabetes mellitus*; T2DM = Type 2 *Diabetes mellitus*; GDM = Gestational *Diabetes mellitus*; DM = *Diabetes mellitus*; PD = Peritoneal dialysis; CKD = Chronic kidney disease; ESKD = End-stage chronic kidney disease; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; HbA1c = Glycated hemoglobin; HD = Hemodialysis; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; CGM = Continuous glucose monitoring; NA = Not assessed; NI = Not informed; TAR = Time above range; TBR = Time below range; TIR = Time in range; HPLC = High-performance liquid chromatography; AUC = Area under the curve; T0 = Time zero; T1 = Time one; T2 = Time two; T3 = Time three; T4 = Time four.

Table 2

Main results and efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control in the studies included in the systematic review.

Author, Year	Results	Efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	The higher the TIR, the lower the HbA1c and glycated albumin levels. No significant correlations were found between TBR and HbA1c, or TBR and glycated albumin ($R^2 = 0.030$, $p = 0.0749$; $R^2 = 0.032$, $p = 0.0652$, respectively). Significant correlations were found between TAR and HbA1c, and TAR and glycated albumin ($R^2 = 0.45$, $p < 0.0001$; $R^2 = 0.26$, $p < 0.0001$, respectively).	Glycated albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with T2DM on hemodialysis.
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	Correlations were observed between glycated albumin and mean glucose 0.49 (0.28, 0.62), TIR -0.58 (-0.77, -0.27), TAR 0.56 (0.35, 0.71), and TBR -0.09 (-0.47, -0.25), and between HbA1c and mean glucose 0.63 (0.32, 0.79), TAR 0.58 (0.22, 0.77), and TBR -0.44 (-0.64, -0.14). The adjusted AUCs for glycated albumin in detecting TIR < 70%, TAR > 25%, TBR > 4%, and TBR2 > 1% were 0.78 (0.60 - 0.95), 0.82 (0.70 - 0.94), 0.56 (0.31 - 0.82), and 0.66 (0.42 - 0.90), respectively. The adjusted AUCs for HbA1c in detecting TIR < 70%, TAR > 25%, TBR > 4%, and TBR2 > 1% were 0.60 (0.41 - 0.78), 0.72 (0.54 - 0.90), 0.30 (0.13 - 0.47), and 0.32 (0.13 - 0.52), respectively. The ideal cutoff value for glycated albumin to detect TIR < 70% was > 10.5%, with a sensitivity of 68% (52% - 83%) and specificity of 73% (51% - 95%). The ideal cutoff value for glycated albumin to detect TAR > 25% was > 11%, with a sensitivity of 70% (54% - 87%) and specificity of 79% (62% - 96%).	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in pregnant women with pre-gestational diabetes, as glycated albumin was more accurate than HbA1c in detecting TIR < 70% and TAR > 25%.
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	Glycated albumin levels were higher in patients with TIR < 50% ($21.9 \pm 4.6\%$) than in those with TIR $\geq 50\%$ ($15.0 \pm 4.1\%$) ($p < 0.001$). HbA1c levels did not differ between patients with TIR < 50% ($7.1 \pm 1.3\%$) compared to those with TIR $\geq 50\%$ ($6.3 \pm 1.4\%$) ($p = 0.10$). The AUC for glycated albumin and HbA1c for detecting TIR < 50% was 0.878 (0.728 - 0.962) and 0.682 (0.508 - 0.825), respectively. The AUC for glycated albumin was significantly higher than the AUC for HbA1c, with a difference of 0.196 (0.062 - 0.330) ($p < 0.01$). The ideal cutoff for glycated albumin was > 18.96%, with sensitivity of 90.9% and specificity of 88.4%, resulting in a Youden index of 0.793. The ideal cutoff for HbA1c was > 6.29%, which did not provide a satisfactory combination of sensitivity (81.8%) and specificity (61.5%) in detecting TIR > 50%. The Youden index was 0.433, indicating lower diagnostic efficiency of HbA1c. The AUC for glycated albumin and HbA1c in detecting a TAR > 10% was 0.939 (0.808 - 0.991) and 0.854 (0.699 - 0.945), respectively. The difference in AUCs was not statistically significant, with a difference between areas of 0.085 (-0.034 - 0.204) ($p = 0.16$). The ideal cutoff for glycated albumin was > 16.27%, with 100% sensitivity and 79.2% specificity, resulting in a Youden index of 0.791. The ideal cutoff for HbA1c was > 6.29%, with sensitivity of 92.3% and specificity of 70.8%, yielding a Youden index of 0.631. The AUC for detecting a TBR > 1% was 0.712 (0.539 - 0.848) for glycated albumin and 0.740 (0.570 - 0.870) for HbA1c. Neither glycated albumin nor HbA1c had a satisfactory combination of sensitivity and specificity for detecting TBR > 1%. The Youden index was 0.429 and 0.471 for glycated albumin and HbA1c, respectively, indicating lower efficiency of both biomarkers in detecting hypoglycemia.	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM on hemodialysis, as glycated albumin was more accurate than HbA1c in detecting TIR < 50% and TAR > 10%.
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	For the cutoff point of 14.5% glycated albumin, sensitivity was 84.77% and specificity was 77.95%. For the cutoff point of 48 mmol/mol HbA1c, sensitivity was 39.51% and specificity was 99.55%. The ROC curves for glycated albumin and HbA1c showed AUCs of 0.883 and 0.927, respectively ($p < 0.001$). In uremic patients, both diabetic and non-diabetic, the discrepancies between glycated albumin and HbA1c were 21.2% and 20.8%, respectively. These discrepancies were characterized by glycated albumin values above the cutoff point already at T0 and by HbA1c values within the normal range at T0, with a progressive increase in subsequent measurement times.	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in HD patients with and without DM, as glycated albumin showed greater predictive capacity in the early detection of glycometabolic issues than HbA1c.

Table 2 (continuation)

Author, Year	Results	Efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	In patients with HbA1c between 7.5% and 12.0% (n = 98), during the first 3 months of the study, the Spearman correlations were 0.481 between glycated albumin and average blood glucose, and 0.233 between HbA1c and average blood glucose, with a significant difference of 0.249 (0.130 - 0.367) (p < 0.0001). The Kendall correlations (which analyze the direction in which changes in glucose indices occurred) were higher between glycated albumin and average blood glucose (0.341) than between HbA1c and average blood glucose (0.160), with a significant difference of 0.181 (0.096 - 0.265) (p < 0.0001). Although there was a high level of agreement between glycated albumin and fructosamine, as measured by Pearson (0.9198), Spearman (0.9491), and Kendall (0.7639) correlations, glycated albumin consistently showed higher correlations with HbA1c and average blood glucose than fructosamine. The correlations between glycated albumin and HbA1c (0.585) and between glycated albumin and average blood glucose (0.548) were significantly higher than those observed between fructosamine and HbA1c (0.395) and between fructosamine and average blood glucose (0.413) (p < 0.001). Changes in glycated albumin were consistent (either increased or decreased in the same direction) with changes in average blood glucose 60.8% of the time, with fructosamine in 55.5%, and with HbA1c in 45.5%.	Glycated albumin was more effective than HbA1c and fructosamine in monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM, as glycated albumin showed a stronger correlation with average blood glucose than both HbA1c and fructosamine.
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	In patients without iron-deficiency anemia, the average blood glucose showed significant correlations with HbA1c (r = 0.73, p < 0.01) and glycated albumin (r = 0.47, p < 0.01). In patients with iron-deficiency anemia, the average blood glucose showed a correlation only with glycated albumin (r = 0.52, p < 0.01). The ROC curve analysis for HbA1c and glycated albumin in predicting uncontrolled DM in patients with iron-deficiency anemia showed that glycated albumin, with a cutoff point > 16.9%, had a sensitivity of 87.2% and specificity of 75.8%. On the other hand, HbA1c, with a cutoff point > 7.09%, had a sensitivity of 80.0% and specificity of 57.6%.	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T1DM and iron deficiency anemia, as glycated albumin showed a stronger correlation with average blood glucose and higher sensitivity and specificity for predicting uncontrolled diabetes compared to HbA1c.
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	The Pearson correlations of HbA1c, glycated albumin, and fructosamine with estimated average blood glucose were similar both for patients without CKD (r = 0.76; r = 0.72; r = 0.63, respectively) and for those with CKD (r = 0.78; r = 0.78; r = 0.71, respectively). For patients without CKD, the values of HbA1c, glycated albumin, and fructosamine were within 10% of the value predicted by estimated average blood glucose in 78%, 52%, and 43% of the cases, respectively. For patients with CKD, the values of HbA1c, glycated albumin, and fructosamine were within 10% of the value predicted by estimated average blood glucose in 75%, 55%, and 64% of the cases, respectively. HbA1c, glycated albumin, and fructosamine were significantly more variable as markers for estimated average blood glucose in patients with lower GFR. For patients with the same estimated average blood glucose, glycated albumin and fructosamine levels were lower in those with lower age, higher BMI, lower serum iron, lower transferrin saturation, lower serum albumin, and higher albuminuria, while HbA1c levels were lower in those with higher albuminuria. The change in estimated average blood glucose during the two periods was more strongly correlated with the change in glycated albumin (r = 0.67) than with the change in fructosamine (r = 0.48) or HbA1c (r = 0.26).	Glycated albumin and fructosamine were less effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T2DM and CKD, as they showed greater variability than HbA1c and had more sources of bias.
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	Fructosamine correlated with mean blood glucose (r = 0.42, p = 0.002), glucose peak (r = 0.34, p = 0.01), mean amplitude of glycemic excursions (r = 0.33, p = 0.01), percentage of time with blood glucose > 120 mg/dL (r = 0.40, p = 0.002), > 140 mg/dL (r = 0.33, p = 0.01), and > 200 mg/dL (r = 0.37, p = 0.006). Glycated albumin correlated with mean blood glucose (r = 0.34, p = 0.001), glucose peak (r = 0.38, p = 0.004), AUC > 180 (r = 0.33, p = 0.01), glycemic standard deviation (r = 0.41, p = 0.002), mean amplitude of glycemic excursions (r = 0.45, p = 0.0006), percentage of time with blood glucose > 120 mg/dL (r = 0.43, p = 0.02), > 140 mg/dL (r = 0.37, p = 0.005), and > 200 mg/dL (r = 0.43, p = 0.001). HbA1c correlated with mean blood glucose (r = 0.36, p = 0.006), glycemic standard deviation (r = 0.32, p = 0.02), mean amplitude of glycemic excursions (r = 0.38, p = 0.003), percentage of time with blood glucose > 120 mg/dL (r = 0.32, p = 0.02), and > 140 mg/dL (r = 0.34, p = 0.01).	Glycated albumin, fructosamine, and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in obese adolescents with prediabetes or T2DM.

