



Tópicos Especiais em Biomedicina I

Tópicos Especiais em Biomedicina I

Marie Sumitani

Rafaela Benatti de Oliveira

© 2018 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente

Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação e de Educação Básica

Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico

Ana Lucia Jankovic Barduchi

Camila Cardoso Rotella

Danielly Nunes Andrade Noé

Grasiele Aparecida Lourenço

Isabel Cristina Chagas Barbin

Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisão Técnica

Priscila Perez Domingos

Editorial

Camila Cardoso Rotella (Diretora)

Lidiane Cristina Vivaldini Olo (Gerente)

Elmir Carvalho da Silva (Coordenador)

Leticia Bento Pieroni (Coordenadora)

Renata Jéssica Galdino (Coordenadora)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S955t Sumitani, Marie
Tópicos especiais em biomedicina I / Marie Sumitani,
Rafaela Benatti de Oliveira. – Londrina : Editora e
Distribuidora Educacional S.A., 2018.
248 p.

ISBN 978-85-522-1187-7

1. Análises clínicas. 2. Análises bioquímicas. 3. Análises ambientais. I. Sumitani, Marie. II. Oliveira, Rafaela Benatti de. III. Título.

CDD 610

Thamiris Mantovani CRB-8/9491

2018

Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza

CEP: 86041-100 – Londrina – PR

e-mail: editora.educacional@kroton.com.br

Homepage: <http://www.kroton.com.br/>

Sumário

Unidade 1 Coleta, análises ambientais e doenças epidemiológicas	9
Seção 1.1 - Coleta, etapas analíticas e controle de qualidade	11
Seção 1.2 - Análises ambientais, manejo e descarte de resíduos	27
Seção 1.3 - Doenças epidemiológicas	42
Unidade 2 Parasitologia, microbiologia e urinálise	61
Seção 2.1 - Parasitologia	64
Seção 2.2 - Microbiologia, infecções alimentares e hospitalares	87
Seção 2.3 - Antibiograma, urocultura e urinálise	104
Unidade 3 Alterações bioquímicas e interpretação laboratorial em condições patológicas	126
Seção 3.1 - Interpretação de doenças renais, pH e gasometria	128
Seção 3.2 - Doenças metabólicas	145
Seção 3.3 - Bilirrubina, ensaios enzimáticos e marcadores tumorais	163
Unidade 4 Hematologia e imunologia	185
Seção 4.1 - Anemias, anticoagulantes e sistema ABO Rh	187
Seção 4.2 - Hepatites e títulos de anticorpos	204
Seção 4.3 - Hematologia e imunologia	223

Palavras do autor

Iniciamos agora o estudo de Tópicos Especiais em Biomedicina I. Nesta disciplina relembremos conteúdos importantíssimos vistos durante o curso e mostraremos alguns pontos relevantes que são abordados em concursos para a área de atuação do biomédico, sejam eles públicos, privados e também para o Exame Nacional de Desempenho de Estudantes (Enade). Esta é uma forma de testar seus conhecimentos para o exercício da profissão de biomédico.

Para assimilar o conteúdo que será apresentado e adquirir a competência de compreender e interpretar os exames laboratoriais e suas etapas de execução, em determinadas condições patológicas, e aplicar esse conhecimento em concursos, é essencial que você leia o livro didático, acesse os links de pesquisa e sempre busque além do conteúdo apresentado.

No decorrer da primeira unidade, estudaremos pontos-chave do laboratório clínico, análises ambientais e doenças epidemiológicas. Na segunda unidade, iremos lembrar conceitos de parasitologia, microbiologia e urinálise. Já na terceira unidade, abordaremos alterações bioquímicas e interpretação laboratorial em condições patológicas. E, por fim, na quarta unidade, relembremos conceitos de hematologia e imunologia.

O foco deste livro didático não é mostrar um conteúdo novo, mas sim retomar conteúdos já estudados e aplicá-los.

Ao final deste livro didático, você será capaz de compreender e aplicar conceitos importantes da atuação do biomédico em análises clínicas.

Coleta, análises ambientais e doenças epidemiológicas

Convite ao estudo

Caro aluno, neste momento estamos iniciando o estudo de Tópicos Especiais em Biomedicina I, nesta unidade de ensino veremos alguns pontos importantes para a atuação em laboratório clínico.

Ao final da disciplina você irá compreender e interpretar os exames laboratoriais e suas etapas de execução em determinadas condições patológicas e aplicar esse conhecimento em concursos.

Para compreendermos o assunto e atingirmos as competências da disciplina, segue uma situação hipotética para que você se aproxime dos conteúdos teóricos juntamente com a prática.

André está quase realizando seu sonho de ser biomédico e não poderia estar mais feliz, pois conseguiu um estágio em uma universidade pública de sua cidade. Essa universidade possui diversos laboratórios e André foi informado de que não ficará apenas em um, o que achou ótimo, pois pode aprender mais e ter experiência em áreas diferentes é um diferencial.

Em seu primeiro mês, André foi desafiado a entender e compreender como funciona o controle de qualidade em um laboratório de análises clínicas, ou seja, passando por todas as etapas do processo desde o momento da recepção do paciente até a liberação dos resultados. Já no segundo mês, ele precisou ficar por dentro de como o laboratório lidava com os resíduos gerados e a legislação vigente, o que não é tão simples assim e também pôde compreender sobre a qualidade da água de consumo e o saneamento básico. O terceiro mês

foi um pouco diferente, pois André acompanhou a rotina de um laboratório de pesquisa em epidemiologia que estuda a fundo as doenças como dengue, febre amarela, zika vírus e chikungunya.

Saiba que existem muitos laboratórios onde um biomédico pode atuar e aplicar os conhecimentos adquiridos na graduação e aprofundá-los. Você já pensou que poderá ter de passar por provas para iniciar um estágio, um trabalho ou um concurso? As provas são uma forma de avaliar o conhecimento dos candidatos para selecionar aquele que, em tese, possui maior conhecimento. Dessa forma, é importante retomar alguns conceitos e aplicá-los, para treinar de forma indireta para essas situações.

Na Seção 1.1 abordaremos as etapas analíticas de um laboratório e o controle de qualidade. Já na Seção 1.2, falaremos sobre o manejo dos resíduos gerados nos serviços de saúde, água de consumo e saneamento básico. Por fim, na Seção 1.3 estudaremos as doenças epidemiológicas, como dengue, febre amarela, zika vírus e chikungunya.

Seção 1.1

Coleta, etapas analíticas e controle de qualidade

Diálogo aberto

André começou seu estágio em uma universidade pública e está fascinado, como é bom aprender na prática! Nesse laboratório André será supervisionado por Jerusa. Sua primeira atuação será voltada para diagnosticar os possíveis erros presentes nas etapas analíticas de um laboratório. Para isso, sua supervisora o encaminhou para acompanhar de perto os setores que englobam essas etapas. Após esse acompanhamento ele recebeu uma lista com os prováveis erros de cada área:

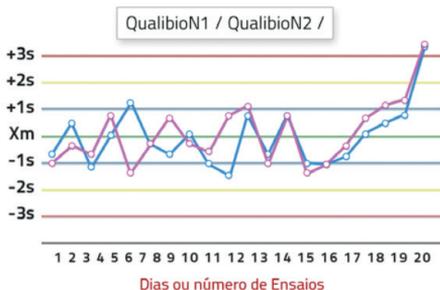
- (1) Etapa pré-analítica (2) Etapa analítica (3) Etapa pós-analítica
- () Tempo de jejum menor ou maior que o recomendado.
- () Erros, falhas e calibragem do equipamento.
- () Perder os resultados do paciente.
- () Garroteamento por tempo prolongado.
- () Coleta de material incorreta.
- () Temperatura ambiente e de reações inadequada.
- () Troca ou perda da identificação das amostras.
- () Contaminação entre as amostras dos pacientes.
- () Presença de interferentes na amostra, por exemplo, hemólise e lipemia.
- () Tempo para liberar os dados acima do proposto.
- () Processamento do material biológico inadequado.
- () Erros e falhas humanas, como na pipetagem de amostras, no preparo de soluções e reagentes, ao realizar cálculos.
- () Pedido de exame incorreto.
- () Perda ou interpretação errada da requisição do exame.
- () Interpretação errônea do resultado.
- () Transporte das amostras inadequado.
- () Erro ao transcrever o resultado para o sistema.

- () Identificação errônea das amostras do paciente.
- () Orientação inadequada ao paciente.
- () Tempo de reação inadequado.
- () Utilização errada de tubos contendo aditivos para obter determinado espécime.
- () Vidrarias e recipientes mal lavados.

Com base em seus conhecimentos, você consegue identificar quais são os erros mais comuns em cada etapa analítica em um laboratório clínico? Você saberia dizer à supervisora quais são as maneiras de minimizar esses erros em cada etapa?

Após entender as etapas laboratoriais André foi aprender mais do controle de qualidade laboratorial interno e Jerusa deixou-o como responsável pelo controle de alguns analitos. Ao analisar o sistema que gera os gráficos de registro de controle, ele notou que estava com não conformidades (conforme Figura 1.1), e relatou a sua supervisora.

Figura 1.1 | Gráfico de Levey-jennings



Fonte: Basques (s.d.), p. 5).

Analisando o gráfico encontrado por André, você consegue identificar quais regras de Westgard foram violadas? Que tipo de erro ocorreu? Quais são as causas prováveis e as medidas corretivas?

Não pode faltar

Você já pensou a respeito da real importância dos laboratórios clínicos em nossas vidas e no exercício da medicina? Os laboratórios são importantes, pois no decorrer da nossa vida realizamos exames para saber se está tudo bem com a saúde e os resultados auxiliam

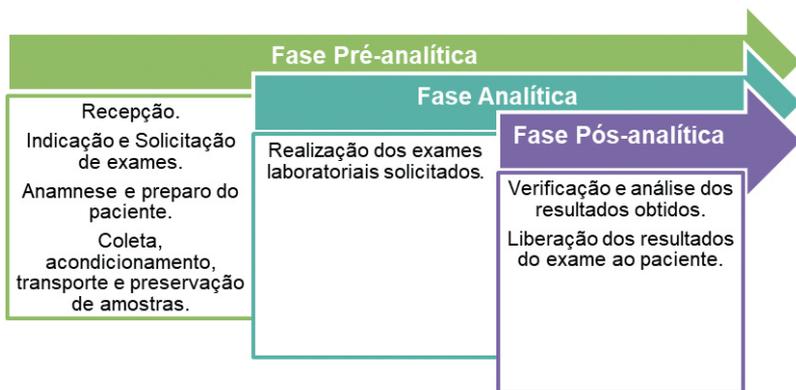
os médicos na conduta clínica, no diagnóstico e na prescrição de tratamentos. Diante dessa importância, os laboratórios visam fornecer um atendimento eficiente e seguro, além de proporcionar resultados rápidos e confiáveis.

Agora, imagine uma pessoa recebendo um resultado errado de um exame. Como o laboratório pode extinguir os erros? Os erros sempre existirão, visto que somos seres humanos passíveis de cometê-los por diversos motivos e trabalhamos com equipamentos que também podem falhar. Cerca de 60 a 70% dos diagnósticos são feitos com base em exames laboratoriais, os quais influenciam na admissão, alta hospitalar e terapêutica. As consequências dos erros, então, são incalculáveis e graves, podendo interferir diretamente em um diagnóstico, ocasionando resultados falsos positivo, falsos negativo e custos desnecessários para todas as partes.

Dessa forma, para controlar os erros laboratoriais, averiguar onde eles acontecem com maior frequência e, então, solucioná-los, as análises laboratoriais compreendem três etapas: a fase pré-analítica, analítica e a pós-analítica, todas elas fazem parte de um sistema de qualidade laboratorial.

Na Figura 1.2 é possível verificar quais elementos da rotina laboratorial estão presentes em cada etapa.

Figura 1.2 | Etapas dos procedimentos de análises laboratoriais



Fonte: Oliveira (2017, p. 14).

A fase pré-analítica concentra a maior parte dos erros laboratoriais, de 46 a 70% dos erros, que são:

- Tempo de jejum menor ou maior que o recomendado.
- Garroteamento por tempo prolongado.
- Coleta de material incorreta (aqui nos referimos a todos os líquidos biológicos coletados, por exemplo a flebotomia (coleta de sangue venoso), urina, fezes, etc.).
- Pedido de exame incorreto.
- Perda da requisição ou interpretação errada do exame (o que pode acontecer quando a letra do médico está ilegível).
- Transporte inadequado das amostras.
- Identificação errônea das amostras do paciente.
- Orientação inadequada ao paciente.
- Utilização errada de tubos contendo aditivos para obter determinado espécime.
- Processamento inadequado do material biológico.

A fase pré-analítica é essencial para garantir o que falamos no início: atendimento eficiente e seguro. De forma geral, essa etapa compreende o que dentro do laboratório clínico chamamos de "setor de coleta".



É comum encontrarmos em concursos questões que envolvam a parte pré-analítica, como essa questão abordada no concurso para biomédico IFTO - 2014, que fala da questão da contaminação dos tubos contendo anticoagulantes durante a troca deles.

Figura 1.3 | Questão de concurso IFTO - 2014

Na coleta de múltiplos tubos, há possibilidade de contaminação por reagentes internos de um tubo para - outro durante - a troca de tubos. Por isso, a CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute e a SBPC/ML – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina laboratorial, recomenda uma sequência de preenchimento de tubos com amostras de sangue. Nos itens abaixo, marque a alternativa correta para a sequência de tubos supracitada:

- A) Tubo para hemocultura, Tubo com citrato, Tubos para soro ativador de coágulo, Tubos com heparina, Tubos com EDTA, Tubos com fluoreto.
- B) Tubos com EDTA, Tubos para soro ativador de coágulo, Tubo para hemocultura, Tubo com citrato, Tubos com heparina, Tubos com fluoreto.
- C) Tubos para soro ativador de coágulo, Tubos com EDTA, Tubo para hemocultura, Tubo com citrato, Tubos com heparina, Tubos com fluoreto.
- D) Tubos com fluoreto, Tubo para hemocultura, Tubo com citrato, Tubos para soro ativador de coágulo, Tubos com heparina, Tubos com EDTA.
- E) Hemograma, Bioquímica e Sorologia.

