

R B A C

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS

SUMÁRIO

Prevalência e Suscetibilidade Bacteriana em Infecções do Trato Urinário de Pacientes Atendidos no Hospital Universitário de Uberaba.....	157
<i>Solange Aparecida Silveira, Marcelo Costa Araújo, Fernanda Machado Fonseca, Mônica Hitomi Okura & Ana Carolina Santana de Oliveira</i>	
Prevalence and bacterial susceptibility in urinary tract infection in the University Hospital of Uberaba	161
Biomarcadores em lesões do colo uterino.....	161
<i>Thais Glace T. L. da Silva, Renata dos Santos e Andréa E. M. Stingham</i>	
Biomarkers in lesions of the cervix uterine	165
Determinação da aceitabilidade para os parâmetros do hemograma utilizando amostras-controle de pacientes.....	165
<i>Caroline Nogueira Maia, Maria de Lourdes Martins Carvalho & Leandro de Freitas Teles</i>	
Determining acceptability for the parameters of hemogram using patients samples control	169
Rotavírus e sua epidemiologia nas infecções diarreicas.....	169
<i>Douglas Feitosa de Oliveira; José Humberto de Lima Melo; Ana Catarina Simonetti</i>	
Rotavirus and its epidemiology in diarrhoeal infections	175
Infecções urinárias em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos.....	175
<i>Larissa Chaves Costa; Lindomar de Farias Belém; Patrícia Maria de Freitas e Silva; Heronides dos Santos Pereira; Edison Dantas da Silva Júnior; Thiago Rangel Leite; Gustavo José da Silva Pereira</i>	
Urinary infections in outpatients: prevalence and profile of antimicrobial resistance	181
A proteína P16 é um novo marcador para progressão neoplásica no colo uterino?.....	181
<i>Mauren Isfer Angheben-Oliveira, Júlio Cezar Merlin</i>	
Is the protein p16 a new mark for neoplastic progression in the cervix?	187
Análise bacteriológica comparativa entre aparelhos telefônicos públicos localizados próximos de hospitais e demais localidades da cidade de Uberaba – MG.....	187
<i>Larissa Beatriz Silva, Morgane Oliveira Silva Zafalon, Ronaldo Rodrigues Sarmento, Ana Carolina Bernardes Dulgheroff</i>	
Comparative bacteriological analysis between public telephone located close to hospitals and other locations of Uberaba city in Minas Gerais	191
Perfil lipídico e sua relação com fatores de risco para a aterosclerose em crianças e adolescentes.....	191
<i>Marina R. M. Rover, Emil Kupek, Rita de C. B. Delgado, Lillete C. Souza</i>	
Lipid profile and its relationship with atherosclerosis risk factors in children and adolescents	197
Mapeamento da incidência do papilomavírus humano (hpv) por município na rede pública do estado do Paraná, Brasil.....	197
<i>Sabrina Gonçalves, André Luiz Merisio, Júlio Cezar Merlin, Patrícia Haas</i>	
Mapping the incidence of human papillomavirus by city council in the public system of the state of Parana, Brazil, in the period 2000 to 2006	201
Prevalência de anticoagulante lúpico em pacientes encaminhados ao centro de hemoterapia do estado do Ceará (hemoce) pelo hospital universitário walter cantídio.....	201
<i>Romélia Pinheiro Gonçalves; Maria Cristina Andrade de Araújo; Marcos Antônio Martins da Silva; Marcos Paulo Barbosa Jucá; Rosângela Albuquerque Ribeiro</i>	
Prevalence of lupus anticoagulant in patients routed to the blood of Ceará (HEMOCE) by the University Hospital Walter Cantídio	205
Prevalência de <i>Chlamydia trachomatis</i> em pacientes com leucocitospermia.....	205
<i>Paula Guzzatto; Janaina Scarton; Karin Jaeger Anzolph; Osmar Luiz Magalhães Oliveira</i>	
Prevalence of <i>Chlamydia trachomatis</i> in patients with leucocitospermia	209
Aids no Brasil: uma epidemia em transformação.....	209
<i>Silvia Fernandes Ribeiro da Silva, Márcio Roberto Pinho Pereira, Renato Motta Neto, Mauriclécio Franco Ponte, Ilana Farias Ribeiro, Paola F. Torres Ferreira da Costa, Sônia Leite da Silva</i>	
Aids in brazil: an epidemic disease in transformation	213
Verificação da atividade antibacteriana <i>in vitro</i> dos óleos essenciais <i>Cinnamomum zeylanicum</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i> em bactérias causadoras de infecção do trato urinário.....	213
<i>Tamires Marielem de Carvalho; Tamyres de Freitas Tosta; Ronaldo Rodrigues Sarmento; Mauro Luis Begnini; Mônica Hitomi Okura</i>	
Verification of the antibacterial activity <i>in vitro</i> of essential oils of <i>Cinnamomum zeylanicum</i> and <i>Rosmarinus officinalis</i> in bacteria which cause infections of the urinary tract	217
Análise dos componentes da síndrome metabólica antes e após a suplementação dietética com farinha da casca do maracujá, em pacientes diabéticos.....	217
<i>Janebro, D.I.; Queiroz, M.S.R.; Sabaa-Srur, A.U.O.; Cunha, M.A.L.; Diniz, M.F.F.M.</i>	
Analysis of components of metabolic syndrome before and after dietary supplementation with flour passion fruit peel, in diabetic patients	223
Identificação e perfil de sensibilidade de <i>Candida</i> spp isoladas de urina de pacientes com candidúria em Iguatu-Ceará.....	223
<i>Clerton Linhares Gomes, José Epídio Cavalcante, Francisco Afrânio Cunha, Lia Nascimento Amorim e Everardo Albuquerque Menezes</i>	
Identification and profile of sensitivity of isolated <i>Candida</i> spp of urine of patients with candiduria in Iguatu-Ceará	227
Análise comparativa entre duas metodologias para dosagem de HDL-C (direto e precipitado) em amostras heterogêneas.....	227
<i>Diego Estery da Rocha, Cláudia Cavalett</i>	
Comparative analysis between two high-density lipoprotein cholesterol (direct and precipitation) in heterogeneous samples	231
Avaliação do perfil lipídico em alunos de 10 a 18 anos em uma escola particular do município de Carazinho-RS.....	231
<i>Samanta Larissa Kerber, Ana Graciela Ventura Antunes, Cláudia Cavalett</i>	
Evaluation of lipid profile in students from 10 to 18 years in a private school in the municipality of Carazinho-RS	

3

VOLUME 42

2010

Prevalência e Suscetibilidade Bacteriana em Infecções do Trato Urinário de Pacientes Atendidos no Hospital Universitário de Uberaba*

Prevalence and bacterial susceptibility in urinary tract infection in the University Hospital of Uberaba

Solange Aparecida Silveira¹, Marcelo Costa Araújo¹, Fernanda Machado Fonseca²,
Mônica Hitomi Okura² & Ana Carolina Santana de Oliveira²

RESUMO - Em função da alta incidência das infecções urinárias tanto na comunidade como em hospitais, este trabalho teve como objetivo identificar os agentes etiológicos mais frequentes nestas infecções e relatar o perfil de sensibilidade antimicrobiana da *Escherichia coli* isolada no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro de Uberaba. Durante o período de estudo (Janeiro a Dezembro de 2007) foram analisadas todas as uroculturas positivas, perfazendo um total de 938 amostras. A *Escherichia coli* foi a bactéria mais isolada (60,4%) seguida de *Klebsiella pneumoniae* (12,0 %) e *Pseudomonas aeruginosa* (7,4 %). A *Escherichia coli* apresentou mais de 90% sensibilidade para ceftazidina, amicacina, aztreonam, cefepime, ceftriaxona, cefoxitina, nitrofurantoína e gentamicina, enquanto que 51,45% apresentaram resistência a sulfametoxazol-trimetoprim.

PALAVRAS-CHAVE - Infecção do Trato Urinário, Antimicrobianos, Sensibilidade.

SUMMARY - Because of the high incidence of urinary infections in both the community and hospitals, this study aimed to identify the most frequently etiological agents for these infections and report the profile of antimicrobial sensitivity for *Escherichia coli* isolated at the University's Hospital of Universidade Federal do Triângulo Mineiro. During the studied period (January to December 2007) were analyzed all the positive urine cultures, a total of 938 samples. The bacteria *Escherichia coli* was the most isolated (60.4%) followed by *Klebsiella pneumoniae* (12.0%) and *Pseudomonas aeruginosa* (7.4%). *E. coli* showed more than 90% sensitivity for ceftazidina, amikacin, aztreonam, cefepime, ceftriaxone, cefoxitin, nitrofurantoin and gentamicin, while 51.45% were resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole.

KEYWORDS - Urinary tract Infection, Antimicrobials, Sensitivity.

INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) consiste na invasão e multiplicação de microrganismos na mucosa do trato urinário em qualquer segmento, desde a uretra até o rim (1). Os microrganismos podem alcançar o trato urinário e causar infecção através de três vias: a via ascendente, a mais freqüente, principalmente em mulheres devido à menor extensão da uretra e em pacientes submetidos à instrumentação do trato urinário; a via hematogênica, devido à intensa vascularização do rim, podendo o mesmo ser comprometido em qualquer infecção sistêmica; e a via linfática, sendo pouco freqüente, o microorganismo alcançar o rim pelas conexões linfáticas entre trato urinário inferior e superior e/ou entre o intestino e o rim (26).

A ITU é uma patologia muito comum podendo acometer homens e mulheres, variando de acordo com o sexo e idade do paciente (28). Nas crianças, na fase de lactente, a infecção é mais comum em meninos. No sexo feminino, apresenta uma incidência maior na idade pré escolar, e posteriormente, quando iniciam a atividade sexual. Nos homens, na fase adulta até os 65 anos a incidência é extremamente baixa, sendo associada com obstrução prostática e nos idosos a prevalência é igual em ambos os sexos (18, 20).

Os patógenos mais prevalentes em ITU pertencem ao grupo de bactérias Gram-negativas, em especial a *Escherichia coli*. Mas a sua freqüência com que causam infecção depende do local onde ela foi adquirida (intra ou extra-hospitalar) e ainda diferindo dentro de cada ambiente hospitalar (16).

A capacidade das bactérias causarem ITU depende de

vários fatores. Elas apresentam mecanismos de escape a fim de driblar as barreiras imunológicas e fisiológicas do trato urinário. Esses mecanismos são chamados fatores de virulência, os quais podem influenciar o grau de acometimento da infecção (10). Estes fatores de virulência, presentes ou não no grupo das enterobactérias, caracterizam-se pela presença de fímbrias, antígeno capsular K e a produção de endotoxinas bacterianas (3, 33).

O hospedeiro também tem alguns fatores predisponentes na patogenia da ITU como: cateterização urinária, obstrução do trato urinário, gravidez, Diabetes Mellitus, relação sexual/métodos contraceptivos, prostatismo, menopausa, idade avançada e transplante (9, 10, 17, 25, 35). Além de todos os aspectos abordados, existe uma elevada freqüência de contaminação de pacientes em uma mesma unidade hospitalar, por um mesmo microrganismo. Isso reforça a importância de uma boa higienização no atendimento a um paciente, uma vez que, as mãos são responsáveis pelas infecções cruzadas e pelos surtos de ITU (21).

O diagnóstico destas infecções é sempre feito em bases clínicas e laboratoriais (31). Apesar de existirem outros métodos como fitas reagentes ou sedimento urinário que auxiliam no diagnóstico (5, 22), a urocultura ainda é considerada o método padrão-ouro para o diagnóstico (34).

O estudo epidemiológico dos uropatógenos e o estabelecimento do perfil da sensibilidade aos antimicrobianos são aspectos de grande relevância, pois podem ser significativamente diferentes de acordo com cada localidade. Além disso, é de suma importância a vigilância constante do aparecimento de novas cepas bacterianas resistentes, pois estas bactérias podem causar imensos transtornos para o clínico

Recebido em 03/12/2008

Aprovado em 26/04/2010

*Trabalho desenvolvido no Laboratório do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro em Uberaba

¹Universidade de Uberaba (UNIUBE)

²Departamento de Ciências Biológicas e Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

na tentativa de debelar infecções causadas pelas mesmas (29). Devido a esta multiresistência a diferentes drogas, vem ocorrendo um aumento dos custos de tratamento destas infecções no sistema de saúde e nos próprios hospitais (6). Por estas considerações, o presente trabalho teve como objetivo identificar os agentes etiológicos mais frequentemente relacionados aos casos de infecção no trato urinário dos pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro de Uberaba. Além disso, foi relatado o perfil de resistência e sensibilidade antimicrobiana da espécie *Escherichia coli*. Na literatura, encontramos que a *Escherichia coli* é o agente que mais causa ITU em ambiente hospitalar e/ ou ambulatorial (18, 19, 24).

MATERIAS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo de todas as uroculturas positivas (a partir de 100 mil UFC/ml) de pacientes atendidos no Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro em Uberaba no período de janeiro a dezembro de 2007. As uroculturas foram semeadas com alça calibrada (1:1.000) em ágar CLED (cistina lactose eletrólito deficiente) após a homogeneização da urina. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C (± 1°C) por 18 a 24 horas. Após a incubação, foi feita identificação do microorganismo pelas provas bioquímicas adequadas e posteriormente realizou-se os antibiogramas através da técnica de disco-difusão em ágar Müller-Hinton. Para a determinação da sensibilidade bacteriana levou-se em consideração o diâmetro do halo produzido pela bactéria na placa de disco-difusão, segundo os padrões do *Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI (7). Posteriormente, os resultados do antibiograma foram transcritos nos livros de registro do Laboratório de Microbiologia, de onde estes dados foram coletados.

RESULTADOS

No período de janeiro a dezembro de 2007, foram analisadas 938 amostras de urina com culturas positivas. Observou-se um maior número de infecções urinárias em mulheres (62,4 %) do que nos homens (27,6 %). O microrganismo mais frequentemente isolado foi a *Escherichia coli* representando 60,4% dos resultados positivos, seguido da *Klebsiella pneumoniae* (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (7,4%), *Enterococcus faecalis* (3,4%), *Proteus mirabilis* (3,2%), *Acinetobacter baumannii* (1,4%), *Staphylococcus saprophyticus* (1,2%) e *Staphylococcus aureus* (1,1%). Os outros 9,9 % restantes foram compostos por várias outras espécies de bactérias, sendo elas: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus sp*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus sp*, *Streptococcus* do grupo D, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Serratia marcescens*, *Proteus penneri*, *Klebsiella ozaenae*, *Providencia alcalifaciens* e *Enterobacter agglomerans* (Fig. 1). No período estudado, as espécies de *Escherichia coli* isoladas apresentaram o seguinte perfil de sensibilidade: ceftazidina (98%), amicacina (97,7%), aztreonam (96,8%), cefepime (96,6%), ceftriaxona (96,4%), cefoxitina (95,7%), nitrofurantoina (94,1%) e gentamicina (92,3%) (Fig. 2). Obtiveram menor sensibilidade, abaixo de 90%, os seguintes antimicrobianos: clorofenicol (83,1%), ampicilina-sulbactam (78,5%), norfloxacin (75,5%), ciprofloxacina (75%), cefalotina (68,7%) e sulfametoxazol-trimetoprim (51,45%) (Fig. 3).

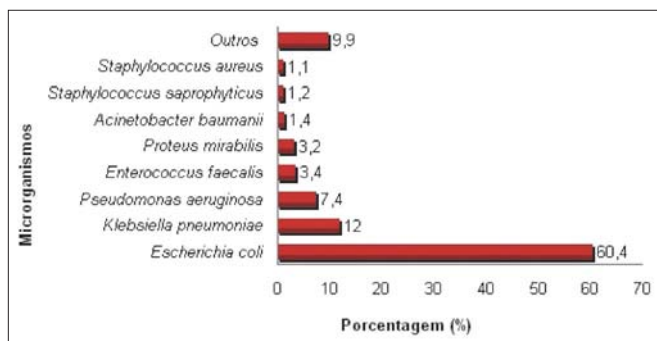


Fig. 1 - Agentes patogênicos mais prevalentes nas infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro de 2007.

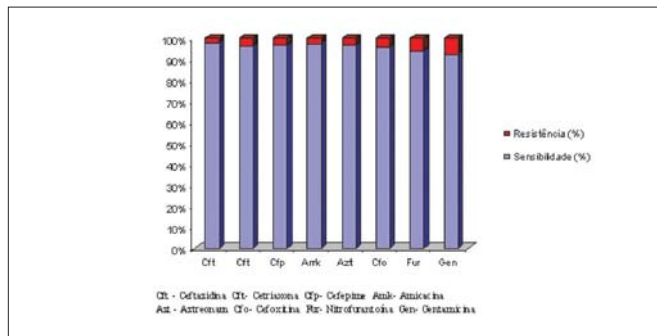


Fig. 2 - Perfil de sensibilidade da *Escherichia coli* aos antimicrobianos usados no tratamento das infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro de 2007.

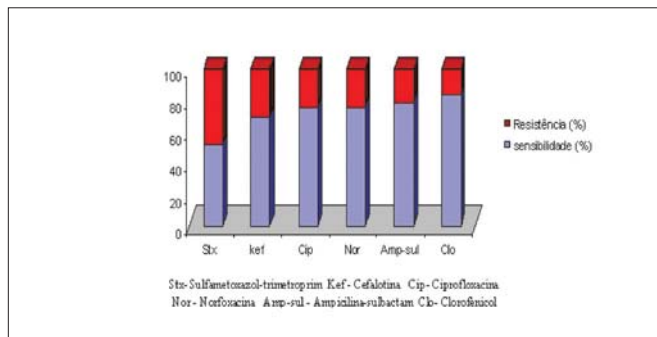


Fig. 3 - Perfil de sensibilidade da *Escherichia coli* aos antimicrobianos usados no tratamento das infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro de 2007.

DISCUSSÃO

A infecção do trato urinário é uma das infecções bacterianas mais comuns na clínica médica sendo que seu tratamento, na maioria das vezes, é empírico, contribuindo para o aparecimento de resistência. Essa conduta empírica pode ser explicada pelo fato de que a urocultura (padrão ouro) exige muito tempo para expedir o resultado, podendo durar até mais de seis semanas para se isolar e identificar o microorganismo, como no caso das micobactérias (27). No presente estudo, a *Escherichia coli* foi o agente mais isolado nas uroculturas, representando 60,4% do total. Na literatura, encontramos esta bactéria como o agente mais freqüente das ITUs (2, 12), corroborando nossos achados em relação à prevalência. Lucchett Giancarlo & cols (21) demonstraram uma associação direta entre *Pseudomonas aeruginosa* e pacientes cro-

nicamente sondados, sendo este o principal causador de ITU (43,6%), mais freqüente que *E. coli* (13,2%). Em relação aos perfis de sensibilidade de *E. coli*, os resultados destes autores são discrepantes em relação aos nossos, uma vez que a sensibilidade da ciprofloxacina, norfloxacina e nitrofurantoína foram nitidamente menores (36,8%, 44,2% e 63,9% respectivamente). Esta diferença pode ser justificada, visto que os padrões de sensibilidade podem variar amplamente, dependendo do hospital ou clínica do paciente. Entretanto, para os antimicrobianos gentamicina, cefepime e ceftazidina os valores de sensibilidade foram relativamente parecidos (86,8%, 95,2% e 97,4% respectivamente). Analisando a resposta aos antimicrobianos de *Escherichia coli*, observamos uma sensibilidade maior para as seguintes drogas: ceftazidina, ceftriaxona, cefepime, aminoglicosídeos e nitrofurantoína, apresentando mais de 90% de sensibilidade. Ao contrário do sulfametoxazol-trimetoprim (STX-TMP), que apresentou baixa sensibilidade (51,4%) em relação aos outros antimicrobianos. De acordo com Pires & cols (27) através de um estudo retrospectivo de uroculturas positivas em pacientes ambulatoriais de 2001 a 2005, o STX-TMP foi o antimicrobiano mais resistente em todo o período estudo, tendo uma variação de 43,6% a 62% de sensibilidade. Em relação aos outros antimicrobianos, aqueles que mais tiveram sensibilidade foram a gentamicina, amicacina e nitrofurantoína, apresentando resultados concordantes com nosso trabalho.

Em um estudo com pacientes ambulatoriais e hospitalizados realizados por Horner Rosmari & cols (18), os isolados de *E. coli* apresentaram uma sensibilidade de 87,4% a norfloxacina, 87% a ciprofloxacina, 9,6% a nitrofurantoína e STX-TMP correspondendo a 62,2%. Enquanto Menezes e cols(23) obtiveram 48% de resistência a sulfametoxazol-trimetoprim em pacientes ambulatoriais. Isto já foi evidenciado também em outros trabalhos (4, 14, 28) os quais verificaram uma maior resistência a sulfametoxazol-trimetoprim. Esta elevada resistência microbiana é justificada pelo fato de o STX-TMP ser um dos antimicrobianos mais antigos e mais usados na prática clínica do nosso serviço, possivelmente de uma maneira indiscriminada e aleatória com a automedicação. Desta forma, este antimicrobiano não é recomendado como droga de primeira escolha no tratamento destes tipos de infecções.

Em conclusão, trabalhos como este devem ser realizados periodicamente, pois a ITU é uma infecção bacteriana muito comum em qualquer faixa etária, sendo o seu tratamento, na maioria das vezes, iniciado e até completado de maneira empírica. Diante disto, há uma necessidade de um maior conhecimento da prevalência e freqüência dos agentes infecciosos; buscando assim a otimização do tratamento para garantir uma resolução da maioria das infecções do trato urinário e reduzir do aparecimento de novas resistências bacterianas.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - Anvisa. Principais Síndromes Infecciosas. Módulo 1 - Infecções do trato urinário- 14-31, 2004. [online] Disponível em: <http://www.ccih.med.br/mod_1_2004.pdf>. Acesso em: nov. 2008.
- ALMEIDA, M. C.; SIMÕES, M. J. S.; RADDI, M. S. G. - Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., 28(2): 215- 219, 2007.
- BLATT, J. M. & MIRANDA, M. C. - Perfil dos microrganismos causadores de infecções do trato urinário em pacientes internados. Rev. Panam. Infectol., 7(4): 10-14, 2005.
- BENTON, J.; CHAWLA J.; PARRY, S. & STICKLER, D. - Virulence factor in *Escherichia coli* from urinary tract infection in patients with spinal injuries. J. Hosp. Infect., 22(2): 117-127, 1992.
- BRAUN, S. J.; CAMPONOVO, R. C.; CONA, E. T.; FERNÁNDEZ, A. V.; GARCIA, P. C.; GONZÁLEZ, P. A.; HERVÉ, B. R.; JULIET, C. L.; PINTO, M. E. C.; PRADO, V. J.; TRUCCO, O. A.; TRIANTAFILO, V. V. - Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. Rev. Chil. Infect., 18(1): 57-63, 2001.
- CASTRO, M.S.; PIOLGER, D.; FERREIRA, M. B. C.; KOPITTKKE, L. - Trends in antimicrobial utilization in a university hospital, 1990-1996. Rev. Saúde Pública, 36(5): 553-558, 2002.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Aproved Standars. 8. ed. CLSI, 2005.
- DALBOSCO, V.; SROUGI, M.; DALL'OGGIO, M. - Infecções do trato urinário. Rev. Bras. Med., 60(6): 320-334, 2003.
- DUARTE, G.; MORCOLINAC, A. C.; QUINTANA S. M.; CAVALLI R. C. - Infecção urinária na gravidez. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., 30(2): 93-100, 2008.
- FERREIRA A. C. & HEILBERG LP. - Infecção do trato urinário no pós-transplante renal em crianças. J. Braz. Nefrol., 23(1): 18-24, 2004.
- FUNFSTUCK R; SMITH J W; TSCHAPE H; STEIN G. - Pathogenetic aspects of uncomplicated urinary tract infection: recem advances. Clin Nephrol., 47(1): 13-8, 1997.
- GUIDONI, E.B.M., TOPOROVSKI, J. - Infecção urinária na adolescência. J. Pediatr., 77 (2): 165-169, 2001.
- GRAHAM, J. C.; GALLOWAY, A. - The laboratory diagnosis of urinary tract infection. J. Clin. Pathol., 54(12): 911-919, 2001.
- GUPTA, K.; SCHOLE D.; STAMM W. E. - Increasing prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in women. JAMA, 281(4): 736-738, 1999.
- HASENACK, B. S.; MARQUES. A. S.; PINHEIRO, E. H T; GUILHERME, R. L.; FRASSON, F. T.; AVELAR, G. S. - Disúria e polaciúria: sintomas realmente sugestivos de infecção do trato urinário? Rev. Bras. Anal. Clin., 36(3): 163-166, 2004.
- HEILBERG, I. P & SCHOR, N. - Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário - ITU. Rev. Assoc. Med. Bras. 49(1): 109-116, 2003.
- HOOTON, T. M.; SCHOLE S, D.; STAPLETON, A. E.; ROBERTS, P. L., WINTERC.; GUPTA, K.; SAMADPOUR, M.; STAMM, W.E. - A prospective study of asymptomatic bacteriuria in sexually active young women. N. Engl. J. Med., 343(14): 992-1037, 2000.
- HORNER, R.; VISSOTTO, R.; MASTELLA, A.; SALLA, A.; MENEGHETTI, B.; FORNO, N. L. F. D.; RIGHI, R.; OLIVEIRA, L. O. - Prevalência de microrganismos em infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria. Rev. Bras. Anal. Clin., 38 (3): 147-150, 2006.
- JUÁREZ, P. C.; ACOSTA, C. V; SANDOVAL, S.; GORDILLO, P.; FERNÁNDEZ, P. V. - Patrones em um hospital oncológico. Salud Publica Mex., 49 (5): 330-36, 2007.
- KOCH, V. H. & ZUCCOLOTTO, M.C. - Infecção do trato urinário. Em busca de evidências. J. Pediatr., 79(1): 97-106, 2003.
- LUCCHETTI, G.; SILVA, A. J.; UEDA, S. M. Y.; PEREZ, M. C. D; MIMICA, L. M. J. - Infecções do trato urinário? Análise da freqüência e do perfil de sensibilidade dos agentes causadores de infecções do trato urinário em pacientes com cateterização vesical crônica. J. Bras. Patol. Med. Lab., 41 (6): 383-389, 2005.
- MARTINO, M. D. V.; TOPOROVSKI, J.; MIMICA, I. M. - Métodos bacteriológicos de triagem em infecções do trato urinário na infância e adolescência. J. Bras. Nefrol., 24:71-80, 2002.
- MENEZES, E. A; ARAÚJO G. N; LOPES, H. M; COSTA, E. P.; NASCIMENTOTO, I. R. O & CUNHA FA. - Perfil de susceptibilidade a norfloxacina e ao sulfazotrim no tratamento de infecções urinárias causadas por *Escherichia coli* no laboratório de análises clínicas do esquadrão da saúde da base aérea de Fortaleza. Newslab, 49: 150-157, 2001.
- NETO, J. A. D.; SILVA, L. D. M.; MARTINS, A. C. P, TIRABOSCHI, R. B.; DOMINGOS, A. L. A.; SU Aid, H. K.; JUNIOR, S. T.; COLOGNA, A.J. - Prevalence and bacterial susceptibility of hospital acquired urinary tract infection. Acta Cir. Bras., 18(5): 36-38, 2003.
- NICOLLE, L.E. - Epidemiology of urinary tract infection. Infect. Med., 18(3): 153-62, 2001.
- ORTIZ, V. & MAIA, R. S. - Como Diagnosticar e Tratar Infecções do trato urinário. Rev. Bras. Med., 56: 149-155, 1999.

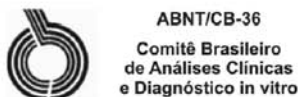
27. PIRES, M. C. S.; FROTA, K. S.; MARTINS JUNIOR, P. O.; CORREIA, A. F.; CORTEZ-ESCALANTE, J. J.; SILVEIRA, C. A. - Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 40 (6): 643-647, 2007.
28. POLETTO, K. Q. & REIS, C. - Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes ambulatoriais na Cidade de Goiânia, GO. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 38(5): 416-420, 2005.
29. RIEGER, A. & HORTA, J.A. - Prevalência de patógenos bacterianos e perfil de sensibilidade dos antimicrobianos em uroculturas de amostras comunitárias. Rev. Bras. Anal. Clin., 35 (supl): 37b, 2003.
30. RIBEIRO, A. S; COSTA, A. M; SOTO, F. S; SILVA, M. Q; SILVA, R.P. - Estudo e prevalência de bactérias isoladas em uroculturas de pacientes ambulatoriais. Rev. Bras. Anal. Clin., 35 (supl): 33b, 2003.
31. ROCHA, L. C. A.; CARVALHAL, G. F.; MONTI, P. P. - Exames complementares na infecção do trato urinário. Int. Braz. J. Urol., 29(3): 15-20, 2003.
32. SANTO, E.; MACEDO, C.; MARIN, J. A. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli from a university hospital in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 48(4): 185-188, 2006.
33. SANTOS, R. C. V; LUNARDELLI, A.; CASTAMAN, T. A.; NUNES, F. B; PIRES, M. G. S; OLIVEIRA, JR & WACHTER, P. H. Prevalência e perfil de sensibilidade de microrganismos em infecções do trato urinário. Rev. Bras. Anal. Clin., 35(1): 27-28, 2003.
34. SATO, A. F.; SVIDZINSKI, A. E.; CONSOLARO, M. E. L.; BOER, C. G. Nitrito urinário e infecções do trato urinário por cocos gram-positivos. J. Bras. Med. Lab., 41(6): 397-404, 2005.
35. STAPLETON, A. Host factors in susceptibility to urinary tract infections. Adv. Exp. Med. Biol., 462: 351-8, 1999.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Solange Aparecida Silveira
 Disciplina de Microbiologia - Departamento de Ciências Biológicas -
 Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Praça Manoel Terra, 330
 CEP: 38015-050 Uberaba, MG, Brasil.
 Telefone: (34) 3318-5480.
 E-mail: solangeports@hotmail.com



A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas patrocina e promove os seguintes programas e produtos:



Asociación Mercosur de Normalización



*SBAC*Journal



Participe você também. Associe-se!

www.sbac.org.br

Biomarcadores em lesões do colo uterino

Biomarkers in lesions of the cervix uterine

Thais Glace T. L. da Silva¹, Renata dos Santos² & Andréa E. M. Stingen³

RESUMO - O Câncer do colo do útero é o terceiro tumor maligno mais comum do trato genital feminino e é o segundo mais comum em mulheres no mundo¹. Existem evidências epidemiológicas de que a infecção pelo HPV de alto risco desempenha importante papel no desenvolvimento deste câncer^{2,4}. O mecanismo pelo qual o HPV influi no ciclo celular, levando a sua desregulação e progressão da lesão inclui fatores inerentes ao vírus e à sua inter-relação com a célula hospedeira. Tais interferências no metabolismo celular poderão causar modificações, promovendo o aparecimento de biomarcadores que uma vez identificados, serviriam para orientar o prognóstico de evolução da doença¹²⁻¹⁶, beneficiando também na terapia adjuvante ou de um tratamento primário mais agressivo¹⁷. Com base nas informações acima, esta revisão pretende fornecer ao leitor uma idéia atualizada de como alguns marcadores celulares envolvidos no processo de transformação induzida pelo HPV podem contribuir para o diagnóstico e o prognóstico das neoplasias intra-epiteliais cervicais. Realizou-se então uma revisão bibliográfica da literatura a partir das principais bases de dados em saúde: MEDLINE base de dados de literatura internacional, produzida pela US National Library of Medicine - NLM, SciELO (Scientific Electronic Library Online) e "sites" da Internet. Concluindo assim, que o estudo de fenômenos da interação entre o HPV e a célula hospedeira tem levado à identificação de marcadores com possível associação com um maior risco evolutivo⁵. Ainda não existe consenso sobre qual o melhor painel de anticorpos monoclonais poderia ser usado nessas lesões, entretanto vários estudos estão em andamento, inclusive na citologia de meio líquido. O objetivo é encontrar imunomarcadores que identifiquem lesões com maior risco de progressão para o câncer invasivo e que possam ser úteis na prática clínica, separando as pacientes que podem ter abordagem mais conservadora daquelas que necessitam de tratamento mais agressivo².

PALAVRAS-CHAVE - HPV; Câncer de colo uterino; Biomarcadores do câncer cervical.

SUMMARY - The cervical cancer is the third most common malignant tumor of female genital system and is the second most common in women in the world¹. There is epidemiological evidence that the high risk of HPV plays the important part of the developing this cancer^{2,4}. The mechanism by which HPV affects the cell cycle, leading to its deregulation and progression of the injury, including factors related to the virus and its interrelation with the host cell. Such interference in cellular metabolism can cause changes by promoting the emergence of biomarkers that, once identified, used to guide the development of the prognosis of disease¹²⁻¹⁶, benefiting also in adjuvant therapy or a primary treatment more dangerous¹⁷. Objective: Based on the information above, this review aims to provide the reader an idea of how some updated cellular markers involved in the process of transformation induced HPV can contribute to the diagnosis and prognosis of intra-epithelial cervical cancer. Methods: There was a review literature of literature from the major databases in health: MEDLINE database of international literature, produced by the U.S. National Library of Medicine - NLM, SciELO (Scientific Electronic Library Online) and "sites" the Internet. Conclusion: The study of phenomena of the interaction between HPV and the host cell has led to the identification of markers with possible association with an increased risk evolutes⁵. Although there is no consensus on the best panel of monoclonal antibodies could be used in these injuries, though several studies are in progress, including in cytology of the liquid medium. The goal is find immunomarkers to identify lesions with increased risk of progression to invasive cancer and which may be useful in clinical practice, separating the patients who may have more conservative approach of those who need treatment more dangerous.

KEYWORDS - HPV; Cervical cancer; Biomarkers of cervical cancer.

INTRODUÇÃO

O Câncer do colo do útero é o terceiro tumor maligno mais comum do sistema genital feminino e é o segundo mais comum em mulheres no mundo¹. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), acontecem atualmente cerca de 270 mil mortes/ano por câncer cervical, sendo 40 mil em regiões mais desenvolvidas e 230 mil nas menos desenvolvidas². Em 2008, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), são esperados no Brasil 19 mil novos casos³. O câncer cervical de células escamosas se desenvolve a partir de lesões pré-cancerosas bem definidas, com potencial para progredir para doença invasiva se não forem detectadas e tratadas precocemente. Existem evidências epidemiológicas de que a infecção persistente, com alta carga viral por tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), desempenha papel preponderante no desenvolvimento do câncer do colo uterino, sendo esse vírus detectado em quase todas as lesões pré-neoplásicas e neoplásicas cervicais^{2,4}.

Os papilomavírus (HPV) são membros da família Papovaviridae, que também inclui o vírus polioma. São

vírus pequenos, não-envelopado, medindo 45-55 nm de diâmetro e com genoma de aproximadamente 7.200-8 mil pares de base (pb). Têm uma fita única de DNA dividida em segmentos de seqüências gênicas denominadas open reading frames (ORFs)^{2,5}. Os ORFs são classificados como early (E) e late (L), de acordo com a seqüência em que são expressados no ciclo vital do vírus. As seqüências E, E1, E2, E4, E5, E6 e E7 garantem a replicação do maquinário genético do vírus, ou seja, têm a função de codificar proteínas responsáveis pela transformação e replicação; enquanto as L, L1 e L2 codificam proteínas estruturais e sua expressão é restrita à parte diferenciada do epitélio. Uma outra região, entre L1 e E6, conhecida como região não-codificante (NCR), região reguladora upstream (URR) ou região longa de controle (LCR), não codifica proteínas, mas é essencial na regulação da replicação viral e transcrição dos genes, celulares e virais. Existe ainda uma região curta não-codificadora (SNR), entre E5 e L2, cuja função biológica é desconhecida^{2,6}.

Os mecanismos de infecção dos papilomavírus, desde sua adesão à superfície celular, transporte ao núcleo e perda do capsídeo, ainda não são completamente entendidos. Após

Recebido em 12/08/2008

Aprovado em 12/03/2010

¹Biomédica, Especialista em Análises Clínicas e Citologia Clínica.

²Farmacêutica Bioquímica, Especialista em Citologia Clínica.

³Professora Dra. Adjunta da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia Básica.

a adesão às células superficiais do epitélio escamoso, os vírions penetram por áreas de abrasão ou de epitélio imaturo presente na junção escamocolumnar (JEC) e na zona de transformação (ZT) da cérvix uterina, região de maior tropismo para HPVs de alto risco. Após a penetração ocorrem perda parcial ou total do capsídeo e exposição do genoma, usualmente na forma de nucleoproteína. Ao chegar ao núcleo das células epiteliais basais e parabasais o HPV está pronto para continuar seu ciclo de replicação, executando a transcrição do DNA em RNA mensageiro (RNAm), e, pela interação de fatores celulares com a região longa de controle (LCR), inicia a transcrição de E6 e E7. As proteínas E1 e E2 são as próximas a serem sintetizadas. A E2 bloqueia a transcrição precoce de E6 e E7, liberando a ação das proteínas p53 e p105 Rb, e o processo de diferenciação epitelial continua. Os genomas virais episomais permanecem no núcleo das células basais infectadas e são distribuídos para as células-filhas durante a mitose, as quais funcionam como reservatórios virais².

Os mais de 100 diferentes tipos de HPV são caracterizados com base em diferenças na seqüência de nucleotídeos L1 da ORF; mais de 40 tipos são conhecidos para infectar a mucosa cervical. Estudos epidemiológicos têm dividido estes vírus em tipos de baixo risco (incluindo os tipos 6, 11, 40, 42, 54 e 57) e tipos de alto risco (incluindo tipos 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66 e 68) para câncer cervical⁶. Os de baixo risco estão associados a lesões benignas, como a que se refere a verrugas genitais ou condiloma acuminado, enquanto que os de alto risco (cerca de 90% das infecções cervicais)⁷ podem resultar em lesões displásicas, incluindo câncer invasivo⁸.

Na grande maioria dos casos, essas infecções são normalmente transitórias e não conduzem necessariamente para lesões, clinicamente significantes da mucosa cervical⁶. Dada a elevada incidência dessa infecção comparada com a baixa prevalência de câncer do colo do útero, outros fatores devem ser envolvidos na transformação maligna da mucosa cervical, incluindo: uso de cigarro^{9,10}, uso de contraceptivo oral, paridade⁶, infecção com outras doenças sexualmente transmissíveis tais como herpes simplex-2^{11,6} e fatores hospedeiros⁶.

O mecanismo pelo qual o HPV de alto risco influi no ciclo celular, levando a sua desregulação e progressão da lesão, inclui fatores inerentes ao vírus e à sua inter-relação com a célula hospedeira. Tais interferências no metabolismo celular poderão causar modificações, promovendo o aparecimento de moléculas, definidas como biomarcadores, que uma vez detectadas revelam os processos biológicos normais, patogênicos ou resposta farmacológica após intervenção terapêutica. Esses biomarcadores, uma vez identificados, serviriam para orientar o prognóstico de evolução da doença, beneficiando também na terapia adjuvante ou de um tratamento primário mais agressivo¹²⁻¹⁸.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se uma revisão de literatura a partir da análise de artigos publicados em periódicos indexados nas principais bases de dados em saúde: MEDLINE base de dados de literatura internacional, produzida pela US National Library of Medicine-NLM) e SciELO (Scientific Electronic Library Online).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame citológico tem conseguido reduzir substancialmente a incidência de câncer cervical em locais onde existem pro-

gramas de triagem apropriados². No entanto, devido à subjetividade das análises morfológicas relatos de falso-negativos nas taxas de citologia cervical têm variado muito, desde o valor mais baixo que 1,6% para quase 28%^{6,19}. Apesar da biópsia colposcópica ter sido historicamente considerado o padrão-ouro, estudos recentes indicam que biópsias cervicais podem perder de 33% a 50% de lesões de alto grau por causa da coleta de amostras ou erro no diagnóstico^{20,21}.

Nos últimos anos a técnica da imuno-histoquímica no diagnóstico histopatológico tem sido de valor inestimável na resolução de problemas difíceis ou impossíveis pelos métodos morfológicos convencionais. Na carcinogênese cervical, as proteínas oncogênicas do HPV (E6 e E7) inativam a via G1 do ciclo celular, inibindo as proteínas p53 e pRb e resultando em alteração da expressão de várias proteínas do ciclo celular, as quais têm sido alvo de estudos imuno-histoquímicos visando identificar biomarcadores com melhor valor preditivo positivo (VPP) para a presença de NIC ou câncer. Para tanto, alguns pesquisadores procuram identificar um painel de imunomarcadores capaz de responder a questões de diagnóstico e prognóstico dessas lesões. Assim, tem sido estudada a expressão de p53, pRb, p21, ciclina D1, ciclina E, Ki67 e p16, entre outras².

P53

Dentre todas as proteínas reconhecidas envolvidas no processo de carcinogênese, destaca-se o gene supressor tumoral p53, também considerado o "guardião do genoma". Desempenha um importante papel neste controle, pois é ativada em resposta a sinais de dano celular provocada pela exposição aos vírus como o E1B, HPV16 e HPV18. Esta resposta resulta numa parada em G1, antes de ocorrer a duplicação gênica, permitindo que aconteça o reparo do DNA. Em caso de dano não reparado, a célula é induzida a apoptose. Quando o p53 sofre mutações, as células com danos no DNA (que escaparam do reparo ou da sua destruição), podem iniciar um clone maligno²². No entanto, os achados não permitem considerá-los de grande utilidade na prática diária²³⁻²⁵.

p21

A proteína p21 impede a progressão do ciclo celular através dos pontos de restrição (*checkpoints*), comportando-se como supressora de tumor. Essa proteína inibe a formação de complexos estimuladores de mitose do tipo ciclina-quinase dependente (C-CDK), impedindo a progressão do ciclo celular. Quando estímulos mitogênicos desencadeiam a formação de certos complexos de ciclina-CDK, como o C-CDK4/6, estes seqüestram as proteínas inibidoras da família p21 de outros complexos, como o D-CDK2 que, liberados dessas proteínas, ativam o ciclo celular²⁶. Mutações na p21, diferentemente da p53, tem levantado a possibilidade que o polimorfismo do códon 31 da p21 pode ter um significado funcional e contribuir para o desenvolvimento do tumor. Estudos *in vitro* vêm mostrando o papel da p21 em modular a proliferação celular em diferentes células cancerosas. Algumas substâncias, dentre elas os hormônios, vem sendo associados à inibição de cânceres por induzir ou aumentar a atividade da p21. A progesterona e o estrogênio se mostraram eficientes em inibir o crescimento de células do câncer endometrial, pois estes promoveram aumento da p21 na célula²².

pRb

O produto do gene Rb, proteína nuclear pRb, interage com o fator de transcrição celular E2F na fase G1 do ciclo celular. Esta interação inibe a transcrição E2F induzida dos

genes celulares envolvidos na proliferação e replicação de DNA, tais como timidina-quinase, c-myc, polimerase alfa entre outros. Mutações de Rb ou inativação de pRB causam proliferação celular descontrolada⁵. A perda de função das vias pRb e p53 ocorre na maioria dos casos de cânceres humanos ou até em todos eles. Fortes evidências genéticas, epidemiológicas e bioquímicas estabeleceram que suas proteínas seriam componentes de diferentes barreiras contra o câncer. Não só HPV de alto risco, mas também os de baixo risco expressam E6 e E7; no entanto, só os primeiros codificam as oncoproteínas E6 (que inativam o p53) e E7 (que inativam o pRb)²⁵.

Ciclinas

O ciclo celular é regulado por uma família de *ciclins*, *quinases dependentes de ciclina* (CDKs) e seus inibidores (CDKIs) por ativação e inativação de eventos de fosforilação. A atenção foi focada na expressão alterada de *ciclins* G1 e *Cdks* porque a maioria dos eventos regulatórios que levam à diferenciação e proliferação celular ocorre dentro da fase G1 do ciclo celular. As *ciclins* Tipo-D (D-type) alcançam níveis máximos de expressão e formam complexos de quinases funcionais com *CDK4* ou *CDK6*; durante a fase G1, ao passo que a *ciclina-E* é expressa e associada com *Cdk2* em um complexo ativo próximo ao limite de G1^{27,28}. Complexos *CDK/ciclina* ativos poderiam ser regulados ligando-se ao *CDKI* (*p16INK4A*, *p21waf1* e *p27KIP1*) e inibem a progressão do ciclo celular da fase G1 a S²⁷.

Segundo Bahnassy *et al*, a função das *ciclins*, *CDKs* e *CDKI* no carcinoma escamoso invasor e suas lesões precursoras não são bem definidas ainda. Em seu estudo de 110 casos, a amplificação e super-expressão da *Ciclina D1* foram encontrados em 46.5% e 41.9% dos casos de carcinoma invasor bem como em 18.4% e 13.15% dos casos de NIC III. O mesmo estudo mostra um aumento gradual no nível de expressão de *CDK4* em tecidos com tumor indicando uma importante função para *CDK4* em um primeiro estágio de transformação de epitélio cervical HPV- infectado. O mesmo autor destaca uma importante função para a *ciclina E* nos primeiros estágios da carcinogênese cervical HPV- associadas desde que a super-expressão e a amplificação da proteína sejam detectadas durante a progressão de tecido escamoso normal para carcinoma invasor²⁸.

Ki67

A reação positiva para Ki67 é importante indicador de lesão de alto grau, mas menos precisa para as de baixo grau, refletindo melhor a atividade proliferativa em neoplasia².

p16

Desses biomarcadores do ciclo celular, o mais promissor é a p16INK4a². É uma proteína de supressão tumoral que age inibindo as quinases dependentes de ciclina através do bloqueio *cdk4* e *cdk6* que regulam o ponto G1 de checagem do ciclo celular^{5,6}. Imuno estudos indicam que a p16INK4a é altamente expressa em praticamente 100% dos casos de NIC II, NIC III e carcinoma escamoso, mas raramente é detectada em mucosa escamosa benigna⁶. Em uma série de 53 amostras de lesão de alto grau, a precisão de p16INK4a foi relatada em 100% dos casos²⁹. Neste mesmo estudo, os pesquisadores também sugeriram que a expressão de p16INK4a pode ajudar a identificar lesões cervicais de baixo grau que estão associados à HPVs de alto risco, e, portanto, têm um risco acrescido para a progressão para a displasia de alto grau ou carcinoma. Recentes investigações constataram que também a

p16INK4a é altamente expressada em quase 100% dos casos de adenocarcinoma in situ e adenocarcinoma endocervical^{29,30}. Embora tenha sido encontrado positividade focal em casos de hiperplasia tuboendometrial, tanto hiperplasia microglandular como glândulas endocervicais normais têm sido relatados expressão para p16INK4a negativa^{29,30}. Uma ampla gama de estudos têm relatado a detecção de p16INK4a em espécimes citológicos como um marcador de displasia cervical e o carcinoma. Em geral, a proporção de casos positivos para p16 tem sido estritamente associado à gravidade dos diagnósticos citológicos, com uma baixa proporção de casos positivos em citologia normal (0% a 18%) e uma elevada proporção de testes positivos para p16INK4a nos resultados HSIL (81% a 100%) e no CEC (97% a 100%)^{31,32}.

CONCLUSÃO

Considera-se que do universo de mulheres infectadas pelo HPV, uma grande maioria obterá eliminação do vírus e apenas uma pequena parte deverá ser portadora de lesões com potencial evolução para invasão. O estudo de fenômenos da interação entre o HPV e a célula hospedeira tem levado à identificação de marcadores com possível associação com um maior risco evolutivo⁶. Ainda não existe consenso sobre qual o melhor painel de anticorpos monoclonais poderia ser usado nessas lesões, entretanto vários estudos estão em andamento, inclusive na citologia de meio líquido. O objetivo é encontrar imunomarcadores que identifiquem lesões com maior risco de progressão para o câncer invasivo e que possam ser úteis na prática clínica, separando as pacientes que podem ter abordagem mais conservadora daquelas que necessitam de tratamento mais agressivo².