Table 2 (continuation)

Author, Year	Results	Efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	The Kendall's τ coefficients obtained were $T = 0.19$ between fructosamine and HbA1c ($p < 0.001$); $T = 0.29$ between fructosamine and hyperglycemia frequency ($p < 0.001$); $T = 0.09$ between fructosamine and hypoglycemia frequency ($p = 0.046$); $T = 0.50$ between HbA1c and hyperglycemia frequency ($p < 0.001$); and $T = 0.25$ between HbA1c and hypoglycemia frequency ($p < 0.001$). For predicting hyperglycemia frequency, the fructosamine measurement showed a linear correlation coefficient of $R^2 = 0.26$ ($p < 0.001$), while the HbA1c measurement showed a linear correlation coefficient of $R^2 = 0.513$ ($p < 0.001$). A 1% increase in HbA1c levels predicts a 17.2% increase (15.15–19.24%) in hyperglycemia frequency in 51.3% of cases ($p < 0.001$). A 1 $\mu\text{mol/L}$ increase in fructosamine levels predicts a 0.29% increase (0.24–0.35) in hyperglycemia frequency in 26.5% of cases ($p < 0.001$). The fructosamine measurement showed a linear correlation coefficient of $R^2 = 0.033$ for predicting hypoglycemia frequency ($p = 0.003$), whereas the HbA1c measurement showed a linear correlation coefficient of $R^2 = 0.059$ for predicting hypoglycemia frequency ($p < 0.001$). Only 3.3% of the variation in hypoglycemia frequency can be explained by variations in fructosamine levels, while 5.9% can be explained by variations in HbA1c levels.	Fructosamine was less effective than HbA1c in monitoring glycemic control in pregnant women with T1DM, T2DM, gestational diabetes, or overt diabetes, as fructosamine showed a lower correlation with the frequency of hyperglycemia and hypoglycemia compared to HbA1c.
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	Mean blood glucose correlated with HbA1c in patients on hemodialysis ($r = 0.59$, $p < 0.0001$) and in those without nephropathy ($r = 0.40$, $p < 0.005$). Mean blood glucose correlated with glycated albumin in patients on hemodialysis ($r = 0.42$, $p < 0.01$) and in those without nephropathy ($r = 0.60$, $p < 0.0001$). HbA1c correlated with glycemic standard deviation in patients on hemodialysis ($r = 0.47$, $p = 0.005$) but not in those without nephropathy. Glycated albumin correlated with glycemic standard deviation in patients on hemodialysis ($r = 0.68$, $p = 0.0001$) and in those without nephropathy ($r = 0.31$, $p = 0.05$). Both HbA1c and glycated albumin correlated with glycemic variability markers.	Glycated albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with T2DM on HD.
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	In patients with iron deficiency anemia, HbA1c levels decreased from 7.4% (5.5–8.9%) to 7.0% (5.1–8.6%) after iron therapy ($p < 0.001$); however, glycated albumin, fructosamine, and estimated average glucose levels did not change after iron therapy. HbA1c levels decreased from 7.3% (5.5–9.7%) to 6.6% (5.1–8.7%) after erythropoiesis-stimulating agent therapy ($p = 0.01$); however, glycated albumin, fructosamine, and estimated average glucose levels did not change after erythropoiesis-stimulating agent therapy.	Glycated albumin and fructosamine were more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T2DM and CKD stages 3b or 4, especially those with iron-deficiency anemia or erythropoietin deficiency. This is due to the higher sensitivity of these markers in reflecting short-term glycemic fluctuations and their lower interference from conditions such as anemia, which can affect HbA1c levels.
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	The AUC of the 3-day average blood glucose correlated with fructosamine ($r = 0.45$, $p = 0.05$), fructosamine corrected by albumin ($r = 0.54$, $p = 0.01$), and HbA1c ($r = 0.51$, $p < 0.01$). The AUC of the 3-day average blood glucose did not correlate with glycated albumin ($r = -0.26$, $p = 0.26$) or with fasting glucose ($r = 0.36$, $p = 0.08$).	Corrected fructosamine by albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with diabetes mellitus on PD and were more effective than glycated albumin.
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	Mean blood glucose correlated with HbA1c ($r = 0.59$, $p = 0.0052$) and with glycated albumin ($r = 0.58$, $p = 0.0055$). Glycated albumin correlated with markers of glycemic variability: glycemic standard deviation, AUC for glucose levels > 180 mg/dL, TAR > 180 mg/dL, J-index, elevated glycemia index, degree of dissociation from the ideal glucose level, and glycemic control index. HbA1c correlated with glycemic variability markers: AUC for glucose levels > 180 mg/dL, TAR > 180 mg/dL, elevated glycemia index, and degree of dissociation from the ideal glucose level.	Glycated albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with T1DM.

Table 2 (continuation)

Author, Year	Results	Efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	Mean blood glucose correlated with glycated albumin in patients without CKD ($r = 0.49$, $p < 0.05$) and in those with CKD ($r = 0.54$, $p < 0.01$). Mean blood glucose correlated with fructosamine in patients without CKD ($r = 0.44$, $p < 0.05$) and in those with CKD ($r = 0.56$, $p < 0.01$). Mean blood glucose correlated with HbA1c in patients without CKD ($r = 0.66$, $p < 0.001$) but not in those with CKD nephropathy ($r = 0.38$, $p = 0.07$).	Glycated albumin and fructosamine were more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with diabetes and CKD, as they correlated with mean blood glucose.
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	HbA1c correlated with the 4-week fasting mean blood glucose ($R = 0.68$, adjusted $R^2 = 0.46$, $p < 0.0001$) and with the 4-week postprandial (1 and 2 hours after breakfast) mean blood glucose ($R = 0.58$, adjusted $R^2 = 0.31$, $p < 0.0001$). Glycated albumin correlated with the 4-week fasting mean blood glucose ($R = 0.51$, adjusted $R^2 = 0.26$, $p < 0.0001$) and with the 4-week postprandial (1 and 2 hours after breakfast) mean blood glucose ($R = 0.74$, adjusted $R^2 = 0.52$, $p < 0.0001$). Multivariate regression analysis demonstrated that fasting blood glucose is the strongest predictor of HbA1c, while postprandial blood glucose is the strongest predictor of glycated albumin.	Glycated albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with T2DM.
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	The correlation coefficients between HbA1c and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients without CKD were 0.735 (0.543–0.854), 0.766 (0.592–0.872), and 0.783 (0.618–0.882), respectively. The correlation coefficients between glycated albumin and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients without CKD were 0.640 (0.402–0.796), 0.641 (0.404–0.797), and 0.677 (0.457–0.820), respectively. The correlation coefficients between HbA1c and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients undergoing HD were 0.625 (0.457–0.750), 0.597 (0.422–0.730), and 0.568 (0.385–0.709), respectively. The correlation coefficients between glycated albumin and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients undergoing HD were 0.713 (0.574–0.812), 0.691 (0.544–0.796), and 0.682 (0.532–0.790), respectively. The slope of the simple linear regression equation between HbA1c and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients undergoing HD was 0.014 (0.010–0.018), 0.014 (0.009–0.018), and 0.012 (0.008–0.017), respectively. In patients without CKD, the corresponding slopes were 0.032 (0.024–0.040), 0.031 (0.024–0.038), and 0.029 (0.022–0.035), with a significant difference between the two groups ($p = 0.001$, 0.001, and < 0.001, respectively). The slope of the simple linear regression equation between glycated albumin and the weighted mean blood glucose over 3 months, 2 months, and 1 month in patients undergoing HD was 0.090 (0.066–0.115), 0.089 (0.064–0.114), and 0.080 (0.055–0.104), respectively. In patients without CKD, the corresponding slopes were 0.147 (0.111–0.184), 0.141 (0.106–0.176), and 0.130 (0.097–0.162), with no significant difference between the two groups ($p = 0.224$, 0.335, and 0.139, respectively).	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in HD patients, as glycated albumin correlated better with the weighted average blood glucose of the past 3 months than HbA1c.
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	Mean blood glucose correlated with glycated albumin ($r = 0.539$, $p < 0.001$) and HbA1c ($r = 0.520$, $p < 0.001$) in patients with DM undergoing hemodialysis (HD). Mean blood glucose also correlated with glycated albumin ($r = 0.498$, $p < 0.001$) and HbA1c ($r = 0.630$, $p < 0.001$) in patients with DM without CKD. The linear regression slope between HbA1c and mean blood glucose was significantly lower in patients with DM undergoing HD than in those with DM without CKD ($p < 0.001$). In contrast, the regression slope between glycated albumin and mean blood glucose did not differ significantly between these groups ($p = 0.10$). Patients with DM undergoing HD were categorized into four groups based on HbA1c values: Excellent ($< 6.0\%$): 307 patients (57.1%); Good (6.0–7.0%): 128 patients (23.7%); Fair (7.0–8.0%): 65 patients (12.1%); Poor ($> 8.0\%$): 38 patients (7.1%). Similarly, patients with DM undergoing HD were categorized based on glycated albumin values: Excellent ($< 18.0\%$): 152 patients (28.3%); Good (18.0–21.0%): 106 patients (19.7%); Fair (21.0–24.0%): 84 patients (15.6%); Poor ($> 24.0\%$): 196 patients (36.4%). The proportions of glycemic control categories based on HbA1c differed significantly from those based on glycated albumin ($p < 0.001$). HbA1c correlated with the weekly dose of erythropoietin ($r = 0.159$, $p < 0.001$) in patients with T2DM undergoing HD, whereas glycated albumin did not show a significant correlation ($r = 0.055$, $p = 0.201$). Mean blood glucose and glycated albumin did not differ significantly between patients with T2DM undergoing HD who received erythropoietin and those who did not. However, HbA1c was significantly lower in patients receiving erythropoietin than in those not receiving it ($p < 0.05$).	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T2DM on HD, as glycated albumin showed no significant changes in regression slopes for patients on hemodialysis and without nephropathy, and was not affected by anemia resulting from erythropoietin deficiency.