Fonte: <<https://goo.gl/RCwGyg>>. Acesso em: 23 fev. 2018.

Qual alternativa você assinalaria como correta? Você teve dificuldades para responder essa questão?

Para você relembrar um ponto importantíssimo durante a coleta de sangue venoso, a ordem correta dos tubos, de acordo com a CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) e a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina laboratorial, é: tubo branco, tubo azul (citrato de sódio), tubo vermelho e/ou amarelo (seco ou com ativador de coágulo), tubo verde (heparina), tubo roxo (EDTA), tubo cinza (fluoreto/EDTA).

A fase analítica compreende a execução do exame propriamente dito. A porcentagem de erros nessa etapa é menor, de 7 a 13% do total de erros, e os mais comuns são:

- Erros, falhas e calibragem do equipamento.
- Erros e falhas humanas, por exemplo, na pipetagem de amostras, no preparo de soluções e reagentes, ao realizar cálculos.
- Vidrarias e recipientes mal lavados.
- Tempo de reação inadequado.
- Temperatura ambiente e de reações inadequado.
- Perda da amostra do paciente.
- Troca ou perda da identificação das amostras.
- Contaminação entre as amostras dos pacientes.
- Presença de interferentes na amostra, por exemplo, hemólise e lipemia.

Por fim, a fase pós-analítica é o momento de verificar o resultado e liberá-lo para o paciente. A porcentagem de erros varia de 19 a 47%, e os mais comuns são:

- Interpretar de forma errônea o resultado.
- Perder os resultados do paciente.
- Erro ao transcrever o resultado para o sistema.
- Tempo para liberar os dados acima do proposto.

Assim, para garantir que todas essas etapas ocorreram satisfatoriamente, identificar as possíveis falhas que possam acontecer ou aconteceram, e agir prontamente para evitar ou diminuir as consequências e recorrência dessas falhas, os laboratórios aplicam ferramentas da qualidade laboratorial em um processo chamado de garantia da qualidade. O controle de qualidade é alcançado quando o laboratório tem pleno controle das etapas laboratoriais citadas.

Uma das estratégias para controlar as etapas analíticas é a padronização, ou seja, realizar de forma padronizada todas as etapas de um exame. Com a padronização é possível monitorar a qualidade do resultado, mas como é possível padronizar e fazer que pessoas diferentes executem o exame da mesma forma? Por meio de um Procedimento Operacional Padrão (POP) ou instrução de trabalho (IT). Esses documentos devem ser aprovados e deixados à disposição dos funcionários.

A definição de controle de qualidade está pautada no envolvimento de todos os membros da companhia e objetiva melhorar e garantir a qualidade do produto final. No caso dos laboratórios, o produto é a confiança no resultado final do exame, e para conseguir esse produto o laboratório conta com o controle de qualidade interno (intralaboratorial) e externo (interlaboratorial).

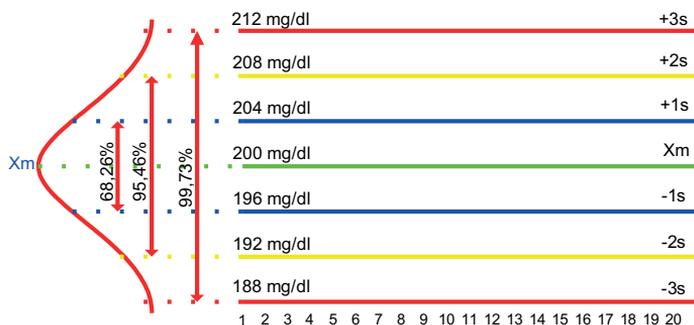
O controle de qualidade interno ou intralaboratorial é aplicado de forma que a monitorização da fase analítica é diária e consiste no uso de controles, os quais têm os mesmos componentes das amostras dos pacientes, são soros humanos com os valores dos analitos conhecidos. Os controles comprados comercialmente vêm com uma lista de intervalos de valores esperados para cada componente, por exemplo, glicose, triglicérides, colesterol, sódio, potássio, porém esses resultados devem ser confirmados pelo laboratório pelo seu sistema analítico. O soro controle precisa ser analisado juntamente com as amostras dos pacientes, utilizando os mesmos métodos, condições do teste e os reagentes idênticos. O correto é utilizar no mínimo dois tipos de controle e testá-los pelo menos uma vez ao dia.

Os controles podem ter seus resultados dentro da normalidade, chamado de controle normal, o que significa que terá seus valores iguais aos da referência para cada analito. Por exemplo, os valores normais de proteínas totais no sangue são 5,7 a 8,2 g/dL; se estiver fora da normalidade, abaixo ou acima, chamado de controle anormal, significa que estes valores estarão abaixo ou acima dos valores de referência, no caso do analito proteínas totais, esse controle poderia ser abaixo de 5,7 g/dL ou acima e 8,2 g/dL, lembrando que cada laboratório pode construir seus valores de referência, por isso temos variação de um laboratório para outro. Os controles podem ser usados de acordo com a necessidade e tamanho dos laboratórios, por exemplo, serem usados em cada lote de amostras ao menos uma vez por período (turnos), quando o resultado do paciente seja passível de questionamentos, como acontece após conserto e calibração dos equipamentos e na troca de lote dos reagentes.

Os resultados dos soros controles são usados para monitorar as análises diariamente, e precisam ser inseridos em um registro de controle de qualidade de cada analito individualmente, um

dos controles mais utilizado é conhecido como gráfico de Levey-Jennings. Para elaborar esse gráfico é preciso determinar o valor da linha média (X_m) e os desvios-padrão (DP), sendo este último determinado durante a fase inicial (determinação dos valores), para o qual deve ser utilizado os valores fornecidos pelo fabricante do material. Na Figura 1.3 você pode observar que as médias e desvios foram determinados pelo laboratório e os valores dos controles serão plotados neste gráfico, além disso, este pode ser interpretado como uma representação da curva de Gauss se for girado em 90 graus, como representado. Lembre-se de que consideramos um intervalo de confiança de 95% ou erro $< 0,05$, o que significa que 95% dos resultados estarão na faixa de + ou - 2DP.

Figura 1.4 | Exemplo de elaboração do gráfico de Levey-Jennings



Corridas Analíticas

Fonte: Basques (Is.d.), p. 15).

Essa forma de plotar os resultados em gráfico iniciou-se em 1931, tendo sido criado pelo estatístico Walter A. Shewhart e utilizado pela indústria como forma de controle. Levey e Jennings introduziram essa ferramenta no laboratório em 1950 e, posteriormente, Henry e Segalove a aprimoraram, incluindo os limites de ± 3 desvios-padrão.

Toda semana o gráfico precisa ser analisado para verificar sua tendência, desvio e perda da exatidão e precisão. A tendência ocorre quando os resultados do controle apresentam, consecutivamente, valores aumentados ou diminuídos na mesma direção, isso pode ocorrer por causa de padrão ou reagente deteriorado ou, ainda, problemas no aparelho. Já o desvio acontece quando os resultados do controle permanecem em um único lado da média, pode ocorrer por causa da variação na concentração do padrão ou

devido a alterações de reagentes mais sensíveis. A perda de exatidão (se refere a quão próximo um resultado está de seu valor real) pode acontecer quando há o desvio entre os pontos de referência (média), e a causa pode ser a calibração incorreta, ocasionando erro sistemático, sensibilidade de reagente, uso de temperaturas diferentes da anterior, tempo de incubação menor ou maior e leitura em comprimento de onda diferente. Por fim, na perda de precisão (referente à reprodutibilidade dos resultados ou à proximidade destes), a maioria dos resultados próximos aos Limites Aceitáveis de Erro (LAE) e pouco próximos à média acontece por mal desempenho do analista, como pipetagem ruim, falta de homogeneização, aparelhos descalibrados, material sujo e temperaturas incorretas. Mensalmente o laboratório deve passar pelo processo de calcular uma nova média, o desvio-padrão e o coeficiente de variação, e compará-los com as do período anterior; se necessário, corrigir os instrumentos de trabalho.

Os laboratórios podem optar por regras únicas ou regras múltiplas na aplicação do controle de qualidade com o gráfico de Levey-Jennings. O controle de qualidade com regras únicas utiliza limites como $x +$ ou $-$ 2DP ou 3DP (média \pm 2 ou 3 desvios-padrão) pode conferir um problema ao laboratório com a regra 12s, indicando falso alarme, rejeitando bons resultados e aumentando o trabalho e custo do laboratório. O controle de qualidade com regras múltiplas utiliza uma série de combinações de critérios de decisão ou regras de controle. As regras múltiplas de Westgard são compostas por regras de controle para avaliar a aceitabilidade de uma corrida analítica. Para aplicar essas regras é preciso utilizar 2 ou 4 medidas por corrida, ou seja, é necessário usar dois controles diferentes. Uma das vantagens das regras múltiplas é a diminuição de falsas rejeições e o aumento na identificação dos erros. Vamos resgatar o conhecimento das regras? Temos regra de advertência ou alerta, como a 12s, e regras de rejeição, que são 22s, 13s, R4s, 41s e 10Xm. Podemos ter algumas modificações da regra para adequar, como a 5 Xm, 7 Xm, 8 Xm e 12 Xm. Na tabela a seguir você verá a definição de cada uma delas.

Tabela 1.1 | Regras múltiplas de Westgard

REGRAS	SIGNIFICADO
1_{2s}	Uma medição excede dois desvios-padrão acima ou abaixo da média. O resultado do paciente pode ser liberado.
2_{2s}	Dois medições consecutivas excedem dois desvios-padrão acima ou abaixo da média. Rejeitam-se as amostras.
1_{3s}	Uma medição excede três desvios-padrão acima ou abaixo da média. Rejeitam-se as amostras.
R_{4s}	Uma medição excede dois desvios-padrão acima e a outra dois desvios-padrão abaixo da média em uma mesma corrida.
4_{1s}	Quatro medições consecutivas excederam o mesmo limite de um desvio-padrão acima ou abaixo da média. Rejeitam-se as amostras.
10_{xm}	Dez medições consecutivas permaneceram do mesmo lado em relação à média.

Fonte: adaptada de Westgard ([S.d.]).

Relacionando as regras violadas com os tipos de erro fica mais fácil de identificar a causa e solucionar o problema. Os erros sistemáticos em sua maioria ocorrem ao violar as regras 22_s , 41_s , 10_{xm} (e as variações 5_{xm} , 7_{xm} , 8_{xm} e 12_{xm}), e os erros aleatórios ao violar as regras 13_s e $R4_s$. Pode ocorrer de a regra 13_s , eventualmente, indicar um erro sistemático de grande proporção ou magnitude, como quando os dois controles violam essa regra.



Assimile

O controle de qualidade laboratorial é composto pelas etapas analíticas: pré-analítica, analítica e pós-analítica. Os erros contidos nessas etapas podem ser minimizados com o uso de POPs e a capacitação contínua dos funcionários. Além disso, o controle interno de qualidade faz o monitoramento da fase analítica do processo, que como vimos é o momento propriamente dito da realização do exame. O controle interno conta com o uso de: controles, padrão, registro de controle da qualidade (gráfico de Levey-Jennings), regras únicas e regras múltiplas (regras de Westgard).

O controle externo da qualidade é obrigatório em um programa de controle de qualidade, e é exigência da RDC 302. Seu objetivo é padronizar os resultados de diferentes laboratórios ao comparar

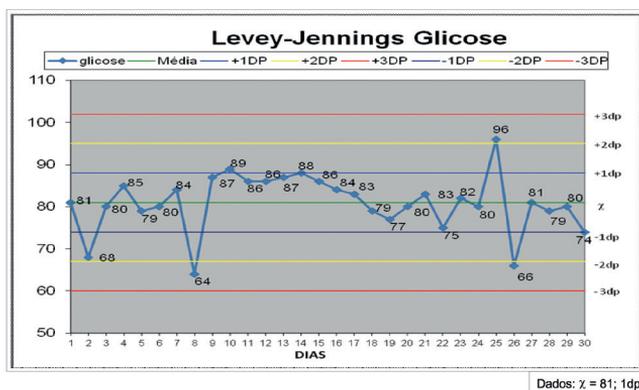
alíquotas do mesmo material. Esses programas possuem meios para analisar regularmente a exatidão dos resultados fornecidos pelos laboratórios. O laboratório precisa contratar esse tipo de serviço, ou seja, há empresas especializadas nisso.



Refleta

Vamos colocar na prática os conhecimentos de gráfico de Levey-Jennings + Regras múltiplas de Westgard? A seguir temos uma questão do concurso Coremu 2012:

Figura 1.5 | Controle de qualidade intralaboratorial



Fonte: <<https://centrodelecao.ufg.br/2011/coremu2012/provas/102.pdf>>. Acesso em: 4 mar. 2018.

Após analisar o gráfico você saberia dizer quais regras foram violadas? A amostra será rejeitada?



Pesquise mais

Leia mais sobre a gestão da qualidade em laboratórios de análises clínicas em:

MARTELLI, Anderson. Gestão da qualidade em laboratórios de análises clínicas. **UNOPAR Cient. Ciênc. biol. saúde**, Londrina, n. 13, p. 363-368, 2011. Disponível em: <<http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/download/1097/1052>>. Acesso em: 5 mar. 2018.

Acompanhe também a implantação de uma abordagem complementar para o controle da qualidade em:

BERLITZ, Fernando de Almeida. Controle da qualidade no laboratório clínico: alinhando melhoria de processos, confiabilidade e segurança do paciente. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 46 n. 5, p. 353-363, out. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442010000500003>. Acesso em: 5 mar. 2018.