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. - Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice. Geneva, Switzerland: WHO; 2006.
2. QUEIROZ, C. M. P. - Curso de Atualização dos Aspectos Diagnósticos e Prognósticos em Lesões Induzidas pelo HPV no Colo Uterino e na Co-infecção HPV-AIDS. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 43 (5): 22-24, 2007.
3. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. Estimativa 2008: Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em url: http://www.inca.gov.br/estimativa/2008/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=7.
4. DEFRANCESCO, M. A.; GARGIULO, F.; SCHREIBER, C.; CIRAVOLO, G.; SALINARO, F. & MANCA, N. - Detection and genotyping of human papillomavirus in cervical samples from Italian patients. *J Med Virol*, 75: 588-592, 2005.
5. JUNIOR, J. E.; GIRALDO, P. C. & GONÇALVES, A. K. - Marcadores imunohistoquímicos de lesões precursoras do câncer do colo uterino associadas ao HPV: O papel da proteína de supressão tumoral P16INK4a. *J Bras Doenças Sex Transm*, v. 18 (1): 62-65, 2006.
6. DEHN, D.; TORIKO, K. C. & SHROYER, K. R. - Human Papillomavirus Testing and Molecular Markers of Cervical Dysplasia and Carcinoma. *Cancer Cytopathol*, 11(1): 1-14, 2007.
7. STOLER, M. - Human papillomavirus biology and cervical neoplasia, implications for diagnostic criteria and testing. *Arch Pathol Lab Med*, 127: 935-939, 2003.
8. DOORBAR, J. - The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*, 32 (1): 7-15, 2005.
9. PLUMMER, M.; HERRERO, R.; FRANCESCHI, S.; MEIJER, C. J.; SNIJDERS, P.; BOSCH, F. X.; DE SANJOSÉ, S. & MUÑOZ, N. - Smoking and cervical cancer: pooled analysis of the IARC multi-centric case-control study. *Cancer Causes Control*, 14: 805-814, 2003.
10. MCINTYRE-SELTMAN, K.; CASTLE, P. E.; GUIDO, R.; SCHIFFMAN, M. & WHEELER, C. M. - Smoking is a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer Epidemiol*

- Biomarkers Prev, 14: 1165-1170, 2005.
11. CASTELLSAGUÉ, X.; DÍAZ, M.; DE SANJOSÉ, S.; MUÑOZ, N.; HERRERO, R.; FRANCESCHI, S.; PEELING, R. W.; ASHLEY, R.; SMITH, J. S.; SNIJDERS, P. J.; MEIJER, C. J. & BOSCH, F. X. - Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst*, 98: 303-315, 2006.
 12. WU, Y.; CHEN, Y.; LI, L.; YU, G.; ZHANG, Y. & HE, Y. - Associations of high risk HPV types and viral load with Cervical cancer in China. *J Clin Virol*, 35: 264-269, 2006.
 13. SANTOS, A. L. F. - Human Papillomavirus viral load in predicting high grade CIN in women with cervical smears showing only atypical squamous cells or low-squamous intraepithelial lesion. *São Paulo Med J*, 121: 238-243, 2003.
 14. FLORES, R.; PAPPENFUSS, M.; KLIMECKI, W. T. & GIULIANO, A. R. - Cross-sectional analysis of oncogenic HPV viral load and cervical intraepithelial neoplasia. *In J Cancer*, 118: 1187-1193, 2005.
 15. MOBERG, M.; GUSTAVSSON, I. & GYLLENSTEN, U. - Type-specific associations of human Papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ. *Int J Cancer*, 112: 824-829, 2004.
 16. MOBERG, M.; GUSTAVSSON, I.; WILANDER, E. & GYLLENSTEN, U. - High viral loads of human Papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma. *Br J Cancer*, 92: 891-894, 2005.
 17. CARVALHO, P. C.; FISCHER, J. S. G.; DEGRAVE, W. M. & CARVALHO, M. G. C. - Marcadores séricos e espectrometria de massa no diagnóstico do câncer. *J Bras Patol Med Lab*, 42 (6): 431-436, 2006.
 18. SILVA-FILHO, A. L.; BRUNO, B. N.; SILVA, L. B.; TRAIMAN, P.; CASTRO E SILVA, J. G. & TRIGINELLI, S. A. - Associação entre a expressão das proteínas p53 e Ki-67 e os achados clínico-patológicos em pacientes com carcinoma do colo uterino. *Ver. Bras. Ginecol. Obstet.*, 27 (5): 2005.
 19. GUO, M.; HU, L.; MARTIN, L.; LIU, S.; BALIGA, M. & HUGHSON, M. D. - Accuracy of liquid-based Pap tests: comparison of concurrent liquid-based tests and cervical biopsies on 782 women with previously abnormal Pap smears. *Acta Cytol*, 49: 132-138, 2005.
 20. GAGE, J. C.; HANSON, V. W.; ABBEY, K.; DIPPERY, S.; GARDNER, S.; KUBOTA, J.; SCHIFFMAN, M.; SOLOMON, D. & JERONIMO, J. - Number of cervical biopsies and sensitivity of colposcopy. *Obstet Gynecol*. 108: 264-272, 2006.
 21. TITUS, K. - Making a valid point about HPV tests. *CAP Today*, 19, 2005.
 22. PELÚZIO, M. C. G.; VOLP, A. C. P.; DE QUEIROZ, I. C.; BRITO, C. J. & MIRANDA, T. C. - As proteínas supressoras em neoplasias malignas- Conhecendo seu papel. *Rev Bras Nutr Clin*, 21 (3): 233-238, 2006.
 23. WANG, J. L.; ZHENG, B. Y.; LI, X. D.; ANGSTRÖM, T.; LINDSTRÖM, M. S. & WALLIN, K. L. - Predictive significance of the alterations of p16INK4a, p14ARF, p53 and proliferation cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clin Cancer Resear*, 10: 2407-2414, 2004.
 24. WANG, S. S.; TRUNK, M.; SCHIFFMAN, M.; HERRERO, R.; SHERMAN, M. E.; BURK, R. D.; HILDESHEIM, A.; BRATTI, M. C.; WRIGHT, T.; RODRIGUEZ, A. C.; CHEN, S.; REICHERT, A.; VON KNEBEL DOEBERITZ, C.; RIDDER, R. & VON KNEBEL DOEBERITZ, M. - Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human Papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. *Cancer Epid Bio Preven*, 13: 1355-1360, 2004.
 25. TSUDA, H.; HASHIGUCHI, Y.; NISHIMURA, S.; KAWAMURA, N.; INOUE, T. & YAMAMOTO, K. - Relationship between HPV typing and abnormality of G1 cell cycle regulators in cervical neoplasm. *Gynecol Oncol*, 91, 476-485, 2003.
 26. LEVY, A. & LIGHTMAN, S. - Molecular defects in the pathogenesis of pituitary tumours. *Front Neuroendocrinol*, 24: 94-127, 2003.
 27. MOTOYAMA, S.; LADINES-LLAVE, C. A.; LUIS VILLANUEVA, S. & MARUO, T. - The role of human papilloma virus in the molecular biology of cervical varcinogenesis. *Kobe J Med Sci*, 50 (1): 9-19, 2004.
 28. BAHNASSY, A. A.; ZEKRI, A. R.; ALAM EL-DIN, H. M.; ABOUBAKR, A. A.; KAMEL, K.; EL-SABAH, M. T. & MOKHTAR, N. M. - The Role of Cyclins and Cyclin Inhibitors in the Multistep Process of HPV-Associated Cervical Carcinoma. *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst.*, 4 (18): 292-301, 2006.
 29. MURPHY, N.; RING, M.; KILLALEA, A. G.; UHLMANN, V.; O'DONOVAN, M.; MULCAHY, F.; TURNER, M.; MCGUINNESS, E.; GRIFFIN, M.; MARTIN, C.; SHEILS, O. & O'LEARY, J. J. - p16INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. *J Clin Pathol*, 56: 56-63, 2003.
 30. NEGRI, G.; EGARTER-VIGL, E.; KASAL, A.; ROMANO, F.; HAITEL, A. & MIAN, C. - p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol*, 27: 187-193, 2003.
 31. YOSHIDA, T.; FUKUDA, T.; SANO, T.; KANUMA, T.; OWADA, N. & NAKAJIMA, T. - Usefulness of liquid-based cytology specimens for the immunocytochemical study of p16 expression and human papillomavirus testing: a comparative study using simultaneously sampled histology materials. *Cancer*, 102: 100-108, 2004.
 32. EKALAKSANANAN, T.; PIENTONG, C.; SRIAMPORN, S.; KONGYINGYONES, B.; PENGSA, P.; KLEEBKAOW, P.; KRITPETCHARAT, O. & PARKIN, D. M. - Usefulness of combining testing for p16 protein and human papillomavirus (HPV) in cervical carcinoma screening. *Gynecol Oncol*, 103: 62-66, 2006.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra. Renata dos Santos
 Rua Capitão Clementino da Paraná, 77/304
 CEP. 80620-180 Curitiba - PR



Com o
SBAC E-Learning
 é assim:

Qualquer local
 é a sua sala de aula!

www.sbac.org.br

Determinação da aceitabilidade para os parâmetros do hemograma utilizando amostras-controle de pacientes*

Determining acceptability for the parameters of hemogram using patients samples control

Caroline Nogueira Maia^{1,2}, Maria de Lourdes Martins Carvalho¹ & Leandro de Freitas Teles¹

RESUMO - A padronização e o controle da qualidade representam elementos imprescindíveis para a rotina laboratorial. Para cumprir a norma em vigor na rotina laboratorial, RDC 302/2005, e assegurar resultados confiáveis, o controle interno deve ser utilizado sistematicamente. O hemograma possui notável importância para o diagnóstico e controle evolutivo das doenças infecciosas, crônicas e no acompanhamento de tratamentos. O objetivo deste estudo foi determinar o intervalo de aceitabilidade para os parâmetros hematológicos (hemácias, hemoglobina, hematócrito, global de leucócitos e plaquetas) utilizando 50 amostras-controle de pacientes e doadores colhidas na Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais - Hemominas - Hemocentro Regional de Montes Claros. Os resultados obtidos neste estudo demonstram a conformidade do uso das amostras-controle no controle da rotina hematológica, representando uma alternativa complementar de controle interno para laboratórios de análises clínicas.

PALAVRAS-CHAVE - Hemograma, controle de qualidade, amostras-controle.

SUMMARY - The standardization and quality control represent essential factors for the routine laboratory. To carry out the standard in force, DRC 302/2005, in the laboratorial routine and ensure reliable results, the internal control must be systematically used. The blood workup has notable importance for the diagnosis and evolution control of chronic and infectious diseases and monitoring of treatments. The objective of this study was to determine the range of acceptability for the hematological parameters (red corpuscle, hemoglobin, hematocrit, global leukocytes and platelets) using 50 control samples of patients and donors which were harvested at Hemominas Foundation - Hemocentro Regional Montes Claros. The results of this study demonstrate the use of the control samples in the control of hematological routine representing a complementary alternative of internal control for medical laboratories.

KEYWORDS - Hemogram, quality control, samples control.

INTRODUÇÃO

A Garantia da Qualidade corresponde ao conjunto de atividades planejadas e sistemáticas que servirão para garantir que o produto ou serviço atende aos requisitos da qualidade. O controle da qualidade é parte integrante de um laboratório de análises clínicas e a presença de controles da qualidade interno e externo podem melhorar continuamente a qualidade do serviço e, conseqüentemente, auxiliar no diagnóstico e tratamento das enfermidades dos pacientes (9). A Garantia da Qualidade na Hematologia tem o objetivo de assegurar a confiabilidade dos testes hematológicos em todas as fases analíticas (pré-analítica, analítica e pós-analítica). O controle interno é o meio utilizado para monitorar a variabilidade da fase analítica do laboratório ao longo do tempo, sendo esta a fase que recebe atenção especial dos profissionais com o objetivo de obter imprecisão aceitável (6,4).

Visando atender aos requisitos para a competência dos laboratórios, é aplicada a RDC nº 302 de 15/11/2005 (1) cujas normas estabelecem critérios para o funcionamento dos laboratórios clínicos. Para determinações hematológicas, esta resolução regulamenta que o controle interno deve ser utilizado sistematicamente na rotina laboratorial. Segundo o Regulamento Técnico para Funcionamento do Laboratório Clínico do PNCQ (10), é aceitável, no controle interno de qualidade do hemograma, a utilização de amostras-controle comerciais devidamente regularizadas junto à ANVISA/MS, amostras-controle provenientes de ensaio de proficiência e, na ausência dessas, amostras de pacientes. Todas as análises devem ser frequentemente monitoradas por controles internos. Em Hematologia, esta monitoração torna-se mais crítica pela rápida perda da estabilidade dos materiais de controle (11).

O hemograma possui notável importância para o diagnóstico e controle evolutivo de doenças infecciosas, crônicas e no acompanhamento de quimio e radioterapia pois, através deste exame, podem-se analisar as variações quantitativas e morfológicas das séries sanguíneas (8). A automação do hemograma tem proporcionado um aumento na eficácia e confiabilidade dos resultados emitidos pelos laboratórios de hematologia, porém devem ser constantes a manutenção e o monitoramento dos equipamentos e o uso de controles na rotina laboratorial.

No laboratório de hematologia do Hemocentro Regional de Montes Claros - Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais é realizado hemogramas provenientes de doadores de sangue com resultado de hematócrito inferior a 38% para mulheres e 39% para homens inaptos na triagem hematológica (2) e hemogramas de pacientes portadores de hemoglobinopatias e coagulopatias atendidos no ambulatório do Hemocentro. O objetivo deste estudo foi determinar a aceitabilidade para os parâmetros hematológicos (hemácias, hemoglobina, hematócrito, global de leucócitos e plaquetas) utilizando-se amostras-controle de pacientes e doadores de sangue colhido no Hemocentro Regional de Montes Claros, uma vez que a ausência de controle comercial é uma realidade no país e se torna necessário o uso de outras formas de controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sangue venoso coletadas em K₂-EDTA (Vacutainer®) de 50 pacientes e doadores atendidos no Hemocentro Regional de Montes Claros, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais - Hemominas. As amostras foram processadas no analisador

Recebido em 25/11/2008
Aprovado em 23/06/2010

*Trabalho realizado no Hemocentro Regional de Montes Claros - Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais / Hemominas

¹Farmacêuticos-bioquímicos do Laboratório do Hemocentro Regional de Montes Claros, Montes Claros, MG

²Mestre em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, MG

automático Micros 60 (ABX Diagnostic, France) sendo analisados os parâmetros: hemácias (/mm³), hemoglobina (g/dL), hematócrito (%), global de leucócitos (/mm³) e plaquetas (/mm³). Após esta etapa, as amostras foram conservadas em geladeira (2 a 8 °C) e processadas novamente no equipamento um dia após a coleta. Simultaneamente, o sangue controle comercial Minotrol 16 (R&D Systems, USA) em três níveis (baixo, normal e alto) foi processado obtendo resultados dentro dos limites aceitáveis pelo fabricante. Para as amostras-controle, calculou-se a diferença numérica obtida entre os valores obtidos no dia da coleta e um dia após, para os parâmetros hematológicos estudados. As duas análises foram feitas em um período de 24 horas, o que respeita a estabilidade esperada para as amostras biológicas. A partir da diferença numérica entre os resultados do dia atual e posterior, calcularam-se a média e o desvio padrão para cada parâmetro analisado segundo Henry (7). Com os valores obtidos, foram construídos os gráficos de Levey-Jennings e aplicadas as regras de Westgard considerando como limite aceitável 2 desvios-padrão em torno da média (7).

RESULTADOS

Os resultados das amostras analisadas neste estudo estão descritos na tabela I. A partir destes, obtiveram-se os desvios-padrão de 0,172; 0,463; 1,572; 0,530 e 32 para hemácias, hemoglobina, hematócrito, global de leucócitos e plaquetas respectivamente.

As figuras 1 e 2 mostram os gráficos de Levey-Jennings para cada parâmetro hematológico analisado onde mostra a média encontrada através da linha sólida no centro e indica as variações aceitáveis através das linhas tracejadas. Considera-se que a amostra está fora do controle quando a diferença dos resultados de um dia para outro excede os limites estabelecidos de 2S. Além disso, violações das Regras de Westgard sugerem erro ao acaso ou erro sistemático.

TABELA I

Resultados encontrados no hemograma utilizando-se amostras-controle no dia da coleta e um dia após e a diferença entre os dois dias.

		RESULTADOS												
Hemácias ¹		Hemoglobina ²		Hematócrito ³		Global de Leucócitos ⁴		Plaquetas ⁵						
Dia atual	Dia após	Diferença	Dia atual	Dia após	Diferença	Dia atual	Dia após	Diferença	Dia atual	Dia após	Diferença			
4,66	4,92	0,26	11,9	12,6	0,7	38	40,1	2,1	9,9	10,7	0,8	191	204	13
4,81	4,69	-0,12	11,5	11,1	-0,4	36,9	36,5	-0,4	4,6	4,8	0,2	230	215	-15
2,34	2,26	-0,08	6,6	6,6	0	21	20,5	-0,5	9,8	9,8	0	203	219	16
3,97	3,89	-0,08	11,3	11,2	-0,1	35,1	34,1	-1	6,6	6,8	0,2	288	294	6
4,39	4,31	-0,08	12,6	12,8	0,2	38,9	38,7	-0,2	6,9	7,2	0,3	218	224	6
2,71	2,68	-0,03	7,4	7,1	-0,3	22,5	22	-0,5	11,4	10,9	-0,5	327	388	61
4,36	4,48	0,12	12,7	13	0,3	39,1	40,3	1,2	6	5,8	-0,2	212	202	-10
5,37	5,74	0,37	15,6	16,4	0,8	48,2	51,6	3,4	7,9	8,1	0,2	212	183	-29
2,01	2,01	0	6,3	6,5	0,2	20,2	20,4	0,2	23,9	24,1	0,2	407	457	50
4,23	4,26	0,03	11,3	11,5	0,2	35,9	36,7	0,8	6,1	6,2	0,4	239	226	-13
5,07	4,56	-0,49	13,4	12,4	-1	42,6	38,4	-4,2	6,6	5,9	-0,7	246	246	0
2,98	3,13	0,15	6,6	7,2	0,6	22	24,4	2,4	16,8	18,5	1,7	713	731	18
4,27	4,26	-0,01	11,8	11,9	0,1	36,8	37,3	0,5	6,7	5,7	-1	275	223	-52
4,53	4,4	-0,13	12,4	12,3	-0,1	39,2	38,4	-0,8	5,4	5	-0,4	105	87	-18
1,6	1,56	-0,04	4,5	4,7	0,2	14,3	13,9	-0,4	30,9	32	1,1	233	211	-22
4,22	4,12	-0,1	11,1	11	-0,1	35,2	34,2	-1	7,2	7,2	0	280	285	5
4,71	4,96	0,25	12,1	13	0,9	38,7	41,4	2,7	5,2	5,6	0,4	232	271	39
3,04	2,87	-0,17	9,1	8,9	-0,2	27,3	26,4	-0,9	20,6	19,6	-1	266	271	5
3,9	4,17	0,27	11,7	12,8	1,1	36	38,5	2,5	5,7	6	0,3	274	289	15
5,34	5,7	0,36	14,5	15,8	1,3	45,7	49,1	3,4	7,3	7,5	0,2	211	212	1
2,17	2,14	-0,03	6,9	7	0,1	21,5	21,1	-0,4	7,4	6,8	-0,6	277	275	-2
4,33	4,02	-0,31	12,3	12,1	-0,2	38,7	36,5	-2,2	5,8	5,8	0	221	208	-13
5,31	5,2	-0,11	13,5	13,7	0,2	42,9	42,5	-0,4	5,5	5,5	0	162	148	-14
2,13	2,2	0,07	6,5	6,6	0,1	20,2	21	0,8	9,1	9,3	0,2	233	250	17
3,51	3,43	-0,08	10,9	10,9	0	33,3	32,5	-0,8	5,1	4,3	-0,8	232	236	4
4,62	4,79	0,17	13,2	14	0,8	41,1	43,4	2,3	6,2	6,6	0,4	232	246	14
2,09	2,11	0,02	8	8,3	0,3	24,9	25,3	0,4	10,3	10,8	0,5	457	448	-9
4,32	4,34	0,02	10,5	10,8	0,3	33,2	33,4	0,2	10	10,3	0,3	332	292	-40
2,22	2,26	0,04	6,9	7,1	0,2	21,7	21,4	-0,3	16,4	16,4	0	431	467	36
4,35	4,27	-0,08	12,6	12	-0,6	38,1	37,5	-0,6	10,1	10	-0,1	326	331	5
2,39	2,49	0,1	10	10,1	0,1	29,6	30,8	1,2	6,1	6	-0,1	224	222	-2
4,98	4,87	-0,11	11,4	11,4	0	38,6	38,1	-0,5	12,7	12,9	0,2	429	417	-12
2,92	2,91	-0,01	8,2	7,9	-0,3	25,4	25,5	0,1	15,4	15,7	0,3	943	943	0
2,87	2,84	-0,03	10	9,5	-0,5	30,5	30,7	0,2	8,4	8	-0,4	217	227	10
3,22	3,27	0,05	9	9,2	0,2	28,1	28,9	0,8	9,4	9,8	0,4	423	391	-32
2,32	2,28	-0,04	6,9	6,8	-0,1	21,6	21	-0,6	12,6	12,2	-0,4	298	257	-41
2,09	2,09	0	6,3	6,4	0,1	19,1	19,4	0,3	12,2	12,3	0,1	646	634	-12
2,24	2,23	-0,01	6,7	6,6	-0,1	21	20,9	-0,1	12,3	12,3	0	603	580	-23
1,27	1,23	-0,04	4,3	4,2	-0,1	13,5	13	-0,5	9,9	10,1	0,2	321	337	16
2,8	2,73	-0,13	7,7	7,7	0	24,5	23,9	-0,6	15,1	15,1	0	887	841	-46
4,43	4,45	0,02	11,4	11,5	0,1	37	37	0	9,5	9,8	0,3	367	289	-78
4,02	4,04	0,02	12,2	12,4	0,2	37,2	37,7	0,5	5,4	5,3	-0,1	311	308	-3
4,22	4,35	0,13	11,7	11,9	0,2	35,3	37	1,7	7,7	8	0,3	145	197	52
3,65	3,56	-0,09	10,8	10,8	0	32,9	32	-0,9	4,6	4,4	-0,2	253	271	18
4,43	4,36	-0,07	12,8	13	0,2	39,9	39,4	-0,5	6,3	6,1	-0,2	244	270	26
3,63	3,52	-0,11	10,7	10,9	0,2	33,2	32,6	-0,6	5,5	5,8	0,3	245	233	-12
4,24	4,18	-0,06	11,7	11,7	0	36,4	36,1	-0,3	7,3	7,2	-0,1	242	246	4
1,34	1,32	-0,02	3,7	3,8	0,1	11,7	11,5	-0,2	22,5	23,2	0,7	467	475	8
2,27	2,23	-0,04	6,7	6,6	-0,1	21,3	21,6	0,3	10,1	10,5	0,4	339	350	11
2,25	2,19	-0,06	6,6	6,7	0,1	20,7	19,7	-1	12,6	13,1	0,5	476	484	8

¹ Média: 0,103; Desvio-padrão: 0,172

² Média: 0,298; Desvio-padrão: 0,463

³ Média: 0,946; Desvio-padrão: 1,572

⁴ Média: 19; Desvio-padrão: 32

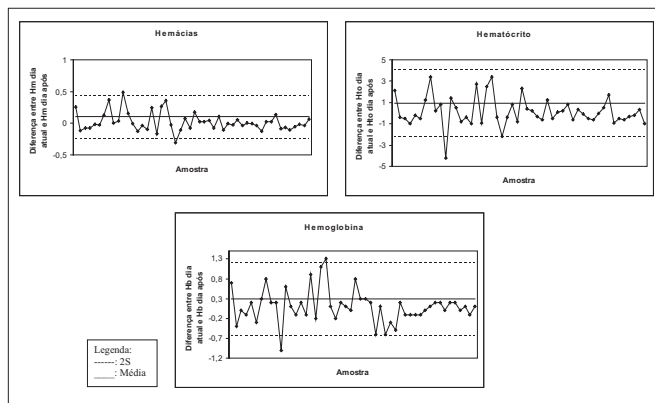


Figura 1: Gráficos de Levey-Jennings para a série vermelha utilizando-se amostras-controle de pacientes.

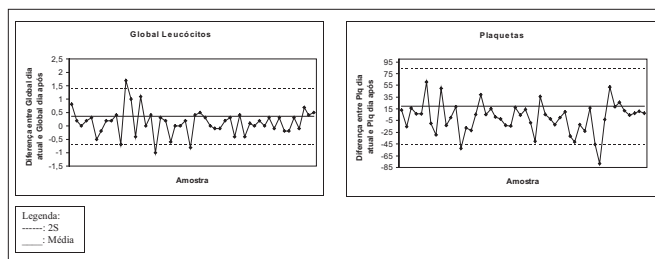


Figura 2: Gráficos de Levey-Jennings para as séries branca e plaquetária utilizando-se amostras-controle de pacientes.

DISCUSSÃO

A implantação do controle da qualidade na Hematologia tem papel fundamental para a obtenção de resultados confiáveis e em conformidade com as especificações previamente estabelecidas, assegurando qualidade, confiabilidade e segurança. A automação tem proporcionado um aumento na eficácia e confiabilidade dos resultados emitidos pelos laboratórios de hematologia (8). Entretanto, a manutenção dos equipamentos e o monitoramento dos controles utilizados são de extrema importância na rotina laboratorial. O uso do sangue-controle no laboratório de Hematologia da Fundação Hemominas é uma ferramenta na Garantia da Qualidade dos hemogramas de pacientes e doadores de sangue. Ele visa fornecer resultados seguros e confiáveis monitorando a fase analítica e alertando para a ocorrência de erros sistemáticos e aleatórios.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a conformidade do uso de amostra-controle de pacientes no controle da qualidade interno do hemograma e podem ser comparados com os encontrados pela Divisão de Patologia – Seção de Análises Clínicas e Hematologia, Instituto Adolfo Lutz (3).

O uso rotineiro do sangue-controle comercial apresenta dificuldades como alto custo para laboratórios de pequeno porte, dificuldade de aquisição, curto prazo de validade e deterioração dos lotes em uso ainda dentro do período de validade. As amostras de pacientes são disponíveis em qualquer laboratório clínico e possuem custo zero. Sua utilização conjunta com o controle externo possibilita aperfeiçoar a qualidade sem aumento dos custos (5). Conforme preconiza a norma *Calibration and Quality Control of automated Hematology Analyzers / CLSI H38P*, o controle interno representa uma alternativa para pequenos laboratórios e possibilita avaliar o desempenho e a variabilidade do processo analítico para aqueles que utilizam também o controle comercial (11).

REFERÊNCIAS

1. Brasil, Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº302 de 13 de outubro de 2005. Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. Diário Oficial da União, Brasília, de 14 de outubro de 2005.
2. Brasil, Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº153 de 14 de junho de 2004. Regulamento Técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. Diário Oficial da União, Brasília, de 24 de junho de 2004.
3. Divisão de Patologia – Seção de Análises Clínicas e Hematologia, Instituto Adolfo Lutz. Instituto Adolfo Lutz: experiência de modelo de programa de garantia de qualidade em hematologia e bioquímica. Rev. Saúde Pública, 41 (6):1070, 2007.
4. FERREIRA, M. F.; VIEIRA, L. M. F. & BASTOS, M. Garantia da Qualidade do Hemograma Automatizado. Rev. Bras. Anal. Clín., 34 (3): 121-129, 2002.
5. FINK, N. E.; ALBERTI, A. F.; CRISPINI, I.; CABUTTI, N. V. & MAZZIOTTA, D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. Rev. Saúde Pública, 32 (2): 107-111, 1998.
6. GIRELLI, W. F.; SILVA, P. H.; FADEL-PICHETH, C. M. T. & PICHETH, G. Variabilidade biológica em parâmetros hematológicos. Rev. Bras. Anal. Clín., 36 (1): 23-27, 2004.
7. HENRY, J. B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19 ed. São Paulo, Editora Manole Ltda, 1999, 1552p.
8. HOFFMANN, L. P.; POLLETTI, C.; ROEHRIG, K. S.; AZIZ, M. M.; KUNTZ, A. K.; DALL’CORTINO, G.; SOUZA, N. M. A. & SANTOS-SILVA, M. C. Avaliação dos índices hematimétricos emitidos pelos contadores hematológicos Pentra 120 Range e Sysmex XT-2000i. Rev. Bras. Anal. Clín., 39 (1): 25-28, 2007.
9. LOPES, H. J. J. Garantia e Controle de Qualidade no Laboratório Clínico. Belo Horizonte, 2003, 27p.
10. Programa Nacional de Controle de Qualidade. RDC 302: Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos Comentada. 82p.
11. OLIVEIRA, D. Controle Interno Alternativo para Hematologia. Boletim 22, ano VI, jul/ago/set 2008. Disponível em: http://www.controllab.com.br/qualifique/pop_ed_22_controle_hematologia.htm Acesso em: 10 de novembro de 2008

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Caroline Nogueira Maia
Fundação Hemominas - Hemocentro Regional de Montes Claros
Rua Urbino Viana, 640, Vila Guilhermina
CEP. 39400-087 Montes Claros - MG
E-mail: cnmaia@yahoo.com.br

TEAC

Título de Especialista em Análises Clínicas

A avaliação prática do
conhecimento em análises clínicas.

Valorize a sua profissão
e sua carreira

Inscreva-se!!!

www.sbac.org.br

Realização:



Rotavírus e sua epidemiologia nas infecções diarréicas

Rotavirus and its epidemiology in diarrhoeal infections

Douglas Feitosa de Oliveira¹; José Humberto de Lima Melo^{1,2} & Ana Catarina Simonetti^{1*}

RESUMO - A infecção pelo rotavírus representa a causa mais comum de diarreia grave na infância, em todo o mundo, sendo o principal causador de gastroenterites em crianças menores de cinco anos. A distribuição sazonal das gastroenterites por rotavírus, no Brasil, assume configurações distintas, em consonância com os padrões registrados nas regiões temperadas e tropicais do planeta. O rotavírus é transmitido principalmente pela via respiratória, causa infecção nos enterócitos, desencadeando a diarreia, como sintoma principal, que pode variar de um quadro leve, com diarreia líquida e duração limitada, a quadros graves desencadeando uma desidratação capaz de evoluir ao óbito. A melhor forma de controle para a infecção é a administração da vacina. Esta revisão visa apresentar as características gerais do agente causador das diarreias graves, o rotavírus, esclarecendo os seus aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos assim como, os testes para diagnóstico, as formas de tratamento e prevenção das infecções. Estes são de fundamental importância para o desenvolvimento de métodos de imunização mais eficientes na proteção para as formas graves de diarreia, a fim de que essas sequelas, causadas por essa virose entérica, sejam minimizadas e/ou erradicadas.

PALAVRAS-CHAVE - rotavírus, diarreia, epidemiologia, diagnóstico.

SUMMARY - The rotavirus infection is the most common cause of severe diarrhea in childhood, throughout the world and is the main cause of gastroenteritis in children under five years. The seasonal distribution of gastroenteritis by rotavirus, in Brazil, took different settings, in line with the standards recorded in temperate and tropical regions of the planet. The rotavirus, transmitted mainly through breathing, cause infection in enterocytes, triggering the diarrhea, as main symptom, which can vary from a light table, with liquid diarrhea and limited duration, the tables triggering a severe dehydration capable of evolving to death. The best way to control the infection is the administration of the vaccine. The review aims to present the general characteristics of the causative agent of severe diarrhea, rotavirus, explaining their epidemiological aspects, as well as pathophysiological, tests for diagnosis, the forms of treatment and prevention of infections. These are of fundamental importance to the development of more efficient methods of immunization in protection for serious forms of diarrhea, so that these sequels, this viral disease caused by enteric, are minimized and / or eradicated.

KEYWORDS - rotavirus, diarrhea, epidemiology, diagnosis.

INTRODUÇÃO

Organização Estrutural do Rotavírus

O termo rotavírus (RV), classificado temporariamente na família *Reoviridae*, tem sido utilizado para um grupo de vírus de determinadas características morfológicas com a propriedade de produzir episódios de diarreia aguda em várias espécies animais de baixa idade. Em termos de taxonomia, ainda não foi aprovado o nome definitivo para este grupo de vírus, apesar das denominações RV 9 e *duovirus* 5 serem as mais utilizadas. Os RV são um grupo de vírus de genoma de RNA segmentado, dupla fita ou dupla hélice, que não possuem envelope bilipídico, porém possuem forma icosaédrica, com simetria cúbica. A partícula viral sintetiza proteínas não estruturais e proteínas estruturais VP1, VP2 e VP3, que são componentes do core viral, além das proteínas da camada externa VP7 e VP4, que representam os maiores antígenos envolvidos na neutralização viral e são responsáveis pela definição dos diferentes sorotipos (22, 39, 40).

Os RV contêm um genoma de 11 segmentos de RNA, envolvidos em três camadas de proteínas. Os pesos moleculares desses segmentos têm auxiliado na classificação, de acordo com seu padrão de migração no gel de poli-acrilamida. Deste modo, os RV se classificam em padrões curtos e longos, dependendo da migração do segmento 10. A camada externa desses vírus está formada por duas proteínas (VP4 e VP7) que possuem epítopos que induzem à formação de anticorpos neutralizantes. Enquanto que, na camada interna encontra-se a proteína VP6, à qual possui determinantes antigênicos de subgrupo 1 e 2, sendo esse último o mais frequente em nível mundial (16, 30).

Atualmente, os RV são classificados em grupos, sendo até o

momento 7 identificados: A, B, C, D, E, F e G, ocorrentes em diversas espécies animais. Os grupos A, B, e C estão associados à doença no homem, sendo que aqueles pertencentes ao grupo A apresentam uma maior incidência em crianças abaixo de 2 anos de idade, que induzem quadro mais grave de diarreia aguda, com desidratação, assim como em bovinos, suínos, eqüinos, caninos felinos e lagomorfos (13). Os demais grupos antigênicos envolvem os RV atípicos, com destaque para os do grupo B, relacionados a extensos surtos de diarreia em adultos na China tendo sido detectados em humanos, bovinos, suínos, ovinos e murinos. Os do grupo C são associados primariamente aos casos de gastroenterite em humanos e suínos, e, mais recentemente, associados aos quadros de atresia biliar extra-hepática. Os do grupo D, F e G foram isolados em aves, ao passo que os RV do grupo E foram somente detectados em suínos (22, 36).

Em 1989, um sistema de classificação foi proposto para os RV derivados das duas proteínas do capsídio viral: os sorotipos G, com base na proteína VP7, que é a mais abundante, e os sorotipos P, que são definidos por epítopos na proteína VP4, sensível à protease. Atualmente, utilizando testes de neutralização, foram descritos 14 sorotipos G e 20 sorotipos P em humanos e animais. Todavia, apesar da diversidade de sorotipos G encontrados em humanos (G1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 12), a maioria das infecções sintomáticas está associada aos sorotipos G 1-4 e destes o sorotipo 1, é o que se encontra com maior frequência no mundo (28, 30).

Epidemiologia

Estimativas recentes, de impacto mundial, das infecções e óbitos relacionados aos RV mostram que a cada ano ocorrem 25 milhões de consultas clínicas, 2 milhões de hospitalizações e entre 352.000 e 592.000 de óbitos em crianças

Recebido em 09/07/2008

Aprovado em 21/06/2010

¹Faculdade ASCES, Caruaru, Brasil.

²Laboratório de Imunopatologia Keizo-Azami (LIKA), Setor de Virologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil.

abaixo de 5 anos de idade. Mesmo em países desenvolvidos, onde prevalecem condições satisfatórias de saneamento, os RV se revestem de importância epidemiológica; nos Estados Unidos da América (EUA), por exemplo, associam-se a 3% de todas as hospitalizações envolvendo crianças menores de 5 anos de idade (5).

Os RV representam a causa mais comum de diarreia grave na infância em todo o mundo. Nos países em desenvolvimento, particularmente, estima-se que as gastroenterites associadas a esses agentes virais determinem 600.000 a 870.000 mortes a cada ano. Dados refletem 20 a 25% do total de óbitos por doença diarreica, sendo que 6% da mortalidade global ocorre entre crianças com idades inferiores a cinco anos (5). As primeiras investigações sobre gastroenterites por RV na América Latina remontam a meados da década de 70, poucos anos após a descoberta desse enteropatógeno (6).

Em Estado de Yucatan, no México, foram identificadas cepas de RV de padrão curto e sorotipo G2 em criança, com gastroenterite aguda, internadas por desidratação severa, na cidade de Mérida. Nesse local, a rotavirose é uma importante causa de morbidade, já que se encontra associado a mais de 50% dos casos de diarreia infecciosa aguda durante os meses de inverno (20). O estudo dos sorotipos G de RV circulantes em Yucatán tem demonstrado a presença dos 4 sorotipos G mais importantes, observando-se que as epidemias são predominantemente de um só sorotipo, que varia segundo o ano (30).

Na Índia, uma de cada 250 crianças morrem anualmente de diarreia por RV. A prevalência de RV e diarreia, na Índia, variou de 5% a 71% em crianças hospitalizadas com gastroenterite aguda. As características distintivas da infecção por RV na Índia incluem a ocorrência de doença grave em uma idade precoce e neonatal e infecções comuns assintomáticas, na maioria das vezes (7).

Nos EUA, estima-se que de 54 a 55 mil crianças são hospitalizadas por diarreia, anualmente, porém menos de 40 morrem pela infecção por RV demonstrando que os índices de morbidade em crianças menores de 5 anos diminuíram nos últimos anos (19).

O registro pioneiro da detecção do enteropatógeno RV no Brasil ocorreu em 1976, pois o papel de maior importância nos quadros diarreicos era atribuído às bactérias (22, 24). Vários foram os estudos empreendidos em território brasileiro, abrangendo as diferentes regiões, com base nos quais se determinaram múltiplas taxas relativas à prevalência das diarreias por RV entre crianças com idades inferiores a seis anos (4).

Em 2003, estudo no Brasil mostrou que 269.195 crianças foram internadas com quadro de diarreia e destas 34% estavam associadas ao RV. Ocorreram 91.526 internações por esse agente infeccioso (24).

A distribuição sazonal brasileira das gastroenterites por RV assume configurações bem distintas, em consonância com os padrões registrados nas regiões temperadas e tropicais do planeta. Em termos gerais, a frequência de diarreias associadas aos RV variou de 12% a 42% e considerando as médias dos índices de positividade por região, ressalta-se 36,5% para a região Norte e 25%, 24%, 22% e 42%, para as demais regiões Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul, respectivamente (10, 24).

Com efeito, centro-oeste, sudeste e sul brasileiros exibem marcante perfil sazonal, observando-se maior incidência nos meses mais secos (maio a setembro), em contrapartida nos estados do Norte e do Nordeste, onde tal sazonalidade não se revelou tão marcante (24). De um modo geral, pelo menos 2/3 dos processos diarreicos por RV se situam na

faixa etária de 6 a 24 meses, embora mereça registro a relativa frequência das infecções sintomáticas durante o primeiro semestre de vida. No estado de Pernambuco, verificou-se que a frequência de 24% da doença diarreica causada por RV está presente em famílias de baixa renda (11). São raros os relatos concernentes aos surtos de gastroenterite por RV no Brasil, pois na maioria das vezes são circunscritos às áreas que reúnem aglomerações humanas, como escolas, creches, enfermarias hospitalares e mesmo o seio familiar. Em análise epidemiológica realizada na América Latina, quase 50% das crianças com diarreia e sob internação, em hospitais, estavam infectadas por vírus, especialmente por RV (4). Estudos também demonstraram que, nas diarreias infantis banais tratadas em casa pela família, o RV é responsável por quase 10% dos casos e, nas formas mais graves 15%, 20% requerem atendimento médico. Como lamentavelmente a diarreia continua sendo causa de morte importante em crianças de todo o mundo, inclusive no Brasil, esses vírus estão entre os agentes infecciosos que podem provocar complicações fatais (37).

As primeiras informações pertinentes à multiplicidade antigênica dos RV, detectados em casos de gastroenterite infantil, resultaram de estudo longitudinal na comunidade, conduzido no Norte do país de 1983 a 1985. Os tipos G1 e G2 prevaleceram, concorrendo com 50% e 30% das amostras, respectivamente. No curso da investigação, no ano de 1988, emergiu o G3 como único sorotipo circulante entre pacientes pediátricos. Aproximadamente à mesma época, essa variedade antigênica também predominava entre crianças portadoras de gastroenterite aguda em São Luís, Maranhão, representando 41% do total das amostras analisadas. Já no início da década de 90, os testes de campo com uma vacina candidata contra RV ensejaram nova determinação dos sorotipos prevalentes, destacando-se frequências de 65%, 30%, 1,2%, 4,6% e 1,2% para os tipos G1, G2, G3, G4 e G9, respectivamente (22, 28).

O risco de morte que enfrentam as crianças nos países em desenvolvimento, provavelmente, é mais alto, como consequência do estado de nutrição deteriorado, e da dificuldade de acesso aos serviços de atenção à saúde. Nesses países a estimativa é de que uma criança com até cinco anos terá tido pelo menos um episódio de diarreia por RV; uma em cada cinco necessitará de tratamento ambulatorial para a diarreia; uma de cada 65, será hospitalizada e uma de cada 293 morrerá (5, 35).

A ocorrência universal dos RV é amplamente reconhecida, sabendo-se que praticamente todas as crianças, aos cinco anos, já se infectaram. Em geral, a incidência das infecções sintomáticas assume maior expressão na faixa etária de 6 a 24 meses. Em contrapartida, prevalecem as formas inaparentes entre recém nascidos e lactentes de 3-4 meses, provavelmente como decorrência da proteção conferida pelos anticorpos de origem materna (16, 27, 39).

Patogênese

Nos últimos anos, em vários países, têm-se observado casos de doenças veiculadas por alimentos, de etiologias variadas, muitas vezes, por contaminação da matéria-prima ou do produto pronto para consumo (35). Sabe-se que a doença por RV é de distribuição universal, embora com características epidemiológicas distintas em áreas de clima temperado e nas áreas tropicais. Nas primeiras, manifesta-se com uma distribuição tipicamente sazonal, através de extensas epidemias nos meses frios, enquanto que nas regiões tropicais, a sazonalidade não tem sido tão marcante, manifestando-se mais por um caráter endêmico,

por casos esporádicos ou surtos, em qualquer estação do ano, principalmente no inverno (10, 15, 25, 35).

As infecções são comuns e podem ocorrer de forma sub-clínica. Os episódios diarreicos podem variar de um quadro leve, com diarreia líquida e duração limitada a quadros graves com febre, vômitos e desidratação. Essas viroses podem acometer indivíduos e animais de todas as idades e com perfil sintomático, isto é, a diarreia geralmente ocorre em crianças na faixa etária de seis meses a dois anos, após um período de incubação de 4 a 10 dias. Crianças prematuras ou com deficiência imunológica estão sujeitas à manifestação da doença com maior gravidade, podendo levar até a morte. Adultos também podem ser infectados, mas a doença tende a ser mais moderada (24, 33).

Os RV, eliminados em grande concentração nas fezes infectadas, são transmitidos pela via fecal-oral, por água, alimentos e objetos contaminados, por pessoa a pessoa e, provavelmente, secreções respiratórias, mecanismos que permitem a disseminação da doença (15).

O principal sítio de replicação viral é o intestino delgado, em particular o jejuno, situando-se especificamente nas células epiteliais maduras que revestem as microvilosidades intestinais. A extensa lesão do epitélio desencadeia fenômeno de má-absorção, devido, principalmente, à depressão transitória em nível das dissacaridases, particularmente a lactase, do que resultaria o caráter essencialmente osmótico da diarreia. Enterócitos saudáveis secretam lactase. Na infecção por RV ocorre deficiência de sua secreção que ocasiona intolerância ao leite, ou seja, a reintrodução do leite na dieta da criança leva muitas vezes a um quadro de diarreia leve, devido à fermentação bacteriana da lactose no tubo digestivo (12, 16).

Os RV penetram nos enterócitos, os quais se rompem e são substituídos por células absorptivas imaturas. Essas se caracterizam por apresentar números reduzidos de microvilosidades, embora conservem sua propriedade secretória, ou seja, esses vírus penetram nas células epiteliais maduras que recobrem as microvilosidades do intestino delgado. Os dois mecanismos básicos de invasão celular seriam a penetração direta através da membrana ou a endocitose (16).

No processo de infecção, nos enterócitos das microvilosidades do intestino delgado, os vírus se multiplicam no citoplasma, causando danos ao seu mecanismo de transporte. Em pesquisas recentemente realizadas, verificou-se que a patogenicidade dos RV é multifatorial e a capacidade deste vírus induzir à secreção de fluido intestinal é atribuída, em parte, à produção da enterotoxina NSP4 que é suspeita de iniciar o processo diarreico secretório, através da ativação do sistema nervoso entérico, colaborando indiretamente na síntese de outros compostos biologicamente ativos (mediadores) ou neurotransmissores em células inflamatórias ou endócrinas do intestino. Essa enterotoxina induz a secreção de íon dependente de cloreto de cálcio alterando o processo de reabsorção de água, reflexo do sistema entérico (32, 34, 40). As alterações morfológicas resultantes da ação lítica viral incluem a metaplasia epitelial vilositária e a hiperplasia das criptas, dilatação mitocondrial, além de moderada infiltração mononuclear da lâmina própria. Posteriormente, os enterócitos infectados são eliminados no sentido do lúmen intestinal, havendo substituição de tais células por enteroblastos que migram das criptas intestinais. Esses achados sustentam a hipótese de que o mecanismo osmótico determinaria o quadro diarreico associado a tais agentes. Os principais eventos fisiopatológicos, que precedem o aparecimento da diarreia, seria a redução da atividade das dissacaridases, o comprometimento da digestão final dos

açúcares e o acúmulo de carboidratos não absorvidos no lúmen intestinal (16). O carboidrato não absorvido pode sofrer ação de bactérias que colonizam as porções mais distais do intestino, resultando na eliminação de fezes com pH ácido, resultando na diarreia de natureza osmótica (23, 29).

Diagnóstico

A anamnese realizada com cuidado, com dados de história, antecedentes epidemiológicos e o exame clínico podem sugerir fortemente a infecção pelo RV, no entanto, como as manifestações da infecção não são específicas, a confirmação laboratorial é necessária (15).

A dificuldade de diagnóstico dos RV é o principal desafio ao seu controle, pois a doença pode levar à morte. O exame laboratorial específico é a investigação do vírus nas fezes do paciente, sendo a época ideal para a sua detecção desde o primeiro até o quarto dia de doença, período de maior excreção viral podendo ser realizado pelo método de aglutinação em látex que permite a rápida detecção dos RV. Essa técnica consiste na aplicação de um reagente específico, composto de microesferas de látex, conjugadas a um anticorpo específico anti-rotavírus, em uma lâmina com amostra fecal do paciente para a rápida observação do preparado, através de uma aglutinação visível, na presença do microorganismo. O diagnóstico laboratorial das gastroenterites por RV constitui importante ferramenta na confirmação de um quadro clínico suspeito. Pelo fato das manifestações clínicas serem semelhantes às de outros enteropatógenos como bactérias, é importante que se proceda um esclarecimento diagnóstico o mais precocemente possível (15, 16, 17).

O diagnóstico da infecção por RV normalmente segue diagnóstico de gastroenterite como a causa da diarreia severa. A maioria das crianças, admitidas no hospital com gastroenterite por RV, é testada para o grupo A e exames específicos para diagnóstico da infecção por RV são feitos por uma identificação do vírus nas fezes do paciente, por imunoensaio. Existem vários kits licenciados no mercado que são sensíveis e específicos para a detecção de todos os sorotipos de RV A (14, 15, 26).

Estudos feitos utilizando a reação de fixação do complemento demonstraram ser os RV, agentes relativamente ubi-quitários nas áreas em que foram feitos os levantamentos sorológicos. Através de provas de neutralização já é possível identificar de qual espécie os RV foram isolados. Utilizando como antígeno, uma cepa bovina de RV, pesquisadores demonstraram sorologicamente, a infecção de crianças por RV humanos. Esta relação antigênica entre RV humanos e bovinos tem aplicações práticas de grande valia, considerando-se a viabilidade de replicação dos RV bovinos em culturas celulares. Os métodos de diagnóstico utilizados para a identificação de RV vão desde a visualização das partículas virais por microscopia eletrônica e imunoeletromicroscopia, até a identificação de antígenos por imunofluorescência, e contraímunoeletroforese. A pesquisa de anticorpos pode ser feita por fixação do complemento, neutralização e imunofluorescência (9, 16, 26).

O método de escolha mais utilizado para detecção do antígeno viral nas fezes é o imunoenzimático (ELISA), com a utilização de anticorpos policlonais ou monoclonais dirigidos ao antígeno comum de grupo, sendo que os métodos sorológicos que identificam o aumento dos títulos de IgG e IgM também podem ser adotados para a confirmação de infecção recente. Outras técnicas, incluindo a microscopia eletrônica e eletroforese em gel de poliacrilamida, onde as proteínas migram através dos poros do gel em resposta a um campo elétrico são utilizadas em laboratórios de inves-

tigação, além da PCR (Reação de Cadeia em Polimerase) que pode detectar e identificar todas as espécies e sorotipos de RV humano. É utilizada para fins de pesquisas de RV, a cultura de células do cólon intestinal CaCo (1, 16, 17). O método de aglutinação em látex, para a detecção de RV em amostras fecais, junto com o ELISA tornaram-se as alternativas mais convenientes em tempos atuais (8).

Tratamento e Vacina contra Rotavírus

O fundamental do tratamento é prevenir a desidratação e distúrbios hidroeletrólíticos. Não se recomenda o uso de antimicrobianos e não há terapêutica específica para combater os RV, sendo a manutenção da dieta alimentar normal a conduta mais adotada. O tratamento é feito pela administração de muita água com um pouco de sal e açúcar para restabelecer os líquidos e, eventualmente, pode ser necessário recorrer à hidratação parenteral, caso a oral não seja suficiente para a reposição de fluidos e eletrólitos. Além disso, não se recomenda o uso de antidiarréicos. Já foi aprovado o uso da nitazoxanida para reduzir o impacto do RV, responsável pela diarreia aguda. Exames em laboratório mostraram que a nitazoxanida também é eficiente para proteger as células de danos provocados pelo microorganismo. Além disso, utiliza-se a imunoglobulina oral de origem humana em indivíduos com AIDS ou outras imunodeficiências, pois os efeitos desses imunobiológicos se refletem em uma rápida melhora da diarreia, declínio da excreção viral e menor permanência hospitalar (16, 27).

A decisão de desenvolver vacinas contra RV foi subordinada à extensa carga de RV, causador da doença diarreica entre crianças, em todo o mundo, além de relatórios sobre internações e mortes devido à diarreia, capazes de estimar a gravidade da doença e tendências epidemiológicas, além de considerar os métodos de avaliação para um programa de imunização (19).

As vacinas de primeira geração contra RV, desenvolvidas no início da década de 1980, foram de origem animal (bovina e suína). A grande variabilidade nos resultados dos estudos de campo atribuiu-se ao fato dessas vacinas não oferecerem proteção frente aos sorotipos mais importantes, epidemiologicamente. Àquelas de segunda geração foram de natureza antigênica polivalente e com rearranjo genético, na tentativa de ampliar a proteção contra os sorotipos G1 a G4 (18).

A primeira vacina contra RV foi licenciada nos EUA em 1998. Era uma vacina oral atenuada tetravalente, com rearranjo símio e humano aplicada no esquema de três doses aos 2, 4 e 6 meses de idade.

Esta foi suspensa em 1999, devido ao aumento de invaginação intestinal que é uma forma de obstrução intestinal na qual um segmento do intestino invagina sobre o outro segmento, localizado mais distalmente, causando obstrução intestinal e compressão vascular da alça invaginada. Tem maior ocorrência em crianças entre quatro e nove meses de idade, sendo uma das causas mais frequentes de abdômen agudo nesta faixa etária. O lactente apresenta náusea, vômitos, dor abdominal e, às vezes, pode apresentar fezes com muco e sangue. O tratamento pode ser conservador, no entanto, em algumas situações, o tratamento cirúrgico é indicado apesar de continuarem a ocorrer independentemente do uso ou não da vacina contra RV. O trabalho da vigilância epidemiológica é promover uma boa investigação dos casos e levantar dados suficientes para indicar se há ou não um aumento real de casos de invaginação em associação com a vacina (2, 16, 18).

Há também dados publicados que ao se utilizar uma vaci-

na oral atenuada pentavalente, com rearranjo humano-bovino G1, G2, G3, G4 e P1(8) também ocasionará uma elevada proteção para as formas graves de diarreia. Atualmente, existem vacinas seguras e eficazes que podem ser utilizados a fim de proteger das formas moderada ou grave de RV relacionadas com essa patologia. A extensa utilização das vacinas poderia reduzir internações e custos conexos nos países industrializados (13, 18).

Em 2000, teve início a utilização de uma outra vacina oral atenuada, RIX4414, na Finlândia, de origem humana, com elevada imunogenicidade, eficácia e segurança (2).

A eficácia da vacina contra RV, em gastroenterite grave e associada à internação, foi de 85% até 100% de eficácia nesses casos, ou seja, duas doses orais da vacina atenuada G1P[8] foram altamente eficazes na defesa de gastroenterite grave, além de reduzir significativamente o número de infecções (34). A RIX4414 é uma amostra G1P[8] de RV de origem humana, atenuada e derivada da amostra 89-12, após passagens em cultivo celular e clonagem. Essa amostra apresentou resultados promissores nos estudos de eficácia realizados nos EUA, com leve reatogenicidade. Administração de RIX4414 em crianças finlandesas associadas aos ensaios de fase III realizados na Finlândia, América Latina (Brasil, México e Venezuela) e Cingapura, demonstraram considerável eficácia diante da gastroenterite grave, causada por RV (14, 31). Existem estudos em andamento sobre a eficácia da RIX4414 em crianças nos países latino-americanos. Na verdade, é preciso que haja uma duração maior da proteção conferida pela vacina, já que estudos anteriores mostraram que um número significativo de episódios de infecção por RV ocorre durante o segundo ano de vida. Outro desafio consiste em avaliar o desempenho da RIX4414 e de outras novas vacinas contra o vírus, a partir de ensaios clínicos em populações sujeitas à extrema pobreza na Ásia e África, onde se revela um número bem mais expressivo do impacto da doença por RV (2, 31).

Em relação à imunogenicidade da vacina, a mesma induz a produção de anticorpos IgA em aproximadamente 40% dos vacinados, após uma dose, e em 70% após duas doses da vacina, assim demonstrando compatibilidade com a baixa imunogenicidade observada na maioria das vacinas orais, adotadas em países em desenvolvimento (14).

No Norte do Brasil foi observada a persistência dos anticorpos maternos, transferidos passivamente, ao longo do primeiro trimestre de vida aos 6-7 meses (2). Aos 34 meses de vida, 80% das crianças investigadas se revelavam positivas quanto à presença de imunoglobulina G sérica para RV, com base em procedimentos imunoenzimáticos. Em um contexto comparativo, assinale-se que resultados similares emergiram de recente investigação conduzida em Recife, Pernambuco, onde se observou que 80% das crianças, aos dois meses de idade, ainda preservavam anticorpos oriundos da mãe. Tais observações assumem relevância quanto à implantação de futuras estratégias de vacinação no país (22).

A vacina que previne a doença diarreica causada por RV faz parte do Calendário Nacional de Vacinação sendo oferecida para as crianças menores de seis meses desde 6 março de 2006. A aplicação da 1ª dose deverá ser ministrada quando a criança estiver com 1 a 3 meses de idade, até no máximo mais 1 semana. A 2ª dose deverá ser aplicada a partir do terceiro mês e uma semana até cinco meses e meio, com intervalo mínimo de um mês entre as duas doses. Entretanto, para que os resultados favoráveis sejam alcançados e evidenciados, bem como visando à ampliação do conhecimento sobre a doença, torna-se fundamental a estruturação de uma vigilância epidemiológica em todos os

estados, o que impõe alguns desafios para a sua efetiva implantação (22, 37).

Como visto, inexistem dados populacionais específicos para a doença diarreica por RV, devendo-se aperfeiçoar a utilização de estimativas baseadas em estudos realizados em hospitais, aplicando-as às bases de dados hospitalares e de mortalidade. Uma estratégia que vem sendo adotada, visando a subsidiar a construção de dados populacionais e avaliar o impacto da vacina é a constituição de uma rede de hospitais sentinela, que possibilite o registro mais preciso e de forma contínua da doença na população menor de cinco anos. De forma complementar e para tornar mais oportuna a adoção de medidas de controle, impõe-se o aperfeiçoamento da vigilância das doenças diarreicas, atualmente implantada em todos os Estados, adequando-a a detecção de epidemias, nas quais sejam identificados os sorotipos circulantes (10, 22).