Table 2 (continuation)

Author, Year	Results	Efficacy of glycated albumin and/or fructosamine for monitoring glycemic control
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	HbA1c correlated with mean blood glucose in pre-dialysis patients ($r = 0.47$, $p < 0.0005$), dialysis patients ($r = 0.42$, $p < 0.01$), and patients without CKD ($r = 0.67$, $p < 0.0001$). The regression line slope for patients with advanced CKD (both pre-dialysis and dialysis) was lower when compared to patients without CKD, and a significant difference was observed ($p = 0.045$) among the three regression slopes in the analysis of variance. This indicates that in patients with advanced CKD, HbA1c levels were lower than those predicted by mean blood glucose. Glycated albumin correlated with mean blood glucose in pre-dialysis patients ($r = 0.56$, $p < 0.0001$), dialysis patients ($r = 0.50$, $p < 0.0005$), and patients without CKD ($r = 0.68$, $p < 0.0001$). No significant difference was observed among the three regression slopes in the analysis of variance.	Glycated albumin was more effective than HbA1c in monitoring glycemic control in patients with diabetes and ESKD, as glycated albumin showed no significant changes in regression slopes for patients with ESKD and without CKD.
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	The 4-month fasting mean blood glucose correlated with fructosamine ($r = 0.79$, $p < 0.001$) and with HbA1c ($r = 0.78$, $p < 0.001$). The mean capillary blood glucose from continuous glucose monitoring (CGM) correlated with fructosamine ($r = 0.66$, $p < 0.001$) and with HbA1c ($r = 0.74$, $p < 0.001$).	Fructosamine and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in patients with T2DM.

T1DM = Type 1 *Diabetes mellitus*; T2DM = Type 2 *Diabetes mellitus*; GDM = Gestational *Diabetes mellitus*; DM = *Diabetes mellitus*; PD = Peritoneal dialysis; CKD = Chronic kidney disease; ESKD = End-stage chronic kidney disease; HbA1c = Glycated hemoglobin; HD = Hemodialysis; CGM = Continuous glucose monitoring; GFR = Glomerular filtration rate; BMI = Body mass index; TAR = Time above range; TBR = Time below range; TIR = Time in range; AUC = Area under the curve.

Among the 6 studies^(8,10,11,17,23,24) (31.6%) that evaluated patients on hemodialysis (HD), 4 studies^(10,11,23,24) (66.7%) found greater efficacy of GA compared with HbA1c, and in 2 studies^(8,17) (33.3%), GA showed equal efficacy to HbA1c. Only 1 study⁽¹⁹⁾ (5.3%) evaluated patients on peritoneal dialysis (PD) and found that fructosamine corrected by GA and HbA1c was equally effective in glycemic monitoring. Among the 4 studies^(14,18,21,25) (21.0%) that evaluated CKD, 3 studies^(18,21,25) (75.0%) observed greater efficacy of GA and fructosamine for glycemic monitoring when compared with HbA1c, while 1 study⁽¹⁴⁾ (25.0%) found lower efficacy of GA and fructosamine relative to HbA1c.

Among the 2 studies^(9,16) (10.5%) that evaluated pregnant women, 1 study⁽⁹⁾ (50.0%) found that GA showed greater efficacy in glycemic monitoring when compared with HbA1c. Meanwhile, the other study⁽¹⁶⁾ (50.0%) observed that fructosamine was less effective than HbA1c. The presence of iron deficiency anemia or erythropoietin deficiency was evaluated by 3 studies^(13,18,24) (15.9%), and all of them (100.0%) found that GA and fructosamine were more effective in glycemic monitoring when compared with HbA1c.

Among the 5 studies^(12,15,20,22,26) that evaluated patients with T1DM or T2DM without clinical conditions that interfere with the HbA1c test, 4 studies^(20,22,26) (80.0%) found that GA

and/or fructosamine were as effective as HbA1c for glycemic monitoring, and 1 study⁽¹²⁾ (20.0%) observed greater efficacy of GA for glycemic monitoring when compared with HbA1c.

Regarding the risk of bias, the quality assessment of the articles included in the systematic review demonstrated that all studies⁽⁸⁻²⁶⁾ presented a high risk of bias for the index test topics. The results of the index tests (fructosamine, GA, and HbA1c) were interpreted with prior knowledge of the reference standard results (glycemic monitoring), and the cutoff points used were not pre-defined. Additionally, there was a risk of bias in flow and timing, because although the index test and reference standard were evaluated simultaneously, the reference standard differed between studies.

Conversely, all articles⁽⁸⁻²⁶⁾ showed a low risk of bias for patient selection topics, as patients were included consecutively or randomly, all studies were cohort studies, and no inappropriate exclusions were made. The reference standard also presented a low risk of bias, as it enabled correct evaluation of glycemic monitoring and was interpreted without prior knowledge of the index test results.

Regarding applicability, the quality assessment demonstrated that all studies⁽⁸⁻²⁶⁾ presented a high risk for the "reference standard" topic, as the reference standard was interpreted using different cutoff points. For the "patient

selection" topic, 11 studies^(8, 10, 11, 14, 17-19, 21, 23-25) presented a high risk, as the patients had dialytic or non-dialytic CKD, which can interfere with fructosamine and GA tests, while 8 studies^(9, 12, 13, 15, 16, 20, 22, 26) presented a low risk, as the patients did not have clinical conditions that could interfere with these tests.

Regarding the "index test" topic, 16 studies^(9, 10, 12, 14-26) presented a low risk because they employed appropriate

methodologies for HbA1c measurement (HPLC or immunoturbidimetry). In contrast, 2 studies^(11, 13) presented a high risk due to the use of inadequate methodologies (colorimetric method or capillary electrophoresis), and 1 study⁽⁸⁾ had an uncertain risk, as it did not report the methodology used for HbA1c measurement.

Table 3 presents the quality assessment of the studies conducted using the QUADAS-2 tool.⁽⁷⁾

Table 3

Evaluation of the quality of studies according to the QUADAS-2 tool.⁽⁷⁾

Author, Year	Risk of Bias				Applicability		
	Patient Selection	Index Test	Reference Standard	Flow and Timing	Patient Selection	Index Test	Reference Standard
Hayashi et al., 2023 ⁽⁸⁾	B	A	B	A	A	?	A
Toft et al., 2022 ⁽⁹⁾	B	A	B	A	B	B	A
Divani et al., 2021 ⁽¹⁰⁾	B	A	B	A	A	B	A
Martino et al., 2021 ⁽¹¹⁾	B	A	B	A	A	A	A
Desouza et al., 2020 ⁽¹²⁾	B	A	B	A	B	B	A
Mahgoob e Moussa, 2020 ⁽¹³⁾	B	A	B	A	B	A	A
Zelnick et al., 2020 ⁽¹⁴⁾	B	A	B	A	A	B	A
Chan et al., 2017 ⁽¹⁵⁾	B	A	B	A	B	B	A
Fujimoto et al., 2016 ⁽¹⁶⁾	B	A	B	A	B	B	A
Hayashi et al., 2016 ⁽¹⁷⁾	B	A	B	A	A	B	A
Konya et al., 2013 ⁽¹⁸⁾	B	A	B	A	A	B	A
Lee et al., 2013 ⁽¹⁹⁾	B	A	B	A	A	B	A
Tsutsumi et al., 2013 ⁽²⁰⁾	B	A	B	A	B	B	A
Vos et al., 2012 ⁽²¹⁾	B	A	B	A	A	B	A
Sakuma et al., 2011 ⁽²²⁾	B	A	B	A	B	B	A
Park et al., 2009 ⁽²³⁾	B	A	B	A	A	B	A
Inaba et al., 2007 ⁽²⁴⁾	B	A	B	A	A	B	A
Chujo et al., 2006 ⁽²⁵⁾	B	A	B	A	A	B	A
Cefalu et al., 1989 ⁽²⁶⁾	B	A	B	A	B	B	A

B – Low risk; A – High risk; ? – Uncertain risk⁽⁷⁾.

DISCUSSION

The studies included in this systematic review observed that fructosamine and GA, in general, show efficacy similar to HbA1c for monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who do not present clinical conditions that interfere with HbA1c measurement. Tsutsumi et al. (2013)⁽²⁰⁾ demonstrated that the correlations of mean glucose with HbA1c ($r = 0.59$, $p = 0.0052$) and with GA ($r = 0.58$, $p = 0.0055$) were similar in patients with T1DM. Cefalu et al. (1989)⁽²⁶⁾ found strong correlations between the 4-month mean fasting glucose and fructosamine ($r = 0.79$, $p < 0.001$) or HbA1c ($r = 0.78$, $p < 0.001$), and between mean capillary glucose from CGM and fructosamine ($r = 0.66$, $p < 0.001$) or HbA1c ($r = 0.74$, $p < 0.001$) in patients with T2DM. Chan et al. (2017)⁽¹⁵⁾ also observed a good correlation between mean glucose and fructosamine ($r = 0.42$, $p = 0.002$), GA ($r = 0.34$, $p = 0.001$), and HbA1c ($r = 0.36$, $p = 0.006$) in obese adolescents with prediabetes or T2DM.

Sakuma et al. (2021)⁽²²⁾ also observed that HbA1c and GA correlated with the 4-week mean fasting glucose (HbA1c: $R = 0.68$, adjusted $R^2 = 0.46$, $p < 0.0001$; GA: $R = 0.51$, adjusted $R^2 = 0.26$, $p < 0.0001$) and with the 4-week mean glucose 1 and 2 hours after breakfast (HbA1c: $R = 0.58$, adjusted $R^2 = 0.31$, $p < 0.0001$; GA: $R = 0.74$, adjusted $R^2 = 0.52$, $p < 0.0001$) in patients with T2DM. They also demonstrated that fasting glucose is the strongest predictor of HbA1c, while postprandial glucose is the strongest predictor of GA in these patients. Desouza et al. (2020)⁽¹²⁾ in turn, found a better correlation between GA and mean glucose ($r = 0.481$) than between HbA1c and mean glucose ($r = 0.233$) during the first 3 months of the study in patients with T1DM or T2DM with poor glycemic control (HbA1c between 7.5% and 12.0%) whose treatment had been modified aiming for better glycemic control, with the difference between correlations being 0.249 (0.130 - 0.367) ($p < 0.0001$). The authors also observed that Kendall correlations, which analyze the direction of change in glycemic indices, were higher between GA and mean glucose (0.341) than between HbA1c and mean glucose (0.160), with a difference between correlations of 0.181 (0.096 - 0.265) ($p < 0.0001$). These findings demonstrate that GA is an interesting marker to quickly evaluate the effect of treatment changes on glycemic control in patients with T1DM or T2DM.