Sem medo de errar

André acompanhou momentos extremamente importantes em um laboratório clínico na universidade pública de sua cidade, onde está fazendo estágio. Após acompanhar todos os setores do laboratório, ele aprendeu que os erros mais comuns nas etapas analíticas são:

- **Fase pré-analítica:** tempo de jejum menor ou maior do que o recomendado; garroteamento por tempo prolongado; coleta incorreta de material; pedido de exame incorreto; perda da requisição ou interpretação errada do exame; transporte inadequado das amostras; identificação errada das amostras do paciente; orientação inadequada ao paciente; utilização errada de tubos contendo aditivos para obter determinado espécime.; processamento do material biológico inadequado.
- **Fase analítica:** erros, falhas e calibragem do equipamento; erros e falhas humanas (na pipetagem de amostras, no preparo de soluções e reagentes, ao realizar cálculos, vidrarias e recipientes mal lavados, tempo de reação inadequado, temperatura ambiente e de reações inadequado; perda da amostra do paciente; troca ou perda da identificação das amostras; contaminação entre as amostras dos pacientes; presença de interferentes na amostra (hemólise e lipemia).
- **Fase pós-analítica:** interpretação errada do resultado; perda dos resultados do paciente; erro ao transcrever o resultado para o sistema; tempo acima do proposto para liberar os dados.

Logo, André pôde discutir com sua supervisora as maneiras de minimizar os erros, que são: com treinamento dos funcionários

de forma constante e padronização de todas as etapas de cada exame (do início ao fim) com o uso de POPs, fazendo que todas as pessoas que trabalham na mesma função executem de forma igual os procedimentos.

Quando passou para o controle de qualidade interno André encontrou não conformidades na análise de um analito. Interpretando o gráfico da Figura 1.1, é possível verificar que do dia 15 ao 20 os resultados dos dois controles seguem o mesmo padrão e direção, aumentando em ambos; a regra violada é a 13s, que quer dizer que as medições excederam três desvios-padrão acima da média, as amostras devem ser rejeitadas e apontam um erro sistemático. As prováveis causas dessa violação são: contaminação do eletrodo, problemas com o controle ou calibrador e correção, que seria a limpeza dos eletrodos, uma nova calibração e análise da substituição do controle.

Avançando na prática

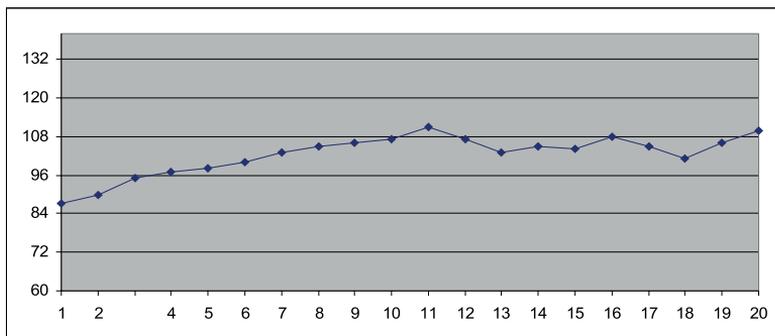
Controle de qualidade interno em concursos, e agora?

Descrição da situação-problema

Ana Júlia é biomédica e deseja muito trabalhar em um hospital público na área de bioquímica, então estuda muito para passar em concursos na área. Em um dos concursos que prestou teve muita dúvida para responder uma questão de controle da qualidade laboratorial interno. A questão trazia o gráfico de Levey-Jennings e questionava sobre quais regras de Westgard haviam sido violadas.

Vamos ajudar Ana Júlia a gabaritar essa questão? A seguir temos a questão do 9º Concurso Público para o Provimento de Cargos Públicos para Atuação como Bioquímico no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), de 2007:

Figura 1.6 | Controle de qualidade intralaboratorial:



Considerar 96 como Média e Desvio Padrão = 12.

- (A) Este gráfico não apresenta nenhuma não-conformidade.
- (B) Houve uma violação da regra 1:3s.
- (C) Houve uma violação da regra 2:2s.
- (D) Houve uma violação da regra 4:1s.
- (E) Houve uma violação da regra 10:X.

Fonte: <<https://www5.unioeste.br/cogeps/arquivos/concursos/interno/2007/09cphu/provas/016.pdf>>. Acesso em: 7 mar. 2018.

Após analisar o gráfico, você saberia responder qual regra foi violada?

Resolução da situação-problema

Em primeiro lugar, vamos entender esse gráfico, ele traz a seguinte informação: a média é 96 e cada desvio-padrão é 12, logo o ponto -1 DP é 84 e $+1$ DP é 106, e assim por diante. Dessa forma, você conseguirá visualizar onde estão os desvios-padrão para identificar as regras que foram violadas. Depois disso é possível ver que do dia 1 ao dia 10 os valores dessas dez medições se apresentam de forma consecutiva, do mesmo lado em relação à média, ou seja, a regra violada é a 10Xm ou 10:X, e a alternativa correta no caso seria a E.

Faça valer a pena

1. A fase pré-analítica concentra a maior parte dos erros laboratoriais, sendo aproximadamente de 46 a 70% dos erros. Em relação a essa etapa laboratorial, analise os erros abaixo:

- I. Garroteamento por tempo prolongado.
- II. Contaminação entre as amostras dos pacientes.

- III. Identificação errônea das amostras do paciente.
- IV. Presença de interferentes na amostra, por exemplo, hemólise e lipemia.
- V. Utilização errada de tubos contendo aditivos para obter determinado espécime.
- VI. Erro ao transcrever o resultado para o sistema.

Após análise das afirmativas, assinale a alternativa que contenha os erros pertinentes à fase pré-analítica:

- a) I, II e III.
- b) I, II e IV.
- c) I, III e V.
- d) II, IV e VI.
- e) IV, V e VI.

2. O controle de qualidade interno ou intralaboratorial é aplicado de forma que a monitorização da fase analítica é diária, sobre esta fase analise as afirmativas a seguir:

- I. O controle de qualidade interno consiste no uso de controles com os mesmos componentes diferentes das amostras dos pacientes.
- II. Os controles são soros humanos com os valores dos analitos conhecidos.
- III. Os controles comprados comercialmente vêm com uma lista de intervalos de valores esperados para cada componente.
- IV. Os resultados do controle comercial não precisam ser confirmados pelo laboratório por meio de seu sistema analítico, pois já estão validados.
- V. O soro controle precisa ser analisado juntamente com as amostras dos pacientes, utilizando os mesmos métodos, condições de teste e reagentes idênticos.
- VI. Os controles podem ter seus resultados dentro da normalidade, sendo chamados de controle normal, ou podem estar fora da normalidade, abaixo ou acima, sendo chamados de controle anormal.

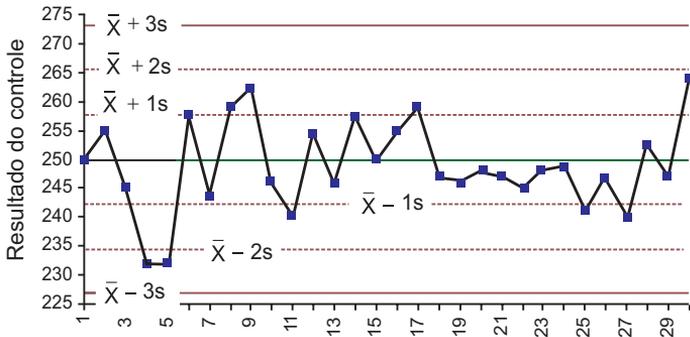
Após análise das afirmativas sobre o controle, assinale a alternativa correta:

- a) I, II, III e IV.
- b) I, III, V e VI.
- c) II, III, V e VI.
- d) II, IV, V e VI.
- e) III, IV, V e VI.

3. Bruna é biomédica e foi contratada para atuar na gerência de controle de qualidade laboratorial de um laboratório de pequeno porte, que vêm encontrando problemas na implantação do controle de qualidade. Ela iniciou seu trabalho analisando todos os dados registrados e o controle interno de colesterol (controle 250 mg/dL) mostrava o seguinte gráfico:

Figura | Gráfico de Levey-Jennings

Resultados da dosagem de colesterol no âmbito do controle interno de qualidade



Fonte: <<https://goo.gl/scXsig>>. Acesso em: 18 mar. 2018.

Após análise desse gráfico, Bruna pôde concluir que para esse analito analisado:

- a) Houve a violação da regra 22s nos dias 4 e 5 e da regra 10Xm dos dias 18 a 27; as amostras devem ser rejeitadas.
- b) Houve a violação da regra 22s nos dias 4 e 5 e da regra 10Xm dos dias 18 a 27; as amostras podem ser liberadas.
- c) Houve a violação da regra R4s nos dias 4 e 5 e da regra 10Xm dos dias 10 a 19; as amostras devem ser rejeitadas.
- d) Houve a violação da regra R4s nos dias 4 e 5 e da regra 10Xm dos dias 10 a 19; as amostras podem ser liberadas.
- e) Houve a violação da regra 22s nos dias 4 e 5 e da regra 10Xm dos dias 10 a 19; as amostras devem ser rejeitadas.

Seção 1.2

Análises ambientais, manejo e descarte de resíduos

Diálogo aberto

André está no segundo mês de seu estágio em uma universidade pública e agora aprenderá como lidar com os resíduos gerados no laboratório. Para isso, ele leu sobre as seguintes legislações: RDC 306/2004 e CONAMA nº 358/2005. Após esse momento de estudo, sua supervisora pediu que ele classificasse os resíduos presentes no laboratório em classes, de acordo com a legislação, dando uma lista para fazer a separação:

Lista de resíduos: (A) Classe A; (B) Classe B; (C) Classe C; (D) Classe D; (E) Classe E.

- () Algodão contaminado.
- () Cloreto de sódio.
- () Papel.
- () Agulha.
- () Rejeitos radioativos.
- () Tubo com saliva.
- () Garrafa plástica.
- () Luvas contaminadas.
- () Restos de alimentos.
- () Gilete.
- () Bisturi.
- () Gaze limpa.
- () Cotonete contaminado.
- () Tubo sujo de sangue.

Depois de tanto estudo a supervisora ainda pediu que ele realizasse um esquema sobre o manejo dos resíduos de serviços de saúde. André elaborou na seguinte sequência: segregação, identificação, acondicionamento, transporte interno, tratamento intermediário,

armazenamento temporário, armazenamento externo, tratamento final e disposição final.

A legislação escolhida por André está correta? Qual é a legislação correta? Como os resíduos são classificados? O manejo dos resíduos foi feito corretamente?

Vamos ajudar André a entender e aprender sobre os resíduos? Para responder esses questionamentos leia o conteúdo abordado nesta seção e aprofunde seus conhecimentos acessando os links indicados e pesquisando em fontes confiáveis.

Não pode faltar

Você já parou para pensar onde todo o lixo que geramos vai parar? Já pensou que uma única cidade gera toneladas de lixo por dia? E que além do lixo gerado em nossa residência, há o lixo de escritórios, lojas, restaurantes, pequenas e grandes empresas de diversos setores, clínicas, universidades, farmácias, unidades de saúde, laboratórios e hospitais? Será que todos esses lixos gerados podem ir para o mesmo lugar? Qual seria a destinação final de cada um deles? Toda destinação é realizada da mesma forma?

Todos estes questionamentos deveriam ser feitos com maior frequência pela população, afinal é o meio ambiente onde vivemos que recebe todo esse lixo.

A destinação final do nosso lixo pode ser feita em lixões, aterros controlados, aterros sanitários e aterros especiais, porém alguns resíduos e materiais não podem ser jogados “fora” como o nosso lixo comum, que é o caso de resíduos de serviços de saúde (um dos pontos principais de nossa seção), baterias e pilhas, óleo de cozinha, eletrodomésticos e eletrônicos, lâmpadas que contêm mercúrio e remédios.

Todo estabelecimento que presta serviços de saúde humana ou animal, seja ele uma unidade de saúde, clínicas, hospitais, laboratórios, drogarias, farmácias, indústrias, universidades, necrotérios, funerárias, centros de zoonoses, serviços de acupuntura e tatuagem, entre outros, deve seguir a legislação vigente no que diz respeito ao descarte de resíduos de seus serviços. E por que esse descarte deve ocorrer de forma diferente? Por causa dos graves

riscos que esse tipo de lixo oferece, pois pode conter resíduos químicos, biológicos e radioativos.

As principais normas que ditam como deve ocorrer esse descarte são: a Lei nº 12.305/2010, a RDC nº 306/2004 da Anvisa e a Resolução Conama nº 358/2005.

A Lei nº 12.305/2010 institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Nela encontramos as diretrizes acerca da gestão e gerenciamento de resíduos sólidos, perigosos e das responsabilidades dos geradores dos resíduos, do poder público e as penalidades aplicadas. Um ponto que essa lei ressalta é da não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, além da disposição final que deve ser ambientalmente adequada. Você pode lê-la na íntegra em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 10 mar. 2018.

Já a RDC nº 306/2004 contém todas as etapas de planejamento dos recursos físicos, dos recursos materiais e da capacitação dos recursos humanos envolvidos no manejo dos Resíduos dos Serviços de Saúde (RSS), visando que os estabelecimentos de saúde elaborem um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) baseado nas características dos resíduos gerados e na classificação constante do Apêndice I. Essa RDC se preocupa com os riscos que esses resíduos trazem ao meio ambiente e com a prevenção de acidentes, você pode lê-la na íntegra em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html>. Acesso em: 10 mar. 2018.