Estudos apontam sobre a segurança e eficácia da RIX4414 quando administrada juntamente com outras vacinas infantis de rotina, no entanto, essa vacina continua a ser avaliada em áreas menos desenvolvidas do mundo, onde ela é mais necessária (2).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento da distribuição dos tipos de RV na população, intervenções, como por exemplo, saneamento, estímulo às práticas de higiene e estudos mais abrangentes, além dos esforços da ciência no desenvolvimento de métodos de diagnóstico e de vacinas mais avançados, seriam plenamente justificáveis face à magnitude epidemiológica que assumem as infecções por esses agentes virais (13, 24). Dessa forma, essas perspectivas fornecem subsídios às pesquisas futuras, buscando-se a implementação definitiva de medidas profiláticas, prognósticas, diagnósticas eficazes na minimização e/ou erradicação de futuros casos de mortalidade ocasionados por esse tipo de virose entérica.

REFERÊNCIAS

- ANDREASI, M. S. A.; BATISTA, S. M. F.; TOZETTI, I. A.; OZAKI, C. O.; NOGUEIRA, M. M.; FIACCADORI, F. S.; BORGES, A. M. T.; SANTOS, R. A. T.; CARDOSO, D. D. P. Rotavírus A em crianças de até três anos de idade, hospitalizadas com gastroenterite aguda em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 40 (4): 411-414, 2007.
- ARAUJO, E. C.; CLEMENS, S. A. C.; OLIVEIRA, C. S.; JUSTINO, M. C. A.; RUBIO, P.; GABBAY, Y. B.; DA SILVA, V. B.; MASCARENHAS, J. D. P.; NORONHA, V. L.; CLEMENS, R.; GUSMÃO, R. H. P.; SANCHEZ, N.; MONTEIRO, T. A. F.; LINHARES, A. C. Segurança, imunogenicidade e eficácia protetora de duas doses da vacina RIX4414 contendo rotavírus atenuado de origem humana. *J. Pediatr.*, 83 (5): 217-224, 2007.
- BALDACCI, E. R.; CANDEIAS, J. A. N.; BREVIOLIERI, J. C.; GRISI, S. J. E. Etiologia viral e bacteriana de casos de gastroenterite infantil: uma caracterização clínica. *Rev. Saúde Pública*, 13 (1): 47-53, 1979.
- BEARDS, G. M.; DESSELBERGER, U.; FLEWETT, T. H. Temporal and geographical distribution of human rotavirus serotypes, 1983 to 1988. *J. Clin. Microbiol.*, 27 (12): 2827-2833, 1989.
- BERN, C.; MARTINES, J.; DE ZOYSA, I.; GLASS, R. I. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: A ten-year update. *Bull. World Health Organ.*, 70 (6): 705-714, 1992.
- BERNSTEIN, D. I.; GLASS, D. I.; RODGERS, G.; DAVIDSON, B. L.; SACK, D. A. Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. *JAMA*, 273 (15): 1191-1196, 1995.
- BROOR, S.; GHOSH, D.; MARTHUR, P. Molecular epidemiology of rotaviruses in India. *Indian J. Med. Res.*, 118: 59-67, 2003.
- BRYDEN, A. S.; DAVIES, H. A.; THOULESS, M. E.; FLEWITT, T. H. Diagnosis

- of rotavirus infection by cell culture. *J. Med. Microbiol.*, 10 (1): 121-125, 1977.
- CANDEIAS, J. A. N.; ROSENBERG, C. P.; RACZ, M. L. Identificação por contraímunoelctroforese de rotavírus em casos de diarreia infantil. *Rev. Saúde Pública*, 12 (1): 99-103, 1978.
- CARMO, E. H. Doença diarreica por rotavírus: magnitude, introdução da vacina e desafios para a vigilância epidemiológica. *Cad. Saúde Pública*, 22 (11): 2266-2266 2006.
- CAUÁS, R. C.; FALBO, A. R.; CORREIA, J. B.; OLIVEIRA, K. M. M.; MONTENEGRO, F. M. U. Diarreia por rotavírus em crianças desnutridas hospitalizadas no Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, IMIP. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant.*, 6 (1): 77-83, 2006.
- CIARLET, M.; ESTES, M. K. Interactions between rotavirus and gastrointestinal cells. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4 (4): 435-441, 2001.
- COSTA, P. S. S.; CARDOSO, D. D. P.; GRISI, S. J. F. E.; SILVA, P. A.; FIACCADORI, F.; SOUZA, M. B. L. D.; SANTOS, R. A. T. Infecções e reinfecções por Rotavírus A: genotipagem e implicações vacinais. *J. Pediatr.*, 80 (2): 119-122, 2004.
- DE VOS, B.; VESIKARI, T.; LINHARES, A. C.; SALINAS, B.; PÉREZ-SCHAEL, I.; RUIZ-PALACIOS, G. M.; GUERRERO, M. L.; PHUA, K. B.; DELEM, A.; HARDT, K. A rotavirus vaccine for prophylaxis of infants against rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis.*, 23 (10): 179-182, 2004.
- EDUARDO, M. B. P. Manual das doenças transmitidas por alimentos e água. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/IF_63ROTA.htm. Acesso em: 21 de Ago. 2007.
- FARHAT, C. K.; CARVALHO, L. H. F. R.; SUCCI, R. C. M. Infectologia pediátrica. 3 ed. São Paulo, Editora Atheneu, 2007, 1.136 p.
- FERREIRA, T. L.; BECHO, M. C.; BERNARDO, A. R.; CHAVES, T. C. B.; RIBEIRO, R. S.; LIMA, J. S.; FIALHO, A. M.; LEITE, J. P. G.; MAZUR, C.; DANELLI, M. G. M. Performance of a latex agglutination test in the diagnosis of acute gastroenteritis by rotavirus. *Braz. J. Microbiol.*, 37 (4): 587-589, 2006.
- GABUTTI, G.; LAZZARA, C.; MARSELLA, M.; BERGAMINI, M.; MALAVENTURA, C.; BORGNA-PIGNATTI, C. Burden of hospitalizations due to Rotavirus infection in Emilia Romagna, Italy. *Acta Biomed.*, 78 (3): 176-181, 2007.
- GLASS, R. I.; KILGORE, P. E.; HOLMAN, R. C.; JIN S.; SMITH, J. C.; WOODS, P. A.; CLARKE, M. J.; HO, M. S.; GENTSCH, J. R. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J. Infect Dis.*, 174 (1): 5-11, 1996.
- GONZALES-LOZA, M. R.; PUERTO-SOLIS, M.; POLANCO-MARÍN, G. G. Identificação de rotavírus associado ao sorotipo G2 em Yucatan, México. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 33 (6): 553-557, 2000.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, W. R.; SOMMERS, H. M. Diagnóstico Microbiológico, 5 ed. Rio de Janeiro, Editora MEDSI, 2001, 1465 p.
- LINHARES, A. C.; BRESEE, J. S. Rotavirus vaccines and vaccination in Latin America. *Rev. Panam. Salud Publica*, 8 (5): 305-331, 2000.
- LINHARES, A. C.; GABBAY, Y. B.; FREITAS, R. B.; TRAVASSOS-DA-ROSA, E. S.; MASCARENHAS, J. D. P.; LOUREIRO, E. C. B. Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidemiol. Infect.*, 102 (1): 129-145, 1989.
- LINHARES, A. C. Epidemiologia das infecções por rotavírus no Brasil e os desafios para o seu controle. *Cad. Saúde Pública*, 16 (3): 629-646, 2000.
- LOPEZ, D. A.; JIMENEZ, G. R.; CARRASCO, G. P.; ALVARO, M.; GRACIELA, G. P.; GIL, M. A. Hospitalizations associated with rotavirus gastroenteritis in Spain, 2001-2005. *BMC Public Health*, 8: 109, 2008.
- MENEGHETTI, A. C.; BOLOGNINI, A. M.; LAURETTI, F.; LINHARES, R. E. C.; SANTOS, N.; NOZAWA, C. M. Incidence of group A rotavirus in urban and rural areas of the city of Londrina-Brazil, from 1995 to 1997. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 44 (3): 257-261, 2001.
- MOTA-HERNÁNDEZ, F.; GUTIÉRREZ-CAMACHO, C.; VILLA-CONTRERAS, S.; CALVA-MERCADO, J.; ARIAS, C. F.; PADILLA-NORIEGA, J.; GUISCAFRÉ-GALLARDO, H. Pronóstico de la diarrea por rotavirus. *Salud Pública Méx.*, 43 (6): 524-528, 2001.
- MUNFORD, V.; SOUZA, E. C.; CARUZO, T. A. R.; MARTINEZ, M. B.; RÁCZ, M. L. Serological and molecular diversity of human rotavirus in São Paulo, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 38 (3): 459-466, 2007.
- PEREIRA, H. G.; LINHARES, A. C.; CANDEIAS, J. A. N.; GLASS, R. I. National laboratory surveillance of viral agents of gastroenteritis in Brazil.

- Bull. Pan. Am. Health Organ., 27 (3): 224-233, 1993.
30. PUERTO, F. I.; POLANCO-MARIN, G. G.; PUERTO-SOLIS, M. R.; ORTEGA-ACOSTA, G.; GONGORRA-BIACHI, R. A. Acute infantile diarrhea caused by rotavirus in a pediatric population of Mérida, Yucatan, Mexico. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 46 (3): 171-174, 1989.
31. RHEINGANS, R. D.; CONSTENLA, D.; ANTIL, L.; INNIS, B. L.; BREUER, T. Potential cost-effectiveness of vaccination for rotavirus gastroenteritis in eight Latin American and Caribbean countries. *Rev. Panam. Salud Publica*, 21 (4): 205-216, 2007.
32. RODRIGUES, M. M.; BERTIN, B. M. A.; ASSIS, L.; DUARTE, E. B.; AVELAR, A. M. O.; PAIXÃO, J. T. S.; MATTOS, M. C.; SOUZA, M. M. S. Indícios de Rotavirus na etiologia de um surto de infecção de origem alimentar. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24 (1): 88-93, 2004.
33. ROMERO, C.; MAMANI, N.; HALVORSEN, K.; IÑIGUEZ, V. Enfermedades Diarreicas Agudas asociadas a Rotavirus. *Rev. Chil. Pediatr.*, 78 (5): 549-558, 2007.
34. RUIZ-PALACIOS, G. M.; PÉREZ-SCHAELE, I.; VELÁSQUEZ, F. R.; ABATE, H.; BREUER, T.; CLEMENS, S. A. C.; CHEUVART, B.; ESPINOZA, F.; GILLARD, P.; INNIS, B. L.; CERVANTES, Y.; LINHARES, A. C.; LÓPEZ, P.; MACÍAS-PARRA, M.; ORTEGA-BARRÍA, E.; RICHARDSON, V.; RIVERA-MEDINA, D. M.; RIVERA, L.; SALINAS, B.; PAVÍA-RUZ, N.; SALMERÓN, J.; RÜTTIMANN, R.; TINOCO, J. C.; RUBIO, P.; NUÑEZ, E.; GUERRERO, M. L.; YARZÁBAL, J. P.; DAMASCO, S.; TORNIEPORTH, N.; SÁEZ-LLORENS, X.; VERGARA, R. F.; VESIKARI, T.; BOUCKENOOGHE, A.; CLEMENS, R.; DE VOS, B.; O'RYAN, M. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N. Engl. J. Med.*, 354 (1): 11-22, 2006.
35. SILVA, M. L. R.; NAVECA, F. G.; CARVALHO, I. P. Epidemiological aspects of rotavirus infections in Minas Gerais, Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, 5 (4): 215-222, 2001.
36. SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V. E.; WIGG, M. D. Introdução à Virologia Humana, 1 ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., 2002, 268 p.
37. SARTORI, A. M. C.; VALENTIM, J.; SOÁREZ, P. C.; NOVAES, H. M. D. Rotavirus morbidity and mortality in children in Brazil. *Rev. Panam. Salud Publica*, 23 (2): 92-100, 2008.
38. WANG, D. K.; ZHANG, Q.; SUN, L. W.; WANG, C. X.; DUAN, Z. J.; XI, J.; BAOMING, J.; FANG, Z.Y. Genetic variation in VP7 gene of rotavirus serotype G3 predominated in Changchun, China. *Bing Du Xue Bao*, 24 (1): 22-27, 2008.
39. INSTITUTO ADOLFO LUTZ E CENTRO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA "PROFESSOR ALEXANDRE VRANJAC". Diarréia e rotavírus. *Rev. Saúde Pública*, 38 (6): 844-845, 2004.
40. SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE DE SAO PAULO. DIVISÃO DE IMUNIZAÇÃO E DIVISÃO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR. CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA "PROF. ALEXANDRE VRANJAC". COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS. Vacina contra rotavírus. *Rev. Saúde Pública*, 40 (2): 355-358, 2006.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Ana Catarina Simonetti
Av. Portugal, 584
CEP. 55016-400 Caruaru - PE

TEAC

Título de Especialista em Análises Clínicas

A avaliação prática do
conhecimento em análises clínicas.

Valorize a sua profissão
e sua carreira

Inscreva-se!!!

www.sbac.org.br

Realização:



Infecções urinárias em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos*

Urinary infection in outpatients: prevalence and profile of antimicrobial resistance

Larissa Chaves Costa¹; Lindomar de Farias Belém²; Patrícia Maria de Freitas e Silva²; Heronides dos Santos Pereira²; Edilson Dantas da Silva Júnior¹; Thiago Rangel Leite¹ & Gustavo José da Silva Pereira¹

RESUMO - A Infecção do Trato Urinário (ITU) constitui uma das patologias mais prevalentes no mundo e responde por grande parte dos processos infecciosos. O trabalho objetivou avaliar a frequência de isolamento das bactérias, analisando a faixa etária, gênero mais acometido e avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos. O estudo caracterizou-se por uma pesquisa histórico documental, na qual foram analisadas 1957 uroculturas realizadas no Laboratório de Análises Clínicas – HEMOCLIN, na cidade de Campina Grande - PB, no período de janeiro de 2006 a junho de 2008. Foram incluídos pacientes de ambos os gêneros, sem limite de idade. Os dados foram coletados a partir de prontuários de cada paciente no arquivo do laboratório e transcritos para um formulário individual. Das 1957 uroculturas analisadas, 28,9% apresentaram resultados positivos para ITU. Dentre as positivas, 85,2% foram pacientes do gênero feminino. A faixa etária mais atingida foi acima dos 60 anos. Analisando a incidência dos microrganismos, a *Escherichia coli* foi o mais isolado, apresentando maior resistência ao sulfazotrim e ao ácido nalidíxico. Pode-se concluir que o diagnóstico correto da ITU se torna importante, permitindo a aplicação de um tratamento adequado, evitando o uso indiscriminado de antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE - Infecção do Trato Urinário, urocultura, resistência antimicrobiana.

SUMMARY - The urinary tract infection (UTI) is one of the most prevalent diseases in the world and accounts for much of infectious processes. The study aimed to evaluate the frequency of isolation of bacteria, considering the age, gender most affected and evaluate the profile of antimicrobial resistance. The study was characterized by retrospective clinical charts data collection, in which 1957 were analyzed urine cultures performed in the Laboratory of Clinical Analyses - HEMOCLIN in the city of Campina Grande - PB, from January 2006 to June 2008. We included patients of both genders, regardless of age. Data were collected from medical charts of each patient file in the lab and transcripts for an individual form. Of the 1957 analyzed urine cultures, 28.9% showed positive results for ITU. Among the positive, 85.2% patients were female. The most affected age group was over 60 years. Analyzing the effect of microorganisms, the *Escherichia coli* was the most isolated, showing greater resistance to sulfazotrim and nalidixic acid. It was concluded that the correct diagnosis of ITU becomes important, allowing the implementation of appropriate treatment, avoiding the indiscriminate use of antibiotics.

KEYWORDS - Urinary tract infection, urine culture, antimicrobial resistance.

INTRODUÇÃO

O sistema urinário normalmente contém poucos micróbios, mas está sujeito a infecções oportunistas, que podem ser bastante problemáticas. Quase todas essas infecções são bacterianas, embora infecções ocasionais por outros patógenos também ocorram³⁵.

A Infecção do Trato Urinário (ITU) pode ser definida como uma condição onde o trato urinário é infectado por patógenos que determinam inflamação⁶. É uma das patologias mais prevalentes em todas as faixas etárias. É particularmente importante nas mulheres jovens, sexualmente ativas, pela alta prevalência. É a maior causa de sepse em pacientes hospitalizados. Na verdade, infecção urinária pode ser considerada como um diagnóstico sindrômico, que engloba várias condições clínicas como bacteriúria assintomática, uretrite, cistite, pielonefrite, prostatite, abscesso renal e peri-renal, em diversos contextos de apresentação⁴.

A etiologia das ITU varia com o gênero, idade, estado geral do paciente, uso de antimicrobianos e a aquisição dentro ou fora do hospital. Qualquer evento que venha a interromper o fluxo urinário normal ou o esvaziamento da bexiga, ou ainda, facilitar o acesso de organismos à bexiga, predispõe o indivíduo à infecção, tais como: comprimento da uretra, contaminação fecal, imaturidade, fatores genéticos, flora periuretral, infecções genitais etc²³.

Todas as porções do trato urinário podem correr riscos,

desde que algum de seus sítios torne-se infectado. Os sítios mais comuns de ITU, na mulher, são a uretra e a bexiga¹⁴.

Na mulher, a suscetibilidade à ITU se deve principalmente fatores mecânicos, como o fato da uretra ser mais curta e à maior proximidade do ânus com a vagina e a uretra. No homem, o maior comprimento uretral, o maior fluxo urinário e o poder bactericida das secreções prostáticas são aspectos protetores³⁴.

A frequência de ITU aumenta com a idade em ambos os gêneros. Durante o primeiro ano de vida, devido ao maior número de malformações congênitas, cerca de 75% das infecções ocorrem em crianças do gênero masculino. A partir deste período, durante toda a infância e, principalmente, na fase pré-escolar, as meninas são acometidas por ITU 10 a 20 vezes mais que os meninos. Na vida adulta, a incidência da infecção urinária se eleva e o predomínio entre o gênero feminino se mantém principalmente na fase sexualmente ativa²⁸.

Em homens adultos jovens as ITUs são raras e quando ocorrem geralmente estão associadas com anormalidades urinárias estruturais. Por outro lado, após os 60 anos existe um aumento de incidência que chega a atingir 3% a 4% de homens e se relacionam com quadros de hiperplasia prostática, estreitamento uretral e outras anormalidades anatômicas^{11,28}.

As ITUs são, em geral, causadas por bactérias Gram-negativas aeróbicas presentes na flora intestinal (Família

Recebido em 09/12/2008

Aprovado em 10/06/2010

*A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas – HEMOCLIN, na cidade de Campina Grande – PB;

¹Graduando(a) do Curso de Farmácia/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba.

²Departamento de Farmácia/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba.

Enterobacteriaceae - inclui os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella* e *Shigella*). Nas infecções agudas sintomáticas existe nitidamente predominância de *Escherichia coli*, enquanto que nas infecções crônicas ou adquiridas em ambiente hospitalar ou relacionadas com anomalias estruturais do trato urinário existe uma incidência mais equitativa das diferentes enterobactérias, com aumento da prevalência de infecções causadas por *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterococcus* e por Gram-positivos, como *Staphylococcus*²⁵.

A *Escherichia coli* é o agente mais freqüente envolvido em infecções urinárias, sendo responsável por 90% ou mais das infecções adquiridas na comunidade³⁶. É uma bactéria colonizadora do cólon, região perianal, nas mulheres, intróito vaginal e região periuretral. Apresenta propriedades uropatogênicas específicas responsáveis pela invasão do trato urinário de pessoas normais. Por outro lado, cepas não patogênicas também são responsáveis pelo processo de infecção urinária, particularmente nos pacientes com anormalidades do trato urinário ou quando os mecanismos de defesa estão abalados, como é o caso dos idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos¹⁹.

O exame bacteriológico de urina é feito quando existem sinais e sintomas sugestivos de infecção do trato urinário, sendo efetuado basicamente através da demonstração de bactérias na urina, por meio do exame microscópico, pelos testes de "screen" rápido em uroculturas e pelos métodos de cultivo quantitativo, necessários para diferenciar os microrganismos contaminantes daqueles patógenos²⁴. O procedimento básico deve permitir uma estimativa do número total de microrganismos viáveis por mililitro de urina (UFC/mL) e, ao mesmo tempo, permitir isolamento de colônias em meios nutritivos, enriquecidos e diferenciais, para possibilitar o reisolamento e identificação dos microrganismos predominantes⁶.

A urocultura é o exame que confirma o diagnóstico da ITU, pois permite a identificação do microrganismo infectante e possibilita subsequente realização de teste de suscetibilidade aos antimicrobianos³.

O tratamento das infecções de vias urinárias visa não somente obter cura clínica, mas também eliminar os agentes causais, prevenindo recorrência. Os esquemas terapêuticos levam em consideração a eficácia antimicrobiana e a excreção urinária das drogas disponíveis, além de toxicidade, custo e comodidade posológica⁷.

Há diversas classes de antimicrobianos que podem ser utilizados no tratamento desta entidade, devendo-se dar preferência para aqueles com ação maior contra bactérias gram-negativas, principalmente agentes causadores de ITU adquirida na comunidade, como beta-lactâmicos, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprim²¹. Médicos utilizam mais freqüentemente a associação sulfametoxazol mais trimetoprim como primeira escolha em quase todas as formas de infecção urinárias causadas por germes a ele sensíveis¹².

A ciprofloxacina, norfloxacino ou ofloxacino (fluoroquinolonas) são utilizados menos freqüentemente como drogas de primeira escolha no tratamento de pacientes com infecção urinária complicada. É possível que o uso de quinolonas seja maior em função da grande resistência da *E. coli* a sulfametoxazol-trimetoprim e ampicilina-amoxicilina³³.

A gentamicina ou estreptomina (aminoglicosídeos), ampicilina e amoxicilina, também são indicados em caso de infecções urinárias²⁹.

Os anti-sépticos urinários constituem opção de segunda linha de tratamento para infecções urinárias agudas não-complicadas e terapia supressiva de infecções urinárias recorrentes. Os principais são: ácido nalidíxico, pipemídico, oolínico e mandélico, além de metenamina, trimetoprima e nitrofurantoína. Dentre estes, o que apresenta maior espectro de ação é o Nitrofurantoína, eficaz contra *E. coli*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* do grupo B e *Enterococcus faecalis*³². Diante da elevada freqüência de ITU, objetivou-se, através deste estudo, correlacionar as uroculturas positivas com o gênero e idade dos pacientes acometidos; avaliar a freqüência de isolamento das bactérias de maior prevalência nas infecções urinárias ambulatorial, verificar a correlação entre piúria e bacteriúria, bem como realizar uma abordagem quanto ao comportamento dos principais patógenos frente aos antimicrobianos utilizados.

METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no Centro de Hematologia e Análises Clínicas Ltda - HEMOCLIN, em Campina Grande - PB, através de uma pesquisa histórico documental⁸ cuja finalidade foi estudar a ocorrência de casos de Infecção do Trato Urinário.

A amostra pesquisada foi constituída por pacientes ambulatoriais, no período de janeiro de 2006 a junho de 2008. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, sem limite de idade, cor e classe social. Os critérios de exclusão foram aqueles pacientes cujos prontuários não estavam completamente preenchidos.

Os dados foram coletados a partir de prontuários de cada paciente no arquivo do laboratório e transcritos para um formulário individual elaborado especificamente para a pesquisa. Foram consideradas apenas as informações indispensáveis ao estudo.

No período estudado foram analisadas todas as uroculturas realizadas no laboratório acima citado, adotando-se como critério de positividade a contagem de colônias de um mesmo tipo, em número igual ou superior a 100.000 UFC/mL de urina. Vários antimicrobianos foram empregados no Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA). Entretanto, analisaram-se apenas os seguintes antimicrobianos: Ácido Pipemídico (PIP), Ácido Nalidíxico (NA), Ciprofloxacino (CIP), Norfloxacino (NOR), Nitrofurantoína (NIT), Sulfazotrim (SUT), em virtude de sua freqüente utilização no tratamento de infecções urinárias.

As variáveis quantitativas foram submetidas a uma análise estatística com base epidemiológica através da construção de tabelas, gráficos e freqüências absolutas e relativas. Foi utilizado, para tanto, o software estatístico Epi-Info v.3.5.1 (2008). Os dados aqui apresentados foram extraídos dos resultados finais da pesquisa de Iniciação Científica do Programa Institucional de Iniciação Científica da Universidade Estadual da Paraíba (PROINCI/UEPB) cota 2007/2008 intitulada "*Pesquisa de bactérias prevalentes em infecções urinárias em pacientes ambulatoriais*".

A pesquisa seguiu a resolução 196/96 do Ministério da Saúde⁵ e foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual da Paraíba conforme parecer n° 0254.0.133.000-08.

RESULTADOS

Durante o período de janeiro de 2006 a junho de 2008, foram realizadas 1957 uroculturas no Laboratório de Análises Clínicas – HEMOCLIN. Dentre estas, 566 apresentaram resultados positivos para microrganismos causadores de Infecção do Trato Urinário, ou seja, contagem de colônias acima de 10⁵ UFC/mL, correspondendo a 28,9% do total (Figura 1).

De acordo com a Figura 2, pode-se observar que das 566 culturas positivas, 85,2% foram de pacientes do gênero feminino e 14,8% do gênero masculino.

Analisando a incidência de microrganismos mais isolados na Tabela I nota-se que houve uma preponderância da *Escherichia coli* sobre as demais bactérias isoladas. A mesma mostrou-se com índice de 48,2%, seguida de *Proteus mirabilis* com 11%. Observou-se a ocorrência de microrganismos pouco incidentes, incluindo *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, diferentes espécies de *Streptococcus* e casos isolados de *Morganella morganii* e *Providencia stuartii*.

Quanto à faixa etária, foi notável a prevalência de ITU em pacientes acima de 60 anos de idade (36,9%), com índice de 50% no gênero masculino. Em se tratando de pacientes entre 30 e 60 anos, o índice também foi consideravelmente alto (31,1%), seguindo-se daqueles entre 15 e 30 anos com 15,4%. Os pacientes de 1 a 5 anos (8%) apresentaram índices mais altos que os pacientes de 5 a 15 anos (5,7%). Também foi verificado que até um ano de idade houve predomínio das ITU no gênero masculino (9,5%, n=8) enquanto que no feminino, a prevalência foi de apenas 1,9% (Tabela II).

Na análise da Tabela III, verifica-se uma alta incidência de resistência dos diversos tipos de microrganismos isolados às Quinolonas. Particularmente com relação a *E. coli*, o índice foi de 21,32% à Ciprofloxacino, 23,00% em relação ao Norfloxacino, 38,37% referente ao Ácido Nalidíxico, de 37,64% em relação ao Ácido Pipemídico e o maior índice (45,75%) frente ao Sulfazotrim.

De todos os antimicrobianos testados, a maior resistência encontrada foi em relação ao Sulfazotrim. Um total de 60,71% das cepas do *S. saprophyticus*; 52,40% das cepas de *E. aerogenes*; 50,00% de *K. oxytoca*; 45,75% de *Escherichia coli*; 42,85% de *S. epidermidis*; 41,90% de *P. mirabilis*; e 28,60% de *K. pneumoniae* apresentaram resistência ao mesmo.

No caso do *Staphylococcus saprophyticus*, a incidência de resistência foi considerável frente a todos os antimicrobianos testados. Da mesma forma o *S. epidermidis* apresentou uma alta resistência à maioria dos antimicrobianos, excluindo-se a Nitrofurantóina.

O microrganismo *Proteus mirabilis* apresentou um grau de resistência baixo para as "Novas Quinolonas", de 8,20% tanto para o Ciprofloxacino como para o Norfloxacino. Entretanto, quanto ao Ácido Nalidíxico e Ácido Pipemídico apresentou resistência de 30,60% para cada. No caso da Nitrofurantóina e do Sulfazotrim, apresentou índice de 41,90% para cada.

Dos Nitrofuranos, o único antimicrobiano analisado foi a Nitrofurantóina. Na análise da frequência de resistência, pode-se verificar que o *S. epidermidis* e a *E. coli* tiveram o menor índice de resistência a este antimicrobiano, 3,57% e 7,01%, respectivamente, e *Proteus mirabilis* apresentou o maior índice (41,9%).

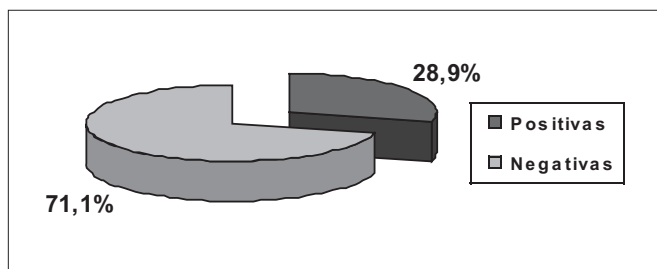


FIGURA 1 - Frequência de uroculturas realizadas no Laboratório HEMOCLIN em Campina Grande - PB.

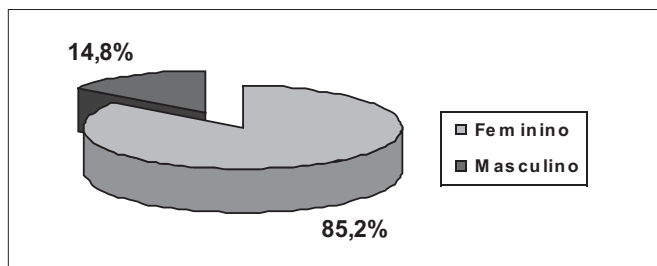


FIGURA 2 - Distribuição dos pacientes por gênero, com ITU, atendidos no Laboratório HEMOCLIN em Campina Grande - PB.

TABELA I
Frequência dos microrganismos isolados de uroculturas realizadas no Laboratório HEMOCLIN em Campina Grande - PB.

Microorganismos	% de cepas isoladas
<i>E. coli</i>	48,2
<i>Proteus mirabilis</i>	11,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9,9
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5,5
<i>Enterobacter sp.</i>	5,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,5
<i>Streptococcus sp.</i>	2,2
<i>Proteus vulgaris</i>	1,6
Outros	1,7
TOTAL	100%

TABELA II
Prevalência de infecção urinária em ambos os gêneros segundo faixa etária em pacientes atendidos no Laboratório HEMOCLIN em Campina Grande - PB.

Faixa etária	Feminino		Masculino		Total	
	VA*	VR**	VA	VR	VA	VR
0 - 1 ano	9	1,9%	8	9,5%	17	3%
1 - 5 anos	38	7,9%	7	8,3%	45	8%
5 - 15 anos	28	5,8%	4	4,8%	32	5,7%
15 - 30 anos	80	16,6%	7	8,3%	87	15,4%
30 - 60 anos	160	33,2%	16	19%	176	31,1%
≥ 60 anos	167	34,6%	42	50%	209	36,9%
Total	482	100%	84	100%	566	100%
Frequência total (%)	85,16	---	14,84	---	100	---

*Valor Absoluto

**Valor Relativo

TABELA III
Resistência *in vitro* a antimicrobianos das bactérias mais frequentemente isoladas em pacientes atendidos no Laboratório HEMOCLIN em Campina Grande- PB.

Microorganismo	Antimicrobianos mais usados em ITU											
	Ciprofloxacino		Norfloxacino		Ácido nalidixico		Ácido pipemídico		Nitrofurantoina		Sulfazotrim	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	58	21,32	62	23,00	104	38,37	102	37,64	19	7,01	124	45,75
<i>P. mirabilis</i>	5	8,20	5	8,20	19	30,60	19	30,60	26	41,90	26	41,90
<i>K. pneumoniae</i>	10	17,90	12	21,40	21	37,50	21	37,50	13	23,20	16	28,60
<i>S. saprophyticus</i>	8	26,70	8	27,58	21	70,00	19	63,30	4	13,30	17	60,71
<i>S. epidermidis</i>	7	24,10	6	21,43	23	82,14	23	82,14	1	3,57	12	42,85
<i>E. aerogenes</i>	3	14,30	4	19,00	7	33,30	7	33,30	7	33,30	11	52,40
<i>K. oxytoca</i>	3	15,00	5	25,00	7	35,00	7	35,00	5	25,00	10	50,00
TOTAL	94	16,78%	102	16,28%	202	36,20%	198	35,48%	75	13,46%	216	39,70%

DISCUSSÃO

A ITU é uma patologia freqüente na clínica médica, sendo uma das causas que mais leva os pacientes à procura de auxílio médico. Dessa forma as uroculturas representam uma das análises clínicas mais solicitadas, do ponto de vista bacteriológico, em laboratório de microbiologia clínica^{2,27}.

A prevalência de uroculturas positivas encontradas neste estudo foi de 28,9%. Esse dado apresentou uma relação significativa com os resultados alcançados nos trabalhos de Vieira *et al.* (2007)³⁷ no Pará, Kazmirczak *et al.* (2005)¹⁷ no Rio Grande do Sul e Bandeira (2004)³ na Paraíba, onde também foi detectado elevado número de uroculturas positivas (22,6%; 23%; 35%, respectivamente).

Foi evidenciada a superioridade de infecções urinárias no gênero feminino, correspondendo a 85,2% dos casos. Esse resultado é compatível aos encontrados na literatura, em especial nos trabalhos de Sousa Jr. *et al.* (2004)³¹ (81,8%), de Almeida (2005)¹ (83,4%) e de Silva *et al.* (2007)³⁰ (85,7%), que apresentaram percentuais bem próximos aos encontrados neste trabalho.

Dados da literatura apontam para uma diversidade de fatores que pré-dispõe o gênero feminino e particularmente a mulher adulta à infecção urinária. Nestes casos, esta susceptibilidade se deve à uretra ser mais curta e a sua maior proximidade com o ânus e o vestíbulo vaginal^{15,31}.

Nas mulheres sexualmente ativas o uso de anticoncepcionais orais, absorventes vaginais, o hábito de urinar antes da relação sexual não exercem efeito sobre a infecção³². Já o uso de preservativos que contêm espermicidas pode favorecer a infecção, pois este altera o pH e, conseqüentemente, a flora vaginal (perda de lactobacilos que mantém a acidez vaginal) favorecendo a ascendência de germes no trato urinário¹⁷.

No homem, foi verificado que as ITUs são menos freqüentes, isto se deve ao fato de possuírem uretra longa e pela ação antibacteriana do líquido prostático¹⁵.

No que se refere à etiologia, as Enterobactérias classicamente são responsáveis pela maioria dos casos². Os resultados obtidos neste estudo concordam com a literatura, demonstrando que a grande maioria das bactérias isoladas eram bacilos Gram-Negativos entericos, destacando-se a *Escherichia coli*, espécies de *Klebsiella* e *Proteus mirabilis*. Espécies de *Enterobacter* e *Proteus* não *mirabilis* foram encontrados com menor freqüência. *Enterococcus* e espécies de *Staphylococcus* e de *Streptococcus* são responsáveis por fração menor de casos^{7,15}.

Vários são os autores que confirmam a *Escherichia coli* como principal responsável por ITU^{7,10,15}. Este microrganismo pertence à flora normal do intestino humano e pode contaminar, colonizar e, subseqüentemente, causar infecções extra-intestinais, sendo um dos principais agentes etiológicos de septicemias, meningites e infecções do trato urinário¹⁷.

Outro índice observado foi a infecção causada por *Proteus mirabilis* (11%), classificada como a segunda cultura mais encontrada. Este dado é importante, pois na literatura consta que o segundo microrganismo mais isolado na infecção urinária é a *Klebsiella pneumoniae*^{7,15,31}. No presente estudo este microrganismo foi identificado como a terceira causa deste tipo de infecção, com uma freqüência de 9,9%.

As Enterobactérias possuem um papel significativo na epidemiologia da ITU. A *Klebsiella pneumoniae*, por exemplo, é um patógeno primário oportunista e pacientes com infecção causada pela mesma apresentam algumas predisposições para contraí-la, quando em idade avançada, diabetes ou alcoolismo¹⁶.

No caso de infecção por *Proteus* sp., dados literários evidenciam, a sua maior incidência em crianças do gênero masculino em aproximadamente 30% dos casos¹⁸.

O *Staphylococcus saprophyticus* tem sido reconhecido como patógeno emergente em quadros de ITU^{10,11}. No presente estudo este microrganismo foi identificado como quarta causa de ITU, concordando com o resultado encontrado por Camargo *et al.*, (2002)⁷ e Almeida (2005)¹.

O *S. saprophyticus* tem capacidade de aderência às células do uroepitélio, causando processo inflamatório local, com repercussão sistêmica. Essa bactéria é considerada um dos principais agentes etiológicos das infecções urinárias em mulheres jovens, principalmente nas sexualmente ativas. Raramente acomete o gênero masculino, e quando ocorre, geralmente, atinge pacientes maiores de 60 anos. O *Staphylococcus saprophyticus* pode ser encontrado no reto e, mais freqüentemente, no trato genital das mulheres na faixa etária de 13 a 40 anos^{6,13}.

O diagnóstico de ITU por *S. saprophyticus* é por vezes difícil, pelo fato de apresentar um crescimento muito lento em urocultura e também porque este agente pode ser confundido com outro *Staphylococcus* coagulase e DNA-se negativo, saprófita da flora comensal do trato urinário, mucosas e pele, como o *Staphylococcus epidermidis*¹⁵.

Os indivíduos pertencentes à faixa etária da terceira idade formam seguramente a classe mais afetada por infecções urinárias. Este fato está relacionado com o estado imunológico deficiente nos idosos, que propicia e favorece a instalação e desenvolvimento de doenças e infecções³¹.

No homem idoso, além da doença prostática, a ITU pode também ser decorrente do estreitamento uretral e outras anormalidades anatômicas. Na mulher idosa, além da menopausa, alterações anatomo-funcionais da bexiga e o acúmulo de infecções recorrentes, acabam por aumentar a incidência de ITU nessa faixa etária. Para ambos os sexos, a presença de patologias coexistentes como diabetes, acidente vasculares cerebrais, alterações na resposta imune e hospitalização e/ou instrumentação tornam a ITU mais predisponente¹⁵.

Até os 15 anos de idade, a ITU está relacionada com anomalias congênitas, anatômicas e funcionais, principalmente em neonatos do gênero masculino. Dos 16 aos 35 anos a grande maioria das ITUs surge no gênero feminino sob a forma de cistites de repetição. A partir dos 35 anos, o cateterismo uretral, a atividade sexual, cirurgias ginecológicas e as disfunções miccionais causadas por prolapso ginecológicos e/ou incontinência, são os principais fatores de risco responsáveis pelo aumento na incidência de ITU nesta faixa etária⁹.

Assim como cita a literatura, foi observado que a faixa etária mais acometida foram os pacientes acima de 60 anos e em segundo lugar os pacientes entre 30 e 60 anos. Os dados encontrados no presente estudo estão de acordo com os resultados obtidos por Silva *et al.* (2007)³⁰.

A resistência a vários antimicrobianos por bactérias isoladas de pacientes com ITU tem sido freqüentemente descrita. Em vista disso, é de grande importância o conhecimento do perfil de suscetibilidade antimicrobiana das bactérias causadoras de ITU, para o correto tratamento da infecção. O uso incorreto de antibióticos no tratamento da infecção urinária, principalmente de origem hospitalar, pode levar a uma piora da mesma e favorecer o aparecimento de cepas bacterianas resistentes. É necessário desestimular o uso indiscriminado e por automedicação de antimicrobianos nas ITU, procurando orientar a equipe médica e a população para os riscos deste ato³⁷.

Para a escolha dos antimicrobianos leva-se em consideração a eficácia clínica frente a um determinado grupo de bactérias, a prevalência de resistência local e os custos. Esta seleção tem sido útil no controle de infecção, tanto comunitária como hospitalar².

Comparativamente aos resultados obtidos no presente estudo, acerca da sensibilidade frente aos antimicrobianos, observou-se certa discordância com os relatos de Bandeira (2004)³ que referem o Ácido Pipemídico como um dos antimicrobianos de melhor atuação contra a maioria das bactérias isoladas no trato urinário. No entanto, houve compatibilidade com os resultados descritos por Camargo *et al.* (2002)⁷, sendo a Nitrofurantoína mencionada como um dos mais eficazes *in vitro*, apresentando um percentual de resistência de apenas 13,46%.

As menores resistências observadas foram para a Nitrofurantoína (13,46%), Ciprofloxacino (16,78%) e Norfloxacino (18,28%), respectivamente. Da mesma forma Bail (2006)² afirma em seu trabalho os mesmos padrões de suscetibilidade, para os isolados comunitários, afirmando que a Nitrofurantoína foi o antimicrobiano que apresentou a maior taxa de suscetibilidade geral.

A elevada resistência ao Ácido Nalidíxico é justificada pelo fato de tal antimicrobiano ter sido a primeira Quinolona a ser obtida e por ter sido bastante usada muitas vezes de forma indiscriminada na prática clínica que gerou uma resistência dos microrganismos a esse antibiótico. É importante ressaltar que, com o advento das Novas Quinolonas (Fluoroquinolonas), o uso do Ácido Nalidíxico tornou-se menos freqüente na terapêutica da infecção urinária¹.

A resistência às Quinolonas em ITUs tem sido relatada também em outros países. Na Índia foram relatadas altas taxas de resistência, sendo: 62,4% para o Ácido nalidíxico, 52,5% para a Norfloxacina e 51,5% para a Ciprofloxacina. Já no Brasil, em Salvador, um estudo sobre a resistência das principais bactérias isoladas em uroculturas mostrou também um aumento na freqüência de resistência para a Norfloxacino e Ciprofloxacino com o passar dos anos².

As Fluoroquinolonas começaram a serem prescritas mais freqüentemente para o tratamento de infecções no trato urinário em pacientes ambulatoriais. Isso levou a um aumento das infecções causadas por *E. coli* resistente as Fluoroquinolonas, dificultando seu tratamento^{2,20}.

Comparativamente aos resultados de Bail (2006)² e Menezes (2004)²², acerca da taxa de resistência ao Sulfazotrim, observou-se certa concordância, pois este apresentou a mais alta taxa de resistência frente aos antimicrobianos estudados. Este fato é observado porque as Sulfonamidas foram, e algumas vezes ainda são, priorizadas para o tratamento empírico de ITU, o que favoreceu uma maior resistência a este medicamento⁷.

O grau de resistência encontrado pode ser justificado, pelo uso inadequado, que acarreta alterações cromossômicas (mutações). O estudo epidemiológico dos uropatógenos e o

estabelecimento do perfil da sensibilidade aos antimicrobianos são aspectos de relevância, pois podem ser significativamente diferentes por estarem associados a pressões seletivas locais²⁶.

CONCLUSÕES

A prevalência de ITU e os microrganismos relacionados podem variar de acordo com o gênero e idade dos pacientes. Dessa forma, o diagnóstico correto das ITU se torna importante, pois permite a aplicação de um tratamento adequado, evitando o uso indiscriminado de antimicrobianos, pois o aumento da resistência bacteriana acarreta dificuldades no controle da infecção e contribui para o aumento do custo do tratamento, tornando necessário a conscientização da população para o uso adequado dos antimicrobianos, devendo estes serem indicados por profissionais qualificados e após os resultados da identificação bacteriana e do antibiograma.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Iniciação Científica da Universidade Estadual da Paraíba (PROINCI/UEPB) pela bolsa cedida.

Ao Laboratório de Análises Clínicas – HEMOCLIN pelo espaço cedido para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, M. D. P. Perfil Bacteriológico de Uroculturas em Pacientes Atendidos em um Laboratório de Análises Clínicas. 2005. 53 p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB.
2. BAIL, L.; ITO, C. A. S. & ESMERINO, L. A. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. Rev. Bras. Anál. Clín., 38(1): 51-56, 2006.
3. BANDEIRA, J. A. Infecções Urinárias em Pacientes Ambulatoriais Atendidos no Laboratório de Patologia Clínica HEMATO, em João Pessoa – PB, no Período de Janeiro a Abril de 2004. 2004. 56p. Monografia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB.
4. BARROS, E.; GARCEZ, J. & THOMÉ, F. S. Avaliação do Manejo do Paciente Adulto com Infecção Urinária. Revista HCPA, 20(3): 255-263, 2001.
5. BRASIL. MINISTÉRIO NACIONAL DA SAÚDE. Conselho Nacional de Saúde. Resolução 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Bioética, 4(2):15-25, 1996.
6. CAMARGO, I. L. B. C.; MASCHIETO, A.; SALVINO, C. & DARINI, A. L. C. Diagnóstico Bacteriológico das Infecções do Trato Urinário – Uma Revisão Técnica. Rev. Medicina, 34(1): 70-78, 2001.
7. CAMARGO, C. B. S.; PEDRO, C. C.; LOURENÇO, D. S.; GIRONI, R. H. A. R. & MARTINEZ, R. Infecção das Vias Urinárias na Comunidade de Ribeirão Preto – SP: Etiologia, Sensibilidade Bacteriana a Antimicrobianos e Implicações Terapêuticas. Rev. Medicina, 35(2): 173-178, 2002.
8. CERVO, A. L. & BERVIAN, P. A. Metodologia Científica. 5. ed. São Paulo, Pearson Prentice Hall, 2002. p. 63-77.
9. COSTA, L. & PRINCIPE, P. Infecções do Trato Urinário. Rev. Port. Clín Geral, 21: 219-225, 2005.
10. DACHI, S. P. Infecção do Trato Urinário. Rev. Bras. Med., 57(7): 759-765, 2003.
11. DALBOSCO, V.; SROUGI, M. & DALL'OGGIO, M. Infecções do Trato Urinário. Rev. Bras. Med., 60(6): 320-328, 2003.
12. FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. & FERREIRA, M. B. C. Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004. p. 392-399.
13. GUIDONI, E. B. M. & TOPOROVSKI, J. Infecção urinária na adolescência. J. Pediatria, 77(2): 165-169, 2001.
14. HOOTON, T. M.; SCHOLE, D.; STAPLETON A. E.; ROBERTS, P. L.; WINTER, C.; GUPA, K.; SAMADPOUR, M. & STAMM, W. E. A prospective study

- of asymptomatic bacteriuria in sexually active young women. N. Engl. J. Med. 343: 992 – 997, 2000.
15. HEILBERG, I. P. & SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário. Rev. Assoc. Med. Bras., 49(1): 109-116, 2003.
 16. JAWETZ, E. & LEVINSON, W. Microbiologia Médica e Imunologia. 7 ed. Porto Alegre, Editora Artmed, 2005. 632p.
 17. KAZMIRCZAK, A.; GIOVELLI, F. H. & GOULART, L. S. Caracterização das Infecções do Trato Urinário Diagnosticadas no Município de Guarani das Missões – RS. Rev. Bras. Anal. Clin., 37(4): 205-207, 2005.
 18. KOCH, V. H. & ZUCCOLOTTO, S. M. C. Infecção do Trato Urinário: Em busca de evidências. J. Pediatr., 79: 97-106, 2003.
 19. LAZZAROTTO, A.; SANTOS, C. R.; KNABBEN, F. S. & SILVA, M. C. S. Estudo do Leucograma em Pacientes com Infecção do Trato Urinário. Rev. Bras. Anal. Clin., 31(1): 33-36, 1999.
 20. LOPES, A. A.; SALGADO, K.; MARTINELLI, R. & ROCHA, H. Aumento da frequência de resistência à norfloxacina e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. Rev. Assoc. Med. Bras., 33(3): 196-200, 1998.
 21. MARQUES, M. L.; CHADE, D.C. & DOURADO, F. L. Aumento da resistência bacteriana no controle de infecção urinária adquirida na comunidade. Sinopse de urologia, 9(5): 122-123, 2005.
 22. MENEZES, E. A.; MACEDO, F. V. V.; CUNHA, F. A.; ANDRADE, M. S. S. & ROCHA, M. V. A. P. Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de bacilos Gram Negativos Não Fermentadores isolados no Laboratório de Patologia Clínica Dr. Edilson Gurgel, Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza – CE. Rev. Bras. Anal. Clin., 36(4): 209-212, 2004.
 23. MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S. & PFALLER, M.A. Microbiologia Médica. 3 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998, p. 467-470.
 24. NEVES, J. Doença Infeciosas e Parasitárias em Pediatria. 1 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1981, 856p.
 25. OLIVEIRA, V. L. M. Estudo das Infecções do Trato Urinário, Etiologia e Resistência “in vitro” aos Antimicrobianos mais utilizados na rotina. 1995. 45p. Monografia (Especialização em Análises Clínicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB.
 26. POLETO, K. Q. & REIS, C. Suscetibilidade antimicrobiana de uropatógenos em pacientes na cidade de Goiânia, GO. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 38(5): 416-420, 2005.
 27. SANTOS FILHO, L. Manual de Microbiologia Clínica. 4. ed. João Pessoa, Editora Universitária/UFPB, 2006, p. 51-69.
 28. SCHOR, N. & HEILBERG, I. P. Infecção do trato urinário: fisiopatologia e tratamento. In: PRADO, F. C.; RAMOS, J. & VALLE, R. J. Atualização terapêutica 2007: manual prático de diagnóstico e tratamento. 23. ed. São Paulo, Artes Médicas, 2007, 1167p.
 29. SILVA, P. Farmacologia. 6 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002, p. 993-1009.
 30. SILVA, J. C. O.; FREITAS, T. F. F.; SANTOS, A. L.; FRANÇOLIN, A. C. & SVIDZINSKI, T. I. E. Infecções urinárias de origem bacteriana diagnosticadas em Umuarama-Pr. Rev. Bras. Anal. Clin., 39(1): 59-61, 2007.
 31. SOUSA JUNIOR, M. A. & FERNANDEZ, L. G. Perfil de Susceptibilidade aos Antimicrobianos mais Comercializados para o Tratamento de Infecções do Trato Urinário no Ano de 2003 em Salvador – BA. NewsLab, 67: 96-106, 2004.
 32. STAMM, A. M. N. F.; LUCIANO, L. G. & PEREIRA, A. G. Infecção Urinária na Mulher: Características e Fatores de Risco. Artigo de atualização. 26(1-4): 106-110, 1997.
 33. SUPERTI, S.; DIAS, C.; BARROS, E.J. & ROWE, A. Prevalência e Padrões de Resistência aos Antimicrobianos em Infecções do Trato Urinário da comunidade. J. Soc. Pat. Med. Lab., 20(3): 69-75, 2000.
 34. THOMÉ, F. S.; HEILBERG, I. P. SHOR, N. & BARROS, E. Infecção urinária. In: BARROS, E. & GONÇALVES, L. F. Nefrologia no consultório. 1ed. Porto Alegre, Artmed, 2007, 704p.
 35. TORTORA, G.J.; FUNKE, B. R.; & CASE, C.L. Microbiologia. 8 ed. Porto Alegre, Artmed, 2005. p. 741-757.
 36. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F. & CANDEIAS, J. A. N. Microbiologia. 3 ed. São Paulo, Atheneu, 2002. p.215-234.
 37. VIEIRA, J. M. S.; SARAIVA, R. M. C.; MENDONÇA, L. C. V.; FERNANDES, V. O.; PINTO, M. R. C. & VIEIRA, A. B. R. Suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza, Belém-PA. Rev. Bras. Anal. Clin., 39(2): 119-121, 2007.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Larissa Chaves Costa
 Rua Arlinda Gomes de Medeiros, 278.
 Bairro: Mirante
 Campina Grande, PB.
 CEP: 58104-263
 E-mail: larissachavesc@yahoo.com.br



Com o
SBAC E-Learning
 é assim:

Qualquer local
 é a sua sala de aula!

www.sbac.org.br

A proteína p16 é um novo marcador para progressão neoplásica no colo uterino?

Is the protein p16 a new mark for neoplastic progression in the cervix?