Given the similar efficacy between HbA1c and GA and fructosamine tests for monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who do not have conditions that interfere with the HbA1c test, HbA1c should be routinely used for

long-term monitoring of glycemic control in these patients, according to the recommendations of the Brazilian Diabetes Society (2022).⁽²⁷⁾ Fructosamine and GA tests can be used in situations where short-term glycemic control assessment is necessary, such as preoperative care, initiation of treatment, or therapy changes, since fructosamine reflects the average glucose of the last 2 to 3 weeks.⁽⁴⁾

In patients with CKD, the increase in uremic products leads to a reduction in the lifespan of red blood cells. Additionally, kidney damage affects the production of erythropoietin, consequently leading to a low production of red blood cells. As a result, there is a lower amount of hemoglobin in systemic circulation, which falsely reduces HbA1c levels, as fewer red blood cells will be available to bind to glucose.⁽²⁸⁾ Moreover, patients with CKD present an inflammatory state, which results in bone marrow resistance to the action of erythropoietin. This inflammatory state also promotes an increase in the production of hepcidin, a peptide that inhibits intestinal iron absorption and the mobilization of iron from the reticuloendothelial system, resulting in absolute or functional iron deficiency, respectively, and anemia.^(28,29)

Most studies included in this systematic review, which evaluated patients with *Diabetes mellitus* (DM) with non-dialysis or dialysis CKD, found that fructosamine and GA are more effective than HbA1c for monitoring glycemic control. Vos et al. (2012)⁽²¹⁾ observed that GA ($r = 0.54$, $p < 0.01$) and fructosamine ($r = 0.56$, $p < 0.01$) correlated with mean blood glucose levels in CKD patients; however, HbA1c did not show a significant correlation with mean blood glucose levels in these patients ($r = 0.38$, $p = 0.07$). Park et al. (2009)⁽²³⁾ also found that GA correlated better with the weighted average of 3-month blood glucose levels than HbA1c in patients on HD.

Chujo et al. (2006)⁽²⁵⁾ observed that both HbA1c and GA correlated with mean blood glucose levels in pre-dialysis, dialysis, and non-CKD patients. However, the slope of the regression line in the variance analysis for HbA1c was lower for pre-dialysis and dialysis patients than for non-CKD patients, indicating that HbA1c levels were lower than those indicated by mean blood glucose in CKD patients. Conversely, there was no significant difference among the three regression slopes in the variance analysis for GA. Inaba et al. (2007)⁽²⁴⁾ also found that the slope of the linear regression between HbA1c and mean blood glucose was lower in patients on HD compared to those without CKD ($p < 0.001$), whereas the slope between GA and mean blood glucose did not differ significantly between the two groups ($p = 0.10$).

Divani et al. (2021)⁽¹⁰⁾ also demonstrated that GA was more accurate than HbA1c in detecting time in range < 50% and time above target > 15% in patients with T1DM or T2DM on HD. Martino et al. (2021)⁽¹¹⁾ observed that GA showed a greater predictive ability for early detection of glycometabolic alterations compared to HbA1c. In patients with erythropoietin deficiency, Konya et al. (2013)⁽¹⁸⁾ found that HbA1c levels significantly decreased after therapy with an erythropoiesis-stimulating agent, while no changes were observed in fructosamine and GA levels. Inaba et al. (2007)⁽²⁴⁾ also demonstrated that HbA1c was significantly lower in HD patients receiving erythropoietin compared to those not receiving erythropoietin, whereas GA did not differ significantly between the two groups.

Hayashi et al. (2016)⁽¹⁷⁾ and (2023)⁽¹⁸⁾ observed that GA and HbA1c were equally effective for monitoring glycemic control in HD patients. Lee et al. (2013)⁽¹⁹⁾ demonstrated that fructosamine corrected for albumin and HbA1c were equally effective in monitoring glycemic control in PD patients, but both were more effective than GA. The greater efficacy of fructosamine corrected for albumin compared to GA can be explained by the fact that GA levels are affected by albumin loss in urine, and this interference can be minimized by dividing fructosamine levels by albumin levels.⁽¹⁹⁾

Conversely, Zelnick et al. (2020)⁽¹⁴⁾ found that GA and fructosamine were less effective than HbA1c for monitoring glycemic control in T2DM patients with CKD, as they exhibited greater variability than HbA1c and more sources of bias. This may be due to the fact that fructosamine and GA reflect short-term glycemic control and are more influenced by the use of medications and recent medical interventions than HbA1c.⁽¹⁴⁾ Nonetheless, these authors observed that the correlations between HbA1c, GA, and fructosamine with estimated mean blood glucose were similar for both non-CKD patients ($r = 0.76$; $r = 0.72$; $r = 0.63$, respectively) and CKD patients ($r = 0.78$; $r = 0.78$; $r = 0.71$, respectively).

Iron deficiency anemia is one of the most common deficiencies in developing countries, predominantly affecting women and children.⁽³⁰⁾ Iron deficiency in the body arises from nutritional deficiency and insufficient storage, excessive loss, or inadequate utilization of this trace element.⁽³¹⁾ Iron deficiency anemia can result in a false increase in HbA1c levels, as the lack of iron in the body can lead to terminal glycation of proline, altering the structure of red blood cells, reducing their renewal rate, and causing them to remain in the plasma longer, exposed to glucose binding. Additionally, iron deficiency may induce peroxidation and accelerate glycation,

leading to increased HbA1c levels in patients with or without diabetes who have iron deficiency anemia.⁽³²⁾

Both studies included in this systematic review, which evaluated patients with diabetes and iron deficiency anemia, found that fructosamine and GA are more effective than HbA1c for monitoring glycemic control. Mahgoob and Moussa (2020)⁽¹³⁾ observed that average blood glucose correlated with GA but not with HbA1c in patients with iron deficiency anemia, and GA showed greater sensitivity and specificity for predicting uncontrolled diabetes in these patients compared to HbA1c. Konya et al. (2013)⁽¹⁸⁾ also found that in patients with iron deficiency anemia, HbA1c levels significantly decreased after iron therapy, while fructosamine and GA levels remained unchanged.

Therefore, in clinical situations where there is an alteration in the quantity or lifespan of red blood cells, such as dialytic or non-dialytic CKD and iron deficiency anemia, leading to misinterpretations of HbA1c, alternatives like fructosamine and GA are necessary for monitoring glycemic control in individuals with T1DM or T2DM.

In pregnant women, various metabolic changes occur during the first weeks of gestation, the most significant of which is insulin resistance. These modifications are attributed to various humoral factors of maternal and placental origin that aim to increase the demand for nutrients for the fetus.⁽³³⁾ Additionally, there is an increase in blood volume, resulting in hemodilution and physiological anemia, leading to a false reduction in HbA1c levels.^(2,3) Due to increased hematopoiesis and blood volume, glucose is diluted in the blood, reducing fasting glucose levels. Given these alterations in glycemic and HbA1c levels throughout pregnancy and the lack of established reference values for HbA1c levels for each gestational trimester, HbA1c is limited in monitoring glycemic control during pregnancy.⁽³⁴⁾

In pregnant women with pregestational diabetes, Toft et al. (2020)⁽⁹⁾ observed that GA was more accurate than HbA1c in detecting time in range < 70% and time above target > 25%. However, Fujimoto et al. (2016)⁽¹⁶⁾ found that fructosamine had a lower correlation with the frequency of hyper- and hypoglycemia than HbA1c in pregnant women with T1DM, T2DM, gestational *Diabetes mellitus* (GDM), or overt diabetes.

Given the limitations of using HbA1c for glycemic monitoring during pregnancy, the Brazilian Diabetes Society (2023)⁽³⁴⁾ recommends that pregnant women perform self-monitoring of blood glucose until delivery. Pregnant women with pregestational diabetes should measure capillary blood glucose before and one hour after the three main meals and at

bedtime. Those with GDM undergoing non-pharmacological treatment should measure glucose levels while fasting and one hour after the main meals, while those receiving pharmacological treatment should measure glucose levels before and one hour after the main meals. These measures aim to monitor blood glucose, preventing severe hypoglycemic events, as well as to assess treatment efficacy and adherence, which cannot be adequately evaluated by HbA1c, since it provides retrospective data on average glucose levels but does not assess glycemic variability throughout the day.⁽³⁴⁾

Regarding the methods used for glycemic monitoring assessment, most studies^(8-10,12-22,25,26) included in this systematic review used CGM or capillary blood glucose self-monitoring, as these are the best methods for evaluating glycemic control and variations in patients with *Diabetes mellitus*.⁽³⁴⁾ Only three studies^(11,23,24) did not use these methods to assess glycemic monitoring. However, all three studies evaluated patients' blood glucose at least three different times over a minimum period of two months.

Regarding the method used for HbA1c measurement, most studies employed high-performance liquid chromatography (HPLC) or immunoturbidimetry, which are standardized and recommended methods for HbA1c measurement.⁽³⁵⁾ For GA measurement, enzymatic, immunoturbidimetric, colorimetric, ELISA, and liquid chromatography methods were used, while enzymatic and colorimetric methods were employed for fructosamine measurement. These methods are precise and appropriate for performing these assays.⁽⁴⁾

The articles included in this systematic review showed significant diversity in the clinical characteristics of the patients. While some studies included patients with T1DM or T2DM who did not have clinical conditions that interfere with HbA1c measurement, others included patients with diabetes who had conditions that could affect HbA1c results, such as dialysis-dependent or non-dialysis chronic kidney disease, iron-deficiency anemia, and pregnancy. Additionally, there was considerable variation among studies in terms of patient age range, the method used for blood glucose monitoring, and the statistical analysis methodology applied to the results. The quality assessment of the articles included in this systematic review demonstrated that all studies presented a high risk of bias in the index test and flow and timing domains, as well as a high applicability risk in the reference standard domain. This was due to the absence of predefined cutoff points for fructosamine and GA, differences in the reference standards used among studies, and the interpretation of results using varying cutoff values.

These challenges represent limitations of the present study, preventing the performance of meta-analyses.

It is important to highlight that the QUADAS-2 tool⁽⁷⁾ was developed to assess the risk of bias in diagnostic accuracy studies. However, the studies included in this systematic review aimed to evaluate the efficacy of GA and fructosamine tests for monitoring glycemic control in patients previously diagnosed with *Diabetes mellitus*. In the absence of a specific tool to assess the quality of studies focused on glycemic control monitoring, we chose to use the QUADAS-2 tool despite its limitations for this purpose, which may have contributed to a high risk of bias in certain domains.

FINAL CONSIDERATIONS

Fructosamine and GA show similar efficacy to HbA1c in monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who do not have clinical conditions that interfere with HbA1c measurement. It is recommended that HbA1c be used for long-term glycemic control monitoring in these patients, following national and international guidelines, and that fructosamine and GA tests be employed in situations where short-term glycemic control assessment is necessary.

Conversely, fructosamine and GA are more effective than HbA1c for monitoring glycemic control in patients with T1DM or T2DM who have clinical conditions that alter the quantity or lifespan of red blood cells, such as dialysis and non-dialysis chronic kidney disease and iron deficiency anemia. In these cases, it is recommended to use fructosamine or AG tests for glycemic monitoring.