A Resolução Conama nº 358/2005 dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências. Você pode consultá-la na íntegra em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35805.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

Os RSS podem ser classificados em função da identificação do processo ou atividade que deu origem a eles, suas características e consequentes riscos e impactos que possam acarretar ao meio ambiente e à saúde. Uma forma de classificá-los é a proposta pela RDC 306/04, que divide os resíduos em cinco grupos, sendo eles: A (subdividido de A1 a A5), B, C, D e E (Tabela 1.2):

Tabela 1.2 | Classificação dos RSS pela RDC 306/2004 e CONAMA nº 358/2005

GRUPO A	Resíduos que podem conter agentes biológicos, sejam eles vírus, fungos e bactérias, os quais apresentaram risco de infecção. Esses resíduos não podem ser reciclados, reutilizados ou reaproveitados.
GRUPO B	Resíduos que podem conter substâncias químicas que apresentam risco à saúde pública ou ao meio ambiente, de acordo com suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade. Estes, quando não puderem ser reciclados, reutilizados ou recuperados, devem ser submetidos a tratamento e disposição final específicos. Resíduos no estado líquido não podem ser descartados em aterros, precisam de tratamento de acordo com sua periculosidade. Podem ser lançados em corpo receptor ou na rede pública de esgoto, a depender de suas características ambientais.
GRUPO C	Resíduos radioativos. Devem obedecer às exigências definidas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).
GRUPO D	Resíduos que não apresentam riscos à saúde ou ao meio ambiente, ou seja, não contêm resíduos biológicos, químicos ou radiológicos. Possuem as características dos resíduos domésticos e podem ser divididos em recicláveis e não recicláveis. Quando não puderem ser reciclados, reutilizados ou recuperados, devem ser encaminhados para aterro sanitário de resíduos sólidos urbanos.
GRUPO E	Materiais perfurocortantes. Não podem ser reciclados, reutilizados ou reaproveitados.

Fonte: adaptada de Brasil (2004; 2005).



Vamos colocar nossos conhecimentos em prática? A questão a seguir pertence à prova da Comissão de Residência Multiprofissional (Coremu) de 2014, para o cargo de biomédico, e trata da resolução Conama nº 358/2005 sobre o tratamento e disposição final dos resíduos:

Figura 1.7 | Exercício sobre a Resolução Conama nº 358/2005

QUESTÃO 17

A Resolução CONAMA n. 358/05 determina que resíduos do

- (A) Grupo D devem ser apresentados para coleta acondicionados em coletores estanques, rígidos e hígidos, resistentes à ruptura, à punctura, ao corte ou à escarificação.
- (B) Grupo C devem ser submetidos a processo de tratamento com redução de carga microbiana e encaminhados ao aterro sanitário licenciado ou local devidamente licenciado para disposição final de resíduos dos serviços de saúde.
- (C) Grupo B devem ser submetidos a tratamento e disposição final específicos de resíduos perigosos, quando não forem submetidos a processo de reutilização, recuperação ou reciclagem, por terem características de periculosidade.
- (D) Grupo A devem ser considerados rejeitos radioativos e quaisquer materiais resultantes de atividades exercidas pelos serviços que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados têm reutilização imprópria.

Fonte: <<https://centrodelecao.ufg.br/2014/coremu/sistema/provas/biomedico.pdf>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

De acordo com essa resolução, qual afirmativa você assinalaria como correta? Se ficou com dúvidas para responder, retome a Tabela 1.2 deste livro didático e você conseguirá responder essa questão.

Outra forma de classificação é a proposta pela NBR 10.004/2004, que classifica os resíduos sólidos em duas classes: classe I e classe II. Lembre-se de que resíduo sólido não quer dizer que este se encontra em estado sólido, e sim que pode se encontrar em estado sólido, semissólido, ser proveniente de íodos de sistemas de tratamento de água e se tratar de alguns líquidos cujas particularidades deixe inviável seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos de água.

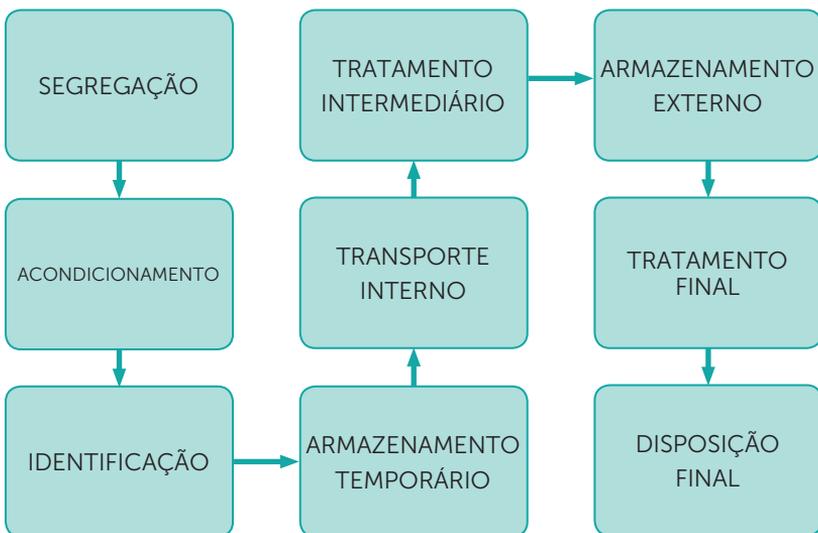
Tabela 1.3 | Classificação dos RSS pela NBR 10.004/2004

<p>CLASSE I</p>	<p>Os resíduos dessa classe são denominados como PERIGOSOS por conterem propriedades físicas, químicas ou biológicas que podem apresentar riscos à saúde e ao meio ambiente. Incluem-se aqui aqueles que possuem propriedades inflamáveis, corrosivas, reativas, tóxicas e patogênicas.</p>
<p>CLASSE II</p>	<p>Os resíduos dessa classe são denominados como NÃO PERIGOSOS e são subdivididos em duas classes, IIA e IIB. Na classe II-A incluem-se os resíduos não inertes (solúveis em água ou biodegradáveis). Na classe II-B incluem-se os inertes, que não apresentam nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de potabilidade de água, com exceção dos aspectos de cor, turbidez, dureza e sabor.</p>

Fonte: adaptada de ABNT (2004).

Os resíduos, de acordo com a legislação, precisam ter todas as suas etapas controladas, o que chamamos de manejo dos RSS. O manejo compreende então toda a ação realizada para gerenciar os resíduos dentro e fora do estabelecimento da saúde gerador, ou seja, da geração à disposição final. Dessa forma, os envolvidos nas ações relativas ao manejo dos resíduos são responsáveis por elas. O manejo pode ser dividido em etapas, conforme mostra a Figura 1.8.

Figura 1.8 | Etapas do manejo dos RSS



Fonte: elaborada pela autora.

A segregação consiste em separar os resíduos no ato e local em que foram gerados, de acordo com suas características químicas e biológicas, seu estado físico e os riscos envolvidos. Lembre-se de que os resíduos devem ser separados em sacos ou recipientes por cor, por exemplo, resíduos do grupo A (biológicos) são descartados em coletores de cor branca, contendo a correta identificação (símbolo de substância infectante) na frente, e resíduos do grupo E (perfurocortantes) são separados na caixa específica para esses materiais, que é de cor amarela com o símbolo de substância infectante sinalizado na frente. No acondicionamento os resíduos segregados são embalados em sacos ou recipientes propícios para evitar vazamentos e ser resistentes às ações de punctura e ruptura.

A identificação dos resíduos deve constar nos recipientes de coleta interna e externa, de transporte interno e externo e nos locais de armazenamento externo, por meio de símbolos, cores e frases, sendo de fácil visualização. Alguns resíduos demandam um tratamento intermediário de acordo com sua classificação, e esse tratamento deve ser realizado nas instalações da fonte geradora, com a finalidade de diminuir ou eliminar o risco de contaminação, de acidentes de trabalho ou de danos ao meio ambiente. O transporte interno dos resíduos dos pontos de geração até o local destinado ao armazenamento temporário ou ao armazenamento externo deve ser feito em carrinhos, sendo um exclusivo para os resíduos do grupo A. O armazenamento temporário é o local para guardar os resíduos acondicionados e identificados em locais próximos à geração até a coleta externa, e o armazenamento externo armazena esses resíduos em um ambiente exclusivo com acesso facilitado para os veículos da coleta externa retirarem. Antes da disposição final, os resíduos passam por um tratamento final para modificar as características físicas, químicas e biológicas dos resíduos, visando diminuir ou eliminar os riscos à saúde pública e ao meio ambiente. A disposição final dos resíduos é feita no solo. Os RSS precisam de um solo adequado, como o de aterros sanitários que utilizam técnicas de engenharia e tecnologias seguras, e passar por monitoramento constante para evitar vazamentos no solo que expõem a população aos riscos de doenças e danos ao meio ambiente.



Para você compreender o que abrange a Lei nº 12.305/2010, vamos tentar resolver uma questão do concurso Coremu - 2012 para o cargo de biomédico:

Figura 1.9 | Exercício Lei 12.305/2010

— QUESTÃO 47 —

A Lei n. 12.305/2010 preconiza que durante a gestão e o gerenciamento de resíduos sólidos deve ser observada a seguinte ordem de prioridade:

- (A) não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos.
- (B) não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos resíduos.
- (C) reutilização, reciclagem, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos resíduos.
- (D) reciclagem, reutilização, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos.

Fonte: <<https://centrodelecao.ufg.br/2011/coremu2012/provas/102.pdf>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

Essa lei, como vimos nesta seção, aborda exatamente esse ponto específico na gestão e no gerenciamento de resíduos sólidos que propõem medidas para a não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento dos resíduos sólidos e disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos.

O processo de manejo dos RSS está inserido no PGRSS, um documento composto pelos procedimentos que cada estabelecimento de saúde adotou em relação aos resíduos gerados, com o objetivo de proteger e preservar a vida e o meio ambiente. Esse plano não visa apenas a destinação final correta, mas também diminuir ou eliminar a produção de resíduos. Esse plano deve conter, ainda, as medidas de biossegurança e o emprego de medidas técnicas administrativas e normativas para a prevenção de acidentes.



As leis, resoluções e normas regulamentadoras que vimos nesta seção não abordam de forma específica as fontes radioativas seladas, dessa forma, não se aplicam a elas, que devem seguir as determinações da CNEN.

O saneamento básico é uma forma de prevenir doenças como a cólera, esquistossomose, amebíase, ancilostomíase, ascaridíase, cisticercose, disenterias, teníase, tricuriase, giardíase, hepatite, infecções na pele e nos olhos, leptospirose entre outras. Faz parte do saneamento básico medidas cruciais para a saúde pública, como: abastecimento de água, sistemas de esgoto, coleta e destinação final de resíduos sólidos de forma correta, drenagem de águas da chuva, controle de insetos e roedores, controle da poluição do meio ambiente, adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação, assim como promoção de hábitos saudáveis de higiene.

O controle de qualidade da água para consumo humano é muito importante, porque pela água são veiculados muitos microrganismos transmissores de doenças. Esse controle se faz por meio da avaliação das características físicas, químicas e biológicas. Os principais pontos a serem analisados na água são: grau de mineralização, poluição orgânica, presença de nutrientes, presença de poluentes significativos, contaminação fecal, aspecto físico e padrão de circulação do corpo d'água. A Portaria N.º 2.914, de 2011 é a atual no que diz respeito aos procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Em relação ao controle biológico há o padrão microbiológico da água que prevê a contaminação fecal por coliformes totais e *Escherichia coli*, conforme o Quadro 1.1:

Quadro 1.1 | Padrão microbiológico da água

Tipo de água		Parâmetro		VMP (1)
Água para consumo humano		Escherichia coli ⁽²⁾		Ausência em 100 mL
	Na saída do tratamento	Coliformes totais ⁽³⁾		Ausência em 100 mL
Água tratada	No sistema de distribuição (reservatórios e rede)	Escherichia coli		Ausência em 100 mL
		Coliformes totais ⁽⁴⁾	Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem menos de 20.000 habitantes	Apenas uma amostra, entre as amostras examinadas no mês, poderá apresentar resultado positivo
			Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem a partir de 20.000 habitantes	Ausência em 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês.

Legenda: (1) Valor máximo permitido; (2) Indicador de contaminação fecal; (3) Indicador de eficiência de tratamento; (4) Indicador de integridade do sistema de distribuição (reservatório e rede).

Fonte: Brasil (2011, p. 21D).



Pesquise mais

Saiba mais sobre o manejo dos RSS na prática em:

CORRÊA, Luciara Bilhalva; LUNARDI, Valéria Lerch; CONTO, Suzana Maria de. O processo de formação em saúde: o saber resíduos sólidos de serviços de saúde em vivências práticas. **Rev. Bras. Enferm.**, Brasília, n. 60, v. 1, p. 21-25, jan.-fev. 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/2670/267019615004/>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

Veja os passos de como elaborar um PGRSS:

ESTADO DE SANTA CATARINA. Instruções para o preenchimento do PGRSS. [s.d.]. Disponível em: <<https://goo.gl/sPuWWk>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

Sem medo de errar

Em seu estágio na universidade pública, André está aprendendo sobre o descarte correto dos resíduos dos serviços de saúde, e para conseguir entender esse processo sua supervisora pediu que ele estudasse as legislações vigentes. As legislações vigentes sobre esse assunto são: RDC 306/2004, CONAMA nº 358/2005 e a Lei nº 12.305/2010. Após esse momento de estudo, André recebeu uma lista para classificar os resíduos do laboratório. Da lista que ele recebeu fazem parte da classe A os seguintes resíduos: algodão contaminado, agulha, tubo com saliva, luvas contaminadas, cotonete contaminado, tubo sujo de sangue; Classe B: cloreto de sódio; Classe C: rejeitos radioativos; Classe D: papel, garrafa plástica, restos de alimentos e gaze limpa; Classe E: agulha, gilete e bisturi. Para finalizar essa etapa, André elaborou um esquema sobre os manejos dos resíduos de laboratórios e o fez na seguinte ordem: segregação, identificação, acondicionamento, transporte interno, tratamento intermediário, armazenamento temporário, armazenamento externo, tratamento final e disposição final. Porém, ele se confundiu e errou na ordem do esquema, a ordem correta é: segregação, acondicionamento, identificação, tratamento intermediário, transporte interno, armazenamento temporário, armazenamento externo, tratamento final e disposição final.

A área da saúde passa por constantes mudanças, por isso você deve ficar sempre atento às alterações na legislação para prestar o melhor atendimento à saúde da população e ao meio ambiente.