Mauren Isfer Anghebem-Oliveira¹ & Júlio Cezar Merlin²

RESUMO - A pesquisa para Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco é um importante instrumento no rastreamento do carcinoma cervical, juntamente com a citologia cérvico-vaginal. No entanto, existe uma necessidade de validação de marcadores moleculares para aumentar a especificidade desses testes para detecção de lesões intraepiteliais que podem progredir. A proteína p16^{INK4a} atua como supressora de tumor por bloquear as CDK-4 e CDK-6 mediadas pela fosforilação da pRb, resultando na inibição da transcrição E2F dependente e, conseqüente inibição da progressão do ciclo celular. Pesquisas utilizando teste imunohistoquímico para p16^{INK4a} têm mostrado sua positividade em praticamente 100% dos casos de HSIL, carcinomas escamosos e adenocarcinomas *in situ*, além de auxiliar nos casos de LSIL associados com HPV de alto risco, onde poderá estar sobre-expressa. A análise imunocitoquímica p16^{INK4a} pode também ser uma ferramenta útil nos casos em que a citologia é incapaz de distinguir HSIL de alterações inflamatórias, reativas ou mesmo de epitélio normal. A p16^{INK4a} pode ser um marcador molecular útil em casos de histologia e/ou citologia inconclusivos, estratificando pacientes de alto risco.

PALAVRAS-CHAVE - p16^{INK4a}, carcinoma cervical, HPV, HSIL.

SUMMARY - The investigation of high-risk Human Papilloma Virus (HPV), in addition with the cervical cytology, is an important tool for the screening of cervical carcinoma. However, there is the necessity of a validation for the molecular markers in order to increase the specificity of these tests for the detection of intra epithelial lesions that may progress. The p16^{INK4a} protein works as tumor suppressor by blocking the CDK-4 and CDK-6 mediated by the phosphorylation of pRb, resulting in the inhibition of E2F dependent transcription and therefore cell cycle disruption. Studies using immunohistochemistry tests for p16^{INK4a} have shown its positivity in almost 100% of the cases of squamous cell carcinomas and adenocarcinomas *in situ*, besides to assist in the cases of LSIL associated with high-risk HPV, where it would be over-expressed. The p16^{INK4a} immunocitochemistry analysis can also be a useful tool in the cases which the cytology is unable to distinguish HSIL from inflammatory alterations, reactive or even from normal epithelium. The p16^{INK4a} may be a useful molecular marker in the cases of inconclusive histology and/or cytology, stratifying high risk patients.

KEYWORDS - p16^{INK4a}, cervical carcinoma, HPV, HSIL.

INTRODUÇÃO

Mesmo com programas regulares de prevenção baseados na triagem citológica de anormalidades epiteliais, o carcinoma cervical é um problema de saúde mundial, com alta incidência em países em desenvolvimento. Este panorama é resultante da cobertura ineficiente, da falta de adesão das mulheres aos programas, como também de resultados citológicos inconclusivos^{1,2}. O rastreamento citológico regular permite boa proteção através da detecção precoce de anormalidades citológicas, reduzindo a incidência e a taxa de mortalidade de carcinoma invasivo. Entretanto, a extensão desta redução e o custo-benefício dos programas de prevenção atuais continuam em debate, já que os critérios morfológicos são importantes no diagnóstico das lesões intraepiteliais escamosas (SIL), mas são subjetivos e não diferenciam as lesões que regredirão ou persistirão daquelas que progredirão a carcinoma invasivo³. Diante de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), a conduta clínica é muito bem definida; porém lesões de menor grau não possuem uma diretriz específica além do acompanhamento expectante. O segmento destes casos depende gastos e podem continuar inconclusivos pela citologia convencional e histologia⁴. Frente à limitação da citologia convencional em relação a estes diagnósticos, a identificação de novos marcadores, mais sensíveis e específicos para determinar a taxa de progressão ou regressão dessas lesões, pode representar significativas melhoras nos programas de rastreamento e pre-

venção^{5,6}. A proteína inibidora de quinase p16^{INK4a} tem sido alvo de vários estudos, os quais apontam sua sobre-expressão como marcador de lesões cervicais induzidas pelo HPV e preditor de mau prognóstico^{7,8}. Sua sobre-expressão em lesões pré-neoplásicas e em carcinomas cervicais pode ser usada para identificar células transformadas pelo HPV, indicando expressão aberrante de oncogenes virais em células epiteliais em replicação⁶.

CARCINOMA CERVICAL e HPV

A pesquisa do Papilomavírus Humano (HPV) vem sendo usada em programas de rastreamento já na triagem primária⁹, pelo fato de aproximadamente 100% dos carcinomas de colo uterino ter o envolvimento deste vírus¹⁰⁻¹⁴. A presença de HPV é o principal fator causal, porém outros fatores são necessários para que haja transição de infecção cervical até carcinoma. Ou seja, nem todas as mulheres infectadas desenvolverão carcinoma cervical⁶. Além disso, o uso de testes para HPVs oncogênicos pode refletir em redução de custos pelo aumento no intervalo de acompanhamento e por apontar as lesões com maior chance de progressão¹⁵, mas assim como a colpocitologia, a pesquisa de HPV positiva exige segmento até que seja estabelecido o diagnóstico clínico efetivo⁹.

A maioria das infecções agudas por HPV causa lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL), as quais regredem espontaneamente em mais de 90% dos casos, após alguns meses. Menos de 10% dessas infecções even-

Recebido em 12/11/2008

Aprovado em 12/02/2010

¹Especialista em Citologia Cérvico-Vaginal, Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - Regional Paraná, Curitiba, PR, Brazil; Mestre em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil; Citopatologista do Laboratório de Citologia Diagnóstica Citomed, Curitiba, PR, Brazil; Docente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil.

²Especialista em Biologia Celular e Hematologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brazil; Mestre em Biologia Celular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil; Citopatologista do Laboratório de Citologia Diagnóstica Citomed, Curitiba, PR, Brazil; Docente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brazil; Docente da Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brazil.

tualmente progridem para HSIL ou carcinoma invasivo^{4, 10}. Esta progressão dependerá da persistência da infecção, da carga viral e da integração de HPV DNA de alto risco oncogênico no genoma do hospedeiro^{5, 10, 16, 17}. Embora todos os HPVs associados ao carcinoma cervical pertençam ao mesmo gênero, seu potencial carcinogênico pode diferir enormemente¹⁸.

INTERAÇÃO DO HPV DNA COM O GENOMA DO HOSPEDEIRO

O evento inicial na transformação celular é a infecção com HPV de alto risco oncogênico e a interação dos produtos dos genes precoces E6 e E7, as oncoproteínas virais E6 e E7. O genoma do HPV interage com as proteínas da célula do hospedeiro rompendo algumas funções biológicas e causando desequilíbrio na expressão das oncoproteínas E6 e E7 nas células basais. Tanto a oncoproteína E6 como a E7 atuam sobre proteínas supressoras de tumor, a p53 e a pRb, respectivamente. Normalmente, a ligação da pRb com o fator de transcrição E2F bloqueia a ativação do ciclo celular. Nas células em replicação, o E2F é regulado pela fosforilação da pRb. A fosforilação da pRb é normalmente inibida pelas quinases ciclina-dependentes (Cdk) 4 e Cdk-6, as quais são controladas por várias proteínas inibidoras de quinases, dentre elas, a p16^{INK4a}, da família INK4a. A E7 interage com a pRb de forma análoga à fosforilação mediada pelas Cdk, promovendo sua degradação via proteossomas^{19, 20}. Isso resulta na liberação de E2Fs e ativação do ciclo celular estimulando o avanço da célula para a fase S. Normalmente, isso seria contrabalanceado pela ativação da p53, com consequente ativação da via de apoptose da célula. Entretanto, a E6 aumenta a degradação da p53 impedindo a apoptose. A habilidade em promover a degradação da p53 é uma propriedade exclusiva da E6 de HPVs de alto risco, ressaltando a importância deste evento na carcinogênese induzida pelo vírus^{18, 20}. Como o E2F livre E7-dependente não é mediada pela fosforilação da pRb, a regulação pela p16^{INK4a} não tem efeito no ciclo celular ativado. Haverá sobre-expressão de p16^{INK4a}, pela perda da repressão habitualmente mediada pelo complexo pRb/E2F e pela forte ativação pela E2F livre. Já que as Cdk-4 e Cdk-6 não sofrem inibição pela p16^{INK4a}, os genes da fase S são continuamente ativados, imortalizando a célula^{3, 18, 21}. Logo, a p16^{INK4a} participa da via da pRb e tem como principal função a supressão das Cdk-4 e Cdk-6, as quais também regulam os pontos de checagem da fase G1 do ciclo celular⁴. A p16^{INK4a} ainda tem importante papel no envelhecimento celular. Considerada como marcador de envelhecimento celular, está sobre-expressa em carcinomas cervicais escamosos²².

BIOMARCADORES DE LESÕES CERVICAIS

A suposta infecção por HPV pode ser sugerida por alterações citológicas, histológicas e colposcópicas; entretanto, o diagnóstico específico requer a comprovação da presença do DNA viral¹². O teste de Captura Híbrida 2 (CH2) para HPV, cuja sensibilidade é superior à hibridização *in situ* e similar à PCR - Reação em Cadeia da Polimerase²³, tem sido amplamente utilizada, porém é idealmente realizada em amostras cervicais coletadas em base líquida. Embora a histologia seja considerada o padrão-ouro para diagnóstico de neoplasias cervicais, alguns casos discordantes necessitam do auxílio de métodos igualmente sensíveis e específicos para detectar HPV de alto risco em biópsias. Os métodos disponíveis comercialmente para detectar HPV de alto risco

em tecidos embebidos em parafina são hibridização *in situ* e a coloração imunohistoquímica para biomarcadores²⁴.

Biomarcador é qualquer molécula ou característica biológica que possa ser detectada e medida revelando processos biológicos normais ou patológicos. No rastreamento do carcinoma cervical, um marcador eficiente precisa ser sensível, para que os casos que requerem tratamento não sejam subdiagnosticados; além de preciso, para identificar apenas os casos realmente positivos. Além disso, deve ter um bom valor preditivo positivo, que indicará a proporção de mulheres diagnosticadas como de alto risco e que realmente o são; e um bom valor preditivo negativo, o qual mostra que um resultado negativo representa realmente ausência da doença. Um bom marcador deve estar especificamente associado à progressão da patologia, ou seja, ter a capacidade de discriminar lesões de baixo e alto grau com risco de progredir daquelas com maior chance de regredir espontaneamente⁴. A análise dos principais eventos moleculares envolvidos na carcinogênese cervical aponta possíveis biomarcadores. Marcadores de proliferação celular, prognóstico e de supressão tumoral vêm sendo testados em busca de indicadores mais confiáveis na identificação de lesões cervicais com real risco de evolução para carcinoma. A p53, fosfoproteína nuclear indutora de apoptose, tem sido associada com a presença de lesões cervicais neoplásicas^{22, 25, 26} e sua progressão³; além de estar também associada com alta incidência de mortalidade em casos de adenocarcinoma cervical²⁷. Marcadores de proliferação como Ki67 (MIB-1), MYC e algumas ciclinas têm mostrando relação positiva com carcinomas de colo do útero^{22, 28-30}; da mesma forma que marcadores de invasão e estresse celular, como as chaperonas HSP40, HSP60 e HSP70³¹, e a Laminina 5³².

A expressão de proteínas de supressão tumoral, como a p14^{ARF} e p16^{INK4a}, em células epiteliais do colo uterino tem indicado lesão de alto grau^{33, 34}. Entre os biomarcadores relacionados com expressão oncogênica desregulada do HPV, a proteína inibidora de quinase p16^{INK4a}, produto do gene CDKN2A, tem sido alvo de vários estudos, os quais apontam sua sobre-expressão como marcador de lesões cervicais induzidas pelo HPV e preditor de mau prognóstico^{3, 7, 8, 21, 35-37}.

p16^{INK4a} COMO INDICADOR DE LESÕES CERVICAIS NEOPLÁSICAS

Sob condições fisiológicas, como estresse genômico, a p16^{INK4a} é expressa para frear o ciclo celular e, finalmente, induzir a apoptose. Sendo assim, pode ser notada a presença de raros focos de positividade para a coloração imunohistoquímica de p16^{INK4a} em pequena proporção de epitélios escamosos e metaplásicos normais^{29, 38}.

Segundo Wentzensen e von Knebel Doeberitz (2007)⁴, independente da presença de HPV, observa-se discreta expressão de p16^{INK4a} em células que sofreram modificações em seu programa de diferenciação em decorrência da idade celular ou estresse genômico. Particularmente, em alterações epiteliais metaplásicas e atróficas em mulheres mais idosas, a presença de p16^{INK4a} nas camadas mais intermediárias e superficiais do epitélio parece não estar relacionada com a expressão oncogênica do HPV. Experimentos desses autores mostraram que epitélios não displásicos, porém infectados com HPV de baixo risco ou HPV de alto risco oncogênico, não apresentaram positividade para p16^{INK4a}.

A expressão de p16^{INK4a} aumenta do epitélio normal ao carcinoma cervical invasivo^{3, 6, 8, 29}. Pesquisas associaram o grau de lesão cervical com a intensidade e distribuição da expressão de p16^{INK4a} através da coloração imunohistoquímica

mica^{39,40}. Em contraste com a expressão de p16^{INK4a} em células em repouso com diferenciação aberrante, a expressão patológica em células transformadas pelo HPV é indicada por uma coloração forte e difusa em células basais e parabasais em replicação. Este comportamento pode ser explicado porque a sua expressão está submetida à retroalimentação negativa da pRb, a qual não ocorre em células infectadas pelo HPV de alto risco cujo genoma já está integrado ao cromossomo do hospedeiro^{3,6}.

A interpretação da coloração para p16^{INK4a} é controversa. Em relação à distribuição da coloração de p16^{INK4a} existem estudos reportando coloração predominantemente citoplasmática⁴¹, outros, coloração nuclear^{33,42}, e ainda, a combinação de ambos^{35,43,37}.

Colorações nucleares e/ou citoplasmáticas fracas foram verificadas em epitélios escamosos sem alterações, assim como em glândulas e células endocervicais^{21,29,41,44}. Outros estudos também reportaram coloração nuclear e/ou citoplasmática de focal e forte em metaplasia escamosa e tubária, além de LSIL associadas com HPV DNA de baixo risco²⁹. Estudos recentes encontraram sobre-expressão de p16^{INK4a}, indicando sensibilidade de 100%, em casos de adenocarcinoma *in situ*⁴⁴⁻⁴⁶.

Kong e colaboradores (2007)⁷ consideraram a imunohistoquímica para p16^{INK4a} como o melhor candidato para a conduta inicial de biópsias de diagnóstico indeterminado, em virtude da viabilidade, altas sensibilidade e especificidade. Como identificaram coloração de focal a forte em epitélios normais e metaplásicos, concluíram que apenas em casos onde a lesão apresentar coloração difusa forte, deve-se partir para uma segunda conduta, utilizando a PCR. Este comportamento também foi observado por outros autores. Ou seja, as amostras positivas apresentam coloração intensa e difusa nos núcleos e/ou citoplasma das células profundas (basais e parabasais) do epitélio escamoso, indicando transformação induzida por HPV de alto risco. Casos que expressam a proteína de maneira focal ou fraca, ou que não a expressam, são considerados negativos^{21,29,45}.

A proteína p16^{INK4a} também pode ser detectada imunocitoquimicamente em esfregaços citológicos de base líquida e em citologia convencional^{47,48}. Um estudo associando a P16^{INK4a} com infecção por HPV mostrou que a citologia convencional apresentou mais sensibilidade em detectar a sobre-expressão de p16^{INK4a} em amostras positivas para HPV de alto risco quando comparada à citologia em base líquida³⁵.

Alguns autores afirmam que a Captura Híbrida (CH2) apresenta maior sensibilidade para diagnóstico de HSIL que resultados citológicos, histológicos e coloração para p16^{INK4a}; e que a citologia apresenta mais especificidade e melhor valor preditivo positivo. Diante destes dados, acredita-se que a utilização de p16^{INK4a} em citologia de base líquida não apresenta uma melhor efetividade clínica em diagnosticar lesões de alto grau que a citologia convencional e o teste para HPV⁴⁹. Segundo dados de Nassar e colaboradores (2008)⁵⁰, em amostras de mulheres com lesões intraepiteliais, a CH2 mostrou-se mais sensível e com um valor preditivo positivo muito superior ao da imunohistoquímica para p16^{INK4a} (92,3% vs 52%, P=0,001) para detecção de HSIL. No entanto, existem relatos comprovando que a especificidade para diagnóstico de lesões cervicais de alto grau da coloração imunocitoquímica para p16^{INK4a} tem se mostrado superior a PCR⁵¹. Outros estudos que comparam a utilização clínica da imunohistoquímica de p16^{INK4a} com a identificação de HPV por CH2 para detectar lesões cervicais mostraram que ambos auxiliam no tratamento de pacientes com lesões clinicamente significativas,

sendo que a CH2 demonstrou maior sensibilidade, enquanto que a p16^{INK4a}, maior especificidade³⁹.

Um novo imunoenensaio enzimático – ELISA (mtm laboratories, Heidelberg, Alemanha) para p16^{INK4a} foi testado em 390 mulheres com citologia convencional alterada. A pesquisa demonstrou que o p16^{INK4a} ELISA apresentou similar sensibilidade, além de especificidade discretamente superior para lesões de alto grau e carcinomas, quando comparada à CH2⁵².

Esfregaços citológicos com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) podem ser problemáticos. O teste de HPV DNA tem auxiliado no manejo de casos inconclusivos; porém, por apresentar baixa especificidade para doença cervical, não é útil em triagem primária. Samama e colaboradores (2008)⁵³ encontraram 30% de positividade para p16^{INK4a} em esfregaços com ASC-US e 30%, naqueles com LSIL. Outros autores^{7,35,45,50} encontram positividade em 52,5% (21/40), 31,3% (5/16), 58,3% (7/12) e 32,6% (14/43) das lesões de baixo grau estudadas, respectivamente. Isto significa que tanto os esfregaços com ASC-US como aqueles com LSIL devem ser analisados com cuidado, uma vez que apresentam coloração para p16^{INK4a} e padrão de integração do vírus semelhante aos esfregaços com HSIL. Todavia, alguns pesquisadores acreditam que estes casos podem ser investigados com o auxílio da coloração imunocitoquímica para p16^{INK4a}^{42,51,53}. Dados de Monsonego e colaboradores (2007)⁵⁴ revelam que a utilização da p16^{INK4a} em esfregaços citológicos caracterizados com ASC-US melhorou a especificidade da colposcopia de 27,3% para 81,8%, e o valor preditivo positivo, de 42,8% para 71,4%.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expressão de p16^{INK4a} aumenta do epitélio normal ao carcinoma cervical invasivo podendo ser um marcador prognóstico de risco para desenvolvimento de câncer cervical em mulheres infectadas com HPV. Sua sobre-expressão em lesões pré-neoplásicas e em carcinomas cervicais pode ser usada para identificar células transformadas pelo HPV, indicando expressão aberrante de oncogenes virais em células epiteliais em replicação. Isto significa que um aumento da p16^{INK4a} está associado com progressão da doença e evolução rápida. A utilização da imuno-reação para p16^{INK4a} pode ser também uma ferramenta útil nos casos em que a citologia é incapaz de distinguir HSIL de alterações inflamatórias, reativas ou mesmo de epitélio normal. Para os autores deste, uma das principais utilidades do uso da p16^{INK4a} seja identificar entre mulheres com citologias normais ou com ASC-US, as que poderão ser fortes candidatas a desenvolver lesões intraepiteliais e carcinoma futuramente.

A imunocoloração para p16^{INK4a} tem se mostrado um marcador de lesões cervicais em potencial, mas protocolos em relação à padronização do seu uso e interpretação de seus resultados ainda devem ser estabelecidos para consolidar seu uso como teste adicional para detecção precoce de lesões pré-neoplásicas.

REFERÊNCIAS

1. ZEFERINO, L.C.; PINOTTI, J.A.; JORGE, J.P.N.; WESTIN, M.C.A.; TAMBASCIA, J.K.; MONTEMOR, E.B.L. Organization of cervical cancer screening in Campinas and surrounding region, São Paulo State, Brazil. *Cad. Saúde Pública*, 22:1909-1914, 2006.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer – INCA. Coordenadoria de Programas de Controle de

- Câncer (Pró-Onco). Estimativa da incidência e mortalidade por câncer cérvico-uterino no Brasil. Rio de Janeiro, 2002. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso em: 25 nov. 2007.
3. WANG, J.-L.; ZHENG, B.-Y.; LI, X.-D.; ANGSTRÖM, T.; LINDSTRÖM, M.S.; WALLIN, K.-L. Predictive significance of the alterations of p16INK4A, p14ARF, p53, and proliferating cell nuclear antigen expression in the progression of cervical cancer. *Clin Cancer Res*, 10:2407-2414, 2004.
 4. WENTZENSEN, N.; von KNEBEL DOEBERITZ, M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers*, 23:315-330, 2007.
 5. SCHLECHT, N.F.; TREVISAN, A.; DUARTE-FRANCO, E.; ROHAN, T.E.; FERENCZY, A.; VILLA, L.L.; FRANCO, E.L. Viral load as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer*, 103:519-524, 2003.
 6. QUEIROZ, C.; SILVA, T.C.; ALVES, V.A.; VILLA, L.L.; COSTA, M.C.; TRAVASSOS, A.G.; FILHO, J.B.; STUDART, E.; CHETO, T.; DE FREITAS, L.A. Comparative study of the expression of cellular cycle proteins in cervical intraepithelial lesions. *Pathol Res Pract*, 202(10):731-7, 2006.
 7. KONG, C.S.; BALZER, B.L.; TROXELL, M.L.; PATTERSON, B.K.; LONGACRE, T.A. p16INK4a immunohistochemistry is superior to HPV in situ hybridization for the detection of high-risk HPV in atypical squamous metaplasia. *Am J Surg Pathol*, 31:33-43, 2007.
 8. BOLANCA, I.K.; CIGLAR, S. Evaluation of p16INK4a in cervical lesion of premenopausal and postmenopausal women. *Coll Antropol*, 31(suppl 2): 107-111, 2007.
 9. CUZICK, J.; SZAREWSKI, A.; CUBIE, H.; HULMAN, G.; KITCHENER, H.; LUESLEY, D. et al. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet*, 362(9399):1871-1876, 2003.
 10. HO, G.Y.; BURK, R.D.; KEIN, S.; KADISH, A.S.; CHANG, C.G.; PALAN, P.; BASU, J.; TACHESZY, R.; LEWIS, R.; ROMNEY, S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Nat Cancer Inst*, 87:365-371, 1995.
 11. zur HAUSEN, H. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*, 1288:55-78, 1996.
 12. UNGER, E.R.; DUARTE-FRANCO, E. Human papillomaviruses. *Obstetrics and Gynecology Clinics*, 28:653-666, 2001.
 13. zur HAUSEN, H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews: Cancer*. London, 2:342-350, 2002.
 14. FEICHTER, G.; MEISELS, A. Task force consensus report on HPV-related changes of the lower female genital tract. *Acta Cytol*, 46:630-632, 2002.
 15. SCHLECHT, N.F.; PLATT, R.W.; DUARTE-FRANCO, E.; COSTA, M.C.; SOBRINHO, J.J.; PRADO, J.C.M.; FERENCZY, A.; ROHAN, T.E.; VILLA, L.L.; FRANCO, E.L. *J Natl Cancer Ins*, 95(17):1336-1343, 2003a.
 16. MANTOVANI, F.; BANKS, L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*, 20(54):7874-7887, 2001.
 17. WENTZENSEN, N.; VINOKUROVA, S.; von KNEBEL DOEBERITZ, M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res*, 64(11):3878-3884, 2004.
 18. MANSOUR, M.; TOUKA, M.; HASAN, U.; BELLOPEDE, A.; SMET, A.; ACCARDI, R.; GABET, A.-S.; SYLLA, B.S.; TOMMASINO, M. E7 properties of mucosal human papillomavirus types 26,53 and 66 correlate with their intermediate risk for cervical development. *Virology*, 367(1):1-9, 2007.
 19. GIARRÈ, M.; CALDEIRA, S.; MALANCHI, I.; CICCOLINI, F.; LEA, M.J.; TOMMASINO, M. Induction of pRb degradation by the human papillomavirus Type 16E7 protein is essential to efficiently overcome p16INK4a-imposed G1 cell cycle arrest. *J Virol*, 75:4705-4712, 2001.
 20. DOORBAR, J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci*, 110: 525-541, 2006.
 21. SANO, T.; OYAMA, T.; KASHIWABARA, K.; FUKUDA, T.; NAKAJIMA, T. Expression status of p16 protein is associates with papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol*, 153(6):1741-1748, 1998.
 22. FENG, W.; XIAO, J.; ZHANG, Z.; ROSEN, D.G.; BROWN, R.E.; LIU, J.; DUAN, X. Senescence and apoptosis in carcinogenesis of cervical squamous carcinoma. *Mod Pathol*, 20(9):961-966, 2007.
 23. CLAVEL, C.; MASURE, M.; PUTAUD, I.; THOMAS, K.; BORY, J.P.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.; BIREMBAUT, P. Hybride capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection – comparison with hybride capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol*, 51:737-740, 1998.
 24. HUBBARD, R.A. Human papillomavirus testing methods. *Arch Pathol Lab Med*, 127:940-945, 2003.
 25. HERBSLEB, M.; KNUDSEN, U.B.; ORNTOFT, T.F.; BICEHL, P.; NORRILD, B.; KNUDSEN, A.; MOGENSEN, O. Telomerase activity, MIB-1, PCNA, HPV 16 and p53 as diagnostic markers for cervical intraepithelial neoplasia. *APMIS*, 109:607-617, 2001.
 26. TÜRKÇÜOĞLU, I., KAYGUSUZ, G., ATABEKOĞLU, C.S., ORTAÇ, F., GÜNGÖR, M., KANKAYA, D., SERTÇELİK, A. The role of p53, Bcl-2 and Ki-67 in premalignant cervical lesions and cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*, 28(4):290-293, 2007.
 27. BAALBERGEN, A., EWING-GRAHAM, P.C., EIJKEMANS, M.J., HELMERHORST, T.J. Prognosis of adenocarcinoma of the uterine cervix: p53 expression correlates with higher incidence of mortality. *Int J Cancer*, 121(1):106-110, 2007.
 28. GOLIJOW, C.D.; ABBA, M.C.; MOURON, S.A., GOMEZ, M.A., DULOUT, F.N. c-myc gene amplification detected in preinvasive intraepithelial cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer*, 11(6):462-465, 2001.
 29. KEATING, J.T.; CVIKO, A.; RIETHDORF, S.; RIETHDORF, L.; QUADE, B.J.; SUN, D.; DUENSING, S.; SHEETS, E.E.; MUNGER, K.; CRUM, C.P. Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol*, 25(7):884-891, 2001.
 30. GHOBASHY, A.A., SHAABAN, A.M., HEROD, J., INNES, J., PRIME, W., HERRINGTON, C.S. Overexpression of cyclins A and B as markers of neoplastic glandular lesions of the cervix. *Gynecol Oncol*, 92(2):628-634, 2004.
 31. CASTLE, P.E.; ASHFAQ, R.; ANSARI, F.; MULLER, C.Y. Immunohistochemical evaluation of heat shock proteins in normal and preinvasive lesions of the cervix. *Cancer Lett*, 229(2):245-252, 2005.
 32. NOEL, J.C.; FERNANDEZ-AGUILAR, S.; FAYT, I.; BUXANT, F.; ANSION, M.H.; SIMON, P.; ANAF, V. Laminin-5 gamma 2 chain expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 84(11):1119-1123, 2005.
 33. WANG, J.L.; ZHENG, B.Y.; LI, X.D.; NOKELAINEN, K.; ANGSTRÖM, T.; LINDSTROM, M.S.; WALLIN, K.L. p16INK4A and p14ARF expression pattern by immunohistochemistry in human papillomavirus-related cervical neoplasia. *Mod. Pathol*, 18(5):629-637, 2005.
 34. BULTEN J.; VAN DER AVOORT, I.A.M.; MELCHERS, W.J.G.; MASSUGER, L.F.A.G.; GREFFE, J.M.M.; HANSELAAR, A.G.J.M.; WILDE, P.C.M. p14ARF and p16INK4a, two products of the same gene, are differently expressed in cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol*, 101:487-494, 2006.
 35. PIENTONG, C.; EKALAKSANANAN, T.; KONGYINGYONES, B.; KRIPTPETCHARAT, O.; SWADPANICH, U.; PENGSA, P.; YUENYAO, P. Immunocytochemical staining of p16INK4a protein from conventional Pap test and its association with papillomavirus infection. *Diagn Cytopathol*, 31(4):235-242, 2004.
 36. LORENZATO, M.; CAUDROY, S.; BRONNER, C.; EVRARD, G.; SIMON, M.; DURLACH, A.; BIREMBAUT, P.; CLAVEL, C. Cell cycle and/or proliferation markers: what is the best method to discriminate cervical high-grade lesions? *Hum Pathol*, 36:1101-1107, 2005.
 37. MURPHY, N.; RING, M.; HEFFRON, C.C.; KING, B.; KILLALLEA, A.G.; HUGHES, C.; MARTIN, C.M.; MCGUINNESS, E.; SHEILS, O.; O'LEARY, O. p16INK4a, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive and cervical cancer. *J Clin Pathol*, 5(5):525-534, 2005.
 38. HOLLADAY, E.B.; LOGAN, S.; ARNOLD, J.; KNESEL, B.; SMITH, G.D. A comparison of the clinical utility of p16(INK4a) immunolocalization with the presence of human papillomavirus by hybrid capture 2 for the detection of cervical dysplasia/neoplasia. *Cancer*, 108(6):452-461, 2006.
 39. KALOF, A.N.; EVANS, M.F.; SIMMONS-ARNOLD, L.; BEATTY, B.G.; COOPER, K. p16INK4 immunoeexpression and HPV in situ hybridization signal patterns: potential markers of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*, 29(5):674-679, 2005.
 40. YILDIZ, I.Z.; USUBÜTÜN, A.; FIRAT, P.; AYHAN, A.; KÜÇÜKALI, T. Efficiency of immunohistochemical p16 expression and HPV typing in cervical squa-

- mous intraepithelial lesion grading and review of the p16 literature. *Pathol Res Pract*, 203:445-449, 2007.
41. KLAES, R.; FRIEDRICH, T.; SPITKOVSKY, D.; RIDDER, R.; RUDY, W.; PETRY, U.; DALLENBACH-HELLWEG, G.; SCHMIDT, D.; DOEBERITZ, M.V.K. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer*, 92(2):276-284, 2001.
 42. WENTZENSEN, N.; BERGERON, C.; CAS, F.; VINOKUROVA, S.; von KNEBEL DOEBERITZ, M. Triage of women with ASCUS and LSIL cytology: use of qualitative assessment of p16INK4a positive cells to identify patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer*, 111(1):58-66, 2007.
 43. LONGATTO FILHO, A.; UTAGAWA, M.L.; SHIRATA, N.K.; PEREIRA, S.M.; NAMİYAMA, G.M.; KANAMURA, C.T.; SANTOS, G.C.; DE OLIVEIRA, M.A.; WAKAMATSU, A.; NONOGAKI, S.; ROTELI-MARTINS, C.; DI LORETO, C.; MATTOSINHO DE CASTRO FERRAZ, M.G.; MAEDA, M.Y.; ALVES, V.A.; SYRJÄNEN, K. Immunocytochemical Expression of p16INK4A and Ki-67 in Cytologically Negative and Equivocal Pap Smears Positive for Oncogenic Human Papillomavirus. *Int J Gynecol Pathol*, 24(2): 118-124, 2005.
 44. Li, C.; ROCK, K.L.; WODA, B.A.; JIANG, Z.; FRAIRE, A.E.; DRESSER, K. IMP3 is a novel biomarker for Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: an immunohistochemical study in comparison with p16INK4a expression. *Mod Pathol*, 20(2):242-247, 2007.
 45. MURPHY, N.; RING, M.; KILLALLEA, A.G.; UHLMANN, V.; O'DONOVAN, M.; MULCAHY, F.; TURNER, M.; McGUINNESS, E.; GRIFFIN, M.; MARTIN, C.M.; SHEILS, O.; O'LEARY, O. P16INK4A as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep™ smears. *J Clin Pathol*, 56:56-63, 2003.
 46. NEGRI, G.; EGARTER-VIGL, E.; KASAL, A.; ROMANO, F.; HAITEL, A.; MIAN, C. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol*, 27(2):187-193, 2003.
 47. NIEH, S.; CHEN, S.F.; CHU, T.Y.; LAI, H.C.; FU, E. Expression of p16 INK4A in Papanicolaou smears containing atypical squamous cells of undetermined significance from the uterine cervix. *Gynecol Oncol*, 91(1):201-208, 2003.
 48. NEGRI, G.; MORETTO, G.; MENIA, E.; VITTADELLO, F.; KASAL, A.; MIAN, C.; EGARTER-VIGL, E. Immunocytochemistry of p16INK4a in liquid-based cervicovaginal specimens with modified Papanicolaou counterstaining. *J Clin Pathol*, 59(8):827-830, 2006.
 49. BENEVOLO, M.; VOCATURO, A.; MOTTOLESE, M.; MARIANI, L.; VOCATURO, G.; MARANDINO, F.; SPERDUTI, I.; ROLLO, F.; ANTONIANI, B.; DONNORSO, R.P. Clinical role of p16INK4a expression in liquid-based cervical cytology: correlation with HPV testing and histologic diagnosis. *Am J Clin Pathol*, 129(4): 606-612, 2008.
 50. NASSAR, A.; O'REILLY, K.; COHEN, C.; SIDDIQUI, M.T. Comparison of p16INK4A and Hybrid Capture 2 human papillomavirus testing as adjunctive tests in liquid-based gynecologic SurePath preparations. *Diagn Cytopathol*, 36(3):142-148, 2008.
 51. SCHLEDERMANN, D.; ANDERSEN, B.T.; BISGAARD, K.; DOHSE, M.; EJERSBO, D.; HOELUND, B.; HORAL, P.; LINDH, M.; RYD, W. Are adjunctive markers useful in routine cervical cancer screening? Application of p16(INK4a) and HPV-PCR on ThinPrep samples with histological follow-up. *Diagn Cytopathol*, 36(7):453-459, 2008.
 52. MAO, C.; BALASUBRAMNIAN, A.; YU, M.; KIVIAT, N.; RIDDER, R.; REICHERT, A.; HERKERT, M.; von KNEBEL DOEBERITZ, M. Evaluation of new p16(INK4A) ELISA test and high-risk HPV DNA test for cervical cancer screening: results from proof-of-concept study. *Int J Cancer*, 120(11):2435-2438, 2007.
 53. SAMAMA, B.; SCHAEFFER, C.; BOEHM, N. P16 expression in relation to human papillomavirus in liquid-based cervical smears. *Gynecol Oncol*, 109:285-290, 2008.
 54. MONSONEGO, J.; POLLINI, G.; EVRARD, M.J.; SEDNAOUI, P.; MONFORT, L.; QUINZAT, D.; DACHEZ, R.; SYRJÄNEN, K. P16(INK4a) immunocytochemistry in liquid-based cytology samples in equivocal Pap smears: added value in management of women with equivocal Pap smear. *Acta Cytol*, 51(5):755-766, 2007.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Mauren Isfer Anghebem-Oliveira
 Rua Imaculada Conceição, 1155 – Laboratório de Citologia - CCBS
 CEP: 80215-901 Prado Velho
 E-mail: mauren.oliveira@pucpr.br
 Telefone: (41) 3271-2167

Acreditação de Sistema de Qualidade de Laboratórios Clínicos e de Organizações Prestadoras de Serviços de Saúde.



DICQ



Instituição Acreditadora da



O mais completo organismo de acreditação de laboratórios clínicos da América Latina

Saiba mais. Acesse: www.dicq.org.br ou entre em contato conosco pelo telefone 21 2187-0822 acreditacao@dicq.org.br e acreditacaodicqona@dicq.org.br

Análise bacteriológica comparativa entre aparelhos telefônicos públicos localizados próximos de hospitais e demais localidades da cidade de Uberaba – MG*

Comparative bacteriological analysis between public telephone located close to hospitals and other locations of Uberaba city in Minas Gerais

Larissa Beatriz Silva¹, Morgane Oliveira Silva Zafalon², Ronaldo Rodrigues Sarmiento³ & Ana Carolina Bernardes Dulgheroff⁴

RESUMO - Objetos de uso comunitário como os telefones públicos, devido a grande manipulação pela população, podem abrigar uma enorme e diversificada quantidade de microrganismos, podendo tornar-se veículos de disseminação de doenças, especialmente para pessoas com deficiência imunológica. Foram analisadas 20 amostras de telefones públicos: 10 localizados próximos de hospitais e os outros em bairros da cidade, com o objetivo de avaliar o nível de contaminação destes objetos. Em todas as amostras foram encontradas bactérias. Nos aparelhos dos bairros encontramos *Bacillus* gram-positivos (33,3%), *Serratia* sp. (16,7%), *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* coagulase-negativa e *Klebsiella* sp. (10%), *Citrobacter* sp. (6,7%), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. e *Enterococcus* sp. (3,3%). Nos telefones próximos aos hospitais foi encontrado *Staphylococcus* coagulase-negativa (22,9%), *Bacillus* gram-positivos (25,7%), *Serratia* sp. (17,1%), *Hafnia alvei* (11,4%), *Chryseobacterium odoratum* e *Proteus mirabilis* (5,7%), *Enterobacter* sp. (8,6%) e *Citrobacter* sp. (2,9%). Não houve diferença significativa no nível de contaminação entre haste e fone de ouvido e entre os 2 grupos de telefones analisados. Apenas *Staphylococcus* coagulase-negativa apresentou diferença estatisticamente significativa.

PALAVRAS-CHAVE - telefones públicos, contaminação bacteriana, microbiota normal.

SUMMARY - Objects of public use such as public telephones, because of their large usage by the population can shelter a huge and diversified quantity of microorganisms, which may become dissemination vehicles of diseases, especially for people with immunological deficiency. Twenty samples of public telephones were analyzed: ten were located near hospitals and the others in neighborhoods round about the city, with the objective of evaluating the level of contamination of these objects. In all the samples bacteria were found. On the neighborhoods phone sets we found *Bacillus* gram-positive (33,3%), *Serratia* sp. (16,7%), *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* coagulase-negative and *Klebsiella* sp. (10%), *Citrobacter* sp. (6,7%), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella* sp. and *Enterococcus* sp. (3,3%). On the phones sets located near hospitals we found *Staphylococcus* coagulase-negative (22,9%), *Bacillus* gram-positive (25,7%), *Serratia* sp. (17,1%), *Hafnia alvei* (11,4%), *Chryseobacterium odoratum* and *Proteus mirabilis* (5,7%), *Enterobacter* sp. (8,6%) and *Citrobacter* sp. (2,9%). There weren't any significant differences on the level contamination between the shank and the transmitter and between the two analyzed phone groups. Only *Staphylococcus* coagulase-negative presented statistically significant difference.

KEYWORDS - Public telephone, bacterial contamination, normal microbiota.

INTRODUÇÃO

A utilização de objetos de uso comunitário é algo muito comum em nossa sociedade. Desde a sua invenção em 1876, por Alexander Graham Bell, os telefones foram gradativamente sendo incorporados ao cotidiano das pessoas, se tornando um objeto de uso constante e despreocupado¹⁵. Estudos microbiológicos realizados em aparelhos telefônicos públicos, têm demonstrado a presença de diversos tipos de bactérias, o que faz com que sejam potencialmente um veículo de disseminação de doenças e infecções a população¹³⁻¹⁸. A pele é o maior órgão do corpo humano, e abriga em toda a sua extensão, uma enorme quantidade de células bacterianas, conhecidas como constituintes da microbiota natural, que podem ser classificadas como residentes ou transitórias¹⁰⁻¹¹. Em condições normais, ou seja, na presença de um sistema imunológico competente, estas bactérias não nos causam nenhum tipo de dano, porém na deficiência deste, estas bactérias podem desencadear infecções graves⁵⁻¹². As principais bactérias já isoladas de telefones públicos foram: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e coagulase-negativa, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Corynebacterium* sp.,

Enterococcus faecalis, *Enterobacter agglomerans*, *Salmonella enteritidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*³⁻¹⁵⁻¹⁷; o que coloca estes objetos em evidência e sugere que medidas de controle e desinfecção periódicas ocorram na tentativa de se reduzir ao máximo esta colonização. Pelo fato das bactérias estarem disseminadas por todos os lugares, inclusive em aparelhos telefônicos, surge então uma preocupação se há diferença no nível de contaminação bacteriana de aparelhos usados por profissionais de saúde ou frequentadores de áreas hospitalares com os demais aparelhos utilizados pela população em geral, sugerindo que de alguma forma estas bactérias podem estar sendo deslocadas de áreas hospitalares para a comunidade. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o nível de contaminação da haste e do fone de ouvido de telefones públicos localizados próximos de áreas hospitalares e de telefones localizados em outros bairros da cidade de Uberaba.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no período de Julho a Outubro de 2008, onde foram coletadas amostras da haste e do fone de ouvido (pavilhão auricular) de 20 aparelhos telefônicos,

Recebido em 25/11/2008

Aprovado em 19/04/2010

*Laboratório de Biomedicina, Universidade de Uberaba (UNIUBE) – Uberaba –MG

Suporte financeiro - Empresa LABORCLIN

¹Graduanda em Biomedicina - UNIUBE, ²Pedagoga e graduanda em Biomedicina -UNIUBE, ³Mestre em Patologia Clínica, Biomédico e Professor da Disciplina de Microbiologia da Universidade de Uberaba, ⁴Mestranda em Microbiologia e Biomédica Supervisora do Setor de Microbiologia- UNIUBE

sendo 10 telefones situados em diferentes bairros da cidade de Uberaba escolhidos aleatoriamente e 10 próximos a hospitais da cidade. Utilizou-se swabs estéreis umedecidos em soro fisiológico, transportados em meio de enriquecimento tioglicolato¹⁵. As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, e em seguida semeadas em placas com os meios ágar sangue e MacConkey pela técnica de esgotamento¹⁴.

Após o crescimento bacteriano, foram analisadas as características das diferentes colônias e feita a coloração de Gram. As bactérias classificadas como gram-negativas foram identificadas a partir dos testes bioquímicos: ágar Triplo Açúcar Ferro (TSI), ágar Citrato Simmons e Sulfato, Indol, Motilidade (SIM). As bactérias fermentadoras de glicose foram identificadas a partir da leitura dos meios específicos para este grupo e pela Tabela de Identificação de Enterobactérias⁹. As bactérias que não fermentaram glicose foram identificadas usando-se o teste da oxidase e Kit para identificação de bactéria não-fermentadora, fornecidos pela empresa Laborclin. Para bactérias gram-positivas foram realizados os testes da catalase e da coagulase¹. As bactérias positivas para a enzima coagulase foram identificadas como *S. aureus* e as coagulase-negativas como *Staphylococcus coagulase-negativa*¹⁴.

Para as bactérias catalase-negativas analisou-se a presença ou ausência de hemólise e realizou-se os testes de sensibilidade à Bacitracina e Optoquina e os testes bile esculina e NaCl a 6,5%¹. As bactérias cujas provas bile esculina e NaCl a 6,5% foram positivas foram identificadas como *Enterococcus sp.*⁹. Foi realizada a análise estatística dos dados através do Qui Quadrado pelo programa Prysm onde, para que seja considerada uma diferença significativa $p < 0,05$.

RESULTADOS

Em todos os aparelhos telefônicos foram isoladas várias espécies bacterianas. Não houve diferença significativa entre o nível de contaminação entre haste e fone de ouvido. A figura 1 mostra o percentual de bactérias encontradas nos fones de ouvido de todas as amostras analisadas, comparando os dois grupos pesquisados.

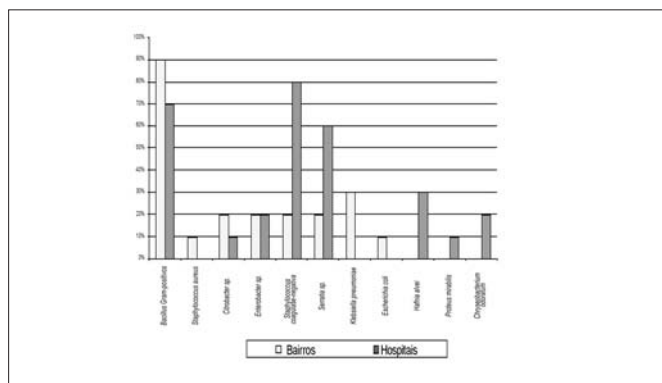


Figura 1: Bactérias isoladas nos fones de ouvido de telefones públicos de bairros e de telefones localizados próximos à hospitais da cidade de Uberaba.

As análises realizadas nos fones de ouvido (pavilhão auricular) dos telefones de bairros demonstraram o predomínio de contaminação por *Bacillus* Gram- positivo, estando presente em 9 (90%) das 10 amostras analisadas. *S. aureus* e *E. coli* foram isolados em apenas 1 (10%) telefone de bairro, não sendo encontradas nos telefones próximos à áreas

hospitalares. *Enterobacter sp.* foi encontrado em 2 (20%) das amostras tanto de bairros quanto hospitalares. A *K. pneumoniae* esteve presente em 3 (30%) dos 10 telefones de bairros analisados, não sendo isolada em telefones hospitalares. Foram isolados *Staphylococcus coagulase-negativa* em apenas 2 (20%) das amostras de telefones de bairros, entretanto, foi isolado em 8 (80%) telefones próximos de hospitais mostrando diferença significativa ($p = 0,00073$). A bactéria do gênero *Serratia sp.* esteve em 6 (60%) dos 10 telefones próximos à hospitais analisados e em 2 (20%) dos 10 telefones de bairros. Já as bactérias: *Hafnia alvei*, *Chryseobacterium odoratum* e *Proteus mirabilis* foram isoladas apenas nas amostras de telefones próximos a hospitais, apresentando um percentual de 30%, 20% e 10% respectivamente.

A figura 2 mostra o percentual de bactérias encontradas nas hastes das amostras analisadas, comparando os dois grupos pesquisados.

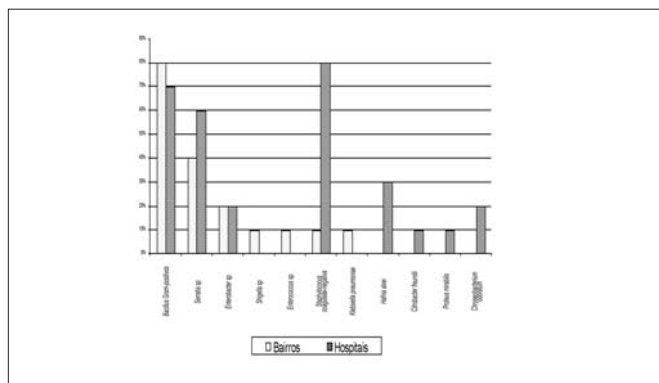


Figura 2: Bactérias isoladas nas hastes de telefones públicos de bairros e localizados próximos à hospitais da cidade de Uberaba.

Nas hastes dos telefones, assim como nos fones de ouvido, houve predomínio de *Bacillus* Gram- positivos, pois as mesmas foram encontradas em 8 (80%) telefones de bairro e 7 (70%) hospitalares. A *Serratia sp.* foi isolada em 4 (40%) e 6 (60%) das hastes em bairros e próximos a hospitais, respectivamente. As bactérias: *Shigella sp.*, *Enterococcus sp.* e *K. pneumoniae* foram isoladas apenas nas hastes de telefones de bairros representando cada uma 10%. *Enterobacter sp.* foi encontrada na mesma quantidade nas hastes analisadas, sendo 2 (20%) em bairros e 2 (20%) próximos a hospitais. *P. mirabilis* e *Citrobacter sp.* foram encontradas apenas em hastes de telefones próximos a áreas hospitalares onde, dos 10 telefones analisados somente 1 (10%) telefone apresentou a primeira e 1 (10%) telefone apresentou a segunda. *H. alvei* e *C. odoratum* também foram isolados somente em hastes de telefones próximos a hospitais, onde dos 10 telefones analisados, estiveram presentes em 3 (30%) e 2 (20%). *Staphylococcus coagulase-negativa* foi encontrado em 1 (10%) haste de telefone de bairro, porém, nas hastes dos telefones próximos a hospitais estiveram presentes em 8 (80%) analisados mostrando uma diferença significativa segundo o cálculo do Qui Quadrado ($p = 0,00017$).

DISCUSSÃO

As bactérias são microrganismos presentes nos mais variados locais, desde notas de dinheiro, assentos de ônibus e telefones públicos¹⁶⁻¹⁵. Desta forma, a contaminação bacteriana pode se dar através do contato direto com as bacté-

rias ou por contato indireto como por objetos contaminados⁸. Prova disto é que espécies fúngicas e bacterianas foram encontradas e isoladas em mãos de manipuladores de alimentos, como *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Cândida sp.*, *S. aureus*, e a presença destes microrganismos em alimentos pode causar vários danos à saúde¹⁰⁻²⁻¹³⁻¹⁷.

Geralmente os telefones públicos estão situados em locais onde há grande fluxo de pessoas, como: clubes, hotéis, praças, shoppings, hospitais, mercados e terminais rodoviários sendo diariamente usado por muitas pessoas e por isso, é provável que as bactérias encontradas nestes, possam variar tanto em quantidade como em qualidade de acordo com sua localização. Além disto, a quantidade de bactérias presentes nestes telefones pode ser influenciada pelo clima, sendo maior ou menor de acordo com a estação do ano¹⁷. Escremim *et al* (2005)⁷ em sua análise de telefones públicos de Curitiba-PR, se baseou no clima (inverno/primavera) encontrando diversas bactérias como: *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus coagulase-negativa*. Embora nosso estudo não tenha se baseado na variável clima, detectamos similaridade nas bactérias encontradas e, portanto, sugerimos que outras pesquisas em telefones públicos de nossa cidade sejam realizadas em diferentes épocas do ano para futuras comparações.

Carvalho *et al.* (2002)⁹, analisando os telefones públicos de algumas localidades da cidade do Rio de Janeiro constaram a presença de *Staphylococcus coagulase-positiva*, e *Enterococcus sp.* em todas as amostras analisadas, demonstrando uma real possibilidade de contaminação dos usuários deste serviço. De todos os locais analisados pelos autores (áudio, haste e teclado), o áudio demonstrou ser o local com maior índice de contaminação. Em nosso trabalho, não houve diferença significativa no nível de contaminação entre haste e fone de ouvido.

Na pesquisa realizada por Alves *et al* (2007)³ em Santos - SP, das amostras analisadas, foram encontrados *Staphylococcus coagulase-negativa* em 17 delas, *Klebsiella sp.* em 2, não encontrando nenhuma amostra positiva para *S. aureus*. Em nosso estudo, isolamos *Staphylococcus coagulase-negativa* em 10 fones de ouvido e 9 hastes, *K. pneumoniae* em 3 fones e uma haste e *S. aureus* apenas em 1 fone de ouvido das amostras de telefones de bairros.

O estudo realizado por Person *et al* (2005)¹⁵ nos fones de ouvido de telefones públicos e hospitalares, demonstrou que há diferença da colonização encontrada nestes grupos de telefones, e que *Staphylococcus coagulase-negativa* foi a bactéria mais encontrada em telefones públicos, assim como demonstrado em nosso trabalho. Em telefones hospitalares houve o predomínio de *P. aeruginosa* e *S. aureus*, que não foram encontrados em nosso estudo, sugerindo que em nossa cidade existe um deslocamento menor de bactérias de dentro dos hospitais para a comunidade, já que, só houve diferença estatisticamente significativa para *Staphylococcus coagulase-negativa*.

Foram realizadas várias pesquisas com o objetivo de avaliar as condições higiênicas-sanitárias de diversos objetos de uso público, o que demonstra uma grande preocupação quanto à taxa de contaminação destes objetos e o risco que eles oferecem à população¹⁵⁻¹⁶. Com base nisto e em nosso estudo, recomendamos a lavagem das mãos logo após a utilização de telefones e principalmente ao sair de áreas hospitalares, para que a contaminação, disseminação de microrganismos e possíveis infecções possam ser evitadas. Além disso, propõe-se que, objetos de uso público sejam regularmente desinfetados de maneira eficiente para que não ocorra um deslocamento de bactérias ou outros microrganismos⁴.