REFERENCES

1. Pititio B, Dias M, Moura F, Lamounier R, Calliari S, Bertoluci M. Metas no tratamento do diabetes. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022). Available at: <https://doi.org/10.29327/557753.2022-3>.
2. Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD. 2017/2018. Atualização sobre Hemoglobina Glicada (A1C) para Avaliação do Controle Glicêmico e para o Diagnóstico do Diabetes: Aspectos Clínicos e Laboratoriais. 2018.
3. Sumita NM. Interferences and methodological limitations with glycated hemoglobin measurements (A1C). *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2012; 48(5):1-2. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000500001>
4. Danese E, Montagnana M, Nouvenne A, Giuseppe L. Advantages and Pitfalls of Fructosamine and Glycated Albumin in the Diagnosis and Treatment of Diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 2015; 9(2):1-8. Available at: <https://doi.org/10.1177/1932296814567227>
5. Page MJ, Mcknzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffman TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021, 372:71. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

6. McInnes MDF, Moher D, Thoms BD, McGrath TA, Bossuyt PM, The Prisma-DTA Group, et al. Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies: the PRISMA-DTA statement. *JAMA*. 2018; 319(4):388-396. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.19163>
7. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Geeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Annals of Internal Medicine*. 2011; 155(8):529-536. Available at: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009>
8. Hayashi A, Shimizu N, Suzuki A, Fujishima R, Maratoba K, Moriguchi I. Novel clinical associations between time in range and microangiopathies in people with type 2 diabetes mellitus on hemodialysis. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2023; 37(5):1-4. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2023.108470>
9. Toft J, Dalen I, Skadberg O, Goransson L, Okaland D, Bleskestad I. Glycated albumin and continuous glucose monitoring metrics across pregnancy in women with pre-gestational diabetes. *Endocrinology, Diabetes & Metabolism*. 2022; 19; 5:1-4. Available at: <https://doi.org/10.1002/edm2.376>
10. Divani M, Georgianos P, Didangelos T, Liakopoulos V, Makedou K, Lijadis F, et al. Assessment of Hyperglycemia, Hypoglycemia and Inter-Day Glucose Variability Using Continuous Glucose Monitoring among Diabetic Patients on Chronic Hemodialysis. *Revista de Medicina Clínica*. 2021; 1-12. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm10184116>
11. Martino F, Vitillo M, Pieri M, Marrone J, Gangeri F, Ansali F, et al. Biomarkers of Glyco-Metabolic Control in Hemodialysis Patients: Glycated Hemoglobin vs. Glycated Albumin. *Revista de Medicina Kaunas*. 2020; 677-687. Available at: <https://doi.org/10.3390/medicina57070712>
12. Desouza C, Holcomb R, Rosenstock J, Frias J, Hsia S, Klein E. Results of a Study Comparing Glycated Albumin to Other Glycemic Indices. *Journal of clinical endocrinology & Metabolism*. 2019; 1-12. Available at: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz087>
13. Mahgoob M, Maussa M. Glycated albumin versus HbA1c as indicators of glycemic control in type I diabetic children with iron deficiency anemia. *Official Journal of the Japanese Society of Pediatric Endocrinology*. 2020;1-9. Available at: <https://doi.org/10.1297/cpe.29.151>
14. Zelnick L, Batacchi Z, Ahmad I, Dighe A, Litte R, Trence D, et al., Continuous Glucose Monitoring and Use of Alternative Markers To Assess Glycemia in Chronic Kidney Disease. *Diabetes Care*. 2020; 1-9. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc20-0915>
15. Chan C, Pyle L, Kelsey M, Newnes L, Baugartner A, Zeitler P, Nadeau K. Alternate glycemic markers reflect glycemic variability in continuous glucose monitoring in youth with prediabetes and type 2 diabetes. *Pediatric Diabetes*. 2017; 1-11. Available at: <https://doi.org/10.1111/pedi.12475>
16. Fujimoto C, Costa R, Zeccara T, Paganotti C, Francisco R. Correlation of the Levels of Fructosamine and Glycated Hemoglobin with the Blood Glucose Profile in Pregnant Women with Diabetes Mellitus. *Revista da Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia* 2016; 1-7. d Available at: <https://doi.org/oi: 10.1055/s-0035-1570108>
17. Hayashi A, Takano K, Masaki T, Yoshino S, Ogawa A, Schiri M. Distinct biomarker roles for HbA1c and glycated albumin in patients with type 2 diabetes on hemodialysis. *Jornal de Diabetes e Suas Complicações* 2016; 30:1-10. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.08.015>
18. Konya J, Cooke Jm, Lewis N, Bhandari S, Atkin SI, Kilpatrick ES. Use of complementary markers in assessing glycaemic control in people with diabetic kidney disease undergoing iron or erythropoietin treatment: *Diabetic medicine: a journal of the british Diabetic association*. *Diabetic Medicine*. 2013;1-8. Available at: <https://doi.org/10.1111/dme.12249>
19. Lee S, Che Y, Tsai I, Yen C, Chueh S, Chueh S, Chueh S, Chuang H, et al. Glycosylated hemoglobin and albumin-corrected fructosamine are good indicators for glycemic control in peritoneal dialysis patients. *Plos One*. 2013; 1-10. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057762>
20. Tsutsumi C, Imagawa A, Onishi M, Sano H, Nakagawa S, Mishiba Y. Glycated albumin as a useful clinical biomarker for glycemic variability in type 1 diabetes assessed by continuous glucose monitoring. *Diabetology International*. 2013; 1-8 Available at: <https://doi.org/10.1007/s13340-013-0142-y>
21. Vos F, Schhollum J, Coulter C, Manning P, Dufful S, Waerlk R. Assessment of markers of glycaemic control in diabetic patients with chronic kidney disease using continuous glucose monitoring. *Nephrology homepage*. 2012; 17:1-11. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2011.01517.x>
22. Sakuma N, Omura M, Oda E, Saito T. Converse contributions of fasting and postprandial glucose to HbA1c and glycated albumin. *Biabetology International*. 2011; 2:162-171 Available at: <https://doi.org/10.1007/s13340-011-0036-9>
23. Park H, Kim Y, Lee J, Kim Y, Shin S. Performance characteristics of glycated albumin and its clinical usefulness in diabetic patients on hemodialysis. *The Koren Journal of Laboratory Medicine*. 2009; 2:1-12. Available at: <https://doi.org/10.3343/kjlm.2009.29.5.406>
24. Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T. Glycated albumin is a better glycemic indicator than glycated hemoglobin values in hemodialysis patients with diabetes: effect of anemia and erythropoietin injection. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007; 2:1-6. Available at: <https://doi.org/10.1681/ASN.2006070772>
25. Chujo K, Shima K, Tada H, Oohashi T, Minaluchi J, Kawashima S. Indicators for blood glucose control in diabetics with end-stage chronic renal disease: GHb vs. glycated albumin (GA). *Journal of Medical Investigation*. 2006; 53:223-228. Available at: <https://doi.org/10.2152/jmi.53.223>
26. Cefalu WT, MD, Kale L, Prather BS, Willian A, Trudy B, Pakerp RN. Clinical evaluation of serum fructosamine in monitoring elderly diabetic outpatients. *Jornal da Sociedade Americana de Geriatria*. 1989; 37(9):1-10. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1989.tb02262.x>
27. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes – Update 2/2023 Aprovado pelo Comitê Central – Available at: <https://doi.org/10.29327/5238993/> ISBN: 978-85-5722-906-8
28. Mazzaferro GS, Lunardelli A. Frutosamina como principal parâmetro glicêmico do paciente diabético em hemodiálise. *CIÊNCIA & SAÚDE [Internet]*. 2016. Available at: <https://doi.org/10.15448/1983-652X.2016.2.22734>
29. Abensur H. Deficiência de ferro na doença renal crônica: Iron deficiency in chronic kidney disease. *Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular* 2010. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000047>
30. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Anemia. Biblioteca virtual em Ministério da Saúde. 2004
31. SANTOS AT, MARCIEL MAS, BARTOLI S. Anemia e suas implicações na interpretação dos níveis de hemoglobina glicada em idosos institucionalizados. *Brazilian Journal of Development* 2019. Available at: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n5-128>
32. GOU W, ZHOU Q, JIA Y, XU J. Increased Levels of Glycated Hemoglobin A1c and Iron Deficiency Anemia: A Review. *Medical Science Monitor* 2019; 25:8371-8378. Available at: <https://doi.org/10.12659/MSM.916719>
33. Golbert A, Campos MAA. Type 1 diabetes mellitus and pregnancy. *SciELO - Scientific Electronic Library* 2008. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302008000200018>
34. Zajdenverg L, Façanha C, Dualib P, Goldbert A, Negrato C, Bertoluci M. Planejamento, metas e monitorização do diabetes durante a gestação. *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023)*. Available at: <https://doi.org/10.29327/557753.2022-12>, ISBN: 978-85-5722-906-8.
35. Panaroto D, Toles AMM, Toss AR. Survey on methods of analysis of glicated hemoglobin used by laboratories from Serra Gaúcha. *Scientia Medica*. 2005 Sep 01 ;25(3):137-140.

Teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos EUCAST RAST direto do frasco de hemocultura positiva em um hospital público regional

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood cultures in a Brazilian regional public hospital

Valéria Martins Soares¹, Alécia Soares Varella², Diana Manzi Viegas³

^{1,3} Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais/Hospital Júlia Kubitschek, Setor de Microbiologia/Laboratório. Belo Horizonte, MG, Brasil.

² Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste, Curso de Medicina. Divinópolis, MG, Brasil.

Resumo

A partir de 2022, o EUCAST validou o teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos diretamente do frasco de hemocultura positiva (RAST) para tempo de incubação estendido. O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do teste em hemoculturas positivas para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, após 16-20 horas de incubação, por meio de comparação com o antibiograma convencional realizado. O estudo demonstrou que o RAST pode ser útil na rotina de um laboratório de microbiologia com pouco acesso à automação, diminuindo em 1 dia o tempo para obtenção do resultado do antibiograma.

Palavras-chave: Antibacterianos. *Escherichia coli*. *Klebsiella pneumoniae*. Testes de Sensibilidade Microbiana

Abstract

Since 2022 EUCAST has developed a method for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles (RAST) for extended incubation time. The objective of this study was to evaluate the performance of the test in blood cultures positive for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, after 16 to 20 hours of incubation, by comparison with the conventional antimicrobial test that was performed. The study demonstrated that RAST can be useful in the routine of a microbiology laboratory with little access to automation, reducing the time to obtain the result by 1 day.