Avançando na prática

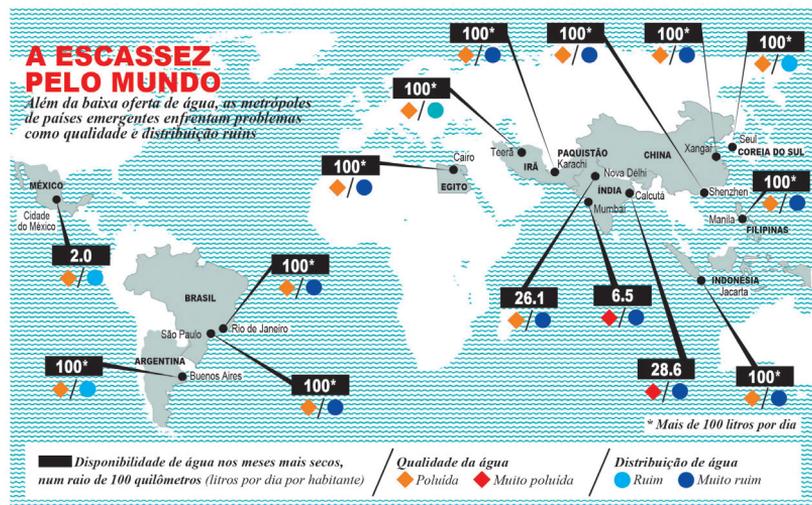
Será que todas as pessoas do mundo recebem água de forma igual?

Descrição da situação-problema

Essa rotina de concursos e provas não é fácil, um assunto frequente nessa jornada é a questão da falta de água e saneamento básico. Se pensarmos que ano a ano a população aumenta e temos a migração de pessoas do campo para a cidade, será que a água chega de forma igual para todos? Há água para todos? Pesquisadores

estimam que 900 milhões de pessoas habitam locais onde falta água pelo menos em 1 mês do ano, e sua disponibilidade é menos do que 100 litros por dia por pessoa (consumo recomendado por dia). Em posse dessa reflexão, interprete o gráfico a seguir do Enade 2016 - Biomedicina e analise as afirmativas:

Figura 1.10 | A escassez de água pelo mundo



Disponível em: <<http://planetasustentavel.abril.com.br>>. Acesso em: 7 set. 2016 (adaptado).

A partir das informações do texto e do mapa apresentados, avalie as afirmações a seguir.

- I. A escassez e a má distribuição de água atingem vários países pelo mundo, problemas que poderiam ser amenizados pelo reaproveitamento das águas menos nobres, para fins potáveis.
- II. Embora, em alguns países, a disponibilidade de água seja superior a 100 litros por dia por habitante, essa água tem qualidade indesejável e é mal distribuída, problemas que normalmente afetam a população que reside na periferia dessas metrópoles.
- III. O tratamento de esgoto por meios químicos, físicos e biológicos é uma medida de saneamento básico, que tem como objetivo acelerar o processo de purificação da água, antes de ser devolvida ao meio ambiente, de modo que se removem substâncias indesejáveis ou se transformem essas em outras aceitáveis.

Fonte: <<https://goo.gl/scXsig>>. Acesso em: 18 mar. 2018.

Como você interpreta esse gráfico? Quais afirmativas estão corretas?

Resolução da situação-problema

O gráfico mostra a distribuição, a disponibilidade e o quanto essa água é poluída em países emergentes. É notável que em alguns desses países a disponibilidade da água é menor que 100 litros de água por dia por pessoa, e na maioria a disponibilidade é maior, porém o que afeta a chegada da água até as pessoas é a distribuição ou a qualidade. A distribuição é muito ruim ou ruim nesses países. A água é poluída na maioria e muito poluída em países como a Índia. Feita essa primeira leitura, as afirmativas corretas são a II e III. A II está correta, pois apesar de alguns países terem a disponibilidade de água maior do que 100 litros por dia por pessoa, a qualidade é inferior e há problemas na distribuição. A III está correta, pois define os benefícios do tratamento do esgoto para a saúde das pessoas e do meio ambiente. A afirmativa I está incorreta, pois sugere que águas menos nobres, ou seja, poluídas, sejam utilizadas para fins potáveis. Toda água deve passar por tratamento adequado e estar de acordo com a legislação para o consumo humano.

Faça valer a pena

1. Os resíduos gerados pelos serviços de saúde necessitam de uma segregação correta no momento de sua geração, para isso as legislações vigentes preveem que eles sejam separados por classe. De acordo com seus conhecimentos acerca do assunto, associe as colunas a seguir:

COLUNA 1	COLUNA 2
CLASSE ____	Resíduos que podem conter substâncias químicas que apresentam risco à saúde pública ou ao meio ambiente, de acordo com suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.
CLASSE ____	Materiais perfurocortantes.
CLASSE ____	Resíduos radioativos.
CLASSE ____	Resíduos que podem conter agentes biológicos, sejam eles vírus, fungos e bactérias, os quais apresentam risco de infecção.
CLASSE ____	Resíduos que não apresentam riscos à saúde ou ao meio ambiente, ou seja, não contêm resíduos biológicos, químicos ou radiológicos. Possuem as características dos resíduos domésticos e podem ser divididos em recicláveis e não recicláveis.

Após associar as colunas 1 e 2 assinale a alternativa que contenha a sequência correta sobre a classificação dos resíduos.

- a) Classes B, D, C, A, E.
- b) Classes B, E, C, A, D.
- c) Classes C, D, E, A, B.
- d) Classes A, C, D, E, B.
- e) Classes A, B, C, D, E.

2. O saneamento básico é uma forma de prevenir doenças como a cólera, esquistossomose, amebíase, ancilostomíase, ascariíase, cisticercose, disenterias, teníase, tricuriíase, giardiíase, hepatite, infecções na pele e nos olhos, leptospirose, entre outras.

Sobre o saneamento básico, assinale a alternativa que contém todas as medidas cruciais para a saúde pública.

- a) Sistemas de esgoto; drenagem de água da chuva; destinação final de resíduos sólidos; controle de roedores; controle da poluição do meio ambiente; adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação; promoção de hábitos saudáveis de higiene.
- b) Sistemas de esgoto; coleta de resíduos sólidos; drenagem de água da chuva; controle de insetos; controle da poluição do meio ambiente; adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação; abastecimento de água.
- c) Abastecimento de água; destinação final de resíduos sólidos; drenagem de água da chuva; controle de insetos; controle da poluição do meio ambiente; adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação; promoção de hábitos saudáveis de higiene.
- d) Abastecimento de água; sistemas de esgoto; drenagem de águas da chuva; controle de insetos e roedores; controle da poluição do meio ambiente; adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação; promoção de hábitos saudáveis de higiene.
- e) Abastecimento de água; sistema de esgoto; coleta e destinação final de resíduos sólidos; drenagem de água da chuva; controle de insetos e roedores; controle da poluição do meio ambiente; adequada higiene dos alimentos, da habitação, do local de trabalho e de recreação; promoção de hábitos saudáveis de higiene.

3. O controle de qualidade da água para consumo humano é muito importante, porque pela água são veiculados muitos microrganismos transmissores de doenças. Esse controle se faz por meio da avaliação das características físicas, químicas e biológicas. Sobre o padrão microbiológico da água, analise as asserções a seguir:

- I. A água para consumo humano em 100 mL deve estar ausente do microrganismo *Escherichia coli*, assim como na saída do tratamento em 100 mL ausência de coliformes fecais.

PORQUE

- II. As presenças desses microrganismos na água indicam contaminação fecal e faz que a água seja imprópria para consumo humano.

Após avaliar as asserções sobre o padrão microbiológico da água, assinale a alternativa correta:

- a) A asserção I é uma proposição verdadeira, e a II é uma proposição falsa.
b) A asserção II é uma proposição verdadeira, e a I é uma proposição falsa.
c) As asserções I e II são verdadeiras, e a II não é uma justificativa da I.
d) As asserções I e II são verdadeiras, e a II é uma justificativa da I.
e) As asserções I e II são proposições falsas.

Seção 1.3

Doenças epidemiológicas

Diálogo aberto

André está no terceiro mês do seu estágio na universidade pública e nesse mês ele ficará no laboratório de pesquisa em epidemiologia, que estuda a fundo as doenças como dengue, febre amarela, Zika vírus e Chikungunya e faz os exames confirmatórios que chegam de várias cidades da região e de alguns estados. Para que ele possa começar a acompanhar e realizar os exames dos pacientes sua supervisora de estágio acredita que é necessário um pouco de estudo sobre essas doenças. Para auxiliá-lo nos estudos, ela elencou os pontos principais que ele deveria estudar:

- O vetor transmissor da doença.
- Se existe outras formas de transmissão.
- Período de incubação.
- Principais sintomas.
- Exames diagnósticos inespecíficos e específicos.
- Alterações laboratoriais.

Após seus estudos André recebeu um caso clínico para testar os conhecimentos. O caso relatava o seguinte: homem, 37 anos, procurou a unidade básica de saúde relatando febre, dores de cabeça, dor retro-orbitária, mialgia e artralgia há 48 horas. Foi liberado após receber medicação e melhora dos sintomas. No 5º dia de doença, procurou o pronto-socorro, pois os sintomas persistiram e houve o aparecimento de manchas no corpo. Ao exame físico verificou-se: febre de 39 °C, pressão arterial e frequências cardíacas normais, exantema maculopapular difuso, sem visceromegalias. O médico solicitou alguns exames e os resultados foram:

Prova do laço: positiva.

Hemograma

Hemoglobina: 16g/dL; Hematócrito: 48%; Plaquetas: 87.000/mm³; Leucócitos totais: 5.200/mm³.

Após esses dados, o médico solicitou um exame específico para confirmar sua suspeita diagnóstica e medicou o paciente.

Com base nos dados apresentados e em seus estudos, André respondeu às seguintes perguntas:

Quais são as hipóteses diagnósticas para o caso? Dos elementos apresentados no quadro clínico e laboratorial, quais sustentam suas principais hipóteses diagnósticas?

Vamos ajudar André a responder esses questionamentos? Para isso, estude os pontos elencados pela supervisora, acesse seu material didático e todos os links indicados!

Bons estudos!

Não pode faltar

Doenças transmissíveis sempre foram causa de morte no Brasil na década de 1930, mas o desenvolvimento de vacinas, antibióticos, novas tecnologias, as melhorias sanitárias, o acesso ao sistema de saúde e as medidas de controle mudaram esse quadro até os dias de hoje.

Mesmo que o número de mortes por doenças transmissíveis tenha diminuído, ainda existe um impacto importante sobre a morbidade, principalmente pelas doenças que não dispõem de mecanismos eficazes para a prevenção ou ainda que apresentem uma pequena associação com causas ambientais, sociais e econômicas.

As doenças transmissíveis no Brasil podem ser divididas em três tendências: as doenças transmissíveis com tendência descendente, com quadro de persistência, as emergentes e as reemergentes. As doenças que abordaremos aqui são consideradas transmissíveis emergentes e reemergentes: a dengue, febre amarela, Zika e Chikungunya.

Comparando os últimos dois anos, a prevalência de dengue, Zika e Chikungunya diminuíram, o ano de 2016 foi marcado por muitos casos dessas doenças. No ano de 2016 foram notificados 1.463.007 casos prováveis da dengue; já em 2017 esses números caíram para 239.076, a redução foi de 83,7%. Sobre a febre Chikungunya, em 2016 foram registrados 271.637 casos e em 2017 esse número caiu para 184.458 casos, uma redução de 32,1%. Em relação ao Zika

vírus, em 2016 foram registrados 214.126 casos para 16.870 casos da doença em 2017, sendo a maior redução, 92,1%.

De julho de 2016 até 6 de fevereiro de 2017 foram registrados 509 casos de febre amarela; de julho de 2017 a 6 de fevereiro de 2018 foram confirmados 353 casos de febre amarela e notificados 1.286 casos, destes, 510 foram descartados e 423 permanecem em investigação neste período.

- **DENGUE**

A dengue é uma doença viral de característica febril aguda que pode evoluir de forma benigna (dengue clássica) e de forma hemorrágica (dengue grave). O vírus da dengue é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae*. São conhecidos quatro sorotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. Os mosquitos do tipo *Aedes* são os vetores da doença, sendo nas Américas o *Aedes aegypti* o responsável pela transmissão da doença, o *Aedes albopictus* também é um importante vetor, porém sua participação no Brasil não é confirmada. A transmissão da dengue ocorre pela picada do mosquito fêmea, no ciclo homem → *Aedes aegypti* → homem. Quando o mosquito se alimenta de sangue infectado, ele está apto a transmitir o vírus depois de 8 a 12 dias de incubação. A doença não é transmitida pelo contato direto com pessoas doentes ou suas secreções, nem de fontes de água, alimento, animais e objetos. O período de incubação da doença pode variar de 3 a 15 dias, sendo, em média, de 5 a 6 dias. A pessoa contaminada pode transmitir a doença para mosquitos não infectados um dia antes do aparecimento dos sintomas até o 6º dia. Os sintomas variam entre a dengue clássica e a hemorrágica, e o quadro clínico é muito variável, de acordo com a condição do paciente (por exemplo, a idade). A **dengue clássica** causa febre alta (39 °C a 40 °C), de início repentino, dores de cabeça (cefaleia), dores musculares (mialgia), fraqueza (prostração), dores articulares (artralgia), falta de apetite, diminuição da força física (astenia), dor retro-orbital, náuseas, vômitos, erupção cutânea (exantema) ou manchas vermelhas, prurido cutâneo e diarreia. Pequenas manifestações hemorrágicas nos adultos como petéquias, sangramento nasal (epistaxe) e sangramento da gengiva (gengivorragia) podem ocorrer. Em média, a doença tem duração de 5 a 7 dias. Com o desaparecimento da febre, os sinais e sintomas

regridem, podendo ainda persistir a fadiga. Os sintomas iniciais da dengue hemorrágica se assemelham à dengue clássica, entretanto evoluem de forma rápida para manifestações hemorrágicas e/ou derrames cavitários e/ou instabilidade emodinâmica e/ou choque. Alguns sintomas decorrentes dessa rápida evolução são: dificuldade de respiração, perda da consciência, confusão mental e agitação, sangramentos, vômitos intensos, boca seca e muita sede, pulso fraco, fortes dores abdominais, pele pálida, fria e úmida. Uma das principais características fisiopatológicas relacionadas com o grau de severidade é o extravasamento plasmático, que pode ser observado pelo aumento crescente do hematócrito e hemoconcentração; quanto maior esse valor, maior é a gravidade. O extravasamento plasmático pode levar ao choque ou acúmulo de líquidos, sangramento grave ou sinais de disfunção orgânica. A comprovação de que a pessoa está com dengue é feita laboratorialmente por exames específicos, como o isolamento do agente ou pelo emprego de métodos sorológicos, e por exames inespecíficos, como o hemograma, a prova do laço, coagulograma e exames bioquímicos (albumina e testes de função hepáticas). No hemograma, em casos de dengue clássica, podemos encontrar a leucopenia usualmente ou ainda uma leucocitose; a linfocitose com atipia linfocitária e a trombocitopenia aparecem ocasionalmente. Já nos casos de dengue hemorrágica a contagem de leucócitos é variável, desde leucopenia até leucocitose leve, é comum encontrar linfocitose com atipia linfocitária. A alteração mais expressiva nesses casos é o aumento da concentração de hematócrito e a trombocitopenia (plaquetas abaixo de $100.000/\text{mm}^3$).