Nossos resultados demonstraram que todos os telefones analisados apresentaram contaminação bacteriana, e em alguns casos por bactérias potencialmente patogênicas como *Shigella sp.*, *Klebsiella sp.*, *S. aureus* e coagulase-negativa. Desta forma, existe a preocupação, principalmente, com os indivíduos imunodeprimidos (por doenças ou uso de drogas imunossupressoras) que utilizam os telefones públicos, pois o contato com estas bactérias virulentas, pode causar infecções graves¹². Salientamos, ainda, a necessidade de uma legislação específica para os telefones públicos, para que tanto a prefeitura quanto a prestadora de serviço de telefonia pública, se responsabilizem por uma limpeza periódica e eficaz.

Não podemos afirmar que o uso de telefones públicos ou qualquer outro objeto de uso comunitário, seja prejudicial à saúde de seus usuários, porém recomendamos que novas pesquisas sejam feitas neste sentido, na tentativa de se avaliar e minimizar este risco.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Uberaba, aos nossos orientadores Ana Carolina Bernardes Dulgheroff e Ronaldo Rodrigues Sarmento pelo apoio durante toda a realização da pesquisa, à empresa LABORCLIN pelo fornecimento de materiais necessários ao nosso estudo, a Deus e aos nossos companheiros e colaboradores.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Microbiologia para Controle de Infecção em Serviços de Saúde. Brasília: ANVISA http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/microbiologia/mod_5_2004.pdf Acesso em: 30 de Mar.2008.
2. Almeida, R.C.de C.; Kuaye, A.Y.; Serrano, A. de M.; Almeida, P.F. de. Avaliação e controle de qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. Rev. Saúde Pública, v.29, p. 290-294, 1995.
3. Alves, C.F.V.; Santos, R.T.; Lolli, R.R.; Soares, M.C.B. Condições Higiênicas-Sanitárias de Telefones Públicos no município de Santos. Rev. Newslab, [S.I.], v. 82, p.192-200, 2007.
4. Andrade, D.; Angerami, E.L.S.; Padovani, C.R. Condições microbiológicas dos leitos antes e depois de sua limpeza. Rev. Saúde Pública, v. 34, n.2, p.163-169, 2000.
5. Andriolo, A. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar de medicina laboratorial. Barueri: Manole p.98, 2005.
6. Carvalho, C.A.; Andrade C.S.; Costa C.R.M.; Mascarenhas, A.M.; Tórtora, J.C.O. Contaminação Microbiana de aparelhos telefônicos públicos e risco de saúde dos usuários. J. Brasileiro de Microbiologia, v. 82, n.6, p.34B-34H, Junho, 2002.
7. Escremin, C.; Nishi C.Y.M., Monteiro C.L.B. Isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em telefones públicos em duas localidades de Curitiba - Paraná. In: XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos - SP. 2005. Resumos.
8. Fontana, R.T. Hospital infection and the historical evolution of infection. Rev. Bras. Enferm., Brasília, v. 59, n. 5, p. 703-706, Set/Out, 2006.
9. Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C.; Winn Junior, W.C. Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
10. Lima, K.M., Rêgo, R.S.M., Montenegro, F. Espécies fúngicas isoladas a partir de unhas de manipuladores de alimentos. Rev. Bras. de Análises Clínicas, v.39, n.3, p. 193-196, 2007.
11. Mims, C.; Wakelin, D.; Playfair, J.; Williams, R.; Roitt, I. Microbiologia médica. 2 ed. São Paulo: Manole, p. 9, 1999.
12. Murray, P.R.; Rosenthal, K.S.; Kobayashi,G.; Pfaller, M.A.; Microbiologia Médica. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 196-201, 619, 2004.
13. Nolla, A.C.; Cantos, G.A. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.21 p. 641-645, Mar/Apr, 2005.

14. Oplustil, C.P.; Zoccoli, C.M.; Tobouti, N.R.; Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. São Paulo: Sarvier, 2000.
15. Person, O.C.; Lopes, A. de F.; Nardi, J.C.; Aringa, A.R.D.; Tanaka, I.I. Avaliação da flora bacteriana dos fones de ouvido de telefones públicos e hospitalares de Marília. Revista Arquivo Médico ABC., [S.l.], v.30, n.1, p.34-38, Jan/Jun. 2005.
16. Souza, A.C.; Oliveira, G.E.M. de; Ogawa, W.N.; Poletto, K.Q. Microrganismos encontrados em dinheiro brasileiro coletado em feira livre. Rev. Newslab, v.77, p. 178-186, 2006.
17. Tunç, K.; Olgun, U. Microbiology of public telephones. Journal of Infection, n.53, p.140-143, 2006.

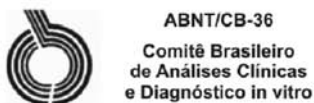
18. Yalowitz, M.; The recovery of bacteria from the handpiece of a high school telephone. Journal Environmental Health, v.65, n.6, p. 18-20. 2003.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Larissa Beatriz Silva
 Rua: Rosa Bessin Frange, 740 – Volta Grande
 CEP: 38045 - 660 - Uberaba- MG
 E-mail: larissa_beatriz_silva@hotmail.com
 Fone: (34) 3312 9966



A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas patrocina e promove os seguintes programas e produtos:



Asociación Mercosur de Normalización



Participe você também. Associe-se!

www.sbac.org.br

Perfil lipídico e sua relação com fatores de risco para a aterosclerose em crianças e adolescentes*

Lipid profile and its relationship with atherosclerosis risk factors in children and adolescents

Marina R. M. Rover¹, Emil Kupek², Rita de C. B. Delgado³ & Liliete C. Souza⁴

RESUMO - Avaliar o perfil lipídico de crianças e adolescentes entre 2 e 19 anos e verificar sua relação com fatores de risco para a aterosclerose. O perfil lipídico foi avaliado por meio do CT, LDL-COL, HDL-COL, TG, fração não-HDL-COL e relações COL/HDL-COL e LDL-COL/HDL-COL. Entre os fatores de risco foram avaliados: a obesidade, a inatividade física, o histórico familiar de doença arterial coronariana (DAC), o baixo peso ao nascer e o curto tempo de amamentação. Contou-se com 1011 participantes. As médias obtidas foram 164, 100, 48, 82 e 116, respectivamente, para CT, LDL-COL, HDL-COL, TG e fração não-HDL-COL em mg/dl; e 3,5 e 2,2, respectivamente, para CT/HDL-COL e LDL-COL/HDL-COL. Nos participantes com histórico familiar de DAC prematura, observaram-se valores significativamente menores de HDL-COL; nos obesos, valores maiores de TG e das relações CT/HDL-COL e LDL-COL/HDL-COL e entre os participantes com glicemia de jejum acima de 100 mg/dl, valores significativamente maiores de CT. A alta prevalência de fatores de risco para a aterosclerose na população de crianças e adolescentes estudada justifica ações de Saúde Pública para controlar os fatores de risco e assim diminuir a incidência da aterosclerose.

PALAVRAS-CHAVE - perfil lipídico, fatores de risco para aterosclerose, crianças, adolescentes.

SUMMARY - To evaluate the lipid profile for children and adolescents aged between 2 and 19 years old, and to verify its relationship with atherosclerosis risk factors. The lipid profile was evaluated by means of the TC, LDL-C, HDL-C, TG, non-HDL-C and the ratios for TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C. Among the risk factors, were identified: obesity, physical inactivity, positive family history for coronary artery disease, low birthweight and short breastfeeding period. This evaluation counted on 1011 participants. The achieved mean values were: 164, 100, 48, 82 and 116, respectively, for TC, LDL-C, HDL-C, TG and non-HDL cholesterol mg/dl; 3.5 and 2.2, respectively, for TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C. Among the participants with positive family history for premature coronary artery disease, it was observed significantly lower HDL-C values; in obese cases, significantly higher values were observed for TG, TC/HDL-C and LDL-C/HDL-C ratios; as well as significantly higher values for TC were obtained in participants with fasting glucose above 100 mg/dl. The high prevalence of atherosclerosis risk factors in children and adolescents justify public health actions to control risk factors and to reduce the atherosclerosis incidence.

KEYWORDS - lipid profile, atherosclerosis risk factors, children and adolescents.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV), como a aterosclerose, estão entre as maiores causas de morbidade e mortalidade de adultos em todo o mundo, com tendência de acometer pessoas cada vez mais jovens (25).

Em geral, as manifestações clínicas da doença arterial coronariana (DAC), têm início a partir da meia idade; no entanto, estudos demonstraram que o processo aterosclerótico inicia-se na infância (22). Alguns trabalhos encontraram estrias gordurosas, placas fibrosas, células espumosas e infiltrações lipídicas em células musculares lisas nas artérias coronárias de crianças e adolescentes (6, 22).

O desenvolvimento da DAC tem sido correlacionado a fatores de risco para a aterosclerose, entre eles: a obesidade, as dislipidemias, a hipertensão arterial e o diabetes melito (1, 14, 18, 19). Recentes divulgações científicas apontam para novos fatores de risco das DCV: a prematuridade, o baixo peso ao nascer e a falta de aleitamento materno (3, 20, 28). Estudos epidemiológicos nacionais têm mostrado avanço das dislipidemias em crianças e adolescentes (9, 13, 16, 26). A dislipidemia é um dos fatores de risco de maior impacto na aterogênese, aumentando duas a três vezes o risco de insuficiência coronariana. Estudos relatam que os valores de colesterol das crianças coincidem com a prevalência de doença coronariana nos adultos de sua região ou país, guardando relação direta entre si; sabe-se também que as frações lipídicas tendem a seguir o fenômeno de *tracking* (trilha), isto é, a maioria das crianças se mantém com os

mesmos percentis em relação aos lípidos até a vida adulta (21, 24). Além disso, os fatores de risco para DAC têm tendência de se apresentar em conjunto (obesidade, dislipidemia, hipertensão arterial); tendência que se mantém durante o crescimento e a vida adulta (12).

Dessa forma, este estudo teve como objetivo determinar o perfil lipídico de crianças e adolescentes e avaliar a relação entre os valores do perfil lipídico e alguns fatores de risco para a aterosclerose nesta população.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro a agosto de 2006, foram estudadas 1011 crianças e adolescentes de ambos os sexos, em laboratório de análises clínicas acreditado pelo Programa de Excelência para Laboratórios Médicos (PELM) da Control Lab e pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade Ltda (PNCQ) da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), nos quais vem obtendo ótimos desempenhos há mais de 10 anos. Os critérios de inclusão na pesquisa foram: encaminhamento ao laboratório para a realização de exames de rotina; idade entre 2 e 19 anos e jejum de 12 horas. Foram excluídos os participantes que manifestavam quadro agudo de doença. Foi utilizado um questionário contemplando variáveis biológicas e sociais, que caracterizavam a amostra e identificavam riscos de doença aterosclerótica, entre eles: tabagismo, histórico familiar de DAC em parentes de primeiro grau (4); peso ao nascer em gramas, considerando baixo peso ao nascer se menor que 2500g (20); tempo de amamentação em

Recebido em 12/11/2008

Aprovado em 11/05/2010

*Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Florianópolis, SC

¹Farmacêutica, Mestre em Farmácia

²Doutor em Saúde Pública, Professor, Departamento de Saúde Pública, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Florianópolis, SC

³Farmacêutica, Especialista em Análises Clínicas

⁴Doutora em Farmácia. Professora, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Florianópolis, SC

meses, considerando 6 meses o tempo mínimo recomendado, segundo o Guia alimentar para crianças brasileiras menores de dois anos (17); idade gestacional ao nascimento em semanas, considerando prematuro se menor de 37 semanas (3); atividade física, avaliada pelas questões que englobam atividades de recreação (especialmente assistir televisão, jogar vídeo-game e computador) somadas às horas gastas nessas atividades por dia, divididas em dois grupos: até 2 horas e mais de 2 horas, e esportes, quantificando o tipo e a frequência das atividades, agrupados em 3 categorias: nenhum, 1-2 vezes na semana, 3 vezes ou mais (2, 5).

Foram aferidos peso e estatura para obtenção do IMC, considerou-se desnutrido se $<$ que o percentil 5; eutrófico se $>$ que o percentil 5 e menor que o 85; sobrepeso se \geq que o percentil 85 ou obeso se \geq que o percentil 95 para idade e sexo, segundo critério do CDC (8).

Foi aferida a pressão arterial, consideraram-se níveis pressóricos elevados quando a pressão arterial era maior ou igual ao nível pressórico correspondente ao percentil 95, observando sexo, idade e percentil de estatura (23). Nos casos de pressão arterial alterada, uma segunda medida foi tomada após 5 minutos de descanso.

O perfil lipídico das amostras de soro foi avaliado por meio do CT, TG, HDL-COL e LDL-COL. As determinações de CT e TG foram realizadas por método enzimático colorimétrico (conjunto de reagentes LABTEST®) em auto-analisador (Roche® modelo COBAS MIRA). O HDL-COL, primeiramente, passou por um pré-tratamento manual que consiste no processo de precipitação por fosfotungstato de magnésio e, posteriormente, a determinação do HDL-COL no sobrenadante foi feita, através de medidas automatizadas, com o mesmo método enzimático colorimétrico. O LDL-COL foi calculado pela fórmula de Friedewald.

Utilizaram-se, como critérios de normalidade para lípidos e lipoproteínas, aqueles definidos pela I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência (I DPAIA) (15). Além dessas determinações, foi calculada a fração não-HDL (30) e as relações CT/HDL-COL e LDL-COL/HDL-COL (11). A glicose de jejum foi determinada nas amostras de plasma coletadas com fluoreto de sódio. A glicose foi determinada pelo método da Glicose-oxidase e Reação de Trinder, (conjunto de reagentes LABTEST®) em auto-analisador (Roche® modelo COBAS MIRA). Utilizou-se, como critério de normalidade, o recomendado pela Sociedade Brasileira de Diabetes (29).

Os dados obtidos durante a pesquisa foram plotados em planilhas especialmente desenvolvidas para esse fim com o programa estatístico EpiData® 3.0. A análise dos dados coletados foi realizada pelo programa estatístico Stata® 9.0. Foram feitas análises descritivas dos dados referentes aos lípidos séricos (percentuais, médias e desvios-padrão) e aos fatores de risco (frequências e percentuais). Para a avaliação da relação entre os valores do perfil lipídico e os fatores de risco para DAC, como o histórico familiar de DAC prematura ou não, a obesidade, o sedentarismo, a hiperglicemia, o baixo peso ao nascer e a ausência ou curta duração de aleitamento materno, foram feitas análises bivariadas com o teste de Pearson, assumindo-se uma distribuição normal condicional as variáveis independentes, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Utilizando-se o mesmo teste, foi calculada a relação entre tempo de gestação e o baixo peso ao nascer.

Após esclarecimento sobre os objetivos do estudo, os métodos e os benefícios resultantes da pesquisa, todos os pais ou responsáveis legais pelas crianças e adolescentes assinaram o consentimento escrito de adesão ao estudo.

RESULTADOS

Dos 1.011 participantes, 532 (52,6%) eram do sexo feminino e 479 (47,4%) do sexo masculino. A distribuição dos participantes nos estratos etários foi: 2 a 5 anos: 289 (28,6%); 6 a 9 anos: 338 (33,4%); 10 a 14 anos: 293 (29%) e 15 a 19 anos: 91 (9%).

As médias e os desvios-padrão obtidos para os valores do perfil lipídico para toda a população pesquisada são apresentados na Tabela 1. De acordo com a I DPAIA, 40,2% dos participantes tiveram o colesterol aumentado e 26,9% estavam na faixa limítrofe. Com relação ao LDL-COL, 13,6% dos participantes tiveram aumento deste valor, enquanto 32,8% estavam com valores limítrofes. Aproximadamente 41% da população pesquisada tiveram valores do HDL-COL diminuído. Em relação ao TG, 12,4% tiveram valores aumentados e 11,6% estavam com valores limítrofes. Para a fração não-HDL-COL, 5,8% tiveram alteração desse valor, enquanto que, para as relações LDL-COL/HDL-COL e COL/HDL-COL, respectivamente 40% e 36% apresentaram valores acima dos valores recomendados. Grande parte dos participantes (86,6%) mostrou alguma alteração no perfil lipídico. Dos participantes, 32,4% tinham histórico familiar de DAC em parentes de primeiro grau; destes, 57,1% tinham histórico familiar de DAC prematura. As crianças e adolescentes descendentes de familiares com DAC prematura tiveram valores significativamente mais baixos de HDL-COL que aqueles com histórico familiar de DAC não prematura ($p = 0,012$). Na comparação entre os indivíduos, com e sem histórico familiar de DAC, não foram encontradas diferenças estatísticas.

Dos participantes avaliados, 11,6% tinham sobrepeso e 12,8% eram obesos. Observaram-se diferenças significativas entre os obesos e os eutróficos para os valores do CT ($p = 0,049$), do TG ($p < 0,001$), da relação CT/HDL-COL ($p = 0,002$) e diferença marginalmente significativa para a fração não-HDL-COL ($p = 0,080$). De modo geral, aqueles classificados como obesos apresentaram maior alteração no perfil lipídico em relação aos eutróficos ($p = 0,005$). Vale ressaltar ainda que 12,8% da população pesquisada foram consideradas desnutridas.

A ocorrência de sedentarismo foi elevada, 61,7% dos avaliados passam mais de 2 horas em atividades de recreação como assistir a televisão, jogar vídeo-game e usar o computador. Nenhuma diferença em relação ao perfil lipídico foi encontrada comparando-se aqueles que assistem até duas horas e aqueles que assistem mais de duas horas diárias. Em relação à prática de atividades físicas regulares, 83% dos participantes não praticam nenhuma atividade regular, apenas 9% praticam esportes de 1 a 2 vezes na semana, e 8% 3 vezes ou mais. Aqueles que fazem mais atividades físicas regulares possuem valores menores para a relação LDL-COL/HDL-COL, embora a diferença seja somente marginalmente significativa ($p = 0,080$).

Os valores de glicemia de jejum acima de 100 mg/dl ocorreram em 8,2% dos avaliados, esses tiveram valores significativamente maiores de CT ($p = 0,010$), sendo que todos esses apresentaram alguma alteração no perfil lipídico. Houve associação significativa entre valores desejáveis de glicemia de jejum e desejáveis de LDL-COL ($p = 0,021$).

Somente 1 % dos pré-adolescentes e adolescentes entrevistados declarou-se como fumantes. Não foi possível avaliar a associação entre o tabagismo e as dislipidemias.

Em relação à pressão arterial, 28,4 % dos avaliados apresentaram alteração nessa ocasião. Não se encontrou associação significativa entre níveis pressóricos elevados e alterações no perfil lipídico.

Cinquenta e oito participantes foram prematuros, o baixo peso ao nascer foi comum em, aproximadamente, 80% destes casos. Como o número de casos foi pequeno, não foi possível avaliar a associação entre a prematuridade e as dislipidemias. Aproximadamente 10% das crianças e adolescentes estudados tiveram baixo peso ao nascer, entretanto, não houve associação significativa para correlações com os valores do perfil lipídico.

Sobre o tempo de amamentação, 44,8% da população pesquisada não foi amamentada pelo tempo mínimo recomendado. Não se observou associação significativa entre o tempo de amamentação e os valores do perfil lipídico.

TABELA I
Médias e desvios-padrão dos valores do perfil lipídico para toda a população pesquisada

Lípides e Lipoproteínas e relações	Médias ± Desvios-padrão (mg/dl)
CT *	164 ± 31
LDL-COL †	100 ± 28
HDL-COL ‡	48 ± 11
TG §	82 ± 44
CT/HDL-COL ¶	3,5 ± 1,0
LDL-COL/HDL-COL ¶¶	2,2 ± 0,9
N-HDL-COL **	116 ± 30

* CT= Colesterol Total

† LDL-COL = Colesterol constituinte da Lipoproteína de Densidade Baixa

‡ HDL-COL = Colesterol constituinte da Lipoproteína de Densidade Alta

§ TG = Triglicérides

¶ CT/HDL-COL = Relação entre o CT e o HDL-COL

¶¶ LDL-COL/HDL-COL = Relação entre o LDL-COL e o HDL-COL

** N-HDL-COL = Fração não-HDL-COL = CT menos o HDL-COL

DISCUSSÃO

De acordo com a I DPAIA, os resultados mais preocupantes foram 40,2% de hipercolesterolemia e 41% de HDL-COL diminuído. Além disso, valores aumentados foram obtidos para LDL-COL (13,6%), TG (12,4%) e fração não-HDL-COL (5,8%). Para as relações LDL-COL/HDL-COL e COL/HDL-COL, respectivamente 40% e 36% apresentaram valores acima dos recomendados. Grande parte dos participantes (86,6%) teve alguma alteração no perfil lipídico. Esses resultados são preocupantes, principalmente em relação ao alto percentual de hipercolesterolemia e baixos valores de HDL-COL encontrado. Outros estudos nacionais também observaram essa tendência (9, 13, 16, 26).

A presença de fatores de risco para a aterosclerose em descendentes de pacientes com DAC tem sido relatada por diversos autores. Bao e colaboradores (4) relataram à presença de fatores, como o sobrepeso e alterações lipídicas, nos descendentes de pacientes com DAC prematura. No Brasil, Gerber e Zielinsky (13) encontraram 38% das crianças estudadas com histórico familiar de DAC e hipercolesterolemia concomitante; Coronelli e Moura (9) também verificaram histórico familiar em 49,4% das crianças estudadas, sendo a hipercolesterolemia mais comum entre essas crianças. Romaldini e colaboradores (26) estudando descendentes de pacientes com DAC prematura, observaram, além de outras alterações lipídicas, concentrações diminuídas de HDL-COL em 13,8% dos casos. No presente estudo foi identificado 32,4% dos participantes com histórico familiar de DAC em parentes de primeiro grau, desses 57,1% tinham histórico familiar de DAC prematura. As crianças e adolescentes descendentes de indivíduos com DAC prematura tiveram valores significativamente menores de HDL-COL do que aqueles com histórico familiar de

DAC não prematura ($p= 0,012$). Na comparação entre os indivíduos, com e sem histórico familiar de DAC, não foram encontradas diferenças estatísticas.

Neste estudo, 12,8% dos participantes avaliados foram considerados desnutridos, 11,6% com sobrepeso e 12,8% como obesos. Coronelli e Moura (9), estudando escolares de 7 a 10 anos, em Campinas (SP), identificaram associação entre colesterolemia e IMC. Segundo alguns autores, aproximadamente 50% das crianças obesas têm outros fatores de risco cardiovascular (12,14). Outro fato preocupante é a prevalência de excesso de peso ser maior quanto menor a idade, mostrando tendência de aumento desses índices no futuro próximo (15). Neste estudo, observou-se diferenças significativas entre aqueles classificados como obesos e os eutróficos para os valores do CT ($p= 0,049$), do TG ($p < 0,001$), da relação CT/HDL-COL ($p= 0,002$) e diferença marginalmente significativa para a fração não-HDL-COL ($p= 0,080$). De modo geral, aqueles classificados como obesos apresentaram maior alteração no perfil lipídico em relação aos eutróficos ($p= 0,005$).

Alguns pesquisadores sugerem papel independente da atividade física na prevenção do desenvolvimento da DAC, enquanto outros têm indicado que ela atua predominantemente por meio de efeitos benéficos sobre os fatores de risco como obesidade, hipertensão e as dislipidemias (10, 27). Segundo alguns autores, a atividade física tem efeito protetor sobre o perfil lipídico por baixar as concentrações das lipoproteínas ricas em TG e da LDL, entretanto, o efeito mais substancial da atividade física nas lipoproteínas é o aumento da HDL (10, 27). No presente estudo, verificou-se que as crianças praticantes de atividades físicas regulares apresentaram valores menores para a relação LDL-COL/HDL-COL comparadas com aquelas que não praticavam atividades físicas ou aquelas que praticavam menos freqüentemente, embora a diferença encontrada seja apenas marginalmente significativa ($p= 0,080$). Esse resultado pode indicar a tendência de aumento do HDL-COL e/ou diminuição do LDL-COL, como resultado do exercício físico regular e maior sensibilidade desta relação na avaliação dos efeitos da atividade física do que do HDL-COL e do LDL-COL isoladamente. Constatou-se, assim, a necessidade de realizar mais estudos para determinar a sensibilidade dessa relação. O mais preocupante, porém, foi a constatação que 83% das crianças e adolescentes pesquisados não praticam nenhum tipo de exercício físico regular, sendo que apenas 9% se exercitam de 1 a 2 vezes na semana e 8%, 3 vezes ou mais. A recomendação atual é de, aproximadamente, 30 minutos de atividade física moderada na maior parte dos dias (150 minutos/semana), mas idealmente a criança deve realizar cerca de 60 minutos diários de atividade física moderada. O sedentarismo em crianças e adolescentes, no Brasil, varia de 42 a 93,5%, dependendo do critério utilizado (15). Outro dado preocupante deste estudo foi que 61,7% dos avaliados passam mais de 2 horas em atividades como assistir televisão, jogar vídeo-game e usar o computador. Segundo a *American Academy of Pediatrics* (2), o tempo de inatividade recreacional deve ser limitado a duas horas diárias. Entretanto, não se encontrou associação significativa entre o tempo gasto nesse tipo de atividade e os valores do perfil lipídico. Embora não existam muitos dados sobre os efeitos da atividade física na infância e não haja consenso sobre como definir e medir os benefícios da atividade física, evidências sugerem que a grande maioria das crianças é insuficientemente ativa.

A glicose de jejum acima de 100 mg/dl foi verificada em 8,2% dos participantes, valor considerado como intolerân-

cia à glicose. Verificaram-se valores significativamente maiores de CT ($p= 0,010$) nesses casos, e todos apresentaram alguma alteração no perfil lipídico. Encontrou-se também associação significativa entre valores desejáveis de glicose de jejum e desejáveis de LDL-COL ($p= 0,021$). O DM está associado com o aumento de risco de DCV. Outros fatores de risco para DCV, como a hipertensão, a obesidade e a dislipidemia, também tendem a ser mais comuns nos pacientes com diabetes (1).

Apenas 1 % dos pré-adolescentes e adolescentes relatou ser fumante. No entanto, sabe-se que a prevalência do tabagismo na fase da adolescência é bem maior variando de 3 a 12 % (15, 26). Como o número de casos relatados foi pequeno, talvez devido à presença dos responsáveis, não foi possível avaliar a associação entre o tabagismo e as dislipidemias.

A prevalência de níveis pressóricos elevados, no presente estudo foi de 28,4%. Dado semelhante ao identificado por Coronelli e Moura (9), em escolares de 7 a 10 anos, utilizando o mesmo critério diagnóstico (27,9%). Giuliano e colaboradores (15) encontrou 12% da amostra estudada com níveis pressóricos elevados. Além da relação existente entre a hipertensão e as DCV, sabe-se ainda que a hipertensão arterial na infância, também é preditora da hipertensão na vida adulta. Como relatado no estudo de Coronelli e Moura (9), não se encontrou associação significativa entre níveis pressóricos elevados e alterações no perfil lipídico. Outro fator importante a ser considerado é que o alto percentual de alteração encontrado pode ser reflexo do estresse relacionado à coleta de sangue.

Neste estudo, 58 dos participantes nasceram prematuros, o baixo peso ao nascer foi comum em, aproximadamente, 80% destes. Como o número de casos foi pequeno, não foi possível avaliar a associação entre a prematuridade e as dislipidemias. Segundo alguns autores, a idade gestacional tem importante efeito sobre a concentração dos lípidos séricos e de apolipoproteínas, pois, com o aumento da maturidade fetal, as concentrações de CT e da apolipoproteína B diminuem (3).

Aproximadamente 10% das crianças e adolescentes estudados tiveram baixo peso ao nascer. Estudos sugerem que existe forte e inversa relação entre o peso ao nascer e subsequentemente os valores de colesterol, porém não há consenso (20). Neste estudo não se encontrou associação entre baixo peso ao nascer e alterações no perfil lipídico.

Sobre o tempo de amamentação, 44,8% da população pesquisada não foi amamentada pelo tempo mínimo recomendado. O guia alimentar para crianças brasileiras menores de dois anos recomenda a amamentação exclusiva por, aproximadamente, 6 meses e a manutenção do aleitamento materno complementado até os 2 anos ou mais (17). Segundo Singhal a nutrição na infância afeta permanentemente o perfil lipoprotéico da criança e o leite materno apresenta efeito protetor sobre esse perfil (28).

Limitações do estudo: sempre que se usam questionários sobre eventos ocorridos no passado há risco do viés de memória, neste estudo isto foi particularmente importante nas questões sobre o tempo de gestação, o peso ao nascer e o tempo de amamentação; houve uma baixa prevalência de tabagismo, impedindo a avaliação do impacto deste no perfil lipídico e as determinações dos lípidos séricos foram feitas apenas uma vez, possibilitando uma margem de erro decorrente da variação intra-individual.

CONCLUSÕES

Recentes publicações disponíveis no meio acadêmico

sobre dislipidemias na infância indicam a progressão silenciosa de uma epidemia. O fenômeno de tracking, já comentado anteriormente, reforça a necessidade de se intervir precocemente com o objetivo de controlar as DCV. A principal premissa da cardiologia pediátrica preventiva foi formulada com base nesses estudos e remete à idéia de que os estilos de vida potencialmente causadores de aterosclerose iniciam-se durante a infância.

Embora muitos autores recomendem mais estudos para identificar fatores de risco para DCV em idades precoces com vistas a medidas preventivas, poucas ações de saúde pública têm visado o controle e a redução dos valores de colesterol sanguíneos em idades pediátricas.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, obtendo o parecer favorável.

AGRADECIMENTOS

À empresa Labtest® que forneceu os conjuntos reagentes para a realização dos exames laboratoriais e ao Ciência Laboratório Médico que disponibilizou espaço e equipamentos necessários para o desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

1. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*. 1998; 15: 539-53.
2. American Academy of Pediatrics Committee on Public Education: Children, adolescents, and television. *Pediatrics*. 2001; 107 (2): 423-26.
3. Baker DJP. Coronary heart disease: a disorder of growth. *Hormone Research*. 2003; 59: S35-41.
4. Bao W, Srinivasan SR, Valdez R, Greenlund KJ, Wattigney WA, Berenson GS. Longitudinal changes in cardiovascular risk from childhood to young adulthood in offspring of parents with coronary artery disease. *The Bogalusa Heart Study. The Journal of the American Medical Association*. 1997; 278: 1749-54.
5. Barros MVG, Nahas MV. Medidas da Atividade Física: Teoria e aplicação em diversos grupos populacionais. Londrina: Midiograf; 2003.
6. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP, Srinivasan SR, Webber LS, Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy: the Bogalusa Heart Study. *American Journal of Cardiology*. 1992; 70 (9): 851-58.
7. Berenson GS. Childhood risk factors predict adult risk associated with sub-clinical cardiovascular disease: the Bogalusa Heart Study. *American Journal of Cardiology*. 2002; 90 (10): 3-7.
8. Center for Disease Control and Prevention. National Center for Health Statistics (USA). 2000 CDC Growth Charts: United States [on-line]. Hyattsville (MA). <http://www.cdc.gov/growthcharts/>. Acesso: 20/02/2008.
9. Coronelli CLS, Moura, EC. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. *Revista de Saúde Pública*. 2003; 37 (1): 24-31.
10. Daniels, S.R. Exercise and Lipid Abnormalities. *Pediatric Cardiology*. 1999; 20: 71-7.
11. Elcarte R, Villa I, Sada J, Gasco M, Oyarzabal M, Sola A. Estudio de Navarra (PECNA). Hiperlipidemias V.? Cuál es la mejor definición de hiperlipidemia en la edad infanto-juvenil? *Anales Españoles de Pediatría*. 1993; 38: 317-22.
12. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 2001; 108 (3): 712-18.
13. Gerber ZRS, Zielinsky P. Fatores de risco de aterosclerose na infância. Um estudo epidemiológico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 1997; 69: 231-36.
14. Gidding SS, Bao W, Srinivasan SR, Berenson GS. Effects of secular trends in obesity on coronary risk factors in children: the Bogalusa Heart Study. *Journal of Pediatrics*. 1995; 127 (6): 868-74.

15. Giuliano ICB, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FH. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2005; 85: S1-36.
16. Giuliano ICB, Coutinho MS, Freitas SF, Pires MM, Zunino JN, Ribeiro RQ. Lipídeos séricos em crianças e adolescentes da rede escolar de Florianópolis, SC – Estudo Floripa Saudável 2040. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2005; 85 (2): 85-91.
17. Guia alimentar para crianças brasileiras menores de dois anos. <http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/documentos/guia.pdf>. Acesso: 12/02/2008.
18. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. Annals of Internal Medicine. 1971; 74 (1): 1-12.
19. Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. The Journal of the American Medical Association. 1996; 275 (20): 1571-6.
20. Krishnaswamy K, Naidu AN, Prasad MPR, Reddy GA.. Fetal malnutrition and adult chronic diseases. Nutrition Reviews. 2002; 60: S35-9.
21. Lauer RM, Lee J, Clarke WR. Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels: the Muscatine Study. Pediatrics. 1988; 82 (3): 309-18.
22. McGill HC, Jr., McMahan CA, Zieske AW, Tracy RE, Malcon GT, Herderick EE, et al. Association of coronary heart disease risk factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. Circulation. 2000; 102 (4): 374-79.
23. National High Blood Pressure Education Program. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents, 2005. <http://www.nhlbi.nih.gov>. Acesso: 9/02/2008.
24. Porkka KV, Viikari JS, Taimela S, Dahl M, Akerblom HK. Tracking and predictiveness of serum lipid and lipoprotein measurements in childhood: 12-year follow-up: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. American Journal of Epidemiology. 1994; 140 (12): 1096-110.
25. Reddy KS. Cardiovascular diseases in the developing countries: dimensions, determinants, dynamics and directions for public health actions. Public Health Nutrition. 2002; 5: 231-7.
26. Romaldini CC, Issler H, Cardoso AL, Diament J, Forti N. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. Jornal de Pediatria. 2004; 80 (2): 135-40.
27. Rowland TW. The role of physical activity and fitness in children in the prevention of adult cardiovascular disease. Progress in Pediatric Cardiology. 2001; 12: 199-203.
28. Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Breastmilk feeding and lipoprotein profile in adolescents born preterm: follow-up of a prospective randomized study. Lancet. 2004; 363: 1571-78.
29. Sociedade Brasileira do Diabetes. <http://www.diabetes.org.br>. Acesso: 20/02/2008.
30. Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Distribution and Correlates of Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol in Children: The Bogalusa Heart Study. Pediatrics. 2002; 110 (3): 29-32.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Dra. Marina Rayche Mattozo Rover
Rua Lauro Linhares, 897, B-506
CEP. 88036-001 Florianópolis - SC

Educação continuada à distância
é com a **SBAC**

Navegue pelo portal **SBAC E-Learning**

www.sbac.org.br/ead



 **SBAC**
eLEARNING

A mais perfeita tradução de proximidade!

Mapeamento da incidência do papilomavírus humano (HPV) por município na rede pública do estado do Paraná, Brasil

Mapping the incidence of human papillomavirus by city council in the public system of the state of Parana, Brazil, in the period 2000 to 2006

Sabrina Gonçalves¹, André Luiz Merisio², Júlio Cezar Merlin³ & Patrícia Haas⁴

RESUMO - O objetivo deste trabalho é: analisar a incidência de HPV por município na rede pública do Estado do Paraná, no período de 2000 a 2006 e comparar com dados de outros Estados brasileiros. Fonte dos dados. Os dados foram obtidos a partir de consultas ao banco de dados do Departamento de Informática do SUS – DATASUS, referente ao período citado, sendo considerados os aspectos de prevalência por faixa etária e números notificados de casos de HPV. Resultados. No ano de 2000 foram notificados 1.519 casos (20,8%) de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV; em 2001, 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006 obteve-se, respectivamente, 293 (4,0%), 1.591 (21,8%), 1.050 (14,4%), 1.014 (13,9%), 1.392 (19,0%) e 447 (6,1%) casos, totalizando 7.306 casos. A faixa etária mais acometida pela infecção foi de 20 a 24 anos, em todos os anos analisados, e a segunda de 15 a 19 anos. Acima de 60 anos foi a faixa etária que apresentou menores índices de positividade. Conclusões: Avaliando-se os resultados da faixa etária, os dados corroboram os propostos pela literatura. Quanto ao número de notificações, pode-se constatar que a eficiência do Programa Viva Mulher implantado no Estado do Paraná, desde o ano de 2000 facilitou a compilação de dados e proporcionou maior confiabilidade dos resultados, representando uma maior abrangência de certificações dos casos.

PALAVRAS-CHAVE - Epidemiologia, incidência, HPV, Estado do Paraná, Brasil.

SUMMARY- Objective. To analyze the incidence of HPV by city council in the public system of the State of Paraná, in the period 2000 to 2006 and compare with data from other Brazilian states. Source of data. Data were obtained from queries to a database of the Information Department SUS - DATASUS, for the period cited, and considered the aspects of prevalence by age and numbers of reported cases of HPV. Results. In 2000 were reported 1,519 cases (20.8%) of cellular alterations suggestive of HPV infection, in 2001, 2002, 2003, 2004, 2005 and 2006 are obtained, respectively, 293 (4.0%), 1,591 (21.8%), 1,050 (14.4%), 1,014 (13.9%), 1,392 (19.0%) and 447 (6.1%) cases, totaling 7,306 cases. The age group most affected by the infection was 20 to 24 years, in all the years analyzed, and the second from 15 to 19 years. Over 60 years was the age group that showed lower rates of positivity. Conclusions. Assessing the results of age, the data corroborate those proposed by the literature. As to the number of notifications, you can see that the efficiency of the program Viva Women deployed in the state of Parana since the year 2000 facilitated the compilation of data and a higher reliability of the results, representing a greater range of certifications of the cases.

KEYWORDS - Epidemiology, incidence, HPV, Paraná State, Brazil.

INTRODUÇÃO

A infecção causada pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) é a mais comum virose de transmissão sexual. A partir dos anos 80 transformou-se em um expressivo problema pela íntima relação com lesões genitais malignas e seus precursores¹⁰. Recentes dados epidemiológicos e biomoleculares da literatura mostram que o DNA do HPV é encontrado em 95 a 100% dos tumores epiteliais cervicais, conferindo maior risco para o desenvolvimento de câncer^{3, 8, 13, 26, 39}. O HPV é um vírus da família *Papillomaviridae*, com diâmetro variando de 44 a 55 nm, de forma icosaédrica não envelopado composto por um capsídeo consistindo de 72 capsômeros, que apresenta o genoma viral fechado covalentemente e organizado em uma fita de DNA dupla circular^{21, 23}. O ciclo biológico do HPV está totalmente ligado ao das células epiteliais hospedeiras, os queratócitos, onde a replicação viral acompanha a diferenciação e a maturação, sendo nas camadas superiores do epitélio em que se encontra maior atividade replicativa e maior quantidade de partículas virais^{9, 21, 40}. O HPV atinge o núcleo das células basais através de micro-lacerações no epitélio, sendo que os primeiros sinais de transcrição do genoma virótico aparecem cerca de 4 semanas após a infecção. O período de incubação varia de 2 semanas a 18

meses e a persistência das lesões pode ser avaliada em semanas, meses ou anos. As alterações podem levar ao surgimento de doença ativa ou ao aparecimento de lesões subclínicas. Nas mulheres com doença latente, 20% podem apresentar uma regressão espontânea e outras 60% necessitam de tratamento simples. Os 20% restantes representam um desafio para um diagnóstico mais aprimorado^{17, 40}.

Apesar da infecção pelo HPV ser agente importante, somente o vírus não é suficiente para induzir transformação maligna. Co-fatores individuais parecem ser determinantes na expressão do caráter latente, replicante ou transformante desse vírus. Os co-fatores de risco para câncer cervical são, na grande maioria, relacionados à atividade sexual. Estes fatores epidemiológicos são conhecidos e incluem a idade precoce à primeira relação sexual, história de múltiplos parceiros sexuais, fatores imunológicos, multiparidade, gravidez, fumo, história ou parceiro com doença sexualmente transmissível (DST), contraceptivos orais e deficiências nutricionais³¹.

Nos últimos anos observou-se uma verdadeira epidemia com a descoberta das lesões subclínicas pelo HPV e sua associação com a chamada "revolução sexual" do final do século XX. As infecções vêm aumentando significativamente no mundo ocidental, sendo a infecção condilomato-sa do colo do útero, atualmente, a causa mais freqüente de

Recebido em 27/03/2008

Aprovado em 11/05/2010

¹Mestre em Farmácia pela UFSC

²Bioquímico – Francisco Beltrão/PR

³Professor da Disciplina de Citologia Clínica da PUCPR

⁴Professora do Departamento de Análises Clínicas (UFSC)

alterações citológicas encontradas no exame preventivo. Estima-se que lesões por HPV representem 50% das atipias cervicais triadas nos esfregaços sistemáticos¹⁰. No Brasil, os dados estatísticos são escassos e não traduzem com certeza a verdadeira magnitude da infecção induzida pelo HPV; todavia, ratificam a tendência mundial do avanço da virose¹⁰. O Ministério da Saúde estima que aproximadamente 25% da população sexualmente ativa do Brasil esteja contaminada pelo HPV; entretanto, algumas pesquisas estrangeiras sinalizam que este número pode chegar a 50% entre adolescentes e jovens adultos¹⁴. O objetivo principal desse trabalho foi analisar a incidência de HPV por município, na rede pública do Estado do Paraná, no período de 2000 à 2006 e comparar com dados de outros Estados brasileiros.

FONTE DOS DADOS

Tamanho da amostra: foram avaliados 2.520.018 resultados de laudos de exame do preventivo citológico para câncer de colo de útero de mulheres com idade compreendida de 11 anos a acima de 64 anos de idade, as quais foram atendidas na rede pública do Estado do Paraná, Brasil, por meio das informações do DATASUS.

Procedimento: os dados analisados, referentes ao período de 2000 à 2006, serão obtidos a partir de consultas ao banco de dados do Departamento de Informática do SUS – DATASUS.

Aspectos Éticos: os dados obtidos para a presente pesquisa estão disponíveis à população no banco de dados do Departamento de Informática do SUS – DATASUS.

RESULTADOS

Conforme dados do Departamento de Informática do SUS – DATASUS, no período entre 2000 à 2006 foram notificados 7.306 casos de infecção por HPV no Estado do Paraná, Brasil. A figura 1 mostra o número de casos confirmados de HPV no Estado do Paraná, segundo o ano de notificação. A figura 2 refere-se à distribuição dos casos de HPV por faixa etária no Paraná para o período entre 2000 à 2006.

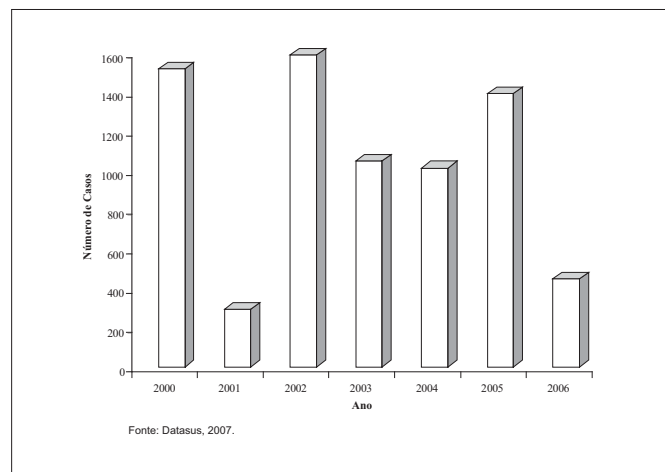


Figura 1. Número de casos de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV no período de 2000 a 2006 no Estado do Paraná, Brasil.

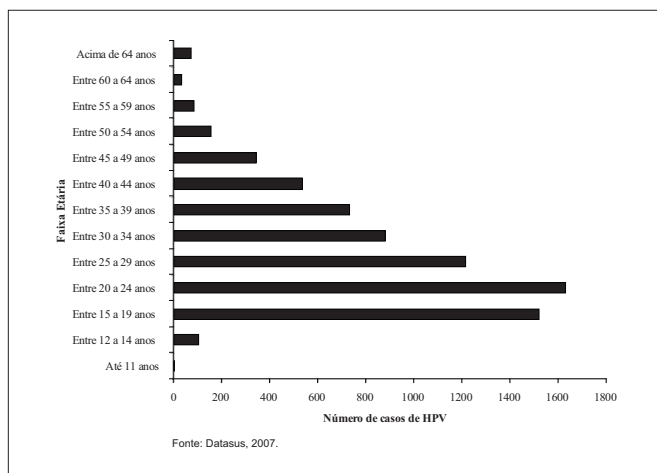


Figura 2. Faixa etária de mulheres mais acometidas pelo HPV no período de 2000 a 2006 no Estado do Paraná, Brasil.

DISCUSSÃO

A prevalência da infecção por HPV está relacionada com a incidência do câncer cervical, principalmente em países que não sofreram grande influência de programas de prevenção para este câncer. Altas taxas de incidência de câncer cervical podem ser observadas ou podem ser previstas para populações com altas prevalências da infecção por HPV^{4, 6, 19, 34}. Apesar de o câncer cervical ser um importante problema de saúde no Brasil, em revisão da literatura encontram-se poucos estudos sobre a prevalência da infecção por HPV em exames citopatológicos, sendo a técnica de biologia molecular a mais indicada na identificação do vírus nas amostras cervicais.

Num estudo realizado com base na análise colpocitológica de 3.715 pacientes submetidas a exame de rastreamento, o Papanicolaou, registrou a ocorrência de 4,6% de Papilomavírus humano²⁵.

No presente estudo, observou-se que no ano de 2000, foram notificados 1.519 casos (20,8%) de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV; em 2001, 2002, 2003, 2004, 2005 e 2006 obtiveram-se, respectivamente, 293 (4%), 1.591 (21,8%), 1.050 (14,4%), 1.014 (13,9%), 1.392 (19%) e 447 (6,1%) casos, totalizando 7.306 casos. A faixa etária mais acometida pela infecção foi de 20 a 24 anos, em todos os anos analisados e a segunda de 15 a 19 anos. Acima de 60 anos, foi a faixa etária que apresentou menores índices de positividade.

No período de 2002 a 2004, foram notificados 18.017 casos de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV, na Região Sul do Brasil, sendo 10.503 (58,29%), 3.859 (21,42%) e 3.655 (20,29%) casos referentes aos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, respectivamente. A faixa etária mais acometida por esta infecção foi de 20 a 24 anos (21,55%, 3.883/18.017) em todo o período analisado e em toda a Região Sul, corroborando os dados propostos pela literatura^{1, 15, 36}.

Estudo realizado no Rio de Janeiro, baseado na pesquisa do DNA-HPV em espécimes de 514 biópsias de pacientes com neoplasias intra-epiteliais cervicais, encontrou 73,9% de positividade⁷. Outro estudo realizado em cinco cidades brasileiras (Fortaleza, Porto Alegre, Campinas, Curitiba e São Paulo) mostrou que entre as mulheres jovens e sexualmente ativas foi encontrado uma elevada prevalência da infecção por HPV, com 38,5% delas apresentando infecção por

algum tipo de HPV¹². Estes resultados são compatíveis com estudos conduzidos em diferentes populações, os quais têm identificado maior prevalência da infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos de idade^{11, 12, 16, 20, 22, 24, 29, 34, 37}. Estudou-se, também, a prevalência do Papilomavírus humano em 228 mulheres portadoras de lesões intra-epiteliais cervicais, atendidas no Instituto Ofir Loiola, em Belém, estado do Pará, Brasil, no período de março de 1992 a maio de 1996. As mulheres foram submetidas à biópsia de colo uterino, sendo o material encaminhado para histopatologia e pesquisa de HPV por reação de cadeia de polimerase e hibridização. Distribuíram-se as participantes em três grupos, conforme diagnóstico histopatológico: o grupo A constituiu-se de 155 mulheres com carcinoma epidermóide invasor ou com adenocarcinoma, o grupo B de 54 portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical grau II ou III, e o grupo C de 19 mulheres com cervicite crônica. Observaram-se prevalências de HPV em 70,3%, 63% e 36,8% das mulheres dos grupos A, B e C, respectivamente^{27, 28}. Historicamente, a prevenção do câncer de colo do útero tem-se baseado no exame de Papanicolaou, desenvolvido na década de 30 pelo Dr. George Papanicolaou, e que permite detectar, em células esfoliadas do colo de útero e fixadas em lâmina de vidro, alterações sugestivas de câncer ou de suas lesões precursoras³⁰. Países que implementaram programas eficientes de prevenção para o câncer cervical baseados nesse exame conseguiram reduzir acentuadamente a incidência e mortalidade associadas à doença^{30, 33, 35}. Apesar da importância do exame de Papanicolaou para a prevenção do câncer cervical, o mesmo apresenta limitações relacionadas, principalmente, à sua baixa sensibilidade³¹. Aproximadamente 60% dos casos de condiloma apresentam colócitos óbvios nos esfregaços. Cerca de um terço das infecções por HPV podem passar despercebidas citologicamente se o diagnóstico for baseado apenas no encontro de alterações colicitóticas³⁹. Por isso, o Brasil, bem como os países integrantes do Mercosul, não apresentam dados estatísticos fidedignos de prevalência de infecção pelo papilomavírus humano na população sexualmente ativa de seus diversos Estados e Regiões. Os dados acerca da ocorrência do HPV, bem como de seus genótipos, terminam por serem obtidos na análise de pacientes portadoras de neoplasias intra-epiteliais cervicais e carcinoma invasivo do colo uterino³². No Brasil, não há condutas clínicas padronizadas para rastreamento de câncer cérvico-uterino com testes para o HPV, visto que estes não estão ainda incorporados às tabelas de reembolso do sistema público de saúde⁵. Em outros países, os métodos moleculares para HPV não são usualmente utilizados como único teste de rastreamento, dado que ainda não existem evidências suficientes para suportar este uso^{18, 33}. Embora os testes de biologia molecular para HPV venham sendo considerados como uma forma de se aumentar a detecção do câncer de colo uterino bem como um elemento para justificar a ampliação de intervalos de rastreamento, apenas estratégias que combinam citologia com os testes específicos para HPV têm condutas mais discutidas, embora ainda sem consenso³³. Neste contexto, o Programa de Prevenção do Câncer do Colo Uterino do Paraná, visando um controle efetivo de qualidade dos diagnósticos citológicos tem-se firmado como modelo em nível nacional³⁸. Dados obtidos, através da análise de 2.244.158 exames citológicos realizados no Estado do Paraná entre 1997 e 2002, mostraram incidência de lesões precursoras do câncer de colo em 2% dos casos, que corresponderam a 44.621 casos merecedores de estudo colposcópico para complementação diagnóstica e,

quando necessário, para o tratamento adequado². Diante do que foi exposto, o presente estudo pode contribuir para um maior conhecimento sobre a epidemiologia da infecção por HPV entre as mulheres brasileiras e pode auxiliar no planejamento de estratégias para a prevenção primária do câncer cervical. Além disso, o maior conhecimento, por parte da mulher, sobre as formas de aquisição, fatores de risco e frequência da infecção por HPV em grupos populacionais semelhantes pode, provavelmente, contribuir para que ela tenha uma maior percepção em relação ao seu risco de desenvolver lesões precursoras e, conseqüentemente, influenciar a sua adesão às atividades de prevenção do câncer cervical e/ou estimular modificações de comportamentos que estão associados a um maior risco de aquisição da infecção¹². Quanto ao número de notificações de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV, pode-se constatar que a eficiência do Programa Viva Mulher implantado no Estado do Paraná, desde o ano de 2000, facilitou a compilação de dados e proporcionou maior confiabilidade dos resultados, representando uma maior abrangência de certificações dos casos.