Keywords: Anti-Bacterial Agents. *Escherichia coli*. *Klebsiella pneumoniae*. Microbial Sensitivity Tests

Correspondência

Valéria Martins Soares

E-mail: valeria-msoares@hotmail.com

Recebido em 26/03/2024 | Aprovado em 26/04/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400175.pt

INTRODUÇÃO

O laboratório de microbiologia clínica tem grande importância no diagnóstico das infecções de corrente sanguínea (ICS). A decisão definitiva de qual antimicrobiano deverá ser usado, após o início de terapia empírica, é baseada no resultado de testes de sensibilidade *in vitro*, mediante o crescimento bacteriano nas culturas de rotina.⁽¹⁾ O uso de metodologias mais rápidas tem o potencial de reduzir o tempo de terapia empírica e de início de terapia específica com antimicrobianos sensíveis *in vitro*, podendo prevenir a emergência e disseminação de cepas resistentes, reduzindo os custos hospitalares e a mortalidade.^(2,3)

A metodologia de disco-difusão é uma metodologia clássica muito usada na realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA).⁽⁴⁾ O método é simples, de baixo custo, reproduzível, permitindo a testagem de vários antibióticos ao mesmo tempo.⁽²⁾ No entanto, o TSA requer um inóculo definido a partir de uma cultura pura e incubação *overnight*,⁽⁵⁾ levando-se pelo menos 2 dias para a obtenção do resultado a partir da sinalização da hemocultura como positiva.⁽²⁾

Neste contexto, em novembro de 2018, o EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) padronizou o teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos (RAST), que pode ser realizado diretamente do frasco de hemocultura positiva com leitura após 4, 6 e 8 horas de incubação.⁽⁶⁾ No entanto, o teste estava limitado a laboratórios de microbiologia capazes de identificar a bactéria dentro desse tempo, uma vez que a interpretação do teste é realizada de acordo com a bactéria. A partir de 2022, o EUCAST RAST foi validado também para 16-20 horas de incubação, mediante critérios de leitura e interpretação específicos, em situações em que a leitura após incubação menor não pode ser realizada, de acordo com a logística e limitações do laboratório de microbiologia.^(6,7)

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do RAST na rotina laboratorial, diretamente em amostras de hemocultura positivas para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* após 16-20 horas de incubação, por meio de comparação com o antibiograma convencional realizado a partir do crescimento bacteriano em meio sólido.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no setor de microbiologia do laboratório do Hospital Júlia Kubitschek (HJK). HJK é um hospital geral, público, de abrangência regional e que faz

parte do complexo de especialidades da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG).

Trata-se de um trabalho descritivo e comparativo para avaliar o desempenho do RAST em comparação com o método de disco-difusão padrão (método padrão) utilizado na rotina. Foram incluídas amostras de hemocultura positivas para *E. coli* e *K. pneumoniae*. O trabalho foi aprovado no comitê de ética e pesquisa da FHEMIG, CAAE 74524523.6.0000.5119.

Os frascos de hemocultura (Bactec Plus aeróbico, Bactec Plus anaeróbico e Bactec Plus pediátrico, Beckton-Dickinson, USA) foram incubados no equipamento BD BACTEC FX a 35°C (Beckton-Dickinson, USA). Os frascos positivos foram removidos e corados pela metodologia de Gram. A positividade da cultura e o resultado da coloração de Gram foram comunicados aos clínicos pelo setor de microbiologia, conforme protocolo já estabelecido na instituição.

A metodologia RAST foi realizada de acordo com o protocolo do EUCAST,⁽⁶⁾ com a modificação no volume utilizado,⁽²⁾ em que 250µl do meio líquido da hemocultura positiva foram semeados por estriamento em placa de ágar Mueller-Hinton 150mm (Plastlabor®, Rio de Janeiro, Brasil), assegurando-se a distribuição uniforme do inóculo. Os seguintes discos de antimicrobianos foram colocados: amicacina 30 µg, gentamicina 10µg, imipeném 10µg, meropeném 10µg, sulfametoxazol-trimetoprima 23,75-1,25µg, ciprofloxacina 5µg, piperacilina-tazobactam 30/6µg e cefotaxima 5µg. As placas foram incubadas a 35±1°C.

Como a identificação bacteriana deve ser realizada antes da leitura do RAST, uma vez que a interpretação é específica para cada espécie, o meio líquido da hemocultura positiva foi semeado também em ágar cromogênico CHROMagar Orientation (Plastlabor®, Rio de Janeiro, Brasil).

Após 16-20 horas de incubação, caso o meio cromogênico indicasse crescimento de *E. coli* ou de *K. pneumoniae*, a leitura da placa do RAST era realizada visualmente pelos microbiologistas, por meio da medição dos halos. A placa de meio cromogênico foi também utilizada como meio primário para a realização das provas bioquímicas tradicionais de identificação bacteriana e do antibiograma pelo método padrão (MP), segundo o documento anual do BrCAST (Brazilian Committee on Antimicrobial susceptibility Testing).⁽⁸⁾

O nível de concordância foi avaliado por meio do coeficiente *kappa* (κ), utilizando-se o *software* epitools.ausvet.com.au/comparetwotests. Os erros encontrados foram classificados da seguinte forma: muito importante (método padrão resistente e RAST sensível), importante (método padrão sensível e RAST resistente) e menor (reportado como

sensível aumentando a exposição por um método e sensível ou resistente por outro). Alguns diâmetros foram também classificados como “área de incerteza técnica (AIT)” e foram excluídos da análise.

As recomendações do U.S Food and Drug Administration (FDA) foram usadas na aprovação do teste: concordância $\geq 90\%$, erro muito importante $\leq 1,5\%$, erro importante $3,0\%$ e erro menor $<10\%$.⁽²⁾

O controle de qualidade (CQ) dos discos de antimicrobianos e dos meios de cultura foi realizado de acordo com a padronização anual do BrCAST (Suspensão 0,5 McFarland com 16-20 horas de incubação a $35\pm 1^\circ\text{C}$).⁽⁸⁾

Para calibrar e validar o protocolo RAST, o CQ foi realizado em dias consecutivos, inoculando-se 1 mL de suspensão bacteriana contendo 100-200 UFC (0,5 McFarland diluída a 1:1.000.000) da cepa de *E. coli* ATCC 25922 em um frasco de hemocultura com 5 mL de sangue estéril. Os frascos inoculados foram incubados no equipamento e processados pelo RAST, quando sinalizados como positivos.^(6,9)

RESULTADOS

De agosto de 2023 a janeiro de 2024, foram 47 amostras de hemoculturas positivas com bastonetes Gram-negativos. Foram excluídas da análise 14 amostras nas quais houve o isolamento de outras *Enterobacterales* (6/14), bastonetes Gram-negativos não fermentadores (6/14) e cultura mista (2/14). Foi incluído um total de 33 amostras, das quais 22 (66,7%) foram identificadas como *E. coli* e 11 (33,3%) como *K. pneumoniae*.

Quando comparada ao método padrão, a amicacina e a piperacilina-tazobactam foram os antimicrobianos que apresentaram menor concordância kappa e maior porcentagem de erros muito importantes, 6,1 e 6,2%, respectivamente. Outro erro importante foi encontrado para a gentamicina (3%). Para o meropeném, houve apenas 1 erro menor, relacionado a uma cepa categorizada como sensível, aumentando a exposição no método padrão, com resistência no RAST. Para os demais antimicrobianos testados não foram encontrados erros, de acordo com Tabela 1.

Tabela 1

Comparação entre o RAST com leitura em 16-20 horas e o método padrão (MP)

Antimicrobiano	Método	Perfil de sensibilidade			AIT	Kappa	Número (%) de:		
		S	I	R			EMI	EI	EM
Amicacina n=33	RAST	28	0	8	0	0,798	2(6,1%)	0	0
	MP	26	0	7	0				
Imipeném n=33	RAST	29	0	4	0	1	0	0	0
	MP	29	0	4	0				
Meropeném n=33	RAST	29	0	4	0	0,86	0	0	1(3%)
	MP	29	1	3	0				
Sulfazotrem n=33	RAST	17	0	16	0	1	0	0	0
	MP	17	0	16	0				
Ciprofloxacino n=28	RAST	18	0	10	5	1	0	0	0
	MP	18	0	10	0				
Cefotaxima n=32	RAST	18	0	14	1	1	0	0	0
	MP	18	0	14	0				
PIP-TAZ n=32	RAST	27	0	5	1	0,796	2(6,2%)	0	0
	MP	25	0	7	0				
Gentamicina n=33	RAST	27	0	6	0	0,904	1(3%)	0	0
	MP	26	0	7	0				

Legenda: AIT, área de incerteza técnica; EMI, erro muito importante; EI, erro importante; EM, erro menor; PIP-TAZ, Piperacilina-Tazobactam; S, sensível; I, sensível aumentando a exposição; R, resistente.

DISCUSSÃO

O antibiograma convencional pela técnica de disco-difusão requer 2 dias de trabalho após a sinalização de uma hemocultura positiva. Nas infecções de corrente sanguínea por bactérias Gram-negativas, novos testes são necessários para diminuir o tempo de obtenção de resultados microbiológicos confiáveis. O escalonamento rápido é necessário em infecções por bactérias resistentes. Por outro lado, o descalonamento pode permitir o uso de um antimicrobiano de menor espectro, evitando a potencial promoção de resistência ocasionada pela pressão seletiva na microbiota.⁽¹⁾

A metodologia EUCAST RAST realizada diretamente do frasco de hemocultura positiva tem o potencial de diminuir o tempo para a obtenção do resultado do teste de sensibilidade. A padronização do tempo de leitura estendido para 16-20 horas de incubação permitiu a utilização de um meio cromogênico para identificar presuntivamente *E. coli* e *K. pneumoniae*, realizando-se a leitura do RAST com os valores de halos de inibição para cada bactéria.

Com relação ao imipeném, os resultados foram similares aos encontrados por outros autores,⁽⁷⁾ com concordância absoluta em 38 amostras, após 16-20 horas de incubação. Para o meropeném foi encontrado apenas 1 erro menor, em que o RAST classificou como resistente e o MP como sensível aumentando a exposição, em uma cepa de *K. pneumoniae* produtora de carbapenemase do tipo KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase). A detecção de resistência ao imipeném e ao meropeném pelo RAST também permitiu que a pesquisa da produção de carbapenemases fosse realizada no mesmo momento, utilizando-se método cromatográfico NG CARBA 5 (NG-Biotech®, França) a partir do crescimento no meio Mueller-Hinton ou do meio cromogênico.

Nas outras 3 cepas com concordância foram detectadas 2 cepas produtoras de KPC e 1 co-produtora de KPC e NDM (Nova Delhi metalobetalactamase). Tais resultados mostram que o RAST pode ser uma ferramenta útil no escalonamento de antimicrobianos.⁽⁵⁾

Alguns autores relataram erros importantes em 16 de 31 amostras para a PIP-TAZO, porém para tempos de incubação menores.⁽¹⁰⁾ Bianco et al. sugerem que, com tempo de leitura estendido para 16-20 horas, há um aumento da *performance* do teste, com maior grau de concordância, redução de erros muito importantes e redução da porcentagem de resultados dentro da AIT. Porém, para a PIP-TAZO, o presente estudo encontrou 2 erros muito importantes (6,2%) e o teste para

este antimicrobiano não foi validado de acordo com os critérios utilizados.