Para compreender a importância dos exames laboratoriais na identificação da dengue hemorrágica, vamos analisar uma questão de concurso para farmacêutico-bioquímico:

Figura 1.11 | Exercício sobre a dengue hemorrágica

— QUESTÃO 39 —

No dengue clássico, o paciente apresenta febre acompanhada de sintomas inespecíficos. No dengue hemorrágico, a doença tem início semelhante à do dengue clássico e evolui com manifestações mais graves. As alterações laboratoriais necessárias para a classificação de um caso de dengue como hemorrágico são:

- (A) leucopenia e albuminúria.
- (B) trombocitopenia e hemoconcentração.
- (C) linfocitose e aumento das transaminases.
- (D) prova do laço positiva e presença de petéquias.

Fonte: <<https://goo.gl/uqSrDe>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

Você consegue elencar quais são as alterações laboratoriais mais importantes para a dengue hemorrágica? Como vimos, as alterações laboratoriais mais expressivas são o aumento da concentração de hematócrito (que indica hemoconcentração) e a trombocitopenia, sendo assim, a alternativa correta é a B.

• CHIKUNGUNYA

Chikungunya (CHIKV) é uma doença causada por um vírus do tipo arbovírus, da família *Togaviridae* e do gênero *Alphavirus*. Foi isolado na Tanzânia em meados de 1952 e nas Américas seu primeiro relato foi em 2013, nas ilhas do Caribe. No Brasil o primeiro relato ocorreu no segundo semestre de 2014, nos estados do Amapá e da Bahia, e atualmente todos os estados já tiveram casos da doença. O mosquito vetor da doença também é do tipo *Aedes*, sendo a fêmea dos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* as transmissoras da doença por meio da picada. A doença pode ser transmitida de forma vertical (da mãe para o feto) ou via transfusional, considerada rara se os protocolos forem seguidos. Os sintomas clínicos são parecidos com os da dengue, como a febre, dores articulares e musculares, cefaleia, náusea, fadiga e erupção cutânea (exantema). Um diferencial são as fortes

dores nas articulações (artralgia), que muitas vezes podem estar acompanhadas de edema. O período de viremia começa dois dias antes do início dos sintomas e pode perdurar por mais oito dias. A doença pode evoluir em três fases: aguda (14 dias), subaguda (após a fase aguda até 3 meses) e crônica (após 3 meses). Na fase aguda os sintomas são febre e intensas dores articulares, dores nas costas, dores musculares, rash cutâneo, cefaleia e fadiga. Outros sintomas relatados que podem estar presentes nessa fase são: dor retro-orbital, calafrios, conjuntivite sem secreção, faringite, náusea, vômitos, diarreia e dor abdominal. Na fase subaguda, de forma geral, a febre desaparece, há a persistência ou agravamento das dores articulares, tenossinovite hipertrófica subaguda nas mãos e mais frequentemente nas falanges e punhos. A tenossinovite hipertrófica subaguda pode evoluir para a síndrome do túnel do carpo. Outros sintomas que podem estar presentes são: diminuição da força (astenia), prurido generalizado e erupção cutânea maculopapular, além de lesões purpúricas, vesiculares e bolhosas. Também há relatos de desenvolvimento de doença vascular periférica, fadiga e sintomas depressivos. Em relação à fase crônica, ainda não há uma concordância entre os autores sobre o tempo de duração, que pode ser de três a seis anos. O acometimento articular ainda é o sintoma prevalente caracterizado por dor, com ou sem edema, limitação de movimento, deformidade e ausência de vermelhidão na pele. Há relatos de sintomas decorrentes da síndrome do túnel do carpo e artropatia destrutiva. Pode haver, ainda, sintomas como fadiga, cefaleia, coceira, redução parcial ou total de pelos e cabelos, erupção cutânea, bursite, tenossinovite, enfraquecimento ou alteração na sensibilidade, dor neuropática, fenômeno de Raynaud, alterações cerebelares, distúrbios do sono, alterações da memória, déficit de atenção, alterações do humor, turvação visual e depressão. O diagnóstico laboratorial confirmatório é feito por exames específicos, como a pesquisa do RNA viral ou pela pesquisa de anticorpos específicos e exames inespecíficos, como o hemograma, proteína C reativa e exames bioquímicos, como as transaminases, creatinina e eletrólitos. No hemograma a observação mais frequente é a leucopenia com linfopenia menor que 1.000 cels/mm^3 , a trombocitopenia inferior a $100.000 \text{ cels/mm}^3$ não é comum. A proteína C reativa de uma forma geral encontra-se elevada.

Aedes, sendo a espécie *Aedes aegypti* responsável pela transmissão em países tropicais e subtropicais e o *Aedes albopictus* em países de clima temperado. A fêmea dos mosquitos transmite a doença pela picada. O ZIKV também pode ser transmitido sexualmente, por secreções como saliva e urina, no período perinatal e por meio de transfusões de sangue (forma menos frequente). Os sintomas são semelhantes aos dos outros arbovírus, como febre, erupções de pele, conjuntivite, dores musculares (mialgia), dores nas articulações (artralgia), mal-estar, náuseas, vômitos, dor retro-orbital e cefaleia. Esses sintomas duram em média de 2 a 7 dias.

O ZIKV associado às mulheres gestantes vem deixando a população bastante preocupada por causa da possibilidade de desenvolvimento da microcefalia. Esta ocorre de forma precoce na gestação (3º e 4º mês) na fase de proliferação neuronal. O ZIKV quebra a proteção da barreira hematoencefálica e atinge o sistema nervoso central (SNC), além de ultrapassar a barreira placentária e atingir o líquido amniótico e os tecidos fetais. Além da microcefalia, o vírus pode acarretar outras malformações, como distúrbios da migração neuronal (3º ao 5º mês) e calcificações difusas (morte neuronal). Estudos sugerem que a patogênese do vírus no SNC seja de longa duração ou há uma suscetibilidade de mais fases do desenvolvimento cortical. No Brasil, na região nordeste, foi observado um aumento das infecções pelo ZIKV no público em geral, juntamente com um aumento de bebês nascidos com microcefalia. Mais estudos para compreendermos essa relação da microcefalia e o vírus Zika são necessários. O diagnóstico de ZIKV pode ser realizado por meio da detecção do vírus ou pela detecção de anticorpos.

- **DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: DENGUE, ZIKA E CHIKUNGUNYA**

Por causa das características e da similaridade de alguns sintomas encontrados nessas três doenças febris se faz necessário o diagnóstico diferencial. É importante ressaltar que apenas o clínico pode indicar qual manejo será utilizado nos casos suspeitos. A febre amarela também possui sintomas parecidos com essas doenças, como febre, cefaleia, mialgia e náuseas. A Tabela 1.4 traz as variações e intensidade dos sintomas relatados nas três doenças de forma a auxiliar os profissionais de saúde.

Tabela 1.4 | Diagnóstico diferencial de dengue, Zika e Chikungunya

SINAIS/ SINTOMAS	DENGUE	ZIKA	CHIKUNGUNYA
Febre/Duração	> 38 °C; 4 a 7 dias	Sem febre ou subfebril (≤ 38 °C), 1-2 dias subfebril	Febre alta > 38 °C, 2-3 dias
Rash/Frequência	Surge a partir do 4° dia; 30% a 50% dos casos	Surge no primeiro ou segundo dia; 90 a 100% dos casos	Surge de 2-5 dias; 50% dos casos
Mialgia (frequência)	+++	++	+
Artralgia (frequência)	+	++	+++
Intensidade da dor articular	Leve	Leve/Moderada	Moderada/Intensa
Edema da articulação	Raro	Frequente e leve intensidade	Frequente e de moderada a intenso
Conjuntivite	Raro	50% a 90% dos casos	30%
Cefaleia	+++	++	++
Hipertrofia ganglionar	+	+++	++
Risco de morte	+++	+*	++
Acometimento neurológico	+	+++	++
Leucopenia	+++	+++	+++
Linfopenia	Incomum	Incomum	Frequente
Trombocitopenia	+++	Ausente (raro)	++

Legenda: *Pode haver risco de morte nos casos neurológicos, como a Síndrome de Guillain Barré decorrente de Zika ou para crianças com malformações congênicas graves.

Fonte: adaptada de Brito; Cordeiro (2016, p. 540) apud Brasil (2017, p. 20).

• FEBRE AMARELA

A febre amarela, do inglês *Yellow Fever Virus* (YFV) é uma doença febril causada por um vírus do tipo arbovírus (como a dengue, Zika, *Chikungunya* e vírus do Nilo Ocidental), e pertence ao gênero *Flavivirus* e à família *Flaviviridae*. Há duas formas da doença: a febre amarela silvestre e a febre amarela urbana. A forma silvestre ocorre naturalmente na natureza, entre primatas não humanos (PNH) e

mosquitos silvestres arbóreos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (ambos presentes no Brasil). Em períodos de condições ideais de transmissão os PNH adoecem e morrem, o que alerta a sociedade para a epizootia (doença que ocorre em uma população animal, especificamente em PNH) e representa um evento inesperado, o qual deve intensificar a vacinação dos moradores das regiões afetadas. De forma esporádica os seres humanos podem ser infectados quando adentram em locais de mata para trabalho ou turismo e são picados pelo mosquito silvestre, apresentando, então, a febre amarela silvestre. Esse tipo de febre amarela é considerada uma zoonose (doença infecciosa de animal transmitida ao ser humano). É importante ressaltar que os macacos não transmitem a doença aos seres humanos, apenas os mosquitos, ao contrário do que a população acredita, os primatas auxiliam a identificar as regiões onde o vírus está circulando e o governo pode então realizar campanhas de vacinação.

A febre amarela urbana é transmitida principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti*, o mesmo vetor das outras três doenças epidemiologicamente importantes que vimos nesta seção. A transmissão urbana ocorre quando uma pessoa que nunca teve a febre amarela ou tomou a vacina circula em áreas florestais e é picada por um mosquito infectado, assim, ao contrair a doença a pessoa passa a ser foco da doença. O período de incubação da doença varia de 3 e 6 dias, podendo ser de até 10 a 15 dias. Os sintomas na forma leve a moderada são: febre, cefaleia, mialgia, náuseas e icterícia ausente ou leve. Na forma grave, além dos sintomas anteriores, há icterícia intensa, manifestações hemorrágicas, diminuição da quantidade de urina (oligúria) e diminuição de consciência. Na forma maligna os sintomas clássicos da forma grave estão intensificados. O diagnóstico específico de febre amarela é feito pela detecção direta do vírus ou pela detecção de anticorpos. Os exames inespecíficos auxiliam no manejo clínico e na gravidade da doença, como o hemograma e os exames bioquímicos. Na forma leve há plaquetopenia, aumento das transaminases e a bilirrubina se encontra normal ou discretamente elevada. Na forma grave a plaquetopenia é intensa, há o aumento de creatinina e das transaminases, e na maligna, além dessas alterações, a coagulação intravascular é disseminada.

• PREVENÇÃO

A melhor forma de prevenção das doenças abordadas nesta seção é controlar a proliferação do mosquito vetor, ou seja, eliminar o foco de criação do mosquito *Aedes*. Para isso, é importante não deixar acumular água em objetos como pratos de vasos de plantas, caixas d'água, calhas e lajes, tonéis e depósitos de água, e também eliminar locais onde a água possa ficar parada, como lixos mal fechados, pneus, limpeza de terrenos baldios (responsabilizando os proprietários) e visitas de agentes comunitários de endemias. Ainda é possível utilizar larvicidas biológicos, como *Bacillus thuringiensis*, que provocam a morte da larva do mosquito, ou o uso de substâncias químicas – inseticidas – para o controle do vetor nas fases larvária e adulta. Para evitar picadas, é recomendado colocar mosquiteiras em portas e janelas, usar repelentes e, em áreas de risco, vestir roupas com mangas compridas. Outra forma de prevenção é a vacinação contra a doença, entretanto, existe vacina apenas para a febre amarela, que é oferecida pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e para a dengue já existe vacina aprovada, porém sua venda até o momento ocorre apenas na rede privada.



Assimile

Frente ao recente surto de febre amarela, é importante ressaltar alguns pontos em relação à doença:

- Os macacos não são os transmissores da doença, são apenas hospedeiros do vírus e contribuem para alertar quais são as regiões onde o vírus está presente e, assim, alertar o governo para promover campanhas de vacinação.
- A diferença da vacina de dose fracionada ou de dose padrão não está relacionada com a eficácia, pois ambas garantem a imunização, e sim com o tempo de duração. Dessa forma, as pessoas que tomarem a dose fracionada não estão imunes para o resto da vida e futuramente devem receber um reforço.
- Há restrições em relação a quem pode tomar a vacina: gestantes e bebês até seis meses não podem tomar.
- O mosquito que transmite a doença na área urbana é o *Aedes aegypti*, o mesmo que transmite a dengue, a CHIKV e o ZIKV. Já nas áreas silvestres ou rurais, a transmissão ocorre pelos mosquitos das espécies *Haemagogus* e *Sabethes*.