REFERÊNCIAS

1. BASEMAN, J.G.; KOUTSKY, L.A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virology* 2005; 32: 16-24.
2. BLEGGI TORRES, L.F.; WERNER, B.; TOTSUGUI, J.; COLLAÇO, L.M.; ARAÚJO, S.R.; HUÇULAK, M.; BOZA, E.J.; FISCHER, R.M.; DE LAAT, L.; SOBBANIA, L.C.; RAGGIO, A. Cervical cancer screening program of Paraná: cost-effective model in a developing country. *Diagn. Cytopathol* 2003; 29(1): 49 – 54.
3. BOSCH, F.X.; LORINCZ, A.; MUÑOZ, N.; MEIJER, C.J.; SHAH, K.V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(4): 244-265.
4. BOSCH, F.X.; DE SANJOSE, S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31:3-13.
5. CAETANO, R. Custo-efetividade no rastreamento do câncer cérvico-uterino no Brasil: Um Estudo Exploratório. Relatório de Estudos do INCA. Rio de Janeiro 2005.
6. CARVALHO, J.J.M.; OYAKAWA, N. I Consenso Brasileiro de HPV. 1 ed. São Paulo. BG Cultural, 2000.
7. CAVALCANTI, S.M.; ZARDO, L.G.; PASSOS, M.R.; OLIVEIRA, L.H. Epidemiological aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infection* 2000; 40: 80-87.
8. COLLACO, L.M.; PINTO, A.P. Aspectos citológicos na coloração de papanicolaou da associação de HPV com displasias e carcinoma de colo uterino. *Jornal Brasileiro de Ginecologia* 1994;104(11/12): 419-421.
9. CRUM, P.C.; NUOVO, G.J. Genital papillomaviruses and related neoplasms. New York. Raven Press 1991.
10. DA SILVA, E.D.C.; SMANIOTO, R.; CAMPOS, S.F.; HAAS P. Papiloma Vírus Humano. *RBAC* 2004 ; 36(3): 137-142.
11. DE SANJOSE, S.; ALMIRALL, R.; LLOVERAS, B.; FONT, R.; DIAZ, M.; MUÑOZ, N.; CATALÀ, I.; MEIJER, C.J.; SNIJDERS, P.J.; HERRERO, R.; BOSCH, F.X. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis* 2003; 30(10): 788-793.
12. DE SOUZA, E.P. - Epidemiologia da Infecção Genital por HPV e Anormalidades na Citologia Cervical em Mulheres Jovens Brasileiras. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2004.
13. DORES, G.B.; RIBALTA, J.C.C.; MARTINS, N.V.; FECCHI, J.; NOVO, N.F.; JULIANO, J.; STAVALE, J.N.; LIMA, G.R. Diagnóstico da infecção cervicovaginal por papilomavírus humanos. Valor da colposcopia, citologia e da histologia como métodos diagnósticos. *Paul Medical* 1999; 109(3):102-108.
14. FIOCRUZ. Controle da infecção por HPV pode prevenir cancer de colo de útero [site da Internet]. Disponível em: http://www.fiocruz.br/ccs/novidades/dez03/hpv_raqp.htm. Acessado em 20 de março de 2005.
15. HASTREITER, A.A.; CHÁVES, J.H.; GONÇALVES, S.; SPADA, C.; HAAS, P.

- Avaliação da prevalência dos casos de HPV e Neoplasias Intra-Epiteliais Cervicais notificados nos Estados da Região Sul. In.: Anais do I Congresso Sul-Sudeste de Análises Clínicas. Campos do Jordão, 2005.
16. HERRERO, R.; HILDESHEIM, A.; BRATTI, C.; SHERMAN, M.E.; HUTCHINSON, M.; MORALES, J.; BALMACEDA, I.; GREENBERG, M.D.; ALFARO, M.; BURK, R.D.; WACHOLDER, S.; PLUMMER, M.; SCHIFFMAN, M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92(6): 464-474.
17. HOWLEY, P. Role of the human papillomaviruses in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 5019-5022.
18. IARC - Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. 64 ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2002.
19. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Biennial report 2000-2001. Lyon: IARC 2001: 163.
20. LAZCANO-PONCE, E.; HERRERO, R.; MUÑOZ, N.; CRUZ, A.; SHAH, K.V.; ALONSO, P.; HERNÁNDEZ, P.; SALMERÓN, J.; HERNÁNDEZ, M. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001; 91(3): 412-420.
21. LEVI, J.E. HPV: Por que e quando diagnosticar. *NewsLab* 1996; 14: 66-72.
22. MATOS, E.; LORIA, D.; AMESTOY, G.M.; HERRERA, L.; PRINCE, M.A.; MORENO, J.; KRUNFLY, C.; VAN DEN BRULE, A.J.; MEIJER, C.J.; MUÑOZ, N.; HERRERO, R. Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study. *Sex Transm Dis* 2003; 30(8): 593-599.
23. MEISELS, A.; MORIN, C. Human papillomavirus-induced changes and the human papillomaviruses and câncer of the uterine cervix. In.: *Cytopathology of the uterus*. 2 ed. ASCP 1997.
24. MOLANO, M.; POSSO, H.; WEIDERPASS, E.; VAN DEN BRULE, A.J.; RONDEROS, M.; FRANCESCHI, S.; MEIJER, C.J.; ARSLAN, A.; MUNOZ, N. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer* 2002; 87(3): 324-333.
25. MOTTA, E.V.; FONSECA, A.M.; BAGNOLI, V.R.; OKUMURA, H.; RAMOS, L.O.; OKADA, M.M.K. Colpocitologia em ambulatório de ginecologia preventiva. *Rev Ginec Obstet* 1996; 7(4): 213-219.
26. MUÑOZ, N.; BOSCH, F.X.; DE SANJOSÉ, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUÉ, X.; SHAH, K.V.; SNIJDERS, P.J.; MEIJER, C.J. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6):518-527.
27. NORONHA, V.; MELLO, W.; BRITO, A. Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1999; 32(3): 15-19.
28. PEDROSA, M.L. Perfil Epidemiológico de Mulheres Portadoras de Atipias Escamosas de Significado Indeterminado Atendidas pelo Programa de Controle do Câncer de Colo Uterino no Município do Rio De Janeiro. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003.
29. PHAM, T.H.; NGUYEN, T.H.; HERRERO, R.; VACCARELLA, S.; SMITH, J.S.; NGUYEN THUY, T.T.; NGUYEN, H.N.; NGUYEN, B.D.; ASHLEY, R.; SNIJDERS, P.J.; MEIJER, C.J.; MUÑOZ, N.; PARKIN, D.M.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. *Int J Cancer* 2003; 104(2): 213-220.
30. Program for Appropriate Technology in Health. Planning appropriate cervical cancer prevention programs. 2nd Edition. Seattle: PATH 2000: 89.
31. RABELO, S. HPV: uma estatística preocupante. *Jornal da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas* 2002; 12: 2.
32. ROSENBLATT, C. HPV na Prática Clínica [site da Internet]. Disponível em: <http://www.hpvinfos.com.br/hpv-19.htm>. Acessado em 02 de novembro de 2007.
33. SASLOW, D.; RUNOWICZ, C.D.; SOLOMON, D.; MOSCICKI, A.B.; SMITH, R.A.; EYRE, H.J.; COHEN, C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin* 2002; 52(6): 342-62.
34. SHIN, H.R.; LEE, D.H.; HERRERO, R.; SMITH, J.S.; VACCARELLA, S.; HONG, S.H.; JUNG, K.Y.; KIM, H.H.; PARK, U.D.; CHA, H.S.; PARK, S.; TOUZÉ, A.; MUÑOZ, N.; SNIJDERS, P.J.; MEIJER, C.J.; COURSAGET, P.; FRANCESCHI, S. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. *Int J Cancer* 2003 ; 103(3): 413-421.
35. SIGURDSSON, K. Cervical cancer, Pap smear and HPV testing: an update of the role of organized Pap smear screening and HPV testing. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78(6): 467-477.
36. SILVEIRA, M.D.P.; HASTREITER, A.A.; SPADA, C.; JANSSEN JR, G.; GONÇALVES, S.; HAAS, P. Panorama dos resultados de casos de HPV notificados na rede pública do Estado de Santa Catarina. In.: Anais do XXXI Congresso Brasileiro de Análises Clínicas e IV Congresso Brasileiro de Citologia Clínica. Salvador, 2004.
37. SUKVIRACH, S.; SMITH, J.S.; TUNSAKUL, S.; MUÑOZ, N.; KESARARAT, V.; OPASATIAN, O.; CHICHAREON, S.; KAENPLOY, V.; ASHLEY, R.; MEIJER, C.J.; SNIJDERS, P.J.; COURSAGET, P.; FRANCESCHI, S.; HERRERO, R. Population-based human papillomavirus prevalence in Lampang and Songkla, Thailand. *J Infect Dis* 2003; 187(8):1246-56.
38. TIZZOT, E.L.A. O Papiloma Vírus Humano como Fator Preditivo da Recorrência das Alterações Citológicas do Colo Uterino após a Cirurgia de Alta Frequência. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
39. WALBOOMERS, J.M.; PETO, J.; MEIJER, C.J.; MUÑOZ, N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189(1):1-3.
40. YAMAMOTO, C.T.; BUDEL, V.M.; GASPARIN, J.R.P.; ARAUJO, C.P.G.; SCHUH, C.G.; SALLES, JR.G.; INÁCIO, C.M.; CORRÊA NETO, M.A.; MINIOLI, P.S.; SATO, H.K.; ARAÚJO, U. Citofotometria do DNA de células do colo do útero infectadas e não infectadas pelo Papiloma Vírus Humano. *Rev Med Parana* 2002; 60(1):1- 62.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Patricia Hass
Rua Fernando Ferreira de Mello, 172/ 501-B
CEP. 88085-260 Florianópolis - SC

CPG - SBAC

Centro de Pós-Graduação da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

www.sbac.org.br cursos@sbac.org.br
(21)2187-0800

Inscrições
Abertas

Prevalência de anticoagulante lúpico em pacientes encaminhados ao centro de hemoterapia do estado do Ceará (HEMOCE) pelo Hospital Universitário Walter Cantídio*

Prevalence of lupus anticoagulant in patients routed to the blood of Ceará (HEMOCE) by the University Hospital Walter Cantídio

Romélia Pinheiro Gonçalves¹; Maria Cristina Andrade de Araújo²; Marcos Antônio Martins da Silva³; Marcos Paulo Barbosa Jucá³ & Rosângela Albuquerque Ribeiro⁴

RESUMO - O Anticoagulante Lúpico (AL) é um importante achado laboratorial para o diagnóstico da síndrome dos anticorpos antifosfolípedes, e para melhor entendimento de suas manifestações clínicas. Este trabalho teve como objetivo verificar a prevalência de AL em pacientes encaminhados ao Hemocentro do Ceará (HEMOCE) pelo Hospital Universitário Walter Cantídio, bem como buscar uma correlação com o quadro clínico pré-existente. Os dados foram obtidos nas fichas laboratoriais. Foram analisadas 197 amostras. A metodologia utilizada foi à pesquisa de AL através do teste do veneno de Víbora de Russel (TDVVR), tempo de protrombina (TAP) e o Tempo parcial de tromboplastina ativado (TTPa), usando equipamento automatizado (Behring Coagulation Timer, Dade Behring), com metodologia coagulométrica. A análise das amostras mostrou ocorrência do AL em 30% dos pacientes, sendo que destes, 18% são homens e 82% mulheres. As doenças pré-existentes associadas mais frequentes em pacientes com AL positivos foram: plaquetopenia- 23%, trombofilia- 16%, trombose venosa - 14%, AVC isquêmico- 14% e aborto- 5%. O TAP alongado ocorreu em 17% dos pacientes com AL e o TTPa ficou alongado em 27% dos casos. O estudo identificou a prevalência de AL na população atendida e mostrou a relação entre os achados laboratoriais com os sinais e sintomas dos pacientes.

PALAVRAS-CHAVE - Anticoagulante lúpico, Síndrome antifosfolípide e Prevalência

SUMMARY- The lupus anticoagulant (LA) is an important finding laboratory for the diagnosis of the syndrome antifosfolípedes antibodies, and for better understanding of its clinical manifestations. This work was to objective to verify the prevalence of LA in patients routed the Blood of Ceará (HEMOCE) by Walter Cantídio University Hospital, and get a correlation with the clinical picture. The data were obtained in laboratory chips. Were 197 samples analyzed. The methodology was to LA search for the poison through the test of the Viper Russell (TDVVR), prothrombin time (TAP) and Time activated partial thromboplastin (TTPa), using automated equipment (Behring Coagulation Timer, Dade Behring), with methodology coagulometric. The analysis of samples showed occurrence of the AL in 30% of patients, and that these, 18% are men and 82% women. The previous diseases associated with more frequent in LA positive patients were thrombocytopenia-23%; thrombophilia-16%, venous thrombosis - 14%, ischemic stroke - 14% and abortion-5%. The TAP elongated occurred in 17% of patients with LA and TTPa was lengthened by 27% of cases. The study identified the prevalence of the LA population served and showed the relationship between the findings laboratory with the signs and symptoms of the patients.

KEYWORDS - Lupus anticoagulant, Antiphospholipid syndrome and prevalence

INTRODUÇÃO

A síndrome antifosfolípide (SAF) é desordem sistêmica, auto-imune, caracterizada por: trombose arterial e/ou venosa, morte fetal e abortos espontâneos recorrentes, e trombocitopenia acompanhada de títulos elevados de anticorpos antifosfolípedes (AAF): anticoagulante lúpico e/ou anticardiolipina¹⁴.

Anticorpos antifosfolípedes formam uma família de auto-anticorpos que exibem extensa gama de alvos específicos, todos reconhecendo várias combinações de fosfolípedes, proteínas plasmáticas ligadas a fosfolípedes ou ambos¹¹. Podem ser do tipo IgG, e /ou IgM, ou, menos frequentemente, IgA⁸.

Embora os anticorpos não tenham sido conclusivamente evidenciados como a causa das trombozes e abortos, eles são úteis marcadores laboratoriais na SAF¹⁰.

Anticorpos anticoagulante lúpico são direcionados contra proteínas ligadas a fosfolípedes, como a β 2-glicoproteína I ou a protrombina, e são detectados por testes que mensuram a coagulação dependente de fosfolípedes¹. Devido a sua natureza heterogênea, faz-se necessária à realização de mais de um ensaio para correto diagnóstico¹¹.

Em geral anticorpos anticoagulante lúpico são mais espe-

cíficos para SAF, entretanto anticorpos anticardiolipina são mais sensíveis. A especificidade do anticorpo anticardiolipina para SAF aumenta com a elevação dos títulos e é maior para IgG do que para o isótipo IgM¹¹. Em estudos que associaram a presença de anticorpos antifosfolípedes ao risco de trombose concluiu-se que o anticoagulante lúpico é um claro fator de risco para trombose, independente de seu tipo ou do local que afete, da presença de LES ou dos métodos usados para detectá-lo⁸.

Os AAFs podem ser encontrados em homens (40 a 54%), mulheres (46 a 60%) e crianças, sendo maior o risco de trombozes em adultos, provavelmente pela presença de outros fatores de risco, podendo ocorrer em neonatos, por transmissão transplacentária, persistindo até seis meses de vida¹⁷.

A prevalência do Anticorpo Lúpico (AL) em pacientes que apresentam três ou mais perdas gestacionais fica entre 5 e 10%, já a prevalência do Anticorpo anticardiolipina (ACA) fica na faixa de 12 a 15%. A morte fetal tem sido responsável pela perda gestacional, podendo chegar a até 75% dos casos¹⁸.

A presença de anticorpos anticardiolipina ou anticoagulante lúpico em pacientes com trombose arterial ou venosa, aborto de repetição ou trombocitopenia estabelece o diagnóstico da síndrome dos anticorpos antifosfolípedes (SAF)⁶.

Recebido em 12/11/2008

Aprovado em 24/06/2010

¹Autora responsável. Professora Associada 1 do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.

²Mestranda do Curso de Ciências Farmacêuticas em área de Farmácia Clínica.

³Farmacêutico Bioquímico

⁴Médica especializada em Hemostasia do Hemocentro do Estado do Ceará-HEMOCE.

O diagnóstico laboratorial se faz pela presença do ACA e/ou AL, tendo o cuidado, na correlação clínica, de excluir todas as condições associadas, drogas, falsas reações positivas e as possibilidades de que possam aparecer em 3 a 8% dos indivíduos, aparentemente saudáveis, especialmente em idosos^{16,3}. A presença do AL e do ACA é valorizada quando existe sintomatologia clínica, considerando-se maior ou menor o risco de tromboembolias, conforme os títulos de IgG, IgM (ELISA) para ACA^{15,5}.

A SAF representa condição clínica de muito interesse em medicina interna e suas diferentes especialidades, sendo importante a sua detecção na população gestante, uma vez que a mesma pode induzir aborto. A investigação da síndrome na população gestante com Doença Hipertensiva Específica da Gravidez (DHEG) é oportuna uma vez que sua presença aumenta o risco de tromboembolias nesse grupo^{15,5}. O objetivo do estudo foi verificar a prevalência do anticorpo anticoagulante lúpico em pacientes com distúrbios de coagulação encaminhados ao HEMOCE pelo Hospital Universitário Walter Cantídio, no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2007.

MATERIAIS E MÉTODOS

A população em estudo constituiu-se de pacientes com distúrbios de coagulação atendidos ambulatorialmente no Hospital Universitário Walter Cantídio e encaminhados ao Laboratório de Hemostasia do Hemocentro do Estado do Ceará (HEMOCE). Foram selecionados 197 pacientes de ambos os sexos, no período de 01 de janeiro a 31 de dezembro de 2007, que apresentavam em seus exames laboratoriais pesquisa de Anticoagulante Lúpico, TAP e TTPa. As amostras clínicas foram colhidas com citrato de sódio, e submetidas a duas centrifugações de 20 minutos a 3.500 rpm, para obtenção de um plasma pobre em plaquetas. Após centrifugação, os testes foram realizados em equipamento automatizado (Behring Coagulation Timer, Dade Behring), com metodologia coagulométrica. Os resultados laboratoriais e os dados clínicos pré-existentes nas fichas cadastrais dos pacientes foram coletados e analisados através do Microsoft Excel XP® 2003. O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa clínica da Universidade Federal do Ceará (COMEPE) sob o número 167/08.

RESULTADOS

Dos pacientes incluídos no estudo, 30 (15%) tiveram presença de anticoagulante lúpico (AL) no exame de TDVVR, enquanto 167 (85%) apresentavam ausência de AL (figura 1).

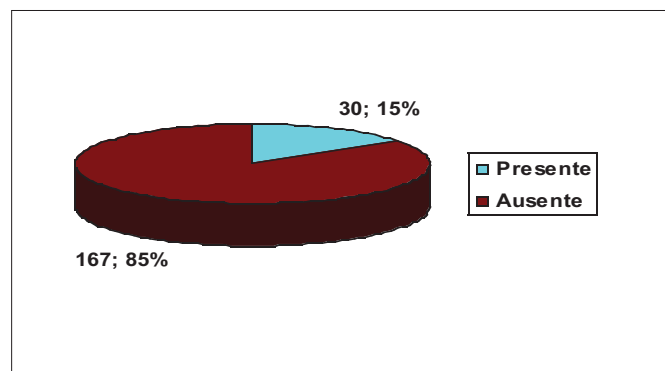


Figura 1. Número de casos de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV no período de 2000 a 2006 no Estado do Paraná, Brasil.

A tabela I mostra a relação entre a prevalência de AL com o sexo. Dos 30 pacientes com presença de AL no de TDVVR, 23 (77%) eram mulheres e 07 (23%) eram homens.

TABELA I
Correlação entre a presença de AL e o sexo

	Presença de AL	Ausência de AL	Total
Feminino	23	139	162
Masculino	07	28	35
Total	30	167	197

A figura 2 apresenta a prevalência de AL em relação ao quadro clínico pré-existente apresentado pelos pacientes. Para aqueles que apresentavam SAF, a prevalência era de 30% de AL; a plaquetopenia obteve 23%; a PTI e Trombofilia, 16%; TVP e AVC isquêmico, 14%; LES, 13% e aborto, 5%.

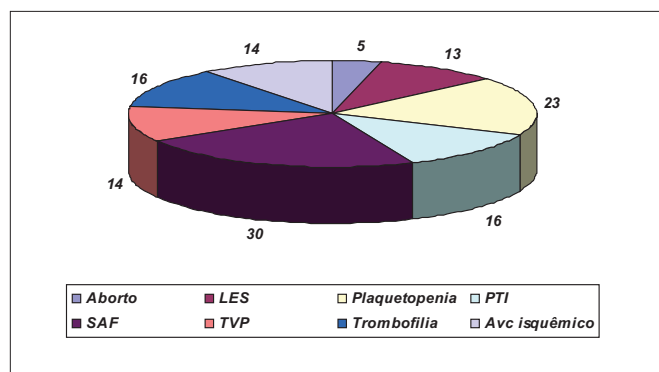


Figura 2. Prevalência de AL quanto ao quadro clínico pré-existente.

Dos 30 pacientes que apresentaram AL positivo, 5 (17%) obtiveram o resultado de TAP elevado e 25 (83%) resultado normal. Dados apresentados na figura 3.

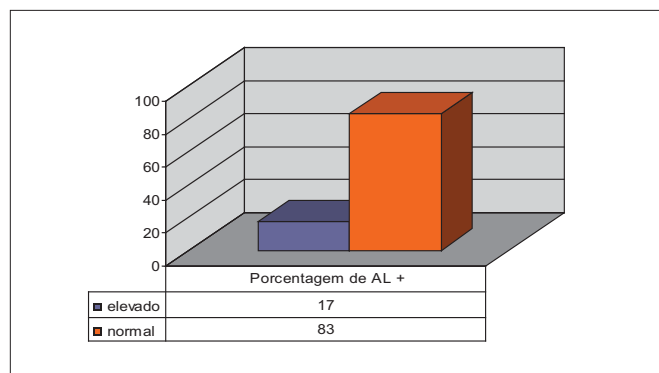


Figura 3: Relação do teste laboratorial TAP com o AL +

Figura 3: Relação do teste laboratorial TAP com o AL +
Relacionando o teste laboratorial TTPa com os pacientes que apresentaram anticoagulante lúpico positivo, 8 (27%) obtiveram o resultado de TTPa elevado e 22 (73%) resultado normal. Dados apresentados na figura 4.

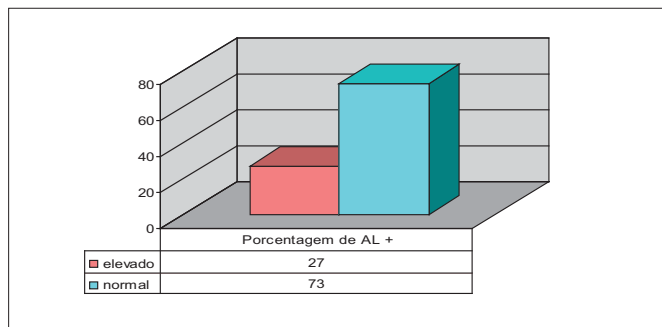


Figura 4. Relação do teste laboratorial TTPa com o AL +

DISCUSSÃO

Normalmente, o anticoagulante lúpico (AL) é detectado com testes de coagulação sensíveis aos fosfolípidos, como: Tempo Parcial de Tromboplastina Ativada (TTPa), o Tempo de Kaolin e o tempo de diluição do veneno de víbora de Russell, sendo este último o mais específico⁶.

Quando um inibidor da coagulação encontra-se em circulação, normalmente ocorre um alongamento do tempo de coagulação, que não é possível compensar através da mistura do plasma do paciente com plasma normal. A correção deste tempo prolongado de coagulação por meio de adição de fosfolípidos ao plasma é uma característica específica do AL⁷. Foram desenvolvidos vários testes que têm por base a correção dos fosfolípidos. O teste utilizado para detecção de AL, neste trabalho, utiliza o veneno de víbora Russell (TDVVR), reagente 1, e correção por adição de fosfolípidos, reagente 2.

Zanatta *et al.*, (2005), realizaram uma triagem laboratorial para a pesquisa do anticorpo anticoagulante lúpico em pacientes com trombofilia a esclarecer, atendidos no Hospital Universitário de Santa Catarina e verificaram resultados com predominância no sexo feminino e uma prevalência de 7,56% de AL nos pacientes selecionados. Dos pacientes incluídos no nosso estudo, 30 (15%) tiveram presença de anticoagulante lúpico (AL) no exame de TDVVR (figura 1). A prevalência de AL de 15% pode prematuramente ser considerada elevada, todavia deve-se observar que esse estudo não foi realizado em uma população normal, onde o AL prevalece em 1% dos pacientes⁹ e sim em uma fatia desta que se encontrava sob suspeita clínica quanto à presença do AL, e devido a essa suspeita foi encaminhada ao HEMOCE para análise e os resultados são semelhantes aos encontrados por outros pesquisadores.

Dos 30 pacientes com presença de AL no de TDVVR, 23 (77%) eram mulheres e 07 (23%) eram homens (tabela 1). O estudo feito por Zanatta *et al.*, (2005), encontrou prevalência de 66,67% dos pacientes estudados sendo mulheres. A correlação entre a prevalência do anticoagulante lúpico com os dados clínicos pré-existentes está mostrada na figura 2. Para a SAF, a prevalência era de 30 % de AL; para plaquetopenia, era 23%; PTI e Trombofilia, 16% cada um deles; TVP e AVC isquêmico, 14% ambos os dados; LES, 13% e aborto, 5 %.

Os principais achados clínicos nos prontuários dos pacientes refletem o que outras publicações descrevem e são condizentes com a Síndrome do Anticorpo Antifosfolípido. Os pacientes com AL positivo apresentam em sua maioria trombose venosa, plaquetopenia e problemas reumatológicos. Diógenes (1999), em seu artigo de revisão sobre a síndrome dos anticorpos antifosfolípidos: anticoagulante

lúpico e/ou anticorpo anticardiolipina, verificou que a trombose venosa obtinha uma prevalência de anticorpos antifosfolípidos em 42% dos casos de AL e variando entre 21 a 65% nos pacientes com LES.

COSTA & MOURA *et al.*, (1993) descreveram uma prevalência de AL entre pacientes com três ou mais perdas gestacionais recorrentes variando entre 5 a 10%; resultado este inferior ao verificado na literatura que é de 18%⁴.

A trombose arterial envolve o cérebro em mais de 50% dos casos, causando acidentes isquêmicos transitórios (AIT) e acidentes vasculares cerebrais (AVC); aproximadamente 90% dos pacientes abaixo de 50 anos com AIT apresentam anticorpos antifosfolípidos positivos¹⁴.

A plaquetopenia é a manifestação hematológica mais comum nos pacientes com SAF, estando presente em 25% dos pacientes¹³.

Dos 30 pacientes que apresentaram AL positivo, 25 (83%) obtiveram o resultado de TAP normal (figura 3). Já o resultado de TTPa mostrou um alongamento do tempo em 27% dos paciente (figura 4). Os testes de TAP e TTPa são testes de triagem para a pesquisa de AL, quando estes encontram-se alterados (alongados) podem predizer prematuramente a presença do anticorpo e servir de referencial para um diagnóstico correto e seu tratamento adequado¹².

Um alongamento dos tempos do TTPa é vastamente descrito pela literatura, como uma das características do AL. Há um prolongamento do TTPa que não volta ao normal com a adição de plasma normal, pois ainda existem as imunoglobulinas que continuam interagindo com o fibrinogênio. Como esta alteração foi observada em pacientes com Lupus, foi erroneamente chamada de anticoagulante lúpico. Estes anticorpos interagem com os fosfolípidos principalmente a cardiolipina, sendo detectados com métodos imuno-enzimáticos (anti-cardiolipina)².

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos em especial à Ana Cláudia de Meneses Sobreira e aos funcionários e bioquímicos do Laboratório de Hemostasia do HEMOCE por permitirem a utilização dos dados laboratoriais para a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. ALVING, B.M. Diagnosis and management of patients with the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Thrombol.* v. 12, p: 89-93, 2001
2. ARON, A.L.; GHARAVI, A.E & SHOENFELD, Y. Mechanisms of action of antiphospholipid antibodies in the antiphospholipid syndrome. *Int Arch Allergy Immunol.* v.106, p: 8-12, 1995.
3. COSTA, H.L, MOURA, M.D et al. Prevalence of anticardiolipin antibody in habitual aborters. *Gynecol Odstet Invest.* v.36, p: 221, 1993.
4. COSTA, O. L. N. et al . Anticorpos antifosfolípidos em mulheres com antecedentes de perdas gestacionais: estudo caso-controle. *Rev. Bras. Reumatol.* v. 45, n. 3, 2005.
5. COUTO, J.C.F. Síndrome dos anticorpos antifosfolípidos e perda gestacional recorrente. *Reprod Clim;* v.13, n 4, p: 214-220, 1998.
6. DIÓGENES, M.J.N. Síndrome dos anticorpos antifosfolípidos: anticoagulante lúpico e/ou anticorpo anticardiolipina. *An bras Dermatol,* v.6, p: 613-619, 1999.
7. FAXAS, E.B.; VÁQUEZ, J. C. R. Síndrome antifosfolípido: aspectos diagnósticos y terapéuticos. *Rev Cubana Med;*v.34, p: 3, 1995
8. GALLI, M. Antiphospholipid syndrome: association between laboratory tests and clinical practice. *Pathophysiol Haemost Thromb.* v. 33, p: 249-255, 2004
9. GODOY, J. M. P.; LUPINO, P. L.; SOUZA, D. R.. S.; PARMA, A. H. C.; ANGULO, I. L.; GODOY, M. F. Prevalência de anticorpos anticardiolipina em doadores voluntários de banco de sangue Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemoter. v. 20, p:65-68, 1998.

10. GREAVES, M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lancet*. v. 353, p: 1348-1353, 1999.
11. LEVINE, J.S, BRANCH, D.W, RAUCH, J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2002; 346: 752-63.
12. LOUZADA JR. P. et. al. Síndrome do anticorpo antifosfolípide. *Medicina, Ribeirão Preto*. v. 31: 305-315,1998.
13. NOVAES, G.S. Síndrome Antifosfolípide- Revisão. *Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba*. v. 5, n. 1, p. 12-17, 2003.
14. SANTAMARIA, Jesus Rodriguez et al. Síndrome antifosfolípide. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 80, n. 3, p: 225-239, 2005.
15. SUGI, T; KATSUNUMA, J, IZUMI, S, MCINTYRE, JÁ, MAKINO, T. Prevalence and heterogeneity of antiphosphatidylethanolamine antibodies in patients with recurrent early pregnancy losses. *Fertil Steril*, v.71 n.6, p:1060-5, 1998.
16. TRIPLETT, D. A. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: a consequence, coincidence or cause? *Arch Pathol Lab Med*. v. 117, p:78-88, 1993.
17. WASSERMANN A, NEISSER A, BRUCK C. Eine serodiagnostische reaktion bey syphilis. *Deuts Che Méd Wochenschr*. v. 32, p: 745-752, 1906.
18. YETMAN, D. L ; KUTTEH, W.H, CASTORENA, R.; BROWN, C, BASKIN, L. Prevalence of elevated anticardiolipin antibodies in pregnant women with unexplained elevations of alpha-fetoprotein. *J Perod Immunol.*, v. 33, n.1, p. 71-81, 1997.
19. ZANATTA, L; DADAM, L; CAYRES, F; FERREIRA, S.C; NEIVA, T.J.C. Triagem Laboratorial para a Pesquisa de Anticoagulante Lúpico (AL) em Pacientes Atendidos no Hospital Universitário de Florianópolis,SC. *RBAC*, vol. 37(4), p: 223-225, 2005.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDENCIA:

Romélio Pinheiro Gonçalves
 Rua: Pereira Valente, 640 apt. 701
 Meireles, Fortaleza- Ceará
 CEP: 60160-250
 e-mail: romeliapinheiro@ig.com.br



Há 42 anos, a SBAC se dedica
 ao que existe de mais importante
 para o seu laboratório...

VOCÊ!

Associe-se à SBAC

www.sbac.org.br

SBAC

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

42 anos com você!

Prevalência de *Chlamydia trachomatis* em pacientes com leucocitospermia*

Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in patients with leucocitospermia

Paula Guzzatto¹; Janaina Scarton²; Karin Jaeger Anzolch³ & Osmar Luiz Magalhães Oliveira⁴

RESUMO - A infertilidade conjugal é um problema de distribuição mundial e magnitude crescente, sendo o fator masculino responsável por 30 a 50% desses casos. A *Chlamydia trachomatis* é reconhecida como o maior desafio para a reprodução humana, estando presente em 71% dos casos de infertilidade masculina, sendo responsável por infecções no trato genital, atingindo ambos os sexos. Nos homens, a infecção causa uretrite não-gonocócica, epididimite e prostatite. A relação dessa infecção com a infertilidade masculina não está bem estabelecida. Os leucócitos encontrados em quase todos os ejaculados humanos desenvolvem um papel importante na imunovigilância e na fagocitose de espermatozoides anormais. A concentração de leucócitos superior a $1 \times 10^6/\text{mL}$ de sêmen pode ser um indicativo de infecção no trato genital, tendo sido demonstrado que a *C. trachomatis* tem uma forte correlação com a presença de leucocitospermia. Esse estudo visou analisar a prevalência de *C. trachomatis* em pacientes cuja análise seminal apresentou leucocitospermia. Os polimorfonucleares foram identificados pela técnica da peroxidase e a *C. trachomatis* por ensaios imunoenzimáticos indiretos. Observou-se uma alta prevalência de *C. trachomatis* em pacientes com leucocitospermia, concluindo-se que há uma significativa correlação entre esses dois achados.

PALAVRAS-CHAVE - leucocitospermia, *Chlamydia trachomatis*, DST, infertilidade masculina, infecções seminais, espermograma.

SUMMARY - The conjugal infertility is a global issue with increasing magnitude, being the male factor responsible for 30 to 50% of those cases. The *Chlamydia trachomatis* is known as the biggest challenge for human reproduction, and it occurs on 71% of the male infertility cases, being responsible for genital infections for both genders male and female. On men, the infection causes urethritis non-gonococcal, epididymitis and prostatitis. The relation between the infection and male infertility has not been clearly established yet. The leucocytes found in almost every human's ejaculate develop an important role on the immunosurveillance and on the phagocytosis of abnormal sperm cells. The concentration of leucocytes, when greater than $1 \times 10^6/\text{mL}$ of semen, may indicate a genital infection, which has already showed that *C. trachomatis* has a strong correlation with the existence of leukocytospermia. This study aimed to analyze the prevalence of *C. trachomatis* on patients whose semen analysis presented leukocytospermia. The polymorfonucleares were identified through the peroxidase technique and the *C. trachomatis* through indirect immunoenzymatic tests. It has been noted a high prevalence of *C. trachomatis* on patients with leukocytospermia, concluding that there is a significant correlation between these two occurrences.

KEYWORDS - leukocytospermia, *Chlamydia trachomatis*, STD, male infertility, semen infections, spermogram.

INTRODUÇÃO

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) são graves problemas de saúde que mobilizam e preocupam as mais diversas autoridades da Saúde Pública (11). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que ocorram, no mundo, cerca de 340 milhões de casos de DST por ano, sendo que nessa estimativa não estão incluídos a herpes genital e o Papiloma Vírus Humano (Ministério da Saúde. DST em números. 11/08/08). Não há dados epidemiológicos de infecções específicas por *Chlamydia trachomatis* no Brasil. Entretanto, nos Estados Unidos, sugere-se que a infecção por esse patógeno é a DST mais comum, com uma estimativa de 4,5 milhões de casos ao ano (9).

As DST são processos infecciosos causados por um grupo heterogêneo de agentes, são agrupadas devido à significância epidemiológica da transmissão por meio de contato sexual, embora este não seja necessariamente o único meio de transmissão. Podem causar disfunções sexuais, esterilidade, aborto, nascimento de bebês prematuros com problemas de saúde, deficiência física ou mental, alguns tipos de câncer e até a morte (11). Por isso, as DST são de grande interesse para clínicos e pesquisadores no campo da medicina reprodutiva (2).

A infertilidade conjugal é atualmente um problema de distribuição mundial e magnitude crescente. Calcula-se que de 20 a 35% das mulheres que desejam engravidar não

podem ter filhos, e que o fator masculino é responsável por 30 a 50% desses casos. Em muitas ocasiões a origem da infertilidade não está bem identificada, porém, há uma grande quantidade de fatores nocivos para a reprodução que podem estar presentes simultaneamente, agravando o quadro de alterações semiológicas. Um desses fatores, determinante ou coadjuvante, é a patologia infecciosa do tipo inespecífica das vias seminais, geralmente assintomática, sendo que, em função disso, sua relação com a infertilidade conjugal se suspeita há algum tempo (1). Estudos demonstram que homens podem abrigar infecções subclínicas no trato genital causadas por vários agentes etiológicos e, de forma assintomática, apresentarem no sêmen certos patógenos, tais como: citomegalovírus, Epstein-Barr vírus, papilomavírus, hepatite B, hepatite C, herpes simplex tipo 2, herpes vírus humano tipo 6, HIV e *C. trachomatis* (2). Desde o final da década de 80, *C. trachomatis* é reconhecida como o maior desafio para a reprodução humana, sendo o microrganismo sexualmente transmissível de maior frequência nos países industrializados. Há relatos de que esse patógeno está presente em 71% dos casos de infertilidade masculina (1).

A *C. trachomatis* é uma bactéria intracelular obrigatória, do tipo cocos gram-negativos que variam de 0,2 a 1,5 μm de tamanho (14), com aproximadamente um milhão de pares de bases e com capacidade de codificar mais de 600 proteínas. Existem 18 sorotipos identificados, sendo os

Recebido em 30/01/2009

Aprovado em 15/04/2010

*Trabalho realizado no Laboratório Mont'Serrat Análises Clínicas, Porto Alegre, RS.

¹Acadêmica da ênfase em Análises Clínicas da Universidade Federal do Rio grande do Sul (UFRGS).

²Bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas Mont'Serrat.

³Médica Urologista.

⁴Professor adjunto do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

sorotipos D a K responsáveis pelas infecções do trato genital. Apesar de atingir pessoas de ambos os sexos, a infecção por *C. trachomatis* tem maior impacto na saúde reprodutiva das mulheres do que na dos homens. Nestes, a *C. trachomatis* é altamente dependente da idade, número de parceiros e fatores socioeconômicos. A infecção causa principalmente a uretrite não-gonocócica, epididimite e infecção das glândulas acessórias como a prostatite. A relação da infecção por *C. trachomatis* na infertilidade masculina não está bem estabelecida. Potencialmente, pode causar oclusão do trato genital masculino, dano em células envolvidas na espermatogênese e indução da produção de anticorpos anti-espermatozóides, situações, estas, que levariam à infertilidade (3).

O sêmen é um líquido biológico formado, principalmente, pelo plasma seminal e pelos elementos figurados, que compreendem os espermatozóides e, eventualmente, uma população de células redondas compostas de células germinativas imaturas e leucócitos, basicamente. Os leucócitos são encontrados em quase todos os ejaculados humanos, desenvolvendo um papel importante na imunovigilância e na fagocitose de espermatozóides anormais. A OMS definiu que quando a concentração de leucócitos for superior a 1×10^6 /mL de sêmen, tem-se uma leucocitospermia (8).

A prevalência de leucocitospermia em pacientes inférteis varia de 2 a 40%, sendo que elevadas concentrações podem estar associadas com redução qualitativa e funcional do sêmen (2). A mesma pode ser causada por infecções no trato genital, espermatogênese anormal e inflamações não infecciosas (8). Embora muitos estudos assumam que a leucocitospermia é um indicativo de infecção no trato genital, bactérias são detectadas em uma minoria de amostras com leucocitospermia. Contudo, há estudos que demonstram que *C. trachomatis* tem uma forte relação com a presença de leucocitospermia. Além disso, a presença dessa bactéria está associada a um decréscimo na concentração espermática, motilidade, velocidade, vitalidade, morfologia, e um acréscimo na citotoxicidade. Esses fatores estão atribuídos a um lipopolissacarídeo presente na estrutura bacteriana (2). Outras evidências indicam que a resposta imune às infecções por *C. trachomatis* promove peroxidação lipídica da membrana espermática, aumentando a produção de radicais livres, os quais também afetam a fertilidade masculina (12).

O objetivo deste trabalho é avaliar a prevalência de *C. trachomatis* em pacientes cuja análise seminal apresentou leucocitospermia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra de Sêmen

Foram obtidas 302 amostras de pacientes submetidos à triagem de infertilidade, em um laboratório de Porto Alegre. As amostras selecionadas foram as que apresentavam células peroxidase positivas maior ou igual a 50% e pesquisa de *C. trachomatis*. O método de coleta foi a masturbação, após um período recomendado de 3 a 5 dias de abstinência sexual. O sêmen foi coletado em frasco de vidro e armazenado em placa de aquecimento a 37°C, onde se controlou a liquefação. As amostras foram analisadas, em no máximo, duas horas após a coleta.

Teste da Peroxidase

Foram misturados 0,2 mL de solução de peróxido de hidrogênio a 3% com 2,0 mL de solução de cianosina-benzidina. Da solução preparada, 0,2 mL foram adicionados a 0,2 mL

de sêmen liquefeito, colocado na lâmina e coberto com lamínula para posterior análise ao microscópio óptico (5). A concentração de leucócitos foi determinada através do percentual de células peroxidase positivas em relação à concentração de células redondas.

Pesquisa de *Chlamydia trachomatis*

Para a determinação de *C. trachomatis* foram utilizados ensaios imunoenzimáticos indiretos em fase sólida com antígeno sorotipo L2 para a detecção de anticorpos IgG anti-*C. trachomatis*. A fase sólida do teste é um pente com projeções que estão sensibilizados em duas posições:

- Ponto superior: anticorpos de cabra para imunoglobulina humana (controle interno)

- Ponto inferior: antígenos de *C. trachomatis* inativados.

A placa reveladora possui seis fileiras (A a F) com cavidades que contêm reagentes prontos para o uso em diferentes etapas do ensaio. O teste é realizado por etapas, movendo o pente de fileira a fileira com incubação em cada etapa.

A. Formação do complexo antígeno-anticorpo: soro ou plasma foi adicionado ao diluente da cavidade. O pente é então inserido nessa fileira e permanece por dez minutos. Os anticorpos anti-*C. trachomatis* presentes na amostra ligaram-se especificadamente aos antígenos presentes no ponto inferior do pente. Simultaneamente, as imunoglobulinas presentes nas amostras ligaram-se às imunoglobulinas anti-humanas no ponto superior.

B. Lavagem: os componentes não ligados são lavados (dois minutos).

C. Ligação do conjugado: os anticorpos IgG capturados no pente reagem com anticorpos anti-IgG marcados com fosfatase alcalina (vinte minutos).

D e E. Lavagem: remoção dos anticorpos anti-IgG não ligados (dois minutos)

F. Reação enzimática de cor: a fosfatase alcalina ligada reage com o substrato cromogênico (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato e azul de nitrotetrazolium), formando como resultado pontos cinza azulados na superfície do pente (dez minutos) (bula do kit).

RESULTADOS

Das 302 amostras de sêmen selecionadas para a pesquisa, todas apresentavam células peroxidase positivas maior ou igual a 50%. Destas, 179 apresentavam resultado positivo para *C. trachomatis*, a partir dos resultados imunológicos, correspondendo a 50,3% das amostras (IC_{95%}: 53,7 - 64,7%) (tabela I).

TABELA I
Comparação entre a presença e ausência de *C. trachomatis* em pacientes com células peroxidase positivas maior ou igual a 50%.

	<i>C. trachomatis</i>		Total
	Positiva	Negativa	
Leucócitos \geq 50%	179 (59,30%)	123 (40,70%)	302 (100%)

DISCUSSÃO

A infertilidade conjugal é um problema que afeta muitos casais e há diversos procedimentos clínicos e laboratoriais para investigar sua etiologia. O exame de sêmen é um procedimento comumente adotado nessa investigação, pois fornece informações sobre a atividade funcional dos órgãos genitais, contribuindo significativamente para avaliar o

fator masculino (8). Além disso, é um exame de baixo custo que permite obter uma primeira impressão do diagnóstico, auxiliando no tratamento médico e cirúrgico que poderão ser realizados (15). Desde que efetuados de forma adequada, dentro de padronizações técnicas recomendadas, o espermograma fornece importantes dados para orientar o diagnóstico etiológico dos distúrbios funcionais do trato reprodutor masculino (8).

A detecção da leucocitospermia não é, a princípio, indicativo de infecção genital. Desta forma, é difícil caracterizar uma associação entre sintomatologia, leucocitospermia e bacteriospermia quando o paciente faz um espermograma, sendo vários os motivos: microrganismos que colonizam a uretra sem causar infecção; a bacteriospermia pode ser intensa, mas não associada com uma sintomatologia definida ou com leucocitospermia; uma acentuada leucocitospermia em pacientes assintomáticos (infecção silenciosa); pacientes sintomáticos sem leucocitospermia e/ou bacteremia, presente em alguns tipos de prostatites. Como se observa, dificilmente essa associação fica bem definida na maioria dos exames, o que muitas vezes dificulta o diagnóstico (12).

No entanto, a *C. trachomatis* tem uma forte relação com a presença de leucocitospermia (2). Um estudo demonstrou que 25,8% dos pacientes com testes positivos para *C. trachomatis* apresentavam leucocitospermia em comparação com 11,9% dos *C. trachomatis* negativos (4). Além disso, vários estudos correlacionaram esse patógeno com doenças relacionadas à infertilidade masculina, como foi demonstrado por Motrich *et al.* (7) em que 10% do total de pacientes com prostatite crônica apresentavam infecção por *C. trachomatis*, enfatizando o potencial papel desse patógeno na etiologia da doença. Hosseinzadeh *et al.* (4), em outro estudo, verificou que 4,9% dos pacientes em investigação de infertilidade apresentavam teste positivo para *C. trachomatis*.

Com relação à determinação dos leucócitos no sêmen, o teste da peroxidase é amplamente utilizado para a contagem de polimosfonucleares (10). Esta é uma das técnicas recomendadas pela OMS para tal fim, visto que é de fácil execução, rápida e barata, quando comparada a outros métodos mais sofisticados que empregam o uso de anticorpos monoclonais (8). Nesse estudo, o teste foi utilizado para a seleção das amostras que seriam incluídas no trabalho. Entre os testes laboratoriais disponíveis para a detecção de Clamídia estão a cultura, a imunofluorescência direta, o enzimaímunoensaio, a sonda de DNA e as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos. Há ainda testes de diagnóstico indireto através da pesquisa de anticorpos como a imunofluorescência indireta, microimunofluorescência indireta e enzimaímunoensaio indireto (13). Utilizou-se, nesse trabalho, o enzimaímunoensaio pois, além de apresentar sensibilidade que gira em torno de 62-75% e especificidade próxima a 98% (6), é uma técnica de fácil realização e de baixo custo.

Pode-se observar nesse estudo que há uma alta prevalência de *C. trachomatis* em pacientes com leucocitospermia, concluindo-se que há uma significativa correlação entre esses dois achados no exame de sêmen. Visto que a análise foi realizada utilizando-se apenas pacientes sob triagem de infertilidade, observa-se, também, que a infecção por *C. trachomatis*, sintomática ou não, pode ser um importante causador de desordens seminais que acarretarão na infertilidade masculina.

1. ÁVILA, G. G. – Infecciones por Chlamydia trachomatis y Mycoplasma sp. Su relación con la infertilidad masculina. Bol. Col. Mex. Urol., 18 (3): 106-112, 2003.
2. BEZOLD, G.; POLITCH, J. A.; KIVIAT, N. B.; KUYPERS, J. M.; WOLFF, H. & ANDERSON, D. J. - Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. Fertil. Steril., 87 (5): 1087-1097, 2007.
3. BONETTI, T. & SILVA, I. D. C. G. - Chlamydia trachomatis e reprodução. Rev. Brasileira de Reprodução Humana, 6 (3): páginas, 2008.
4. HOSSEINZADEH, S.; ELEY, A. & PACEY, A. A. - Semen quality of men with asymptomatic Chlamydial infection. Journal of Andrology, 25 (1): 104-109, 2004.
5. LUDWING, R. & FICK, J. – Spermatology. Atlas and Manual. Berlin, Springer-Verlag, 32:3, 1998.
6. MICHELON, J.; BOENO, A.; CUNHA FILHO, E. V.; STEIBEL, G.; BERG, C. & TORRENS, M. C. T. - Diagnóstico da infecção urogenital por Chlamydia trachomatis. Scientia Medica, 15 (2): 97-102, 2005.
7. MOTRICH, R. D.; CUFFINI, C.; OBERTI, J. P. M.; MACCIONI, M. & RIVERO, V. E. – Chlamydia trachomatis occurrence and its impact on sperm quality in chronic prostatitis patients. Journal of Infection, 53 (3): 175-183, 2006.
8. MURARO, F.; HENNEMANN, T. C.; ANZOLCH, K. J. & OLIVEIRA, O. L. M. - Efeitos da leucocitospermia na análise do sêmen. Rev. Bras. Anál. Clín., 39 (1): 47-50, 2007.
9. POIARES, L. A.; SANDRINI, F.; OSÓRIO, P. S.; LARGURA, A. & SIMÃO, R. C. G. – Validação do método de detecção de Chlamydia trachomatis por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. Rev. Bras. Anál. Clín., 40(3): 229-232, 2008.
10. POLITCH, J. A.; WOLFF, H.; HILL, J. A. & ANDERSON, D. J. - Comparison of methods to enumerate white blood cells in semen. Fertil. Steril., 60 (2): 372-375, 1993.
11. ROCHA, L. V. S.; DINIZ, V. C.; ARAÚJO, J. T.; ROLIM, C. K.; DANTAS, A. F. R.; MIRANDA, H. F.; CAVALCANTE, F. I & SATURNINO, A. C. R. D. - A vulnerabilidade às DST em região com intensa prostituição e turismo sexual de Natal/RN. Rev. Bras. Anál. Clín., 40 (1): 3-6, 2008.
12. ROCHA, F. T. A. – O exame do sêmen na infertilidade masculina: V- Exame Microbiológico. Rev. Bras. Anál. Clín., 40(1): 49-56, 2008.
13. SEADI, C. F.; ORAVEC, R.; POSER, B.; CANTARELLI, V. V. & ROSSETTI, M. L. - Diagnóstico laboratorial da infecção pela Chlamydia trachomatis: vantagens e desvantagens das técnicas. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, 38 (2): 125-133, 2002.
14. TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R. & CASE, C. L. - Microbiologia. 6 ed. Porto Alegre, Artmed, 2000.
15. VÁSQUEZ, F. R. & ECHEVERRI, D. V. - Espermograma y su utilidad clínica. Salud Uninorte, 23 (2): 220-230, 2007.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Paula Guzzatto

Fone: (51) 3062.1021; (51) 9201.6410

Rua General Lima e Silva, 92/703, Bairro Cidade Baixa

CEP: 900.50-100 Porto Alegre, RS

e-mail: p.guzzatto@yahoo.com.br

Aids no Brasil: uma epidemia em transformação*

Aids in Brazil: an epidemic disease in transformation

Silvia Fernandes Ribeiro da Silva¹, Márcio Roberto Pinho Pereira², Renato Motta Neto¹, Mauriclécio Franco Ponte³, Ilana Farias Ribeiro³, Paola F. Torres Ferreira da Costa⁴ & Sônia Leite da Silva⁴

RESUMO - O quadro da AIDS no Brasil evidencia uma epidemia que tem sofrido transformações na sua evolução e distribuição geográfica. O presente estudo teve como objetivo descrever o atual perfil epidemiológico da AIDS no Brasil. Trata-se de uma análise retrospectiva, descritiva e observacional dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, no período de 1980 a 2007. No início da epidemia, os casos de AIDS se concentravam nas grandes cidades do Sul e Sudeste, em indivíduos jovens do sexo masculino, com nível socio-econômico elevado e considerados de "grupo de risco". Atualmente, o perfil epidemiológico da AIDS está passando por grandes transformações. A epidemia está avançando para as regiões Norte e Nordeste, em indivíduos com idade acima dos 50 anos, e em ambos os sexos. A AIDS passou a atingir as mulheres, principalmente na faixa etária reprodutiva, o que pode acarretar aumento da transmissão vertical do HIV, de mãe para filho. Observa-se um número maior de casos de AIDS em indivíduos heterossexuais e estabilização do número de casos em homossexuais. É imperativo que toda a sociedade em geral participe ativamente das campanhas de prevenção e conscientização da população para a vulnerabilidade de todos frente ao risco de contrair AIDS.

PALAVRAS-CHAVE - AIDS; Epidemia; Vírus HIV.

SUMMARY - The current panel of AIDS in Brazil evidences an epidemic stage that has been suffered transformations in its evolution and geographic distribution. The aim of the present work is to describe the current epidemic profile of AIDS in Brazil. The study is about a descriptive, observational and retrospective analysis of notified cases of AIDS to Health Department between 1980 and 2007. In the early stages of AIDS epidemic, the disease was concentrated in the great cities of the South and Southeast of the country, in young male individuals with privileged socio-economical level, considered of "risk group". Currently, the epidemic profile of AIDS is passing through great transformations and it is advancing to regions North and Northeast, in individuals with age above of 50 years-old in both sexes. The AIDS started to reach women, mostly in the reproductive age, which may increase vertical transmission of HIV from mother to son. A bigger number of AIDS cases in individuals were observed in heterosexual population, but the number of cases in homosexuals has been stable. It is imperative that all society actively participates in prevention campaigns and awareness of population for general vulnerability of risk to be contaminated by AIDS.