Para a amicacina, também foram encontrados 2 erros muito importantes (6,1%). Outros autores não encontraram EMI ou EI para o antimicrobiano quando o tempo de leitura foi estendido para 16-20 horas.⁽⁷⁾ Para a gentamicina, apesar de grau de concordância *kappa* muito bom (0,904), foi encontrado 1 EMI (3%). Não foram observados erros para os outros antimicrobianos avaliados, entretanto o RAST não pôde ser interpretado para o ciprofloxacino em 5 cepas por estar dentro da AIT.

Um dos fatores que pode levar a resultados discordantes é a falta de um inóculo controlado no frasco de hemocultura positiva, diferentemente do TSA tradicional, no qual é padronizado um inóculo bacteriano de 0,5 na escala de MacFarland.⁽²⁾ Outros fatores como a qualidade do meio de cultura e problemas técnicos na realização da metodologia também podem contribuir. No entanto, os resultados obtidos neste estudo indicam que o RAST é comparável ao método padrão para testar a sensibilidade ao imipeném, meropeném, sulfametoxazol-trimetoprima, ciprofloxacino e cefotaxima.

Uma das limitações deste estudo foi o número pequeno de cepas resistentes, especialmente para os carbapenêmicos (4/33). No entanto, a partir da validação do teste para uso em rotina, novas amostras serão incluídas e estudos para avaliar o impacto clínico com a realização do RAST poderão ser realizados.

CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que o RAST pode ser útil na rotina de um laboratório de microbiologia com pouco acesso à automação, diminuindo em 1 dia o tempo para obtenção do resultado de um teste de sensibilidade para *E. coli* e *K. pneumoniae* a antimicrobianos utilizados na prática clínica, em um hospital de grande porte. Para os antimicrobianos que apresentaram EMI, novos estudos deverão ser realizados com um maior número de amostras.

SUPORTE FINANCEIRO

A pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

O presente trabalho foi realizado com o apoio dos funcionários do setor de Microbiologia do Laboratório do HJK e da FHEMIG.

REFERÊNCIAS

1. Anton-Vazquez V, Suarez C, Planche T. Impact of rapid susceptibility testing on antimicrobial therapy and clinical outcomes in Gram-negative bloodstream infections. *J Antimicrob Chemother.* 2022 Feb 23;77(3):771-781. Disponível em: <http://doi.org/10.1093/jac/dkab449>. PMID: 34928343.
2. Martins A, Wink P, Pereira D, Souza A, Aquino V, Barth A. Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;22:637-642. doi: 10.1016/j.jgar.2020.05.015.
3. Shan Y, Hu B, Guo W, Wang B, Zhou C, Huang S, Li N. 2022. Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Test for Enterobacterales-Containing Blood Cultures in China. *J Clin Microbiol* 60:e02559-21. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/jcm.02559-21>.
4. Song D, Lei Y. Mini-review: Recent advances in imaging-based rapid antibiotic susceptibility testing. *Sensors and Actuators Reports* 2021;3:100053. doi: 10.1016/j.snr.2021.100053
5. Berinson B, Olearo F, Both A, Brossmann N, Christner M, Aepfelbacher M, Rohde H. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST): analytical performance and impact on patient management. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(5):1332-1338. doi: 10.1093/jac/dkab026
6. Methodology - EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 4.0, April 2023. Disponível em: <http://www.eucast.org>.
7. Bianco G, Lombardo D, Ricciardelli G, Boattini M, Comini S, Cavallo R, Costa C, Ambretti S. Multicentre Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing (RAST) Extending Analysis to 16–20 Hours Reading Time. *Antibiotics.* 2022; 11(10):1404. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101404>.
8. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos [Internet]. Rio de Janeiro: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2024 Apr 13 [citado 2024 02 01]. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024.pdf>.
9. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Quality control criteria for the implementation of the RAST method. Version 5.0, 2022 Apr 12 [citado 2024 02 01]. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/2022/EUCAST_RAST_QC_v_5.0_final.pdf.
10. Strubbe G, Messiaen A, Vandendriessche S, Verhasselt B, Boelens J. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) compared to conventional susceptibility testing: implementation and potential added value in a tertiary hospital in Belgium. *Acta Clin Belg.* 2023;78(5):385-391. doi: 10.1080/17843286.2023.2197314.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood cultures in a Brazilian regional public hospital

Teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos EUCAST RAST direto do frasco de hemocultura positiva em um hospital público regional

Valéria Martins Soares¹, Alécia Soares Varella², Diana Manzi Viegas³

^{1,3} Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais/Hospital Júlia Kubitschek, Setor de Microbiologia/Laboratório. Belo Horizonte, MG, Brazil.

² Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste, Curso de Medicina. Divinópolis, MG, Brazil.

Abstract

Since 2022 EUCAST has developed a method for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles (RAST) for extended incubation time. The objective of this study was to evaluate the performance of the test in blood cultures positive for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, after 16 to 20 hours of incubation, by comparison with the conventional antimicrobial test that was performed. The study demonstrated that RAST can be useful in the routine of a microbiology laboratory with little access to automation, reducing the time to obtain the result by 1 day.

Keywords: Anti-Bacterial Agents. *Escherichia coli*. *Klebsiella pneumoniae*. Microbial Sensitivity Tests

Resumo

A partir de 2022, o EUCAST validou o teste rápido de sensibilidade aos antimicrobianos diretamente do frasco de hemocultura positiva (RAST) para tempo de incubação estendido. O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do teste em hemoculturas positivas para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, após 16-20 horas de incubação, por meio de comparação com o antibiograma convencional realizado. O estudo demonstrou que o RAST pode ser útil na rotina de um laboratório de microbiologia com pouco acesso à automação, diminuindo em 1 dia o tempo para obtenção do resultado do antibiograma.

Palavras-chave: Antibacterianos. *Escherichia coli*. *Klebsiella pneumoniae*. Testes de Sensibilidade Microbiana

Correspondence

Valéria Martins Soares

E-mail: valeria-msoares@hotmail.com

Received on 03/26/2024

Approved on 04/26/2024

DOI: 10.21877/2448-3877.202400175.en

INTRODUCTION

Clinical microbiology laboratories play a critical role in diagnosing bloodstream infections (BSIs). The choice of antimicrobial therapy relies on the results of in vitro antimicrobial susceptibility testing (AST) conducted after bacterial growth in routine cultures.⁽¹⁾ Faster methods can reduce the duration of empirical therapy and facilitate the timely initiation of targeted therapy with antimicrobials shown to be sensitive in vitro. This approach helps prevent the emergence and spread of resistant strains, reduces hospital costs, and lowers mortality rates.^(2,3)

Disk diffusion is a classic and widely used method for performing AST.⁽⁴⁾ It is simple, cost-effective, and reproducible, allowing for the simultaneous testing of multiple antibiotics.⁽²⁾ However, AST requires a defined inoculum from a pure culture, overnight incubation,⁽⁵⁾ and at least two days to provide results after a positive blood culture result.⁽²⁾

In November 2018, the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standardized rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST), which can be performed directly from positive blood cultures with readings taken after 4, 6, and 8 hours of incubation.⁽⁶⁾ Initially, EUCAST RAST was restricted to microbiology laboratories capable of identifying bacteria within that timeframe, as interpretation depends on the bacterial species. In 2022, EUCAST RAST was further validated for 16 to 20 hours of incubation with specific reading and interpretation criteria to address situations in which shorter incubation times are not feasible due to logistics and limitations of microbiology laboratories.^(6,7)

The aim of the present study was to evaluate the performance of EUCAST RAST in routine laboratory practice by analyzing positive blood culture samples of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* after 16 to 20 hours of incubation. Findings were compared to conventional antibiograms obtained from bacterial growth on solid media.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in the microbiology laboratory at Hospital Júlia Kubitschek (HJK). HJK is a public general hospital with regional coverage and is part of the specialty complex managed by Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG).

The aim of this descriptive, comparative study was to evaluate the performance of EUCAST RAST compared

with disk diffusion (the standard method) used in routine laboratory practice. Positive blood culture samples of *E. coli* and *K. pneumoniae* were included. The protocol for the study was approved by the FHEMIG Human Research Ethics Committee under certificate of ethics review (CAAE) no. 74524523.6.0000.5119, and data collection began following approval.

Blood culture bottles (BD BACTEC™ Plus Aerobic, BD BACTEC™ Plus Anaerobic, and BD BACTEC™ Peds Plus; Beckton-Dickinson, USA) were incubated at 35°C in the BD BACTEC™ FX Blood Culture System (Beckton-Dickinson, USA). Bottles flagged as positive were removed and subjected to Gram staining. The results of positive cultures and Gram staining were reported to clinicians by the microbiology laboratory following the hospital's protocol.

EUCAST RAST was performed following the protocol,⁽⁶⁾ with a modification in the volume used.⁽²⁾ A total of 250 µL of liquid medium from positive blood cultures was streaked onto a 150 mm Mueller-Hinton agar plate (Plastlabor, Rio de Janeiro, Brazil) to ensure uniform inoculum distribution. Antimicrobial disks of amikacin (30 µg), gentamicin (10 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), co-trimoxazole (23.75/1.25 µg), ciprofloxacin (5 µg), piperacillin-tazobactam (30/6 µg), and cefotaxime (5 µg) were applied. Plates were incubated at 35±1°C.

Since bacterial identification is required prior to RAST reading due to species-specific interpretation, the liquid medium from positive blood cultures was also inoculated onto CHROMagar™ Orientation, a nonselective chromogenic culture medium (Plastlabor, Rio de Janeiro, Brazil).

After 16 to 20 hours of incubation, if the chromogenic medium indicated the growth of *E. coli* or *K. pneumoniae*, RAST plates were read visually by microbiologists who measured the inhibition zones. Chromogenic medium plates were also used as the primary medium for performing traditional biochemical tests for bacterial identification and for conducting the antibiogram using the standard method, following the annual guidelines by the Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).⁽⁸⁾

The level of agreement was assessed using the kappa (κ) coefficient with the aid of the online tool available from <https://epitools.ausvet.com.au/comparetwoests>. Errors were classified as very major (standard method resistant and RAST susceptible), major (standard method susceptible and RAST resistant), or minor (reported as susceptible, increased exposure by one method but susceptible or resistant by another). Some inhibition zone diameters fell within the

area of technical uncertainty (ATU) and were therefore excluded from analyses.