Saiba mais sobre a relação do Zika vírus e o desenvolvimento da microcefalia em:

NUNES, Magda Lahorgue et al. Microcefalia e vírus Zika: um olhar clínico e epidemiológico do surto em vigência no Brasil. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, p. 230-240, abr. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S225555361630012X>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

Conheça o conceito do Aedes do bem:

AEDES do bem. [s.d.]. Disponível em: <<http://www.aedesdobem.com.br/sobre-nos/>>. Acesso em: 7 maio 2018.

Entenda como ocorre o ciclo de vida do mosquito Aedes, de extrema importância para as doenças epidemiológicas aqui abordadas:

- Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=8oGwkbBzs3o>>. Acesso em: 29 mar. 2018.
- Ciclo de vida do *Aedes aegypti* – Livro todos contra o *Aedes aegypti*. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=rFFfntijlME>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

Sem medo de errar

Vamos lembrar o caso clínico que André resolveu após seus estudos?

Homem, 37 anos, procurou a unidade básica de saúde relatando febre, dores de cabeça, dor retro-orbitária, mialgia e artralgia há 48 horas. Foi liberado após receber medicação e melhora dos sintomas. No 5º dia de doença procurou o pronto-socorro após a persistência dos sintomas anteriores e aparecimento de manchas no corpo. Com o exame físico verificou-se febre de 39 °C, pressão arterial e frequência cardíaca normais, exantema maculopapular difuso, sem visceromegalias. O médico solicitou alguns exames e os resultados foram:

Prova do laço: positiva. Hemograma: Hemoglobina: 16g/dL; Hematócrito: 48%; Plaquetas: 87.000/ mm³; Leucócitos totais: 5.200/mm³.

Após esses dados o médico solicitou um exame específico para confirmar sua suspeita diagnóstica e medicou o paciente.

Quais são as hipóteses diagnósticas para o caso? Dos elementos apresentados no quadro clínico e laboratorial, quais sustentam suas principais hipóteses diagnósticas?

As hipóteses diagnósticas do caso podem ser: dengue, febre amarela, Zika, Chikungunya ou doenças como malária, sarampo, rubéola, mononucleose infecciosa, entre outras, porém, frente à epidemia que acontece todos os anos e os seguintes dados laboratoriais apresentados (febre, dor de cabeça, artralgia, dor retro-orbitária, prova do laço positiva, hemoconcentração – aumento do hematócrito – e plaquetopenia) a suspeita é de dengue. Você conseguiria explicar porque não poderia ser Zika, febre amarela ou Chikungunya? Se lembrarmos os sintomas dessas doenças, veremos que a única em que a febre alta perdura por até 7 dias é a dengue, e o paciente voltou ao médico no 5º dia. No Zika a febre dura de 1 a 2 dias, na Chikungunya, de 2 a 3 dias, e na febre amarela pode haver essa persistência, porém tem a presença de sintomas mais graves. As únicas que apresentam dor retro-orbital é a dengue e a Zika. O rash cutâneo na dengue surge a partir do 4º dia e nas demais surge antes. Tente fazer esse exercício de descoberta com os demais sintomas. Os dados laboratoriais, como a prova do laço positiva, a diminuição de plaquetas e o aumento de hematócrito são indicativos de dengue, porém, conforme solicitado pelo médico, é necessário um exame confirmatório, amenizar os sintomas, hidratar o paciente e repetir os exames inespecíficos para verificar se o quadro não irá agravar.

Avançando na prática

Interpretação de gráficos em concursos e endemias, e agora?

Descrição da situação-problema

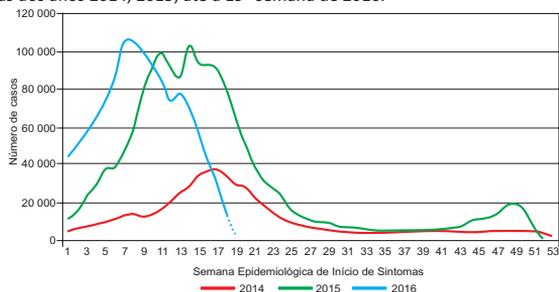
Bruno está no último ano de Biomedicina e sua turma fez a prova do Enade 2016. Depois da prova, ele levou o caderno de questões para pedir ajuda de um de seus professores. Havia uma questão dissertativa na prova que solicitava que o aluno interpretasse as alterações no perfil epidemiológico da dengue nos últimos três anos

por meio de um gráfico e descrevesse três medidas de controle do vetor da dengue. Vamos ajudar Bruno a elaborar uma resposta para as alterações no perfil epidemiológico da dengue nos últimos três anos e descrever três medidas de controle do vetor da dengue?

Figura 1.13 | Alteração no perfil epidemiológico da dengue

QUESTÃO DISCURSIVA 3

O gráfico a seguir representa a incidência de dengue no Brasil evidenciada nas Semanas Epidemiológicas de Início de Sintomas dos anos 2014, 2015, até a 19ª semana de 2016.



BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika, 2016**. v. 47, n. 25. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br>>. Acesso em: 29 jun. 2016 (adaptado).

Fonte: <http://download.inep.gov.br/educacao_superior/enade/provas/2016/biomedicina.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2018.

Resolução da situação-problema

O professor de Bruno leu a resposta que ele havia elaborado e desafiou seu aluno a interpretar novamente o gráfico para responder as alterações no perfil epidemiológico da dengue nos últimos três anos. A primeira alteração, olhando os três anos e que deve fazer parte da resposta é que de 2014 a 2016 os casos de dengue aumentaram muito. O professor pediu, então, que Bruno observasse o padrão de ocorrência da dengue, ou seja, nos três anos, em qual mês se iniciaram os casos ou o pico dos casos?

Em 2014 o pico de casos de dengue aconteceu na semana 17 (mês de abril); em 2015, entre a 11 e 15ª semana; em 2016 por volta da 7ª semana, mostrando que a cada ano as ocorrências de dengue se iniciam mais cedo.

Para controlar o vetor (o mosquito *Aedes*) é preciso eliminar o foco de criação com medidas como: não deixar acumular água em objetos onde o mosquito poderá se proliferar, limpar terrenos baldios (responsabilizando os proprietários), visitas de agentes comunitários de endemias, utilizar larvicidas biológicos ou o uso de substâncias

químicas – inseticidas. Em áreas de risco é recomendado colocar mosquiteiras em portas e janelas, usar repelentes e vestir roupas com mangas compridas.

Faça valer a pena

1. A febre amarela é uma doença endêmica de grande importância epidemiológica e elevado potencial de disseminação em áreas urbanas. Em relação à febre amarela, analise as sentenças a seguir.

- I. É uma doença infecciosa febril e que pode ser prevenida com a vacinação. O agente transmissor é um mosquito e tem ciclos de transmissão silvestre e urbano.
- II. O vetor hospedeiro e transmissor na forma silvestre é o *Aedes aegypti*.
- III. O vetor hospedeiro e transmissor na forma urbana são os mosquitos *Haemagogus* e *Sabethes*.
- IV. O vírus da febre amarela é um arbovírus do gênero *Flavivirus* e da família *Flaviviridae*.
- V. O período de incubação do vírus é de 3 a 6 dias, podendo chegar a 30 dias.

Após analisar as sentenças em relação à febre amarela, assinale a alternativa que contenha apenas as corretas.

- a) I, II, IV e V.
- b) I, III, IV e V.
- c) II, III e IV.
- d) II e V.
- e) I e IV.

2. Recentemente estamos enfrentando epidemias de quatro doenças transmitidas pela fêmea do mosquito vetor transmissor, o *Aedes aegypti*. As doenças são: dengue, febre Chikungunya, febre Zika e febre amarela. Os médicos e as autoridades de saúde alertam que há ocorrência de casos de malformação em bebês filhos de mulheres que contraíram uma dessas doenças durante a gestação. Apesar de ainda não ter estudos conclusivos dessa relação entre vírus e malformação fetal, este é um ponto de alerta para as mulheres que pretendem engravidar, grávidas, sociedade médica e autoridades de saúde.

Sobre a relação vírus versus malformação fetal, assinale a alternativa que contém o vírus causador e a malformação fetal observada.

- a) O vírus causador é a dengue e a malformação é a hidrocefalia.
- b) O vírus causador é a febre Chikungunya e a malformação é a microcefalia.
- c) O vírus causador é a febre Zika e a malformação é a microcefalia.
- d) O vírus causador é a febre amarela e a malformação é a hidrocefalia.
- e) Todos os vírus citados podem ocasionar a malformação hidrocefalia.

3. As autoridades de saúde cada vez mais precisam intensificar as campanhas de prevenção de doenças endêmicas, como a dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, durante o ano todo, independentemente da estação e dos períodos de chuva. Sobre essas doenças, avalie as afirmativas a seguir:

- I. A medida profilática que pode impedir a expansão dessas doenças é evitar a proliferação dos mosquitos transmissores.
- II. São medidas preventivas o uso de inseticidas e larvicidas para eliminar as fases larvais do mosquito.
- III. A vacina contra a dengue e a febre amarela tornará as pessoas protegidas dessas doenças e diminuirá os casos de Chikungunya e de Zika.
- IV. Em áreas onde há alta incidência do mosquito do gênero *Aedes* aumenta a chance de transmissão das doenças.
- V. Em áreas endêmicas é aconselhável o uso de telas mosquiteiras, repelentes e uso de roupas que cubram uma área maior do corpo.
- VI. Além da transmissão pelo mosquito essas doenças podem ser transmitidas sexualmente e pela saliva e urina.

Após avaliar as afirmativas sobre a dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela, assinale a alternativa que contém apenas as corretas.

- a) I, II, IV e V.
- b) I, III, IV e VI.
- c) II, III, IV e V.
- d) II, IV, V e VI.
- e) III, IV, V e VI.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004**: resíduos sólidos – classificação. Rio de Janeiro, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue**: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_aspecto_epidemiologicos_diagnostico_tratamento.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004**. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35805.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/manual_gerenciamento_residuos.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. **Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Disponível em: <http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asabesp_doctos/kit_arsesp_portaria2914.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Dengue**: diagnóstico e manejo clínico. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/14/dengue-manejo-adulto-crianca-5d.pdf>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Febre amarela**: guia para profissionais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2017a. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre_amarela_guia_profissionais_saude.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Chikungunya**: manejo clínico. Brasília: Ministério da Saúde, 2017b. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre_chikungunya_manejo_clinico.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2018.

_____. Brasil registra queda nos casos de dengue, zika e chikungunya. 2018a. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2017/12/brasil-registra-queda-nos-casos-de-dengue-zika-e-chikungunya>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. Saúde atualiza casos de febre amarela no Brasil. 2018b. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42496-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-febre-amarela-5>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

CICLO de vida do *Aedes aegypti* – Livro todos contra o *Aedes aegypti*. 2016. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=rFFntijlME>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

CICLO de vida do mosquito *Aedes aegypti*. 2016. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=8oGwkbBzs3o>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

CORRÊA, Luciara Bilhalva; LUNARDI, Valéria Lerch; CONTO, Suzana Maria de. O processo de formação em saúde: o saber resíduos sólidos de serviços de saúde em vivências práticas. **Rev. Bras. Enferm.**, Brasília, n. 60, v. 1, p. 21-25, jan.-fev. 2007. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/2670/267019615004/>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

COSTA, Elaine Cristina Lima da. **Manejo de resíduos de serviços de saúde: manual básico de procedimentos**. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 2012. Disponível em: <http://bd.camara.leg.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/9128/manejo_residuos_costa.pdf?sequence=1>. Acesso em: 18 mar. 2018.

ESTADO DE SANTA CATARINA. **Instruções para o preenchimento do PGRSS**. [s.d.]. Disponível em: <<https://goo.gl/sPuWWk>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

NUNES, Magda Lahorgue et al. Microcefalia e vírus Zika: um olhar clínico e epidemiológico do surto em vigência no Brasil. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, p. 230-240, abr. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S225555361630012X>>. Acesso em: 29 mar. 2018.

PINTO Junior, V.L. et al. Vírus Zika: revisão para clínicos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 28, n. 6, p. 760-765, nov.-dez. 2015. Disponível em: <<https://www.minsaude.gov.cv/index.php/documentosite/zika-1/311-virus-zika-revisao-para-clinicos/file>>. Acesso em: 7 abr. 2018.

Parasitologia, microbiologia e urinálise

Convite ao estudo

Caro aluno, estamos iniciando a Unidade 2 de Tópicos Especiais em Biomedicina I, que estará voltada para os assuntos de parasitologia, de microbiologia e de urinálise-urocultura e antibiograma; assuntos imprescindíveis para o desempenho de sua profissão.

1. Vamos começar fazendo algumas perguntas que nos dão a real dimensão da importância desses conhecimentos para o exercício da profissão:

Quais são as atribuições do biomédico que atua dentro de um Laboratório de Análises Clínicas? E tendo em vista esta questão, quais são os conhecimentos necessários para que ele tenha um bom desempenho nos exames de concursos públicos ou nos testes para admissão em laboratórios da rede privada?

2. Quais são os exames laboratoriais indicados para o diagnóstico das diferentes doenças?
3. Tendo em mãos o exame solicitado pelo médico e a amostra biológica necessária coletada conforme as normas de qualidade do laboratório, como planejar os testes a serem executados e, de acordo com a especificidade de cada teste, como analisar o resultado de forma a emitir o laudo com a maior segurança possível?