KEYWORDS - AIDS; Epidemic; HIV Virus.

INTRODUÇÃO

A AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) é uma doença emergente, grave, causada pelo retrovírus HIV (vírus da imunodeficiência humana), que vem se disseminando rapidamente pelo mundo desde 1981, e que é hoje considerada um dos maiores problemas de saúde pública no Brasil e no Mundo¹.

A epidemia da infecção pelo HIV constitui um fenômeno global, de comportamento pandêmico, dinâmico e instável, que vem sofrendo transformações epidemiológicas significativas ao longo dos anos^{2,3}. Estima-se que existam 33,2 milhões de pessoas infectadas pelo vírus HIV em todo o mundo e que ocorreram 2,5 milhões de novas infecções em 2007⁴. O primeiro caso de AIDS registrado no Brasil data de 1980 e, desde então, as taxas de incidência são crescentes, chegando a alcançar, em 2006, cerca de 17,5 casos de AIDS por 100 mil habitantes⁵.

No Brasil, a epidemia teve início nos homens com maior escolaridade, que moravam nas grandes cidades e pertenciam a grupos de riscos, tais como, usuários de drogas e homossexuais⁶. Nos últimos anos, tem se observado um quadro da epidemia da AIDS marcado pelos processos de heterossexualização, feminização, pauperização e interiorização^{2,7}. O aumento da transmissão por contato heterossexual pode resultar em crescimento na incidência de casos em mulheres. Este fato tem sido apontado como o mais importante fenômeno para o atual momento da epidemia no País⁸. Como consequência, o Ministério da Saúde

implementou medidas que visem a detecção precoce da infecção pelo HIV na gestação e ações profiláticas que reduzam a transmissão materno-infantil do HIV⁹.

Em face das questões anteriormente discutidas, esse trabalho teve como objetivo descrever o atual perfil epidemiológico da AIDS no Brasil, numa abordagem dos casos de AIDS diagnosticados e notificados ao Ministério da Saúde, no período de 1980 a 2007.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional e descritivo para caracterizar a epidemia da AIDS no Brasil. Foram analisados os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde, divulgados pelo boletim epidemiológico AIDS/DST em 2007, onde encontram-se os casos de AIDS diagnosticados em todo território brasileiro e notificados pelas Secretarias de Saúde dos Estados, no período de 1980 a 2007⁵.

A análise dos casos de AIDS foi realizada em dois períodos. O primeiro período foi de 1980 a 2007 e o segundo de 1996 a 2006. Para o segundo período não foi considerado o ano de 2007, para se evitar viés dos resultados em decorrência do atraso de notificação ao SINAN/AIDS pelas Secretarias de Saúde dos Estados.

No período de 1980 a 2007 foi avaliado o número total de casos de AIDS diagnosticados e notificados ao SINAN e no período de 1986 a 2006 foram avaliados os seguintes parâmetros: a) o número de casos de AIDS diagnosticados e

Recebido em 30/01/2009

Aprovado em 07/04/2010

*Trabalho realizado na Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Ceará, Brasil.

¹Professores do Curso de Farmácia da UNIFOR

²Professor do Curso de Nutrição da UNIFOR

³Graduandos do Curso de Farmácia da UNIFOR

⁴Professores do Curso de Medicina da UNIFOR

notificados ao SINAN, por região e ano de diagnóstico; b) número de casos de AIDS notificados segundo a faixa etária por sexo e ano de diagnóstico; c) número de casos de AIDS notificados segundo a categoria de exposição hierarquizada por sexo e ano de diagnóstico.

As categorias de exposição ao vírus HIV consideradas para análise foram a sexual (homossexual, bissexual e heterossexual) e a sanguínea (transfusão e usuários de drogas injetáveis). A análise estatística foi feita pelo programa "GraphPad Prism" pelo método de ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls e pelo teste T. Os dados foram analisados a partir da média e do desvio padrão (\pm) e considerados significantes com $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 1980 a 2007 foram notificados ao SINAN do Ministério da Saúde 474.273 casos de AIDS, sendo 109.653 (23,1%) entre 1980 e 1995 e 364.620 (76,9%) entre 1996 e 2007. O Brasil, de modo inusitado, tem enfrentado corajosamente a epidemia da AIDS com a distribuição de preservativos, a produção local e distribuição de medicamentos anti-retrovirais sem custo adicional para os pacientes, a implantação na rede pública de laboratórios para diagnóstico e acompanhamento de pacientes e suporte para pesquisa¹⁰. Apesar dessas medidas terem sido capazes de aumentar a sobrevivência e melhorar a qualidade de vida de pessoas com AIDS, não foram suficientes para interromper a disseminação da epidemia, uma vez que o número de casos de AIDS no Brasil triplicou nos últimos 12 anos. Houve aumento expressivo do número de casos de AIDS entre 2002 e 2005 em relação aos anos anteriores e uma pequena diminuição em 2006 (Figura 1). Entretanto, essas diferenças não foram significantes ($p > 0,05$).

Brito (2000) caracteriza a disseminação do HIV no Brasil como uma epidemia multifacetada, que não possui um perfil epidemiológico único em todo o território brasileiro, mas um mosaico de subepidemias regionais motivadas pelas desigualdades socioeconômicas². Este conceito é evidente quando se analisa os casos de AIDS por região (Figura 2), com maior número de casos na região Sudeste (289.074 casos) ($P < 0,001$), seguido das regiões Sul (89.250 casos), Nordeste (53.089 casos), Centro-Oeste (26.757 casos) e Norte (16.103 casos). A partir de 2002, foi observada uma tendência à diminuição de casos de AIDS nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e um aumento nas regiões Norte e Nordeste (Figura 3). Este é um fato preocupante que merece atenção da vigilância sanitária e das Secretarias de Saúde desses Estados, para que se intensifiquem as ações de prevenção e controle da infecção pelo HIV junto à população, com o intuito de mudar, em curto prazo, a tendência atual do avanço da epidemia nestas regiões.

Dos 474.273 casos de AIDS notificados ao SINAN, 314.294 (66,3%) foram diagnosticados no sexo masculino e 159.973 (37,7%) no feminino, com um relação homem:mulher de 2:1. Seis casos foram eliminados da análise por falta de dados. As Figuras 4 e 5 mostram a ocorrência de casos de AIDS em função do sexo e faixa etária. Pode-se observar um maior número de casos entre 20 e 49 anos tanto no homem quanto na mulher ($p < 0,001$).

Ao longo dos anos ocorreu, em todo território brasileiro, uma diminuição progressiva da relação homem:mulher. Em 1983 ela era de 40:1 e em 2007 diminuiu para 1,4:1. A análise da relação homem:mulher em função da faixa etária mostrou uma tendência a inversão na faixa etária entre 13 a 19 anos a partir de 1988 e, a partir de 2002 entre 20 a

24 anos. Apesar desta tendência, não há mais mulheres com AIDS do que homens nestas duas faixas etárias ($p > 0,05$). Entretanto, nas demais faixas etárias continua maior o número de homens infectados ($p < 0,0001$). Estes achados fazem com que a luta contra a AIDS passe a um novo patamar e receba uma atenção especial, uma vez que está sendo observado em todas as regiões brasileiras um aumento expressivo dos casos de AIDS em mulheres em idade reprodutiva. O crescimento da epidemia entre as mulheres pode acarretar aumento do número de casos em crianças, o que tem sido uma grande preocupação mundial¹¹. A transmissão vertical é uma das principais formas de disseminação do vírus HIV na população pediátrica, podendo variar de 13 a 48%^{12,13}. É imperativo que se faça uma ampla e contínua sensibilização e capacitação de todos os profissionais de saúde envolvidos com a assistência às mulheres em geral e às grávidas em especial, tendo em vista a aplicação correta das condutas para a redução da transmissão vertical do vírus HIV⁸.

Segundo Camargo (2007) as duas principais fontes de informação dos jovens sobre AIDS são a escola e a televisão (44,8% e 41,5%, respectivamente) e em segundo lugar os folhetos (36,6%) e a família (34,1%). Além disso, o autor relata que a prática do sexo seguro depende do contexto informacional do adolescente, da sua atitude em relação ao preservativo e do seu medo diante da epidemia¹⁴. Estes fatos mostram a necessidade de se rever as estratégias de prevenção por meio de multiplicadores, reforçar o papel das escolas e universidades, como fornecedores de informações, e revalorizar a família como aliada na interlocução com o adolescente sobre os riscos de transmissão do HIV/AIDS em comportamentos sexuais, sem preservativos. Apesar da AIDS comprometer indivíduos de todas as faixas etárias, a partir de 2002 foi observada uma diminuição dos casos nos indivíduos entre 20 a 29 anos, em ambos os sexos e, um aumento a partir de 30 anos. Vale salientar, o importante aumento de casos nos últimos 5 anos em indivíduos acima de 50 anos (Figura 6). Este achado requer uma atenção maior das equipes de atenção básica para a prevenção neste grupo que surge como a mais nova característica da epidemia, uma vez que a infecção pelo HIV acontece predominantemente por via sexual. Este avanço da AIDS nas faixas etárias mais elevadas é o reflexo da estigmatização da terceira idade, tanto pelos familiares como pelos profissionais que não consideram as pessoas desta faixa etária como sexualmente ativas¹⁵.

A principal categoria de exposição observada no período estudado foi a via sexual (70,6%), seguida da sanguínea (29,4%), tanto em homens quanto em mulheres. Entre os 166.497 homens com diagnóstico de AIDS, havia um maior número de heterossexuais (48,7%) do que homossexuais (33,4%) e bissexuais (18%) (Figura 7, $p < 0,001$). Houve um crescimento expressivo dos casos de AIDS em heterossexuais em todo período avaliado, uma tendência a diminuição entre os homossexuais e uma estabilização entre os bissexuais (Figura 8).

Com a intenção de ampliar o foco de atenção para a sociedade em geral, e não para grupos isolados, as abordagens epidemiológicas deixaram de usar a expressão "grupo de risco" e passaram a utilizar "comportamento de risco" e, posteriormente "vulnerabilidade". No entanto, essa alteração no olhar da sociedade não foi capaz de promover uma mudança efetiva no que se refere ao estigma associado à doença¹⁶. A diminuição dos casos de AIDS observada na população masculina homossexual e o aumento na heterossexual vieram contribuir para diminuição da estigmati-

zação dos homossexuais em relação à AIDS¹⁷. Por outro lado, essa mudança de categoria sexual acarretou um aumento do número de casos em mulheres heterossexuais casadas ou em união estável. Para Macklin (2003), a mulher é mais vulnerável à AIDS devido à sua posição social na sociedade, impedindo-a, na maioria das vezes, de negociar o uso do preservativo, discutir fidelidade e abandonar relações que a colocam em risco¹⁸.

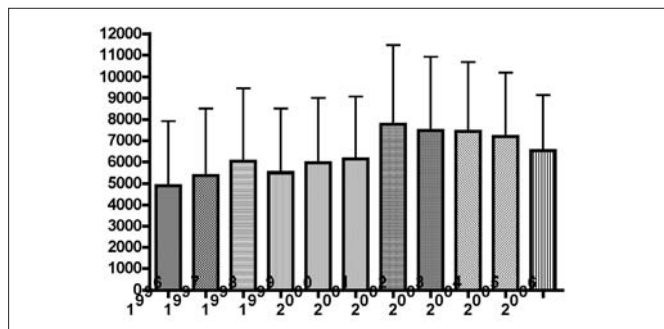


Figura 1. Distribuição dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, segundo o ano de notificação.

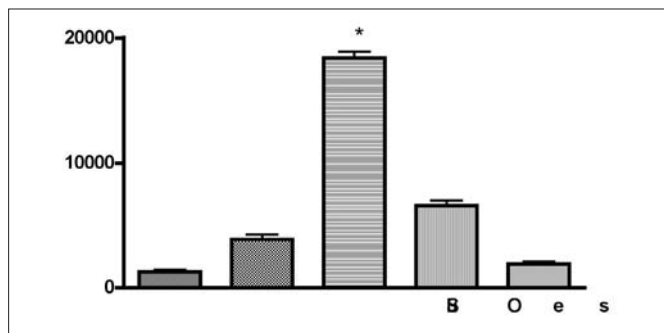


Figura 2. Distribuição dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, segundo a região. (* $p < 0,001$)

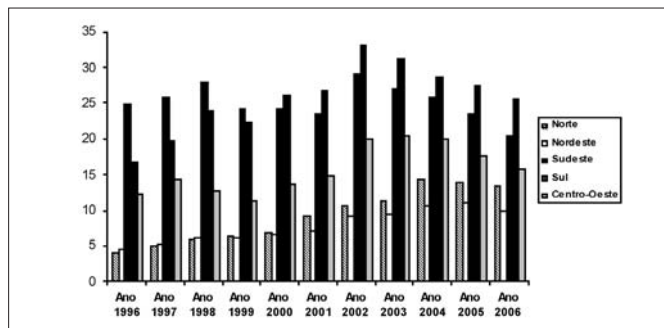


Figura 3. Distribuição dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, segundo a região e ano de notificação.

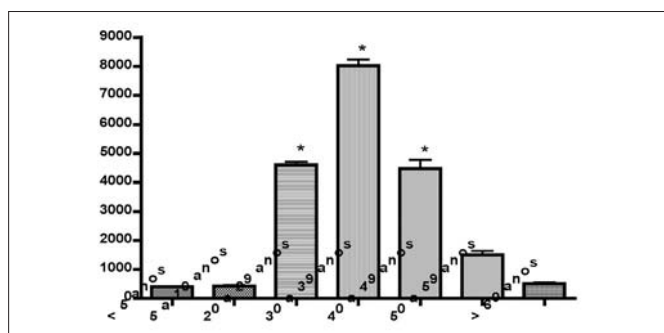


Figura 4. Distribuição dos casos de AIDS em homens notificados ao Ministério da Saúde, segundo a faixa etária. (* $p < 0,001$)

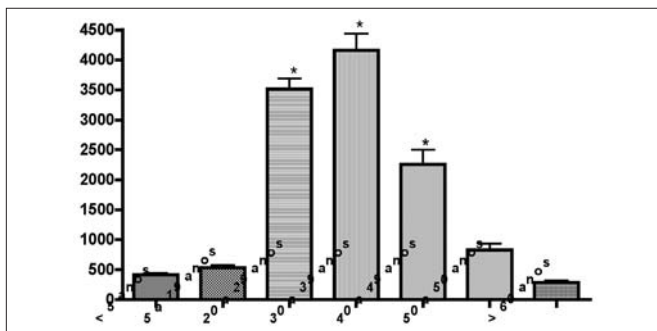


Figura 5. Distribuição dos casos de AIDS em mulheres notificados ao Ministério da Saúde, segundo a faixa etária. (* $p < 0,001$)

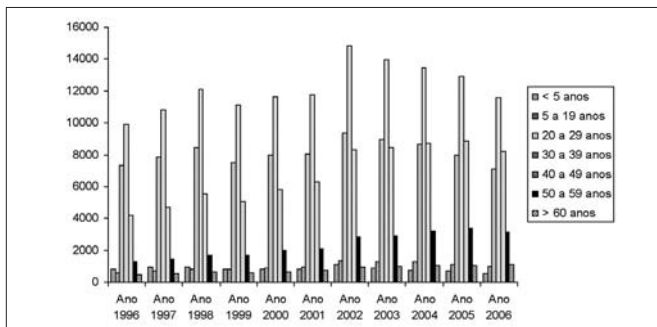


Figura 6. Distribuição dos casos de AIDS em homens e mulheres notificados ao Ministério da Saúde, segundo a faixa etária e ano de notificação.

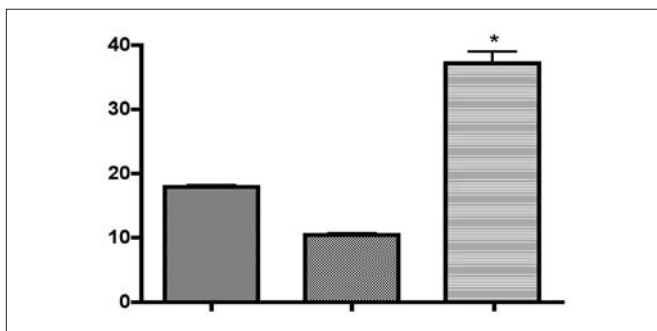


Figura 7. Distribuição dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, segundo a categoria sexual de exposição. ($p < 0,001$)

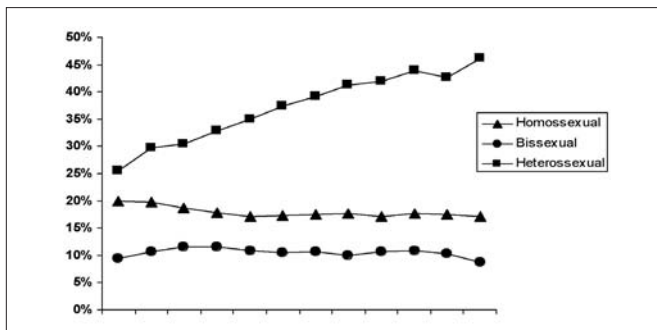


Figura 8. Distribuição dos casos de AIDS notificados ao Ministério da Saúde, segundo a categoria sexual de exposição e ano de notificação.

CONCLUSÕES

A partir da realização deste estudo pode-se concluir que existem atualmente algumas tendências que caracterizam a epidemia da AIDS no Brasil:

a) aumento do número de casos de AIDS nas regiões Norte

- e Nordeste, com diminuição nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste;
- b) diminuição da relação homem:mulher dos casos de AIDS (1,4:1) e uma inversão dessa relação na faixa etária entre 13 a 24 anos;
- c) aumento do número de casos tanto em homens quanto mulheres com ≥ 50 anos;
- d) a via sexual continua sendo a principal via de transmissão do vírus HIV, em ambos os sexos;
- e) aumento expressivo do número de casos em heterossexuais masculinos, diminuição em homossexuais e estabilização em bissexuais.

Enfatizamos a importância das escolas e universidades como multiplicadores de informações e a necessidade urgente de revalorizar a família como aliada na conscientização de adolescentes e adultos jovens sobre a vulnerabilidade de se contrair HIV/AIDS nas relações sexuais não protegidas.

AGRADECIMENTOS

Ao Ministério da Saúde que disponibiliza anualmente pelo site www.aids.gov.br o boletim epidemiológico AIDS/DST com os dados dos casos de AIDS notificados ao SINAN/AIDS pelas Secretarias de Saúde dos Estados brasileiros.

REFERÊNCIAS

- 1) ARAUJO, V.L.B.; BRITO, D.M.S.; GIMENIZ, M.T.; QUEIROZ, T.A.; TAVARES, C.M. Características da AIDS na terceira idade em um hospital de referência do Estado do Ceará, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. n. 10, p. 544-554, 2007.
- 2) BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO – DST/AIDS. Disponível em: www.aids.gov.br. Acesso em 19 Jun; 2008.
- 3) BRITO, A.M.; CASTILHO, E.A.; SZWARCOWALD, C.L. Aids e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. n. 34, p.207-217, 2000.
- 4) CAMARGO, B.V. & BOTELHO, L.J. Aids, sexualidade e atitudes de adolescentes sobre proteção contra o HIV. *Revista de Saúde Pública*, 2007.
- 5) CAVALCANTE, M.S.; RAMOS JÚNIOR, A.N.; SILVA, T.M.J.; PONTES, L.R.S.K. Transmissão vertical do HIV em Fortaleza: Revelando a situação epidemiológica em uma capital do Nordeste. *RBGO*. n. 2, p. 131-138, 2004.
- 6) CONNOR, E.M.; SPERLING, R.S.; KISELEV, P.; SCOTT G.; O'SULLIVAN,

- M.J.; VANDYKE, R.; BEY, M.; SHEARER, W.; JACOBSON, R.I. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *New England Journal of Medicine*. n. 331, p. 1173-1180, 1994.
- 7) GOLDANI, M.Z.; GIUGLIANI, E.R.J.; SCANLON, T.; ROSA, H.; CASTILLOS, K.; FELDENS, L.; TOMKINS, A. Voluntary HIV counseling and testing during prenatal care in Brazil. *Revista de Saúde Pública*. n. 37, p. 552-558, 2003.
 - 8) GIR, E.; CANINI, S.R.M.S.; PRADO, M.A.; CARVALHO, M.J.; DUARTE, G.; REIS, R.K. A feminização da AIDS: Conhecimento de mulheres soropositivas sobre a transmissão e prevenção do HIV-1. *DST-Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*. n. 16, p. 73-76, 2004.
 - 9) GUILHEM D. *Escravas do Risco: bioética, mulheres e Aids*. Brasília: Editora UnB/Finatec; 2005.
 - 10) GRECO, D.B. A epidemia da Aids: impacto social, científico, econômico e perspectivas. *Estudos Avançados*. n. 22, p. 73-94, 2008.
 - 11) MACKLIN, R. Bioethics, vulnerability, and protection. *Bioethics*. n. 5, p. 472-485, 2003.
 - 12) MAIA, C., GUILHEM, D., FREITAS, D. Vulnerabilidade ao HIV/AIDS de pessoas heterossexuais casadas ou em união estável. *Revista de Saúde Pública*. n. 42, p. 242-248, 2008.
 - 13) RODRIGUES-JUNIOR, A.L. & CASTILHO, E.A. A epidemia de AIDS no Brasil, 1991-2000: descrição espaço-temporal. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. n. 37, p. 312-317, 2004.
 - 14) SANTOS, N.J.S.; TAYRA, A.; SILVA, S.R.; BUCHALLA, C.M.; LAURENTI, R. A aids no Estado de São Paulo. As mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. n.2, p. 286-310, 2002.
 - 15) SEPKOWITZ, K.A. AIDS – The first 20 years. *New England Journal of Medicine*. n. 23, p. 1764-1772, 2001.
 - 16) STEINBROOK, R. The AIDS epidemic in 2004. *New England Journal of Medicine*. n. 2, p. 115-117, 2004.
 - 17) SIMON, V.; HO, D.D.; KARIN, Q.A. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Seminars*. v. 368, p. 489-504, 2006.
 - 18) UNAIDS-The joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Disponível em: http://www.unaids.org/en/HIV_data/default.asp. Acesso em: 20 Jun; 2008.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Silvia Fernandes Ribeiro da Silva
 Rua Arquitecto Reginaldo Rangel, 55 – Apto 801, Cocó
 CEP: 60191-250 – Fortaleza-Ceará
 E-mail: silviafernandes@unifor.br



Com o
SBAC E-Learning
 é assim:

Qualquer local
 é a sua sala de aula!

www.sbac.org.br

Verificação da atividade antibacteriana in vitro dos óleos essenciais *Cinnamomum zeylanicum* e *Rosmarinus officinalis* em bactérias causadoras de infecção do trato urinário

Verification of the antibacterial activity in vitro of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* and *Rosmarinus officinalis* in bacteria which cause infections of the urinary tract

Tamires Marielem de Carvalho¹; Tamyres de Freitas Tosta²; Ronaldo Rodrigues Sarmento³; Mauro Luis Beghini⁴; & Mônica Hitomi Okura⁵

RESUMO - *Rosmarinus officinalis* e *Cinnamomum zeylanicum* são popularmente conhecidas como Alecrim e Canela respectivamente, estas plantas fazem parte da medicina popular brasileira e estudos revelam que possuem boa atividade antimicrobiológica. O presente trabalho realizou testes para avaliar esta atividade em cepas comuns de infecções do trato urinário, uma vez que esta é uma patologia bastante frequente. A atividade foi testada através do método de disco difusão e diluição em caldo (CIM E CBM). O óleo de Canela apresentou melhores resultados comparando-se ao de Alecrim, enquanto o primeiro apresentou atividade em todas as cepas testadas (*Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp. e *Proteus mirabilis*), o segundo não obteve resultados satisfatórios, inibindo apenas a *Escherichia coli* na CIM na concentração de 0,1 mg/mL do óleo. O *Proteus mirabilis* foi o que apresentou melhores resultados utilizando o óleo de canela, sendo necessário apenas 0,001mg/mL do óleo para inibir seu crescimento.

PALAVRAS-CHAVE - Alecrim; Canela; Atividade antibacteriana.

SUMMARY - *Rosmarinus officinalis* and *Cinnamomum zeylanicum* are known popularly respectively as Rosemary and Cinnamon, these plants are part of the Brazilian popular medicine and studies reveal that these plants possess good antimicrobial activity. The present work accomplished tests to assess this activity in common agents in infections of the urinary tract, once this is a quite frequent pathology. The activity was tested through the method of disk diffusion and macrodilution methods (MIC is MBC). The oil of Cinnamon presented better results being compared to the of rosemary, while the first presented activity in all the tested agents (*Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Klebsiella* and *Proteus mirabilis*), the second didn't obtain satisfactory results, just inhibiting the *Escherichia coli* in MIC in the concentration of 0,1 mg/mL of the oil. The *Proteus mirabilis* was what it presented better results using the oil of cinnamon, being just necessary 0,001mg/mL of the oil to inhibit its growth.

KEYWORDS - Rosemary; Cinnamon; Antibacterial activity.

INTRODUÇÃO

A utilização de óleos essenciais na pesquisa de novos compostos antibacterianos tem obtido resultados satisfatórios em vários trabalhos^{2, 14, 25}. Óleos essenciais são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas^{2, 22}. Possuem naturalmente atividade antimicrobiana, outros antifúngicos, sendo que alguns apresentam atividade frente a bactérias do tipo Gram-positivo e outras do tipo Gram-negativo^{2, 3}.

Entre as espécies vegetais conhecidas como produtoras de óleos essenciais com grandes potenciais antimicrobianos destacam-se as espécies *Rosmarinus officinalis* e *Cinnamomum zeylanicum*^{21, 22}. *Rosmarinus officinalis* é popularmente conhecido como alecrim-de-cheiro, alecrim, alecrim-verdadeiro e rosmarinho^{12, 13, 21, 22}. *Cinnamomum zeylanicum* é conhecida popularmente por canela, canela-da-Índia, canela-do-ceião, canela-de-tubo, canela-rainha. Alguns trabalhos relatam atividade antimicrobiana, antifúngica e inseticida^{11, 23}.

A resistência bacteriana aos antibióticos é decorrente de uma evolução natural devido ao uso intenso destas drogas, e está se tornando cada vez mais frequente, principalmente em infecções comuns na população, o que representa um grande problema com relação aos tratamentos hoje existentes no mercado^{3, 5, 15}. Existe a preocupação de não haver classes de antibióticos que possuam efeito contra populações resistentes de bactérias, pois não houveram grandes

descobertas com relação a novas drogas nos últimos anos^{3, 6}. Sendo assim, é notória a necessidade de novos compostos ativos com atividade antimicrobiana de bom espectro³.

As infecções do trato urinário (ITUs) são frequentes em qualquer faixa etária, principalmente em mulheres⁵. Caracteriza-se por invasão e multiplicação bacteriana das vias urinárias, desde o trato mais baixo (uretra, bexiga) até os rins. Em condições normais a urina é estéril, sendo assim, qualquer bactéria presente nesta pode provocar uma ITU^{7, 8, 10, 26, 27}.

O presente trabalho tem como objetivo o estudo da atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de alecrim e canela em cepas de *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp. e *Proteus mirabilis*, alguns dos principais patógenos do trato urinário, comparando os resultados dos dois óleos separadamente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção das cepas e óleos utilizados

As bactérias utilizadas no presente trabalho foram cepas padrão, selecionadas de acordo com a frequência em infecções do trato urinário: *Enterococcus* sp. ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella* sp. ATCC 13883, *Proteus mirabilis* ATCC 45565.

Os óleos utilizados foram obtidos no comércio local.

Preparação do inóculo

O inóculo foi preparado utilizando colônias da bactéria pesquisada, que depois de isoladas, foram transferidas com

Recebido em 25/11/2008

Aprovado em 10/05/2010

*Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade de Uberaba

¹Aluna de Graduação de Biomedicina (UNIUBE), ²Aluna de Graduação em Biomedicina (UNIUBE); ³Mestre em Patologia Clínica pela UFTM; ⁴Doutor em Química Orgânica, ⁵Doutoranda em Microbiologia.

auxílio de uma alça para 5mL de salina estéril até obter-se uma turvação de 0,5 da escala de MacFarland, o que corresponde a 1 a 2×10^8 UFC/mL, de acordo com as normas da NCCLS¹⁷ para suspensão direta das colônias. Os inóculos utilizados em todas as técnicas foram preparados da mesma forma.

CIM e CBM

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para cada agente químico foi realizada utilizando-se o método clássico de diluição sucessiva (método quantitativo de Macrodiluição em caldo) descrito no trabalho de NOGAROTO & PENNA¹⁹ modificada. Selecionou-se doze tubos com rosca (10x 100 mm) e distribui-se 4,5 mL de meio de cultura (BHI) para cada tubo. Autoclavou-se os tubos. Numerou-se os tubos de 1 a 12. Para o primeiro da série adicionou-se 0,5 mL da solução do agente químico; agitou-se o tubo 1 e transferiu-se 0,5 mL para o tubo 2. Repetiu-se a transferência sucessiva até o tubo 10. Adicionou-se em todos os frascos, exceto o de número 12, o inóculo (microrganismos em teste) em um volume de 0,05 mL. Incubou-se em temperatura ótima de crescimento por 24 horas. Procedeu-se à leitura, a CIM é o tubo de maior diluição onde se verifica a ausência de crescimento bacteriano. Onde: tubo 11= controle positivo (BHI + inóculo), tubo 12= controle negativo (BHI + antimicrobiano). As diluições, portanto, foram seriadas 1:10 mg/mL.

Os testes foram feitos em duplicata para cada bactéria e calculou-se posteriormente uma média, aumentando assim a sensibilidade e inibindo a probabilidade de erros. A CBM foi realizada concomitantemente à CIM. Neste caso, as diluições seriadas que não obtiveram turvação para a CIM foram plaqueadas em ágar Mueller Hinton; foi considerado CBM a placa que não obteve crescimento, foram realizadas 2 aplicações de cada bactéria e foi calculada uma média, aumentando assim a sensibilidade e inibindo a probabilidade de erros^{1, 14, 23}.

Método de disco difusão em ágar

O método de disco difusão foi realizado de acordo com o padronizado pela NCCLS¹⁸.

Posteriormente, foram medidos os diâmetros dos halos de inibição, por intermédio de uma régua milimetrada, para determinação da eficácia da atividade antimicrobiana do óleo em estudo. Antes da realização dos testes foi feito um antibiograma com antibióticos específicos para cada bactéria onde se determinou o halo que seria considerado como padrão para o controle positivo. O controle negativo foi realizado com um disco de papel filtro estéril com água destilada. Foi considerado sensível o halo que se aproximou do halo produzido pelo antibiótico utilizado como controle positivo¹⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por novos compostos bioativos provenientes de produtos naturais tem sido considerada uma forma bastante promissora no combate à bactérias causadoras de infecções comuns. Principalmente naquelas em que o uso indiscriminado de antibióticos provocou certa resistência à terapêutica. Diante do conhecimento das propriedades antifúngicas e antibacterianas da Canela e do Alecrim, o presente trabalho testou *in vitro* o óleo essencial destas duas espécies frente a alguns dos principais patógenos das infecções urinárias.

Antes da verificação da atividade antibacteriana dos óleos

essenciais, as concentrações inibitórias mínimas (CIM) e concentrações bactericidas mínimas (CBM) foram verificadas. Estas concentrações verificam qual é a quantidade mínima de agente antimicrobiano que é capaz de inibir e matar o inóculo, respectivamente.

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos na CIM para os dois óleos utilizados e a quantidade de colônias encontradas na CBM correspondente à CIM. Onde observamos uma eficiência maior do óleo de Canela comparando-se com o óleo de Alecrim, o *Proteus mirabilis* apresentou inibição de crescimento até na concentração de 0,001mg/mL do óleo, sendo o que obteve melhor resultado. Analisando a CBM observa-se que somente nos valores para *Escherichia coli* as concentrações determinadas na CIM obtiveram atividade bactericida, as demais apresentaram crescimento de colônias, demonstrando inibir apenas parcialmente o crescimento nas concentrações descritas. Esta variação pode ser explicada pelo fato da CIM ser analisada a olho nu e o número de bactérias presentes durante a avaliação não foi suficiente para turvar o meio; deste modo a concentração de inibição, mesmo que parcial, foi considerada. Da mesma forma o óleo de Canela teve melhores resultados que o de Alecrim, onde houve apenas inibição parcial.

Para avaliação da atividade antibacteriana foi realizado também a técnica de Disco Difusão, onde se verificou a atividade do óleo nas concentrações determinadas nas técnicas de CIM e CBM, comparando os halos obtidos por discos embebidos nestas concentrações com halos produzidos por antibiótico utilizado contra estas bactérias, sendo assim, o óleo teria efeito semelhante. O resultado deste procedimento está representado na tabela 2, onde podemos observar que o Alecrim, apesar de apresentar halos de inibição nestas bactérias, na concentração de 1 mg/mL, não apresentou boa atividade, uma vez que apresenta halos menores que os do antibiótico. Já o óleo de Canela obteve bons resultados nesta concentração, onde utilizando a mesma técnica de comparação, todas as bactérias testadas obtiveram halos considerados sensíveis, com exceção do *Enterococcus* sp, onde o halo foi menor. Observa-se também que se obtiveram halos em concentrações menores, porém não considerados sensíveis por não obterem tamanho equivalente ao do antibiótico testado.

Segundo SILVEIRA *et al.*²⁴ pela metodologia CIM, o óleo de alecrim é ativo frente à *Escherichia coli* na concentração de 0,1 mg/mL por apresentar atividade menor que 1mg/mL. Já na metodologia de disco difusão este óleo não demonstrou atividade nesta mesma concentração por não apresentar halo semelhante ao do controle. Observando o óleo de Canela os resultados foram compatíveis nas duas metodologias.

Os resultados para a Canela, obtidos nas metodologias utilizadas, indicam resultados semelhantes de atividade e estão de acordo com o trabalho de ERNANDES & CRUZ⁴ que avaliaram a atividade de alguns óleos essenciais em vários microrganismos, onde obteve-se resultados ótimos para a Canela, principalmente contra as bactérias Gram-positivas. O presente trabalho verificou boa atividade também em cepas Gram-negativas. Resultados antimicrobianos foram encontrados também para fungos por JHAN *et al.*⁹ e VIEGAS *et al.*²⁸. Segundo ERNANDES & CRUZ⁴, as propriedades que são responsáveis por estes resultados são aldeído cinâmico, o-metoxicinamaldeído e carfone.

Com todos estes resultados, a Canela apresenta potencial para ser utilizada como um agente antimicrobiano, também em casos de infecções urinárias, lembrando que o aprofundamento do estudo deste óleo, para melhor aproveitamento de suas propriedades, é ainda necessário.

O óleo de Alecrim não apresentou grandes resultados nas cepas testadas, isto concorda com PORTE & GODOY²¹, onde o alecrim apresenta pouca ou nenhuma atividade contra bactérias Gram-negativas e grande atividade contra fungos. O trabalho de PARKER & LUZ²⁰ analisou o óleo do alecrim frente fungos e bactérias, dentre elas a *Escherichia coli*, aqui ele apresentou atividade antibacteriana para todas as bactérias testadas, mas melhores resultados foram apresentados contra o fungo. Deste modo, o presente trabalho foi semelhante aos contidos na literatura, uma vez que as bactérias testadas apresentaram pouca sensibilidade quando se observa a técnica CIM e nenhuma sensibilidade quando se observa a técnica de Disco Difusão. Sendo assim o Alecrim tem pouca atividade antibacteriana, talvez estudos mais detalhados mostrem reais atividades em fungos e permitam a sua utilização contra estes microrganismos.

TABELA I
CIM encontrada para os óleos essenciais de Alecrim e Canela em mg/mL e número de colônias em UFC/mL encontradas na CBM correspondente à CIM

óleo	<i>E. coli</i>		<i>Klebsiella p.</i>		<i>Proteus m.</i>		<i>Enterococcus sp</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Alecrim	0,1	12	-	-	-	-	-	-
Canela	0,01	0	0,01	3,93 x 10 ²	0,001	5,59 x 10 ²	0,01	>10 ⁶

(-) não houve inibição de crescimento nas concentrações testadas. Resultados obtidos em duplicata.

TABELA II
Atividade antibacteriana do Alecrim e da Canela pela técnica de disco difusão de Kirby e Bauer nas concentrações de 1, 0,1, 0, 01 e 0, 001mg/mL

mg/mL	Alecrim				Canela				Gentamicina (120 µg)	Teicoplanina (30 µg)
	1	0,1	0,01	0,001	1	0,1	0,01	0,001		
<i>E. coli</i>	9	-	-	-	28	12	-	-	23	-
<i>Klebsiella p.</i>	8	-	-	-	27	11	-	-	22	-
<i>Proteus m.</i>	13	-	-	-	37	18	13	-	22	-
<i>Enterococcus sp</i>	13	-	-	-	15	10	-	-	-	19

(-). Não houve formação de halo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à PROBAC e ao Laboratório Padrão pelo fornecimento de materiais utilizados neste trabalho. E em especial à Camilla Beatriz da Silva pela colaboração.

REFERÊNCIAS

- AVANCINI, C.A.M. I.; WIEST, J.M.; MUNDSTOCK, E. - Atividade bacteriostática e bactericida do decoto de *Baccharis trimera* (Less.) D.C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec, 52 (3), 2000.
- BERTINI, L. M. & et al. - Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. Infarma, 17 (3/4): 80-83, 2005.
- DUARTE, M. C. T. - Atividades antibacterianas de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. MultiCiência: Construindo a história dos produtos naturais. 7, 2006.
- ERNANDES, F. M. P. G. & GARCIA-CRUZ, C. H. - Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microrganismos isolados do meio ambiente. Boletim Centro Pesquisa Processamento Alimentos. 25 (2): 193-206, 2007.
- ESMERINO, L. A.; GONÇALVES, L. G.; SHELESKY, M. E. - Perfil de sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* em infecções urinárias comunitárias. UEPG Bio. Health Sci., 9 (1): 31-39, 2003.
- FURTADO, G. H. C. & et al. - Incidência de *Enterococcus* resistente à vancomicina em hospital universitário no Brasil. Rev. Saúde Pública, 39 (1): 2005.
- GUIDONE, E. B. M. & TOPOVSKY, J. - Infecção urinária na adolescência. Journ. Pediatría. 77(2), 2001.

- JACOCIUNAS, L. V. & PICOLI, S. U. - Avaliação de infecção urinária em gestantes no primeiro trimestre de gravidez. Rev. Bras. Anál. Clín., 39(1): 55-57, 2007.
- JHAM, G. N. & et al. - Identificação do principal composto fungitóxico de óleo de casca de canela. Fitopatolog. Bras., 30 (4): 404-408, 2005.
- KAZMIRCZAK, A.; GIOVELLI, F. H.; GOULART, L. S. - Caracterizações de infecções do trato urinário diagnosticados no município de Guarani das Missões-RS. Rev. Bras. Anál. Clín., 37 (4): 205-207, 2005.
- LIMA, M. da P. & et al. - Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). ACTA Amazônica, 35 (3): 363-366, 2005.
- LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. - Plantas Medicinais no Brasil. Nativas e Exóticas. 1. ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002, 512 p.
- MAFIA, R. G. & et al. - Queima foliar e tombamento de mudas em plantas medicinais causadas por *Rhizoctonia solani* AG1 - 1B. Fitopatolog. Bras., 30 (3), 2005.
- MICHELIN, D. C. & et al. - Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Rev. Bras. Farmacogn., 15 (4): 316-320, 2005.
- MURRAY, P. R. - Microbiologia Médica. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 604 p.
- NASCIMENTO, P. F. C. & et al. - Atividade antimicrobiana de óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Rev. Bras. Farmacogn., 17 (1), 2007.
- NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically; Approved Standat - sixth edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. 54p.
- NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard - Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. 58p.
- NOGAROTTO, S. L. & PENNA, T. C. V. - Desinfecção e Esterilização, São Paulo: editora Atheneu, 2006, 338 p.
- PACKER, J. F. & LUZ, M. M. S. da. - Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. Rev. Bras. Farmacogn., 17 (1), 2007.
- PORTE, A. & GODOY, R. L. de O. - Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. Boletim Centro Pesquisa Processamento Alimentos. 19 (2), 2001.
- PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L.; FREITAS, S. P. - Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). Rev. Bras. Pl. Med., 8 (4): 92-95, 2006.
- SANTURIO, J. M. & et al. - Atividade Antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. Ciênc. Rural, 37 (3), 2007.
- SILVEIRA, L. M. S. & et al. - Antibacterial activity of gervão extract against *Staphylococcus aureus* oxacillin-sensible and oxacillin-resistant strains isolated from biological samples. Rev. Bras. Anál. Clín., 39 (4): 299-301, 2007.
- STEFANELLO, M. E. A. & et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatia polymorpha* ssp *flocosa*. Rev. Bras. Farmacogn., 16 (4): 525-530, 2006.
- TORTORA, G. - Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia. 4. ed., Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000, 574 p.
- VIEIRA, J. M. S. & et al. - Susceptibilidade antimicrobiana de Bactérias isoladas de infecções do trato urinário de pacientes atendidos no Hospital Universitário Bettina Ferro de Souza, Belém-PA. Rev. Bras. Anál. Clín., 39 (2): 119-121, 2007.
- VIEGAS, E.C & et al. - Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. Horticultura Brasileira, 23 (4): 915-919, 2005.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Tamires Marielem de Carvalho
Rua das Hortências, 269
CEP. 38800-000 São Gortado - MG

Identificação e perfil de sensibilidade de *Candida spp* isoladas de urina de pacientes com Candidúria em Iguatu-Ceará*

Identification and profile of sensitivity of isolated *Candida spp* of urine of patients with Candiduria in Iguatu-Ceará

Clérton Linhares Gomes¹, José Elpídio Cavalcante², Francisco Afrânio Cunha¹, Lia Nascimento Amorim¹ & Everardo Albuquerque Menezes¹

RESUMO - O estudo foi realizado para identificar e avaliar a sensibilidade de *Candida spp* isoladas em amostras de urina de pacientes com infecção urinária no município de Iguatu - Ceará. Foram identificadas 24 amostras: 45% eram *C. albicans*, 21% *C. parapsilosis*, 13% *C. tropicalis* e 21% *Candida spp*. *C. albicans* ainda é a espécie de *Candida* mais encontrada em urina, mas observa-se o aumento de outras espécies de *Candida spp*.

PALAVRAS-CHAVE - Candidúria. Antifúngicos. *Candida spp*.

SUMMARY - The study it was carried through to identify and to evaluate the sensitivity of isolated *Candida spp* in urine sample of patients with candiduria in the city of Iguatu - Ceará. 24 samples had been analyzed: 45% was *C. albicans*, 21% *C. parapsilosis*, 21% *C. tropicalis*, 13% *Candida spp*. *C. albicans* still is the species of *Candida spp* more found in urine, but observes the increase of other species of *Candida spp*.

KEYWORDS - Candiduria. *Candida spp*. antifungal agents.

INTRODUÇÃO

O termo candidúria, que não necessariamente envolve a presença de sinais e/ou sintomas de infecções urinárias, pode ser definido como o crescimento de *Candida spp* em culturas de urina coletadas por técnicas apropriadas. Trata-se de evento muito freqüente entre pacientes expostos a fatores de riscos, sendo que até 20% de pacientes hospitalizados podem apresentar candidúria ao longo de sua internação, particularmente pacientes de unidade de terapia intensiva. Este achado laboratorial traz dilemas em relação a sua interpretação, visto que pode ser corresponder à simples contaminação da coleta de urina até candidúria assintomática, cistite ou pielonefrite, candidíase renal primária ou candidíase disseminada com manifestação renal (4).

Nas últimas décadas *C. albicans* e não-*albicans* vêm se tornando cada vez mais importantes como causa de infecção. A transformação de levedura comensal a agente de infecções, ocorre em ambientes hospitalares e é resultado do próprio progresso da medicina: surgimento de grande número de procedimentos invasivos, quebrando barreiras de proteção natural, uso intensivo de antibióticos de amplo espectro e a capacidade de sustentar a vida de pessoas muito debilitadas e susceptíveis a microrganismos oportunistas. (2,10).

A maioria das espécies de *Candida* é naturalmente suscetível aos antifúngicos utilizados na terapia, porém, são conhecidos casos de resistência intrínseca ou adquirida a azólicos, em cepas isoladas de pacientes que foram expostos a terapia prolongada com estes agentes (4).

Os azóis constituem um grupo de fungistáticos sintéticos, com amplo espectro de atividade. Os principais fármacos disponíveis incluem o fluconazol, itraconazol, cetoconazol, posaconazol, ravuconazol, voriconazol, miconazol e econazol. Esses fármacos agem inibindo a enzima citocromo P-450, a lanosina 14 α -desmetilase, que é responsável pela

conversão do lanosterol em ergosterol, o principal esteroide encontrado na membrana celular dos fungos. A depleção de ergosterol altera a fluidez da membrana, interferindo na ação das enzimas associadas à membrana. O efeito final consiste em inibição da replicação. A resistência à anfotericina B, ainda é muito rara (13).

O município de Iguatu é uma das cidades mais importantes do Ceará e está localizada na Região Centro Sul do estado. A cidade conta com uma rede importante de laboratórios de Análises Clínicas. O objetivo desse estudo foi identificar e avaliar o perfil de sensibilidade a antifúngicos de cepas de *Candida spp* isoladas de pacientes com candidúria na cidade de Iguatu.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem das Amostras

Foram incluídas no estudo 24 amostras de *Candida spp* provenientes de pacientes com candidúria atendidos no Laboratório de Análises Clínicas Francisco Cavalcante no município de Iguatu, durante o período de janeiro de 2008 a junho 2008. Os pacientes que apresentavam *Candida spp* na urina, observadas na realização do sumário de urina, tinham a urina semeada em ágar batata dextrose (ABD) com antibióticos e cicloheximida. Esse meio foi utilizado para realizar o isolamento primário. As cepas foram incubadas a 35°C por 24/48 h. Após o crescimento as cepas foram guardadas na geladeira em temperatura de 2 a 8 °C, até o momento do transporte para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, localizado na cidade de Fortaleza.

Identificação das Amostras

As amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas e

Recebido em 22/12/2008

Aprovado em 12/07/2010

*Trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas Francisco Cavalcante da cidade de Iguatu - Ceará e no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará (LM/DACT/FFOE/UFC). Trabalho Financiado pelo CNPQ.

¹Laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará da Universidade Federal do Ceará (LM/DACT/FFOE/UFC). ²Associação dos Farmacêuticos-Bioquímicos da Região Centro Sul do Ceará (AFABRECES). Universidade Regional do Cariri.

Toxicológicas da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará (LM/DACT/FFOE/UFC) e então novamente inoculadas em ABD e incubadas a 35°C por 24/48 h. Após o crescimento as cepas foram semeadas em meio cromógeno Agar Hicrome Candida® e incubadas a 35°C por 24/48 h. Esse meio cromógeno identifica as cepas de leveduras de acordo com a cor produzida; verde: *C. albicans*, azul: *C. tropicalis*, violeta: *C. parapsilosis* e rosa: *Candida* spp. Como controles foram utilizadas as cepas de *C. albicans* ATCC 14053 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. A confirmação das identificações das cepas foi realizada com o teste do microcultivo em ágar arroz com tween 80 (9).

Teste de Sensibilidade a Antifúngicos

A sensibilidade das cepas de *Candida* spp isoladas de pacientes com candidúria foi avaliada pelo método de disco difusão em ágar Mueller-Hinton adicionada de 2% glicose e 0,5 µg/mL de azul de metileno (AMHGAM). Os discos de antifúngicos testados foram: anfotericina B (100µg), fluconazol (25µg) e itraconazol (30µg). As cepas foram inoculadas em meio AMHGAM e incubadas a 35°C por 24h. Decorrido esse período os halos foram medidos e as cepas foram classificadas de acordo com seu perfil de sensibilidade em sensível (S), sensível dose dependente (SDD) e resistente (R), de acordo com o protocolo M44-A2 do CLSI (5). Como controles foram utilizadas as cepas de *C. albicans* ATCC 14053 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Os testes foram realizados em triplicata.

RESULTADOS

Foram isoladas e identificadas 24 cepas de *Candida* spp de amostras de urina. São mostrados nas Figuras 1, 2 e 3 a identificação das cepas de *Candida* spp isoladas de pacientes com candidúria na cidade de Iguatu.

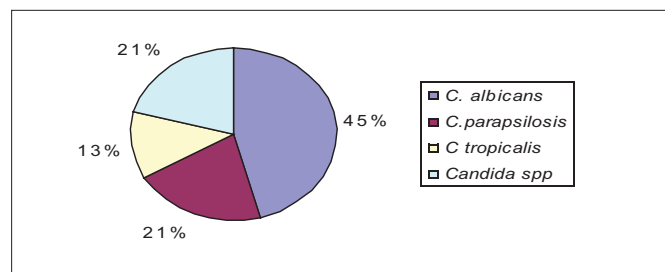


Figura 1: Espécies de *Candida* spp identificadas em amostras de pacientes com candidúria na cidade de Iguatu.

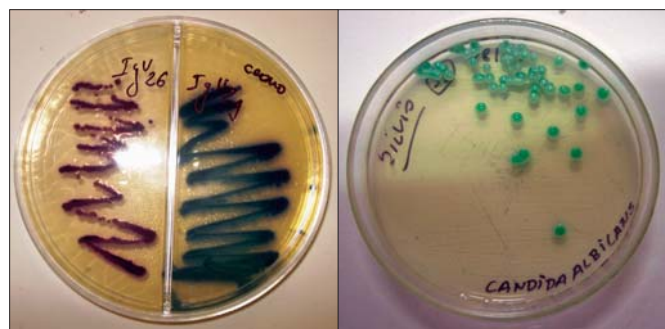


Figura 2: Espécies de *Candida* spp identificadas em Agar Hicrome Candida® isoladas de amostras de urina em Iguatu. Da esquerda para direita *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. albicans*.

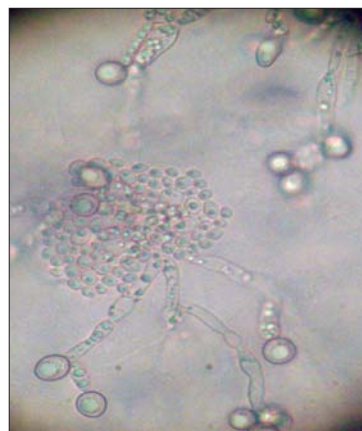


Figura 3: Micromorfologia de *C. albicans* em ágar arroz + tween 80.

Na Fig. 3 é possível observar o microcultivo de *C. albicans* em ágar arroz + tween 80, podem ser observados os clamidósporos, estruturas características de *C. albicans*. Na Tab. 1 é mostrado o perfil de sensibilidade das cepas de *Candida* spp isoladas de amostras de urina em Iguatu.

TABELA I
Perfil de Sensibilidade das cepas de *Candida* spp isoladas de candidúria.

Cepa	Anfotericina B		Fluconazol			Itraconazol	
	S	R	S	SDD	R	S	R
<i>C. albicans</i> (11)	11(100%)	-	3(27%)	6(55%)	2(18%)	10 (90,9%)	1 (9,1%)
<i>C. tropicalis</i> (3)	3(100%)	-	-	2(67%)	1 (33%)	3(100%)	-
<i>C. parapsilosis</i> (5)	5(100%)	-	2(40%)	1(20%)	2(40%)	4(80%)	1(20%)
<i>Candida</i> spp (5)	5(100%)	-	3(60%)	2 (40%)	-	5(100%)	-

S-sensível. R-resistente. SDD- sensível dose dependente.