Tests were validated based on criteria established by the U.S. Food and Drug Administration (FDA), which require $\geq 90\%$ agreement, very major errors rates of $\leq 1.5\%$, major errors rates of $\leq 3.0\%$, and minor errors rates of $< 10\%$.⁽²⁾

Quality control of antimicrobial disks and culture media was performed according to the annual BrCAST guidelines, using a 0.5 McFarland suspension with 16 to 20 hours of incubation at $35 \pm 1^\circ\text{C}$.⁽⁸⁾

To calibrate and validate the RAST protocol, quality control was performed on consecutive days by inoculating 1 mL of a bacterial suspension containing 100 to 200 colony-forming units (CFUs) (0.5 McFarland suspension diluted 1:1,000,000) of *E. coli* ATCC 25922 into a blood culture bottle with 5 mL of sterile blood. Inoculated vials were incubated in the instrument and processed using the RAST method once flagged as positive.^(6,9)

RESULTS

Between August 2023 and January 2024, 47 positive blood culture samples containing Gram-negative bacilli were identified. Fourteen samples were excluded from analyses due to the isolation of other *Enterobacterales* (6/14), nonfermenting Gram-negative bacilli (6/14), or mixed cultures (2/14). A total of 33 samples were included in the study, of which 22 (66.7%) were identified as *E. coli* and 11 (33.3%) as *K. pneumoniae*.

Amikacin and piperacillin-tazobactam demonstrated the lowest κ agreement and the highest rates of very major errors (6.1% and 6.2%, respectively) compared to the standard method. Another very major error was observed for gentamicin (3%). Regarding meropenem, only one minor error was identified, involving a strain classified as sensitive with increased exposure by the standard method but resistant by RAST. No errors were detected for the other antimicrobials tested.

Table 1

Comparison between RAST with reading at 16 to 20 hours and the standard method.

Antimicrobial (n)	Method	Sensitivity profile			ATU	Kappa	Number (%) of		
		S	I	R			VME	ME	mE
Amikacin (n=33)	RAST	28	0	5	0	0.798	2 (6.1%)	0	0
	SM	26	0	7	0				
Imipenem (n=33)	RAST	29	0	4	0	1.000	0	0	0
	SM	29	0	4	0				
Meropenem (n=33)	RAST	29	0	4	0	0.86	0	0	1 (3%)
	SM	29	1	3	0				
Co-trimoxazole (n=33)	RAST	17	0	16	0	1.000	0	0	0
	SM	17	0	16	0				
Ciprofloxacin (n=28)	RAST	18	0	10	5	1.000	0	0	0
	SM	18	0	10	0				
Cefotaxime (n = 32)	RAST	18	0	14	1	1.000	0	0	0
	SM	18	0	14	0				
Piperacillin-tazobactam (n = 32)	RAST	27	0	5	1	0.796	2 (6.2%)	0	0
	SM	25	0	7	0				
Gentamicin (n=33)	RAST	27	0	6	0	0.904	0	0	0
	SM	26	0	7	0				

ATU = area of technical uncertainty; I = susceptible with increased exposure; ME = major error; mE = minor error; R = resistant; S = susceptible; VME = very major error.

DISCUSSION

Conventional disk diffusion antibiograms require two days of work after a positive blood culture result. New methods are needed to reduce the time needed to obtain reliable microbiological results for Gram-negative BSIs. Rapid escalation of therapy is critical for treating infections caused by resistant bacteria. Conversely, timely de-escalation can enable the use of narrow-spectrum antimicrobials, thereby reducing the risk of developing resistance by minimizing selective pressure on the microbiota.⁽¹⁾

If performed directly from positive blood culture bottles, EUCAST RAST has the potential to significantly reduce the time required to obtain AST results. Standardization of an extended reading time to 16 to 20 hours of incubation enabled the use of a chromogenic medium for the presumptive identification of *E. coli* and *K. pneumoniae*, allowing RAST readings based on inhibition zone values specific to each bacterium.

With regard to imipenem, findings were consistent with previous research⁽⁷⁾ and showed absolute agreement in 38 samples after 16 to 20 hours of incubation. For meropenem, only one minor error was identified: RAST classified the strain as resistant while the standard method classified it as sensitive, increasing exposure. This occurred in a *K. pneumoniae* strain producing *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC). The detection of resistance to imipenem and meropenem by RAST also allowed KPC detection using the NG-Test CARBA 5 chromatographic assay (NG-Biotech, France) from growth on Mueller-Hinton agar or chromogenic medium. Among the other three concordant strains, two were identified as KPC producers, and one was a KPC + New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM) co-producer. These results suggest that RAST may be a valuable tool for guiding antimicrobial escalation.⁽⁵⁾

Some research has reported major errors in 16 out of 31 samples for piperacillin-tazobactam, but under shorter incubation times.⁽¹⁰⁾ Bianco *et al.* suggest that extending the reading time to 16 to 20 hours improves test performance by increasing agreement, reducing very major errors, and lowering the percentage of results within the ATU. Herein, two very major errors (6.2%) were found for piperacillin-tazobactam, and the test for this antimicrobial did not meet the validation criteria used.

With respect to amikacin, two very major errors (6.1%) were identified. However, other research reported no very major or major errors for amikacin when the reading time was extended to 16 to 20 hours.⁽⁷⁾ For gentamicin, despite a very

good agreement ($\kappa = 0.904$), one very major error (3%) was observed. No errors were detected for the other antimicrobials assessed; however, RAST results could not be interpreted for ciprofloxacin in five strains as they fell within the ATU.

One factor that may lead to discordant results is the lack of a controlled inoculum in positive blood culture bottles, unlike traditional AST, which standardizes the bacterial inoculum at 0.5 on the McFarland scale.⁽²⁾ Additional factors, such as the quality of the culture medium and technical issues during method execution, may also contribute. Nevertheless, the results of this study indicate that RAST is comparable to the standard method for testing susceptibility to imipenem, meropenem, co-trimoxazole, ciprofloxacin, and cefotaxime.

One limitation of this study was the small number of resistant strains, particularly for carbapenems (4/33). However, additional samples will be included as the test undergoes validation for routine use. Furthermore, future studies could be conducted to assess the clinical impact of implementing RAST.

CONCLUSION

This study demonstrated that RAST is a valuable tool for microbiology laboratories with limited access to automation, thereby reducing the time required to obtain AST on *E. coli* and *K. pneumoniae* by one day in a large hospital setting. However, further studies with larger sample sizes are needed to validate results for antimicrobials that showed very major errors.

FINANCIAL SUPPORT

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was conducted with the support of the staff of the HJK microbiology laboratory and FHEMIG.

REFERENCES

1. Anton-Vazquez V, Suarez C, Planche T. Impact of rapid susceptibility testing on antimicrobial therapy and clinical outcomes in Gram-negative bloodstream infections. *J Antimicrob Chemother*. 2022 Feb;77(3):771-781. doi: 10.1093/jac/dkab449.
2. Martins A, Wink P, Pereira D, Souza A, Aquino V, Barth A. Rapid antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae by disk diffusion directly from blood culture bottles using the EUCAST RAST breakpoints. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020 Sep;22:637-642. doi: 10.1016/j.jgar.2020.05.015.

3. Shan Y, Hu B, Guo W, Wang B, Zhou C, Huang S, et al. Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Test for Enterobacterales-Containing Blood Cultures in China. *J Clin Microbiol.* 2022 Apr;60(4):e0255921. doi: 10.1128/jcm.02559-21.
4. Song D, Lei Y. Mini-review: Recent advances in imaging-based rapid antibiotic susceptibility testing. *Sens Actuators Rep.* 2021;3:100053. doi: 10.1016/j.snr.2021.100053.
5. Berinson B, Olearo F, Both A, Brossmann N, Christner M, Aepfelbacher M, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST): analytical performance and impact on patient management. *J Antimicrob Chemother.* 2021 Apr;76(5):1332-1338. doi: 10.1093/jac/dkab026.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Methodology - EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 4.0 [Internet]. Basel: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2023 Apr 25 [cited 2024 02 01]. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/2023/EUCAST_RAST_methodology_v4.0_final.pdf.
7. Bianco G, Lombardo D, Ricciardelli G, Boattini M, Comini S, Cavallo R, et al. Multicentre Evaluation of the EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing (RAST) Extending Analysis to 16-20 Hours Reading Time. *Antibiotics (Basel).* 2022 Oct;11(10):1404. doi: 10.3390/antibiotics11101404.
8. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos [Internet]. Rio de Janeiro: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2024 Apr 13 [cited 2024 02 01]. Available from: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024.pdf>.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Quality control criteria for the implementation of the RAST method. Version 5.0 [Internet]. Basel: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; 2022 Apr 12 [cited 2024 02 01]. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/RAST/2022/EUCAST_RAST_QC_v_5.0_final.pdf.
10. Strubbe G, Messiaen AS, Vandendriessche S, Verhasselt B, Boelens J. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) compared to conventional susceptibility testing: implementation and potential added value in a tertiary hospital in Belgium. *Acta Clin Belg.* 2023 Oct;78(5):385-391. doi: 10.1080/17843286.2023.2197314.

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

Alguns exemplos de citações:

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

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

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

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

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.
- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

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

- **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.
- **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.
- **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.
- **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.
- **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.
- **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.
- **Carta ao editor:** Dettlenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.
- **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.
- **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

- **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.
- **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. Bases da parasitologia médica. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
- **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Pentead 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, Niêro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform).* *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.
- **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgp/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: 40. Congresso Virtual de Micologia de Hongos Patógenos en América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **GNPapers**, no endereço: www.gnpapers.com.br/rbac/. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

- A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo GNPapers, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;
- Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de login e senha;
- A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;
- O GNPapers atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;
- Pedidos de fast-track poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de fast-track deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado “Título do Artigo” à apreciação do Corpo Editorial da Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/____/____.

PRO-IN

Programa de Controle Interno da Qualidade do PNCQ



Em diversos volumes e vários níveis!

Liofilizados, aumentando a sua estabilidade!

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

Confira algumas das amostras disponíveis:

IMUNO

- Anti-HBc, HBsAg
- Anti-HCV
- Anti-HIV 1/2, Anti-HTLV
- ASO
- BHCG
- Chagas
- Sífilis VDRL
- Rotavírus
- Zika vírus – IgG
- Dengue – IgG/IgM
- Fator reumatóide
- Proteína C Reativa (PCR)
- Toxoplasmose IgG/IgM
- COVID-19 anticorpos (IgG/IgM), antígeno (Ag)
- Leptospirose

BIOMOL

- HBV biologia molecular
- COVID-19 biologia molecular

TOXICOLOGIA

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

HORMÔNIOS

- Hormônios
- Procalcitonina
- Vitamina D

BIOQUÍMICA

MARCADORES CARDÍACOS

HEMATO

- Hematologia
- Hemoglobina glicada e Hemoglobina HEMOCUE
- Coombs direto e indireto
- Coagulograma
- Fatores da coagulação
- Gasometria
- Grupo sanguíneo e Fator RH
- D-dímero

URINÁLISE E PARASITO

- Urinálise tira reagente, análise bioquímica e automação
- Microalbuminúria
- Sangue oculto



Pro-IN em Tempo Real:

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

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



www.pncq.org.br



@PNCQoficial



@pncqoficial



/pncq-oficial



PNCQ®

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



(21) 3172-7100 | 2569-6867



pncq@pncq.org.br