DISCUSSÃO

O termo candidúria significa presença de *Candida* spp em cultura de urina, não necessariamente envolve a presença de sintomas de infecção urinária. Esse evento é muito comum em pacientes expostos a fatores de risco, tais como: pacientes hospitalizados, diabéticos, pacientes em unidade de terapia intensiva, portadores do HIV, pacientes transplantados, portadores de câncer, imunocomprometidos, idade avançada, sexo feminino, uso de corticóides, antibioticoterapia de amplo espectro, entre outros fatores. Em populações que não estão expostas a fatores de risco, em indivíduos saudáveis e assintomáticos candidúria é um achado raro, podendo ser uma simples contaminação da amostra. Alguns autores sugerem que exista maior relação entre candidúria e infecção urinária quando a contagem de colônias na urina atinge valores na ordem de 1000 a 10.000 UFC/mL (4).

No presente estudo as espécies mais prevalentes foram a *C. albicans* (45%) das amostras estudadas, entretanto as espécies não-albicans foram encontradas em maior número dentro da pesquisa, representando por 55%, dentre as quais 21% *Candida* spp, 21%, *C. parapsilosis* e 13% *C. tropicalis* (Fig. 1). As infecções fúngicas tendem a aumentar com os avanços dos procedimentos médicos, pois aumentam a sobrevida de pacientes imunocomprometidos e favorecem o risco de infecções fúngicas invasivas e oportunistas (6).

KOBAYASHI⁸, em um estudo de episódios de candidúria em hospitais brasileiros observaram, 65,5% de espécies não-albicans: 22,2% *C. tropicalis*, 11,1% *C. parapsilosis* e 11,1% *Candida* spp entre as principais espécies.

PASSOS¹¹ *et al.* observaram 30% de espécies não-albicans em urina de pacientes internados na UTI. Entre essas espécies 7% eram *C. glabrata*, 4,6% *C. tropicalis* e 4,6% *C. parapsilosis* entre as principais espécies.

BINELLI¹ *et al.* observaram 47,8% de espécies não-albicans: 43,5% *C. tropicalis* e 4,3% *Candida* spp entre as principais espécies.

Casuísticas do Brasil confirmam que as três espécies de *Candida* mais prevalentes isoladas de urinas de pacientes hospitalizados foram: *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* (4). O meio cromógeno Agar Hicrome Candida® mostrou-se uma ferramenta importante na identificação das principais espécies de *Candida* encontradas em amostras biológicas, principalmente *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, mas apresenta ainda limitações para identificação das demais espécies (Fig. 2). Os testes de suscetibilidade à drogas antifúngicas vêm se tornando cada vez mais importantes, devido ao aumento das infecções fúngicas e à emergência da resistência a essas drogas. Observa-se nos últimos anos uma mudança no espectro das etiologias das candidemias, atribuída principalmente ao aumento de hospedeiros imunocomprometidos e ao longo uso de terapias antifúngica profilática e empírica, acompanhada da emergência de espécies não-albicans com menor sensibilidade ou, até mesmo, resistência a agentes antifúngicos (12). Todas as cepas de leveduras isoladas foram sensíveis à anfotericina B (Tab. 1), esse fármaco exerce uma função seletiva ligando-se avidamente à membrana de fungos. No nosso estudo observamos que as cepas de *C. albicans* apresentaram baixa resistência frente ao itraconazol (9,1%). Foi detectado 54% de sensibilidade dose dependente (SDD) e 19% de resistência ao fluconazol.

As amostras de *C. parapsilosis* apresentaram resistência de 20% frente ao itraconazol, frente ao fluconazol foi encontrada SDD de 20% e resistência de 40%.

C. tropicalis apresentaram frente ao fluconazol SDD de 33,6% e 66,4% de resistência, sendo totalmente sensível ao itraconazol e à anfotericina B.

As amostras identificadas como *Candida* spp apresentaram frente ao fluconazol 40% de SDD e 60% de sensibilidade, não foi encontrado resistência ao itraconazol.

CROCCO³ *et al.* avaliaram a sensibilidade de cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes com candidíase superficial, foi observado para o fluconazol 86,9% de sensibilidade, 1,3% de SDD e 11,8% de resistência. Para o itraconazol foi encontrado 78,9% de sensibilidade e 14,5% de resistência, a metodologia utilizada foi a do E-test.

Em um estudo realizado por TORTORANO¹⁵ *et al.* foi observado uma resistência de 10,29% ao fluconazol. Menos que 2% das cepas de *C. albicans* foram resistentes ao fluconazol. Resistência ao fluconazol não é sempre associada a resistência a outros azólicos.

No trabalho realizado por WINGETER¹⁶ *et al.* com cepas de *Candida* spp isoladas de pacientes portadores do HIV, foi observada uma resistência de 10% ao fluconazol e 23% de resistência itraconazol. A resistência à anfotericina B ficou situada em 4%.

SILVA¹⁴ *et al.* avaliaram o perfil de sensibilidade a antifúngicos de 31 cepas de *C. albicans* e 6 *C. parapsilosis*. Todas as cepas foram sensíveis ao fluconazol e ao itraconazol.

Suscetibilidade ao fluconazol é significativamente diferente entre cepas de *Candida* não-albicans, por exemplo, 75% de *C. krusei*, 35% de *C. glabrata* e 10-25% de *C. tropicalis* são resistentes (7).

Nossos resultados diferem dos encontrados na literatura científica, sendo encontrado taxas elevadas de resistência e SDD ao fluconazol, as causas para isso deve-se ao fato da interpretação do teste de sensibilidade para leveduras ser

mais complexo do que o teste similar para bactérias. O uso indiscriminado de fluconazol o que seleciona cepas de *Candida* spp resistentes. São necessárias mais estudos e mais amostras para consolidar esses resultados. Esse é um trabalho pioneiro, pois é a primeira vez que se identifica amostras de *Candida* spp da cidade de Iguatu.

CONCLUSÕES

- Em nosso estudo, das 24 amostras analisadas, a *C. albicans* foi a principal espécie mais prevalentes nas amostras de urina provenientes de Iguatu.
- Entre as leveduras do tipo não-albicans, as espécies mais freqüentes foram a *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.
- A *C. parapsilosis* surge como uma espécie em ascensão nas infecções por *Candida* spp.
- O meio cromógeno para leveduras se mostrou importante ferramenta na identificação rápida de leveduras.
- Foram registrados elevados índices de resistência ao fluconazol.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

1. BINELLI CA., MORETTI, ASSIS RS., SAUAIA N., MENEZES PR., RIBEIRO E., GEIGER DCP, MIKAMI Y., MYAJI M., OLIVEIRA MS., BARONE AA., LEVIN AS. Investigation of the possible association between nosocomial candiduria and candidemia. *Clin Microb Infect* 12:538-543. 2006.
2. BLOT SI., VANDEWOUDE, KH., HOSTE, EA., COLARDYN FA. Effects of nosocomial candidemia on outcome of critically ill o patients. *Am J Med* 113(6):480-5.2002.
3. CROCCO, EL., LYCIA M JM., MURAMATU LH., GARCIA C., SOUZA VM., RUIZ LRB., ZAITZ C. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. *An. Bras. Dermatol* 79(6): 689-697. 2004.
4. COLOMBO AL., E GUIMARÃES T. Candidúria uma abordagem clínica e terapêutica. *Revista Brasileira de Medicina Tropical* 40(3) 332-337. 2007.
5. ESPINEL-INGROFF, A. Standardized disk diffusion method for yeast. *Clin Microb Newsl* 29(13): 97-100.2007.
6. EGGIMANN, P, GARBINO, J., PITTET D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 3: 772-.2003.
7. KRCMERY V., BARNES AJ. Non-albicans *Candida* spp. Causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect* 50(4):243-60. 2002.
8. KOBAYASHI CC., FERNANDES OF, MIRANDA KC., SOUSA ED., SILVA MR. Candiduria in hospital patients: Mycopathologia 158:49-52, 2004.
9. LACAZ, CS., PORTO, E., MARTINS, JEC., HEINS-VACCARI, E., MELO, NT. Tratado de Micologia Médica Lacaz. São Paulo: Editora Sarvier, 1104p.2002.
10. OLIVEIRA, R.D.R., MAFFEI, C.M.L., MARTINEZ, R. Infecção urinária hospitalar por levedura do gênero *Candida*. *Rev.Ass Med Brasil* 47,231-235,2001.
11. PASSOS XS., SALES WS., MARCIEL PJ., COSTA CR., MIRANDA KC., LEMOS JA., BATISTA MA., SILVA MMR. *Candida* colonization in intensive care unit patients urine. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 100:925-928. 2005.
12. PFALLER MA, DIEKEMA DJ, JONES RN, MESSER SA, HOLLIS RJ. SENTRY Participants group: Trend in antifungal susceptibility of *Candida* spp. Isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY antimicrobial Surveillance program, 1997 to 2000. *J Clin Microbiol* 40(3):852-6.2002.
13. SANGIARD, D., ODDS. FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect. Dis* 2:73-85.2002.
14. SILVA JO., FERREIRA JC., CANDIDO RC. Atividade enzimática, produção de slime e sensibilidade a antifúngicos de *Candida* sp. *Revista Brasileira de Medicina Tropical* 40(3) 354-355. 2007.
15. TORTORANO AM, KIBBLER C, PEMAN J, BERNHARDT H, KLINGSPOR L, GRILLOT R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 27(5):359-66. 2006.
16. WINGETER MA., GUILHERMETTI E., SHINOBU CS., TAKAKI I., SVIDZINSKI TIE. Identificação microbiológica e sensibilidade in vitro de *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. *Revista Brasileira de Medicina Tropical* 40(3) 272-276. 2007.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Dr. Everardo Albuquerque Menezes.
Rua Capitão Francisco Pedro 1210. Rodolfo Teófilo.
Cep 60430.370. Fortaleza- Ceará.
E-mail: menezes@ufc.br

Análise comparativa entre duas metodologias para dosagem de HDL-C (direto e precipitado) em amostras heterogêneas

Comparative analysis between two high-density lipoprotein cholesterol (direct and precipitation) in heterogeneous samples

Diego Estery da Rocha¹ & Cláudia Cavalett²

RESUMO - O diagnóstico e monitoramento das dislipidemias são avaliados principalmente pelo perfil lipídico. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as variações entre os valores do colesterol da lipoproteína de alta densidade obtidos pelos métodos direto e precipitado, analisando possíveis alterações nos resultados do colesterol da lipoproteína de baixa densidade obtidos pela fórmula de Friedewald. Foram analisadas 187 amostras aleatórias e as dosagens foram realizadas no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da ULBRA-Carazinho-RS. A média dos valores foi mais elevada para o método direto, totalizando uma variação de 27,75%. Dos indivíduos que tinham concentrações do colesterol da lipoproteína de alta densidade >40mg/dL (desejável) obtidos pelo método direto, 31% passaram a ter valores da mesma lipoproteína <40mg/dL (baixo) utilizando o método precipitado. Estes resultados refletiram em alterações na concentração do colesterol da lipoproteína de baixa densidade quando se utilizou a fórmula de Friedewald. Sabendo que a redução da concentração sérica do colesterol da lipoproteína de alta densidade é um fator de risco independente para aterosclerose, torna-se importante o conhecimento das metodologias disponíveis para determinação desta fração lipídica, para evitar falsas interpretações no diagnóstico e monitoramento das dislipidemias.

PALAVRAS-CHAVE - Perfil lipídico, HDL-Colesterol, HDL direto, HDL precipitado

SUMMARY - The diagnosis and monitoring of dyslipidemias are evaluated mainly by the lipid profile. The objective of this research was to assess the variations between the values of cholesterol in high-density lipoprotein obtained by the direct method and precipitate, and if these changes could produce different results from the cholesterol of low density lipoprotein obtained by the Friedewald formula. We analyzed 187 samples and the measurements were performed in the Laboratory Course School of Biomedicine from ULBRA-Carazinho-RS. The average values of cholesterol in high-density lipoprotein between direct methods and precipitate was higher for the direct method, totaling a range of 27.75%. About the individuals who had concentrations of cholesterol in high-density lipoprotein > 40mg/dL (desirable) obtained by the direct method, 31% have been given the same values lipoprotein <40mg/dL (below) using the precipitate. These results reflected changes in the concentration of cholesterol of low density lipoprotein when using the Friedewald formula. Knowing that the reduction in serum concentration of cholesterol in high-density lipoprotein is an independent risk factor for atherosclerosis, it is important to know the methods available to determine this in order to avoid false interpretations in the diagnosis and monitoring of dyslipidemias.

KEYWORDS - Lipid profile, cholesterol of HDL, HDL direct, HDL precipitate.

INTRODUÇÃO

As principais causas de mortalidade no mundo se devem às doenças cardiovasculares, principalmente a aterosclerose. Esta doença é considerada um estado inflamatório ativo e crônico, o qual atinge os vasos sanguíneos periféricos e centrais e seu desenvolvimento está relacionado à presença de fatores de risco (2).

Entre os fatores de risco para o desenvolvimento aterogênico, temos as dislipidemias, a hipertensão, o diabetes, o tabagismo, a inatividade física, antecedentes familiares e síndrome metabólica (11,17). O diagnóstico, o acompanhamento e o tratamento das dislipidemias têm como principal referência as concentrações sanguíneas do colesterol total (CT), dos triglicerídeos (TG), do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e a do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C). Os valores desejáveis e alterados para esses lipídeos séricos têm como referência as III Diretrizes Brasileiras sobre dislipidemias (16).

A hiperlipidemia tem sido demonstrada como um fator de risco importante na mortalidade por doença arterial coronariana. O aumento de CT, juntamente com um aumento da LDL-C e ou diminuição da HDL-C têm sido usados como indicadores de ateroma e, também, estão associados

a acidente vascular cerebral (14). Segundo a última diretriz brasileira sobre dislipidemias publicada em 2007, a meta lipídica a ser alcançada para reduzir a mortalidade por DAC em pacientes de baixo, médio e alto risco coronariano é embasada nas concentrações sanguíneas da LDL-C (4,18). Extensivos estudos demonstraram que a HDL está predominantemente envolvida no transporte reverso do colesterol (TRC), levando principalmente colesterol dos tecidos para o fígado, onde o mesmo será eliminado, tendo, então, um papel fundamental na proteção cardíaca (15, 9, 13). Além do TRC, existem outras ações protetoras importantes da HDL que são: ação antioxidante, estímulo da produção de óxido nítrico que reflete em efeito benéfico na função endotelial, inibição da expressão de moléculas de adesão e ativação de leucócitos, que reduzem a atividade inflamatória no endotélio vascular, regulação do processo de coagulação e fibrinólise (9). Considerando todas as ações protetoras da HDL contra o desenvolvimento da aterosclerose, o aumento de 1mg/dL dos níveis da HDL-C resulta na redução do risco de doença coronariana em 2 a 3 % (12). Com isso, a redução da concentração sérica da HDL-C é considerada um FR isolado para DAC (1).

Os valores do perfil lipídico são as principais referências para a avaliação do risco cardíaco, diagnóstico de dislipi-

Recebido em 20/02/2009

Aprovado em 14/07/2010

*Pesquisa realizada no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS.

¹Acadêmico do Curso de Biomedicina, Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS

²Profª MSc. do Curso de Biomedicina da ULBRA-Carazinho-RS

demias e acompanhamento de tratamento. Desta forma, a escolha dos métodos utilizados para dosagem dos lipídios sanguíneos é de extrema importância. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar as variações entre os valores de HDL-C obtidos por método direto e precipitado, e se essas alterações podem gerar diferentes resultados de LDL-C obtidos pela fórmula de Friedewald.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras

O estudo avaliou 191 amostras aleatórias de uma população heterogênea e totalmente anônima, coletadas de um Laboratório de Análises Clínicas do município de Carazinho-RS, após autorização prévia do responsável técnico pelo estabelecimento, garantindo total sigilo dos dados pessoais dos pacientes. Estas amostras eram de indivíduos de ambos os sexos e de diversas idades. Como critério de exclusão utilizou-se amostras que apresentaram valores de TG acima de 400mg/dL, o que impossibilita o cálculo da LDL-C pela fórmula de Friedewald (18). Deste modo, das 191 amostras, 4 foram descartadas.

Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da ULBRA – Carazinho-RS, onde foram determinadas as concentrações séricas de CT, TG, HDL-C (método precipitado) e HDL-C (método direto). O valor de LDL-C foi obtido por cálculo, utilizando a fórmula de Friedewald, em amostras com TG até 400mg/dL (14). As dosagens foram realizadas em equipamento espectrofotométrico automatizado de Bioquímica, Cobas Mira da Roche?. Foram utilizados kits de reagentes de CT e de TG, utilizando metodologia enzimática-colorimétrica, com valor de referência desejável < 200mg/dL, Limiar elevado 200-239mg/dL e elevado > 240mg/dL para o CT e valor de referência desejável <150 mg/dL, limiar alto 150-199mg/dL, elevado 200-499mg/dL e muito elevado >500mg/dL para os TG (5,8). Para a dosagem da HDL-C precipitado utilizou-se a metodologia por precipitação seletiva das lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL) e para a determinação da HDL-C direto, utilizou-se metodologia acelerador-detergente seletivo, com valores de referência < 40mg/dL baixo e > 60mg/dL alto (6,7). O Laboratório Escola utilizou para controle de qualidade interno o soro controle normal da mesma marca comercial dos reagentes, obedecendo as regras de Westgard para o gráfico de Levey-Jennings.

Análise dos dados

Para a análise e observação, os resultados foram expostos em porcentagem, média e desvio padrão. Para a comparação entre os dois métodos foi utilizado o teste *t* de Student, considerando $P < 0,05$ diferença estatisticamente significativa.

Aspectos éticos e legais

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Luterana do Brasil, Canoas-RS, sob protocolo CEP-ULBRA 2008-441H.

RESULTADOS

Das 187 amostras, 127 (67,9%) eram do sexo feminino e 60 (32,1%) do sexo masculino. A faixa etária encontrada foi de 9 a 100 anos.

A tabela 1 mostra as médias obtidas da HDL-C entre os dois métodos e a diferença estatística obtida entre eles.

A média da HDL-C direto em amostras com CT < 200mg/dL foi de 45,67 e no método precipitado foi de 38,62 ($P < 0,0001$). Amostras com CT > 200 mg/dL as médias entre as duas metodologias também tiveram diferenças estatisticamente significativas (tabela 2).

Para amostras com valores da LDL-C abaixo de 130 mg/dL, a média de HDL-C direto obtida foi de 54,75 mg/dL e pelo método precipitado foi de 44,54mg/dL ($P < 0,0001$). Para amostras com concentrações da LDL-C acima de 130 mg/dL a diferença entre as duas metodologias também foi significativa (tabela 3).

Os valores das médias obtidas da HDL-C pelas duas metodologias utilizando diferentes valores da HDL-C e de TG, também foram estatisticamente significativas (tabela 4 e 5). Os resultados da LDL-C foram obtidos pela fórmula de Friedewald. Quando este foi calculado utilizando valores da HDL-C direto, a média obtida da LDL-C foi de 149,70±43,81mg/dL e com a HDL-C precipitado foi de 160,85±45,28 mg/dL ($P < 0,0001$).

TABELA I
Valores das médias da HDL-C em mg/dL obtidas pelas duas metodologias (direto e precipitado) em 187 amostras aleatórias.

Variável	HDL-C direto	HDL-C precipitado	Varição HDL-C direto-precipitado	(%) de variação	Teste t entre HDL-C direto e precipitado
Geral	53,97±14,26	42,81 ±12,03	11,15 ±7,05	27,75±18,39	$P < 0,0001$
Feminino	57,43 ±14,67	45,77 ±12,41	11,65 ±7,55	27,20±18,88	$P < 0,0001$
Masculino	46,65 ±10,07	36,55 ±8,27	10,10±5,79	28,89±17,41	$P < 0,0001$
Teste t	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P = 0,16$	$P = 0,56$	

* Os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

TABELA II
Médias e desvio padrão em mg/dL dos valores da HDL-C avaliados por diferentes concentrações de CT

Colesterol	HDL-C Direto	HDL Precipitado	Teste t
Até 200 mg/dL	45,67±11,30	38,62±10,25	$P < 0,0001$
>200 mg/dL	56,60±14,13	44,14±12,28	$P < 0,0001$

TABELA III
Médias e desvio padrão em mg/dL dos valores da HDL-C avaliados por diferentes concentrações de LDL-C

LDL	HDL-C direto	HDL precipitado	Teste t
Até 130 mg/dL	54,75±16,37	44,54±12,94	$P < 0,0001$
>130 mg/dL	53,59±13,19	41,98±11,53	$P < 0,0001$

TABELA IV
Médias e desvio padrão em mg/dL dos valores da HDL-C avaliados por diferentes concentrações de HDL-C

HDL-C	HDL-C direto	HDL precipitado	Teste t
Até 40 mg/dL	34,96±4,73	28,00± 4,44	$P < 0,0001$
>40 mg/dL	57,04±12,84	45,20±11,13	$P < 0,0001$

TABELA V
Médias e desvio padrão em mg/dL dos valores da HDL-C avaliados por diferentes concentrações de TG

Triglicérides	HDL-C direto	HDL precipitado	Teste t
Até 150 mg/dL	55,47±14,51	44,56±12,02	$P < 0,0001$
>150 mg/dL	50,87±13,34	39,20±11,33	$P < 0,0001$
Teste t*	$P = 0,03$	$P = 0,003$	

DISCUSSÃO

No presente trabalho, observou-se que existe uma tendência dos valores da HDL-C obtidos pelo método direto fornecerem resultados mais elevados em relação ao método precipitado, considerando extremamente importante alertar o clínico sobre possíveis erros de classificação em pacientes "borderline"

No trabalho realizado por Leuckert *et al.*, 1999 (10), os kits de reagentes utilizados para dosagem direta da HDL-C apresentaram-se dentro dos limites de erros preconizados pela *National Cholesterol Expert Panel II*, 1993 (3), apesar de fornecerem resultados elevados em relação ao método precipitado. Os resultados da avaliação entre as duas metodologias (direto e precipitado) para HDL-C obtidos nesta pesquisa, foram semelhantes aos achados de Leuckert *et al.*, 1999 (10), onde a média dos valores do HDL-C entre os métodos diretos e precipitado foi mais elevada também para o método direto, representando em média, 27,75% acima do precipitado (Tabela 1).

Quando foram comparadas as concentrações da HDL-C com diferentes valores de CT, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos tanto para valores de CT até 200 mg/dL quanto para > 200 mg/dL ($P < 0,0001$). Em pacientes com CT elevado (acima de 200mg/dL), os níveis de HDL-C são de extrema importância na decisão da conduta terapêutica a ser adotada pelo clínico. Neste trabalho, a média da diferença entre os dois métodos de dosagem da HDL-C foi de 12,46 mg/dL na faixa de CT acima de 200mg/dL (Tabela 2). Considerando que esta fração lipídica quando reduzida na corrente circulatória torna-se um fator de risco independente para doença arterial coronariana, essa diferença pode levar o clínico a erros de interpretação de classificação da HDL-C nestes indivíduos (12).

Separando as amostras em grupos que apresentaram HDL-C por método direto até 40 mg/dL e >40 mg/dL, a diferença entre os métodos de dosagem de HDL-C mostraram-se com diferenças estatisticamente significativas tanto abaixo de 40 mg/dL quanto acima (Tabela 4). Dos indivíduos que tinham concentrações da HDL-C >40 mg/dL obtidos pelo método direto, 31% passaram a ter valores da HDL-C <40 mg/dL utilizando o método da HDL-C precipitado. Estes resultados refletiram em alterações nos valores da LDL-C quando se utilizou a fórmula de Friedewald.

A Comparação entre as duas metodologias de dosagem de HDL-C mostraram-se com diferença estatisticamente significativa tanto em LDL-C até 130 mg/dL quanto para >130 mg/dL (Tabela 3). Dos indivíduos que tinham concentrações da LDL-C < 130 mg/dL utilizando as concentrações da HDL-C direto, 9,1% passaram a ter valores da LDL-C >130mg/dL. Em contrapartida nos resultados obtidos na pesquisa de Leuckert *et al.*, 1999 (10), não se observou alterações nos pacientes com relação a mudança de grupo de classificação do ponto de corte da LDL-C. Neste trabalho, a diferença das médias da LDL-C calculadas pela fórmula de Friedewald quando utilizou-se os valores da HDL-C pelas duas metodologias foi estatisticamente significativa, sendo maior quando se utilizou valores do HDL-C pelo método precipitado.

Quando as amostras foram divididas por diferentes concentrações de TG, observou-se que houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois métodos de dosagem da HDL-C (direto e precipitado) tanto para concentrações de TG até 150 mg/dL quanto para concentrações > que 150mg/dL. Entretanto, um dado que chama atenção é que quando dosamos HDL-C pelo método direto, não houve diferença estatisticamente significativa com

as variações de TG, diferentemente da metodologia da HDL-C precipitado (Tabela 5). Ressaltando a importância do valor da LDL-C no diagnóstico e controle terapêutico das dislipidemias, fica evidente a compreensão das diversas metodologias aplicadas para avaliar este parâmetro com a finalidade de evitar erros de conduta pelos clínicos.

CONCLUSÃO

Neste trabalho, as concentrações da HDL-C obtidas pelo método direto se mostraram mais elevada em comparação com as do método de precipitação.

A variação entre as duas metodologias implicaram em diferenças estatisticamente significativas nos valores da LDL-C obtidos pela fórmula de Friedewald.

Com isso torna-se importante o conhecimento das metodologias disponíveis para a determinação da HDL-C para não haver falsas interpretações quanto ao diagnóstico e monitoramento das dislipidemias. Cabe ao Laboratório indicar a metodologia utilizada para dosagem da HDL-C, para que o clínico tendo o conhecimento das metodologias disponíveis possa monitorar e ou diagnosticar corretamente as alterações dos lipídios séricos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Cláudia Cavalett, Prof^a MSc. do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS e à equipe do Laboratório Escola do Curso de Biomedicina do Campus Carazinho-RS.

REFERÊNCIAS

1. BHALODKAR, N. C.; BLUM S.; RANA T.; BHALODKAR A.; KITCHAPPA R.; KIM K. S.; ENAS E. Comparison of levels of large and small high-density lipoprotein cholesterol in Asian Indian men compared with caucasian men in the Framingham offspring study. *American Journal of cardiology*, v.94, 2004.
2. CAMARANO A. A. O envelhecimento da população brasileira: uma contribuição demográfica. *Instit. de Pesq. e Estat. Aplic. – IPEA (Rio de Janeiro)*; p. 1-97, 2002.
3. Expert Panel on the detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults: Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on the detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Jama*, 269:3015-3023, 1993.
4. GRUNDY S. M.; CLEEMAN J. I.; MERZ C. N. B.; BREWER, J. H. B.; CLARK L. T.; HUNNINGHAKE D. B.; PASTERNAK R. C.; SMITH, J. S. C.; STONE N. J. Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *Circulation*, v. 110 p. 227-239, 2004.
5. LABTEST. Técnica para determinação – Colesterol. Ref.: 190606, cat.76, 2006.
6. LABTEST. Técnica para determinação – Colesterol HDL. Ref.: 261107, Ref. 13 2004.
7. LABTEST. Técnica para determinação – HDL LE. Ref.: 141206, cat. 98, 2006.
8. LABTEST. Técnica para determinação – Triglicérides. Ref.: 200606, cat.87, 2004.
9. LIMA, E. S.; COUTO, R. D. – Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *J. Bras. de Patol. e Medic. Lab.*, 42 (3), 2006.
10. LEUCKERT A.; LUCENA D. V.; CASAGRANDE L.; MATTEVI V. S.; CAMARGO J. L. – Nova alternativa para a dosagem de HDL-colesterol. *Ver. Brás. Anal. Clin*: 31(1): 13-6, 1999.
11. NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM ATPIII. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 106: 3143-3421, 2002.
12. NEUMANN, A. I. C. P.; MARTINS, I. S.; MARCOPITO, L.F.; ARAUJO, E. A. C. – Padrões alimentares associados a fatores de risco para doenças cardiovasculares entre residentes de um município brasileiro. *Rev. Pana. de Saúde Públ.*, 22 (5), 2007.

13. PERALTA, R.H.S.; AFFONSO, F.S.; CARVALHO, C.B. – Lipídeos e Lipoproteínas Plasmáticas. In: GARCIA, M.A.T & KANAAN, S. Bioquímica Clínica. Atheneu (Rio de Janeiro), p.111-137, 2008.
14. RADER D. J.; DAVIDSON M. H.; CAPLAN R. J.; PEARS J. S. Lipid and apolipoprotein ratios: association with coronary artery disease and effects of rosuvastatin compared with atorvastatin, pravastatin, and simvastatin. American Journal of Cardiology, v.91, n.5A, p.20C-4, 2003.
15. RIZOS E, MIKHAILIDIS D.P. – Are high density lipoprotein (HDL) and triglyceride levels relevant in stroke prevention? Cardiovasc. Res. 52: 199-207, 2001.
16. SANTOS R. D.; GIANNINI S. D.; FONSECA F. H.; MORIGUCHI E. H.; MARANHÃO R. C.; LUZ P. L.; LIMA J. C.; FILHO W. S.; AVEZUM A.; DUCAN B.; LOURDES-VALE A. A.; SANTOS J. E.; BERTOLAMI M. A.; FALUDI A. A.; FONSECA F. H. – Resumo das III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq. Bras. de Cardiol., 77:1-48, 2001.
17. SMITH J. S.C.; ALLEN J.; BLAIR S.N.; BONOW R.O.; BRASS L.M.; FONAROW

- G.C.; GRUNDY S. M.; HIRATZKA L.; JONES D.; KRUMHOLZ H. M.; MOSCA L.; PASTERNAK R. C.; PEARSON T.; PFEFFER M. A.; TAUBERT K. A. – AHA/ACC Guidelines for secondary prevention of patients with coronary and other atherosclerotic vascular diseases: 2006 update. Endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. Circulation., 113: 72-2363, 2006.
18. SPOSITO, A.C.; CARAMELLI B.; FONSECA F. A. H.; BERTOLAMI M. C.; RASSI J. A. – IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq. Bras. Cardiol; 88, 2007, suplemento I.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Diego Estery da Rocha
Osílio Zolet 76,
CEP: 99500-000, Carazinho-RS
Email: ccavalett@yahoo.com.br



Excelência de Conhecimento em Diagnóstico Laboratorial



Centro de Pós-Graduação

CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU:

ANÁLISES CLÍNICAS
HEMATOLOGIA CLÍNICA
MICROBIOLOGIA CLÍNICA
CITOLOGIA CLÍNICA
GESTÃO EM LABORATÓRIO CLÍNICO



CURSOS DE TREINAMENTO PROFISSIONAL:

MICROBIOLOGIA
HEMATOLOGIA
IMUNOLOGIA

INFORMAÇÕES E INSCRIÇÕES:

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
Rua Vicente Licínio,99 Tijuca
Rio de Janeiro - RJ CEP: 20.270-902

Fone: 21 2187 - 0800
Fax: 21 2187 - 0805

Site: www.sbac.org.br
E-mail: cpg@sbac.org.br

Avaliação do perfil lipídico em alunos de 10 a 18 anos em uma escola particular do município de Carazinho-RS*

Evaluation of lipid profile in students from 10 to 18 years in a private school in the municipality of Carazinho-RS

Samanta Larissa Kerber¹, Ana Graciela Ventura Antunes² & Cláudia Cavalett³

RESUMO - A dislipidemia é um importante fator de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, destacando-se a aterosclerose. Estudos revelam que a formação de placas ateroscleróticas tem seu início na infância e tende a persistir na vida adulta. O objetivo deste estudo foi o de avaliar o perfil lipídico em alunos de uma escola particular do município de Carazinho-RS. As dosagens bioquímicas foram realizadas no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da ULBRA-Carazinho-RS. As médias obtidas de colesterol total, colesterol da lipoproteína de baixa densidade, colesterol da lipoproteína de alta densidade e triglicerídeos, na população em estudo, foram respectivamente de 172,6 mg/dL, 122,1 mg/dL, 35,9 mg/dL e 71 mg/dL. A principal alteração no perfil lipídico no grupo foi o colesterol da lipoproteína de alta densidade baixo (86%), seguido da hipercolesterolemia isolada (30,8%), hiperlipidemia mista (5,6%) e hipertrigliceridemia isolada (3,5%). Considerando os resultados deste estudo, verifica-se a importância da identificação das alterações lipídicas na infância e na adolescência, como medida de prevenção e, se necessário, intervenção neste fator de risco, com a finalidade de reduzir o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e outras associadas a esta.

PALAVRAS-CHAVE - Doenças Cardiovasculares. Perfil lipídico. Crianças e Adolescentes.

SUMMARY - Dyslipidemia is a major risk factor for the development of cardiovascular diseases, especially in atherosclerosis. Studies show that the formation of atherosclerotic plaques has its beginning in childhood and tends to persist in adulthood. The purpose of this study was to evaluate the lipid profile of students at a private school of Carazinho-RS. The biochemical analyses were performed in ULBRA's Biomedicine School Lab, in Carazinho-RS. The averages for total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and triglycerides in the study population, were respectively 172.6 mg/dL, 122.1 mg/dL, 35.9 mg/dL and 71 mg/dL. The main change in lipid profile in the group was low levels of high-density lipoprotein cholesterol (86%), followed by isolated hypercholesterolemia (30.8%), mixed hyperlipidemia (5.6%) and isolated hypertriglyceridemia (3.5%). Considering the results of this study, highlights the importance of the identification of lipid disorders in childhood and adolescence as a prevention measure, and if necessary, intervene in this risk factor, with the aim of reducing the development of cardiovascular diseases and other associated this one.

KEYWORDS - Cardiovascular disease. Lipid Profile. Children and Adolescents

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no Brasil. Bem como, na maioria dos países desenvolvidos destacando-se, a aterosclerose, uma doença inflamatória crônica, que inicia na primeira década de vida, e possui um longo período assintomático, caracterizado por disfunção endotelial, processo inflamatório e obstrução progressiva da luz arterial por placas de ateroma e trombos (17). Há diversos fatores de risco (FR) para o desenvolvimento da doença arterial coronariana (DAC); alguns deles não podem ser alterados, como, por exemplo, fatores hereditários e idade avançada. Contudo, existem fatores que podemos mudar, prevenir e tratar, como o tabagismo, as dislipidemias, a pressão arterial elevada, a falta de atividade física, a obesidade, o estresse e o diabetes (4,13).

Estudos internacionais, como o *Bogalusa Heart Study Group*, evidenciaram que a presença de FR na infância e adolescência, se não prevenidos e/ou tratados, tendem a persistirem na vida adulta, comportamento este, denominado de fenômeno de "trilha" (*tracking*) (1,2,5).

A dislipidemia é um FR modificável, que pode ser alterado com a adoção de hábitos saudáveis como a realização de exercícios físicos e uma dieta alimentar balanceada. Estudos realizados no Brasil indicam que a porcentagem de crianças com hipercolesterolemia varia entre 28 e 35% (6,9,12).

A I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na

Adolescência – I DPAIA (2005) recomenda a análise do perfil lipídico em crianças que tenham pais ou avós com história de aterosclerose com idade menor que 55 anos, tenham pais com colesterol total > 240 mg/dL, apresentem outros FR, como hipertensão arterial, obesidade, tabagismo ou dieta rica em gorduras saturadas e/ou ácidos graxos trans, utilizem drogas ou sejam portadoras de doenças que cursam com dislipidemia (SIDA, hipotireoidismo, etc), possuam manifestações clínicas de dislipidemias (xantomas, xantelasma, arco corneal, dores abdominais recorrentes, pancreatite) (8).

A dislipidemia pode ser determinada pela avaliação laboratorial do perfil lipídico, que é composto pelas concentrações séricas de colesterol total (CT), colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e de triglicerídeos (TG). Dada a importância das alterações do perfil lipídico no desenvolvimento da aterosclerose, este FR deve ser prevenido e ou tratado desde a infância e adolescência. Neste sentido, torna-se importante a realização de estudos em populações específicas que visam o esclarecimento sobre os FR envolvidos e também de medidas preventivas e educativas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi o de avaliar o perfil lipídico de alunos em uma escola particular do município de Carazinho-RS, disponibilizando os resultados aos alunos e/ou responsáveis, com a finalidade de reconhecimento e se necessário, intervenção neste FR avaliado.

Recebido em 04/02/2009

Aprovado em 22/07/2010

¹Biomédica graduada pela Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS

²Profª. MSc. Do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS

³Profª. MSc. Do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil – Campus Carazinho-RS

MATERIAL E MÉTODOS

A população em estudo foi composta por 143 estudantes de 10 a 18 anos, de uma escola particular do município de Carazinho-RS. A participação no estudo foi voluntária, podendo o sujeito desistir a qualquer momento. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, sendo que, para os menores de idade o termo foi assinado pelos pais ou responsáveis.

As amostras de sangue para determinação do perfil lipídico foram obtidas após 12 horas de jejum. As mesmas foram processadas e o soro foi separado em um prazo máximo de 2 horas. As análises realizaram-se no mesmo dia da coleta em equipamento automatizado Cobas Mira-Roche®. As determinações de CT, HDL-C e TG foram obtidas através de kits de reagentes EBRAM®. As dosagens de CT e TG foram realizadas pela metodologia enzimática colorimétrica. A determinação da HDL-C foi obtida pela metodologia direta ultra-sensível. O valor de LDL-C foi obtido pela fórmula de Friedewald (16). Os exames foram realizados no Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) Campus Carazinho-RS. O Laboratório Escola realiza controle interno de qualidade, utilizando dois níveis de soros controles (normal e alterado) da EBRAM®.

Na avaliação das alterações do perfil lipídico nesta população, utilizaram-se os valores de referência da I DPAIA (2005) (Tabela 1). Para a classificação das dislipidemias utilizou-se a classificação fenotípica ou bioquímica adotada pela IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose, sendo que os valores de ponto de corte foram adaptados de acordo com a I DPAIA (2005). Considerou-se hipercolesterolemia isolada (LDL-C \geq 130 mg/dL), hipertrigliceridemia isolada (TG \geq 130 mg/dL), hiperlipidemia mista (LDL-C e TG \geq 130 mg/dL) e HDL-C baixo (HDL-C < 45 mg/dL) (8,16).

A análise dos dados foi realizada por porcentagem, média e desvio-padrão.

RESULTADOS

Foram convidados a participar deste estudo 350 indivíduos de uma escola particular do município de Carazinho-RS, dos quais 143 concordaram em participar da pesquisa. A amostra representou 40,8% do total dos estudantes de 10 a 19 anos da escola. Das 143 crianças e adolescentes participantes, 52,4% eram do sexo feminino e 47,6% do sexo masculino. A idade dos participantes variou de 10 a 18 anos com uma média de 13,9 anos.

As médias obtidas de CT, LDL-C, HDL-C e TG na população em estudo, foram respectivamente 172,6 mg/dL, 122,1 mg/dL, 35,9 mg/dL e 71 mg/dL (Tabela 2).

A Tabela 3 mostra a prevalência de CT, LDL-C, HDL-C e TG obtida nos escolares, conforme os parâmetros que indicam valores de referência desejáveis, limitrofes e aumentados de acordo com a I DPAIA (2005).

A Tabela 4 apresenta a classificação laboratorial das dislipidemias, onde 30,8% dos indivíduos apresentaram hipercolesterolemia isolada, 3,5% hipertrigliceridemia isolada, 5,6% hiperlipidemia mista, 86% HDL-C baixo e 9,1% não apresentaram alterações no perfil lipídico.

O HDL-C baixo foi encontrado em associação com outras alterações do perfil lipídico em 35% dos casos, e aparece isolado em 51% deles. As dislipidemias sem associação com HDL-C baixo foram encontradas em 4,9% dos estudantes.

TABELA I

Valores de referência para o perfil lipídico propostos para faixa etária de 2 a 19 anos pela I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência (I DPAIA, 2005).

Lipídeos	Desejáveis (mg/dL)	Limitrofes (mg/dL)	Aumentados (mg/dL)
CT	< 150	150-169	\geq 170
LDL-C	< 100	100-129	\geq 130
HDL-C	\geq 45	-	-
TG	< 100	100-129	\geq 130

CT= Colesterol Total; LDL-C= colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-C= colesterol da lipoproteína de alta densidade; TG= triglicerídeos.
Fonte: GIULIANO et al., 2005a, p.16 (8).

TABELA II

Médias e desvio padrão em mg/dL dos níveis séricos de CT, LDL-C, HDL-C e TG nos escolares de 10 a 18 anos de uma escola do município de Carazinho-RS.

	CT	LDL-C	HDL-C	TG
Masculino	166,6 \pm 36,8	118,4 \pm 30,4	34,8 \pm 11,7	63,1 \pm 36,2
Feminino	178 \pm 37,1	125,3 \pm 32,7	36,9 \pm 9,4	78,1 \pm 45,4
Total	172,6 \pm 37,3	122 \pm 31,7	35,9 \pm 10,5	71 \pm 41,8

CT= Colesterol Total; LDL-C= colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-C= colesterol da lipoproteína de alta densidade; TG= triglicerídeos.

TABELA III

Porcentagem e número de resultados do perfil lipídico de acordo com os valores de referência da I DPAIA (2005) em escolares de 10 a 18 anos de uma escola particular de Carazinho-RS.

	CT			LDL-C			HDL-C		TG		
	D	L	A	D	L	A	D	BAIXO	D	L	A
Masculino (n=68)	33,8% (23)	20,6% (14)	45,6% (31)	29,4% (20)	35,3% (24)	35,3% (24)	11,8% (8)	88,2% (60)	88,2% (60)	4,4% (3)	7,4% (5)
Feminino (n=75)	20% (15)	26,7% (20)	53,3% (40)	18,7% (14)	44% (33)	37,3% (28)	16% (12)	84% (63)	80% (60)	9,3% (7)	10,7% (8)
Total (n=143)	26,6% (38)	23,8% (34)	49,6% (71)	23,8% (34)	39,8% (57)	36,4% (52)	14% (20)	86% (123)	84% (120)	7% (10)	9% (13)

CT= Colesterol Total; LDL-C= colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-C= colesterol da lipoproteína de alta densidade; TG= triglicerídeos; D= desejável; L= limitrofe; A= aumentado.

TABELA IV

Classificação das alterações do perfil lipídico encontrados nos 143 escolares avaliados de 10 a 18 anos

	Hipercolesterolemia isolada	Hipertrigliceridemia isolada	Hiperlipidemia mista	HDL-C baixo	Sem alterações
Masculino (n=68)	29,4% (20)	1,5% (1)	5,9% (4)	88,2% (60)	7,3% (5)
Feminino (n=75)	32% (24)	5,3% (4)	5,3% (4)	84% (63)	10,7% (8)
Total (n=143)	30,8% (44)	3,5% (5)	5,6% (8)	86% (123)	9,1% (13)

* A porcentagem não totaliza 100% pois alguns alunos se encaixavam em mais de uma alteração do perfil lipídico.

DISCUSSÃO

Estudos populacionais que avaliam a dislipidemia em crianças e adolescentes visam melhorar o conhecimento sobre os FR para as doenças cardiovasculares. Embora, os dados apresentados refiram-se a uma única localidade, este estudo contribui para uma avaliação do panorama nacional permitindo assim que atitudes sejam tomadas a tempo de reverter um quadro desfavorável.

Nos participantes desta pesquisa, a média de CT obtida, para ambos os sexos, foi de 172,6 \pm 37,3 mg/dL, maior que a encontrada em outros estudos semelhantes realizados por Gerber & Zielinsky (1997), no Rio Grande do Sul, e por Moura *et al.* (2000) no estado de São Paulo, onde as médias de CT em escolares foram respectivamente de 167,2 \pm 30,5

mg/dL e 160±30 mg/dL (6,12).

A média de HDL-C encontrada nesta população foi de 35,9±10,5 mg/dL, concentração considerada baixa pelo valor de referência da I DPAIA (2005). Resultados quais, contribuíram para uma prevalência de 86% de escolares com HDL-C baixo. Alteração que, isolada, já reflete um FR para o desenvolvimento de aterosclerose (10). Através de estudo recente, realizado no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas-SP, constatou-se a prevalência de HDL-C abaixo de valor de referência em 48% das crianças e adolescentes participantes (3).

Entre as médias dos lipídios avaliados na população em estudo, somente a de TG encontrou-se dentro do valor de referência desejável, observada em 84% dos participantes. Com isso, verifica-se que os altos níveis de colesterol no grupo provavelmente não se devem ao excesso alimentar, uma vez que aumentariam também as taxas de TG, mas sim à qualidade do alimento ingerido, podendo esse ser rico em gordura saturada e/ou gordura trans ou ainda determinado por um distúrbio genético (8,11).

Dos alunos participantes, 49,6% apresentaram CT aumentado, resultado semelhante foi encontrado em outro estudo realizado em escolares no Rio de Janeiro-RJ, onde 49,2% dos alunos de escolas privadas apresentaram níveis de CT acima de 170mg/dL. No estudo realizado por Moura *et al.*, (2000) no estado de São Paulo, a prevalência de alterações no CT em escolares foi de 35% (12, 14).

Neste estudo, assim como no estudo realizado por Gerber & Zielinsky (1997), não foi encontrado nenhum estudante com LDL-C > 130 mg/dL (valor considerado aumentado), que apresentasse ao mesmo tempo valor de CT desejável (6).

Dessa forma, de uma maneira geral, as meninas apresentaram médias de CT, LDL-C e TG maiores que a dos meninos, dados já encontrados em estudos anteriores (9,12,15). Com a finalidade de dividir os indivíduos quanto ao tipo de alteração lipídica, foi realizada a classificação laboratorial das dislipidemias. Dos 143 escolares avaliados, a HDL-C baixo foi a alteração mais prevalente (86%). Dado considerado alarmante diante das evidências desta alteração lipídica no desenvolvimento da aterosclerose (10). A hipercolesterolemia isolada, determinada pelo valor de LDL-C, foi a segunda alteração mais encontrada (30,8%), seguida da hiperlipidemia mista (5,6%) e depois da hipertrigliceridemia isolada (3,5%). Somente 9,1% dos escolares avaliados não apresentaram alteração no perfil lipídico.

A fração LDL é considerada a mais aterogênica, pois o conteúdo de colesterol desta lipoproteína é o que mais contribui para o aumento do colesterol sanguíneo. A média da LDL-C, no grupo foi de 122±31,7 mg/dL, resultado dentro da faixa limítrofe do valor de referência da I DPAIA (2005). Resultado este que pode ter refletido na prevalência da CT aumentado entre os estudantes (49,6%). A LDL-C tem um papel importante na orientação de medidas terapêuticas para a hipercolesterolemia. As crianças com concentrações séricas da LDL-C > 130 mg/dL devem ser acompanhadas, e têm como primeira opção a orientação nutricional. Os valores da LDL-C para intervenção com fármacos redutores do colesterol sanguíneo dependem dos FR presentes, da história familiar e da magnitude da LDL-C (8).

Sendo assim, os resultados encontrados demonstram uma problemática para a saúde das crianças e adolescentes. Estes determinam a importância da avaliação do perfil lipídico em crianças e a adolescentes, ressaltando a necessidade de estudos interdisciplinares que avaliem outros parâmetros como a obesidade, o estado nutricional das crianças e adolescentes, a prática de atividade física, a pressão arterial e a presença

de doença arterial coronariana prematura na família.

A dislipidemia na infância e adolescência pode ser um fator isolado ou associado a outros FR. De qualquer forma, a identificação precoce das alterações no perfil lipídico visa orientar os pais, responsáveis, alunos e a própria escola, a incentivar a criança e o adolescente a adotar um estilo de vida mais saudável, minimizando os riscos de desenvolvimento de doenças relacionadas às alterações lipídicas como a aterosclerose.

Dessa maneira, estes resultados sugerem a necessidade do desenvolvimento de outros estudos populacionais de maior amplitude e de caráter regional e possivelmente nacional, na faixa etária inferior a 20 anos, visando a detecção e diagnóstico precoce das dislipidemias.

AGRADECIMENTOS

À equipe de pesquisa do projeto "Detecção de fatores de risco para doença arterial coronariana em escolares do município de Carazinho-RS" e à equipe do Laboratório Escola do Curso de Biomedicina da ULBRA-Campus Carazinho-RS.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Este estudo utilizou resultados parciais do projeto de pesquisa intitulado "Detecção de fatores de risco para doença arterial coronariana em escolares do município de Carazinho-RS" que foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da ULBRA, sob o termo de avaliação CEP-ULBRA 2008-211H.

REFERÊNCIAS

- 1 - BERENSON, G. S. – Childhood risk factors predict adult risk associated with subclinical cardiovascular disease. The Bogalusa Heart Study. *Am. J. Cardiol.*, 90 (10C): 3-7, 2002.
- 2 - BERENSON, G. S.; SRINIVASAN S. R. – Cardiovascular risk factors in youth with implications for aging: The Bogalusa Heart Study. *Neurobiol. Aging*, 23 (3): 303-307, 2005.
- 3 - FARIA, C. F.; DALPINO, F. B.; TAKATA, R. – Lipídeos e lipoproteínas séricos em crianças e adolescentes ambulatoriais de um hospital universitário público. *Rev. Paul. Pediatr.*, 26 (1): 54-58, 2008.
- 4 - FISBERG, R. M.; STELLA, R.H.; MARIMOTO, J. M.; PASQUALI, L. S.; PHILIPPI, S. T.; LATORRE, M. R. D. O. – Lipid profile of nutrition students and its association with cardiovascular disease risk factors. *Arq. Bras. Cardiol.*, 76 (2): 143-147, 2001.
- 5 - FREEDMAN, D. S.; KHAN, L. K.; SERDULA, M. K.; DIETZ, W. H.; SRINIVASAN, S. R.; BERENSON, G. S. – The relation of childhood BMI to adult adiposity: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*, 115 (1): 22-27, 2005.
- 6 - GERBER, Z. R. S.; ZIELINSKY P. – Fatores de risco de aterosclerose na infância. Um estudo epidemiológico. *Arq. Bras. Cardiol.*, 69 (4): 231-236, 1997.
- 7 - GIULIANO, I. C. B. & CARAMELLI B. – Dislipidemias na infância e na adolescência. *Pediatria (São Paulo)*, 29 (4): 275-285, 2008.
- 8 - GIULIANO, I. C. B.; CARAMELLI, B.; PELLANDA, L.; DUNCAN, B.; MATTOS, S.; FONSECA, F. H. – I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e na adolescência. *Arq. Bras. Cardiol.*, 85: 1-36, 2005a. Suplemento VI.
- 9 - GIULIANO, I. C. B.; COUTINHO, M. S. S. A.; FREITAS, S. F. T.; PIRES, M. M. S.; ZUNINO, J. N.; RIBEIRO, R. Q. C. – Lipídeos séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC – Estudo Floripa saudável 2040. *Arq. Bras. Cardiol.*, 85 (2): 85-91, 2005b.
- 10 - LIMA, E. S.; COUTO R. D. – Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 42 (3): 169-178, 2006.

- 11 - MENDES, A. G.; MARTINEZ, T. L.; IZAR, M. C.; AMANCIO, O. M.; NOVO, N. F.; MATHEUS, S. C.; BERTOLAMI, M. C.; FONSECA, F. A. H. – Perfil lipídico e efeitos da orientação nutricional em adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. *Arq. Bras. Cardiol.*, 86 (5): 361-365, 2006.
- 12 - MOURA, E. C.; CASTRO, C. M.; MELLIN, A. S.; FIGUEIREDO, D. B. – Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, 34 (5): 499-505, 2000.
- 13 - PORTO, C.C. – Doenças do coração. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005, 1118 p.
- 14 - SCHEER, C.; MAGALHÃES C.K.; MALHEIROS W. – Análise do perfil lipídico em escolares. *Arq. Bras. Cardiol.*, 89 (2): 73-78, 2007.
- 15 - SILVA, R. A.; KANNAN, S.; SILVA, L. E.; PERALTA, R. H. S. – Estudo do perfil lipídico em crianças e jovens do ambulatório pediátrico do Hospital Universitário Antônio Pedro associado ao risco de dislipidemias. *J. Bras.*

- Patol. Med. Lab.*, 43 (2): 95-101, 2007.
- 16 - SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F. A. H.; BERTOLAMI, M. C. – IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.88, p.1-19, 2007. Suplemento I.
- 17 - STULC, T.; CESKA, R. – Cholesterol lowering and the vessel wall: new insights and future perspectives. *Physiol. Res.*, 50 (5): 461-71, 2001.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Prof. Claudia Cavalett
ULBRA Carajazinho
CEP. 99500-000 Carajazinho - RS



Há 42 anos, a SBAC se dedica
ao que existe de mais importante
para o seu laboratório...

VOCÊ!

Associe-se à SBAC

www.sbac.org.br

SBAC

Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

42 anos com você!