A responsabilidade do biomédico nos laboratórios de análises clínicas é muito grande, pois é ele quem executa e faz a leitura dos exames laboratoriais, analisa os resultados obtidos e assina os laudos. É sempre bom lembrar que existem diferentes tipos de exames que auxiliam ou permitem

o diagnóstico das doenças; dessa forma, vamos avançar uma etapa de cada vez para que, ao final da disciplina, vocês tenham domínio sobre uma boa bagagem dos conhecimentos necessários para responder a segunda e a terceira questão. Vamos então acompanhar André na segunda etapa de seu estágio no laboratório de análises clínicas. André agora deverá participar da rotina de alguns setores do laboratório que, coincidentemente, são os setores que têm o maior número de exames para serem executados. São os laboratórios de Parasitologia, de Microbiologia e de Urinálise. Ao final dessa etapa, André deverá ser capaz de dominar as técnicas para execução e análise dos resultados dos exames laboratoriais que permitem diagnosticar ou colaboram para o diagnóstico das principais doenças infecciosas humanas, parasitárias ou microbiológicas, correlacionando-as com seus agentes etiológicos e com o modo de transmissão da doença e, além disso, deverá dominar as técnicas de urocultura e urinálise úteis para o diagnóstico de condições patológicas. Associado aos exames destinados a pesquisar algum microrganismo responsável por causar uma infecção alimentar, hospitalar, urinária, as gastroenterites e várias outras doenças infecciosas, o antibiograma pode detectar a presença de microrganismos multirresistentes e auxilia na escolha do tratamento. Por esse motivo, André também deverá aprender a executar a técnica e interpretar os resultados.

O laboratório onde André está realizando o seu estágio é ideal para prepará-lo para os concursos públicos de contratação de biomédicos, porque é considerado laboratório de referência na região em diversas áreas das análises clínicas, centralizando a recepção de amostras de pacientes de diversos hospitais e clínicas da região e de outros estados do Brasil. Sendo assim, ele primeiramente deverá acompanhar a rotina do laboratório de parasitologia participando diretamente da execução dos exames que possibilitarão emitir um diagnóstico sobre a existência ou não de uma infecção parasitária em três amostras. Veremos os fundamentos teóricos assim como a solução do problema na Seção 1 desta unidade. Depois, André

deve passar pelo laboratório de microbiologia, onde um novo desafio o aguarda: participará da análise de três amostras, ocasião em que o desafio será detalhado e solucionado com a devida fundamentação teórica na Seção 2 desta unidade. Por último, André será direcionado para o setor de urinálise, que funciona em conjunto com o laboratório de bacteriologia, onde participará da execução de exames laboratoriais importantíssimos para diagnóstico de diversas condições patológicas com a realização de exames de urocultura e antibiograma. Nesse setor, ele será convidado a participar da discussão dos resultados obtidos nos exames realizados pelo laboratório. A fundamentação metodológica da urinálise, urocultura e antibiograma, assim como a sua aplicação para o diagnóstico de doenças infecciosas do trato urinário, serão vistas na Seção 3.

Seção 2.1

Parasitologia

Diálogo aberto

Caro aluno, estamos iniciando a abordagem da Parasitologia com o objetivo de prepará-lo para o exercício da profissão de biomédico em um laboratório de análises clínicas. A área de Parasitologia assume importância quando consideramos que as doenças infecciosas e parasitárias afetam constantemente a saúde da população no Brasil, podendo-se destacar duas categorias importantes de infecções parasitárias: as parasitoses intestinais e as doenças que são transmitidas por um inseto vetor e causam episódios endêmicos. As parasitoses intestinais afetam principalmente crianças e adolescentes, podendo prejudicar o seu desenvolvimento físico e intelectual. Representam um problema de saúde pública no Brasil, afetando a população com acesso restrito ao serviço de saneamento básico, água devidamente tratada e ação educativa sobre higiene. As doenças parasitárias como a malária, a doença de Chagas e a leishmaniose continuam sendo um problema de saúde pública no Brasil. Apesar dos esforços da Secretaria de Vigilância em Saúde (Departamento de Vigilância Epidemiológica) do Ministério da Saúde, essas doenças continuam fazendo milhares de vítimas a cada ano. Vamos então revisar conceitos básicos do ciclo de vida, modo de transmissão e patogenicidade de alguns parasitas que estão mais frequentemente associados com doenças parasitárias no Brasil, buscando associar cada uma dessas doenças com os exames laboratoriais utilizados para o seu diagnóstico.

Para tornar mais interessante esse estudo, vamos acompanhar André, na segunda etapa de seu estágio, agora no laboratório de parasitologia do hospital onde está estagiando e que tem a vantagem de ser centro de referência na região, recebendo amostras de diversos locais, inclusive de outros estados. Ao longo dessa seção, poderemos ajudar André a aprender a executar os exames parasitológicos necessários para diagnosticar as doenças de três amostras que deram entrada no laboratório.

A primeira que foi selecionada correspondia a uma amostra de sangue de uma paciente de oito anos chamada Cristina, proveniente do município de Tailândia do Pará, apresentando febre que persistia por dez dias e não cedia a tratamento com antipiréticos, edema generalizado e indícios de insuficiência renal com anúria, hepatomegalia moderada e icterícia leve. Exames de hemograma e urocultura ajudaram a descartar infecção do trato urinário. Após tratamento com furosemida e dieta hipossódica, a diurese já se apresentava normal, mas a febre se elevava e ocorria associada a calafrios a cada 48 horas. O médico, levando em consideração a origem da paciente, solicitou uma pesquisa para presença de *Plasmodium falciparum*, que se revelou positivo no exame de gota espessa. Qual é o diagnóstico nesse caso, como foi realizado o exame e como se explica a presença de nefropatia? A segunda amostra era de um menino de quatro anos apresentando dor abdominal difusa há duas semanas, náusea e vômitos esporádicos, falta de fome, fraqueza e constipação intestinal (dois dias sem evacuar). Nos últimos cinco dias surgiram tosse seca e febre baixa. No hemograma foi detectado eosinofilia e o raio-X de tórax mostra infiltrado hilar e peri-hilar mais nítido à direita. Os sintomas e a condição socioeconômica da criança levaram à suspeita de parasitose intestinal e foi solicitado exame parasitológico para pesquisa de helmintos. Qual é a possível parasitose desse paciente? Como são realizados os exames para pesquisa dos parasitas? A terceira amostra era de um homem de 50 anos proveniente de Araguaína/TO, com histórico de viagem à zona rural e relato de picada de inseto na perna que causou coceira e vermelhidão e depois virou uma ferida semelhante a um furúnculo. Apresentava febre com calafrio há quinze dias ou mais, anorexia e perda de peso, náusea e tosse seca, tendo sido realizado teste rápido para *Leishmaniose visceral*, com resultado negativo, e imunofluorescência reagente para a doença. Apresentava edema orbitário e alterações eletrocardiográficas com taquicardia sinusal e baixa voltagem do QRS (Complexo de ondas Q, R e S do eletrocardiograma, que são ondas de despolarização ventricular, indicativo de insuficiência cardíaca). Foi solicitado exame de gota espessa para doença de Chagas que deu positivo. Qual é o diagnóstico para esse paciente, como foram realizados os exames e qual é o significado dos resultados obtidos?

Não pode faltar

Vamos revisar agora os conceitos fundamentais de parasitologia básica e clínica e do laboratório de parasitologia com o intuito de alcançar o domínio necessário sobre a execução e interpretação dos resultados dos exames parasitológicos que podem ser imprescindíveis para o diagnóstico das principais doenças parasitárias humanas. A parasitologia, como o próprio nome indica, é a ciência que estuda os parasitas, organismos que sobrevivem utilizando nutrientes de um organismo hospedeiro, causando-lhe prejuízos na saúde. Os parasitas de interesse médico e biomédico pertencem a duas classes principais, que são os helmintos e os protozoários. Os helmintos são geralmente organismos grandes, alongados (em forma de vermes), medindo alguns centímetros de comprimento (1-2 até 20-30 cm); excepcionalmente podem ser menores que 1 mm. É uma família de inúmeros componentes responsáveis pelas infecções parasitárias intestinais ou enteroparasitoses, popularmente conhecidas como verminoses. A doença de Chagas, a leishmaniose e a malária são causadas por protozoários que são microrganismos unicelulares que tem o material genético protegido por uma membrana celular (eucariotos). Uma característica que os diferencia dos helmintos é que apresentam diferentes formas (esféricas, alongadas ou ovais), são pequenos (0,01 a 0,05 mm) e alguns são revestidos por cílios, enquanto outros têm flagelos como forma de locomoção. Os protozoários de importância médica são aqueles que parasitam o sangue humano, denominados hematozoários, e que podem causar danos em diversos órgãos ou tecidos tais como o coração, o tubo digestivo, o fígado, o baço e a pele, de acordo com as suas formas adultas ou as que adotam ao longo de seu ciclo de vida. A forma de transmissão da doença é pela picada do inseto vetor (fêmea hematófaga que suga sangue de humanos), específico para cada agente etiológico. Os exames para diagnóstico dessas doenças podem ser exames de sangue ou de biopsias de medula óssea, de pele e outros órgãos, de acordo com a patogenia de cada microrganismo.



Para efeito de diagnóstico laboratorial, lembre-se que as formas infectantes de hematozoários são microrganismos que podem ser identificados no sangue periférico em suas diversas formas (promastigotas, tripomastigota, trofozoítos, oocistos) e também em tecidos, onde adotam outra forma (amastigotas). As formas infectantes dos helmintos são vermes adultos, larvas, cistos e ovos, que geralmente são encontrados nas fezes. Veja mais detalhes no link que segue. SALOMÃO, R. Infectologia - Bases Clínicas e Tratamento. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Seção 2.4.: Infecções e Doenças Causadas por Parasitos. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/9788527732628/epubcfi/6/174>>. Acesso em: 20 abr. 2018.

Existe a classificação das doenças parasitárias de acordo com o órgão parasitado, seja por helmintos ou por protozoários, porque ele está associado com os principais sintomas clínicos de cada doença. Para compreender essas particularidades é importante revisar o ciclo de vida desses parasitas e as formas de transmissão das doenças por eles causadas. Vamos focar nosso interesse em quatro categorias importantes de doenças infecciosas parasitárias: malária, helmintos, doença de Chagas e leishmaniose.

MALÁRIA

Atualmente, os casos de malária no Brasil podem ser subdivididos em:

- Malária Amazônica: que ocorre na região da Amazônia Legal (Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins), considerada região endêmica para a malária no Brasil e onde a doença está persistindo.
- Malária Extra-Amazônica: que ocorre em outros estados como Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo (devido ao deslocamento de pessoas que foram infectadas na região Amazônica ou casos residuais, que são a forma hepática menos frequente do parasita infectante) e em diversas cidades da região da Mata Atlântica dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Santa Catarina, onde ocorreu o aparecimento da malária das bromélias, possivelmente uma nova forma zoonótica de malária.

A malária é causada por diferentes espécies de *Plasmodium* sp e é a principal doença febril em pessoas que viajam para países tropicais, colocando, anualmente, cerca de 3,3 bilhões de pessoas em risco ao redor do mundo. O plasmódio é transmitido por um vetor do gênero *Anopheles* que se prolifera melhor em regiões quentes e úmidas como a floresta Amazônica. Na atualidade, houve aumento de resistência do mosquito e do protozoário aos inseticidas e medicamentos antimaláricos e ampliou-se a possibilidade do aparecimento de casos de malária. A infecção se inicia quando um *Anopheles* fêmea (popularmente conhecido como “mosquito prego”) suga o sangue contendo merozoítos (não infectantes) de *Plasmodium*. Os esporozoítos, que são a forma infectante, formam-se no interior do organismo do mosquito, alojam-se na glândula salivar e são inoculados durante o repasto sanguíneo. No organismo humano os esporozoítos chegam rapidamente no fígado, e no interior dos hepatócitos se diferenciam e liberam novos merozoítos que se alojam nas hemácias, reiniciando o ciclo. Durante o processo infeccioso, o rompimento das hemácias pelos merozoítos causa acúmulo de citocinas no sangue e ativação do sistema imunológico, o que provoca mal-estar, febre alta e calafrios, sendo que esse processo se repete em ciclos de 48 horas ou 72 horas. No Brasil, a malária causada pelo *Plasmodium falciparum* ocorre em menor número, porém essa é a forma mais grave da malária; a causada pelo *Plasmodium vivax* é muito mais frequente, mas de evolução benigna quando não complicada por infecções recorrentes e anemia associada. Há também uma pequena proporção de infecções mistas e outros tipos de malária, como a malária importada da África causada pelo *Plasmodium ovale* e uma forma rara no Brasil causada pelo *P. malariae*, dificilmente envolvido em infecções graves.

A fase hepática da infecção é assintomática, e assim os sintomas aparecem após alguns dias ou semanas, mas, em alguns casos, a doença pode ficar anos sem se manifestar porque os microrganismos ficam dormentes na forma de hipnozoítos (como o exemplo do *P. vivax*). A malária causada pelo *Plasmodium falciparum* se manifesta até quinze dias após contágio, e os sintomas são febre elevada, dores musculares, dores de cabeça, suores, tremores, diarreia e tosse. À medida

que os glóbulos vermelhos são destruídos, pode ocorrer anemia e icterícia, sendo possível ainda, nas infecções graves, o aparecimento de convulsões, falência renal e coma. Quanto maior o número de hemácias e de células hepáticas infectadas, maior a probabilidade de ocorrerem hepatoesplenomegalia e a interrupção do fluxo em pequenas artérias do cérebro e do rim, originando as formas da malária cerebral e a associada com insuficiência renal. Os exames laboratoriais para o diagnóstico da malária são muito úteis mesmo quando realizados precocemente, sendo métodos simples e baratos de pesquisa das formas do hemoparasita no sangue periférico. Para o exame da gota espessa, a melhor preparação é aquela obtida do sangue colhido diretamente na lâmina por punção digital ou venosa, sem anticoagulante – que prejudica a fixação do esfregaço na lâmina nos passos de desmoglobinização e coloração pelo Giemsa. Reveja como é feita a coleta de sangue e o preparo de lâminas nos links que seguem.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de diagnóstico laboratorial da malária**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. p. 29-35. Disponível em: <<https://bit.ly/2O22JqO>>. Acesso em: 10 maio 2018.

CANAL DO BIOMÉDICO. **Esfregaço Sanguíneo | Técnicas Biomédicas**. 3 fev. 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/2Lt9VOu>>. Acesso em: 10 maio 2018.

O método de gota espessa tem a vantagem de concentrar maior quantidade de sangue em uma área menor, aumentando a chance de encontrar parasitas, o que o torna o melhor método de escolha para diagnóstico de malária. A desvantagem é que requer experiência para identificação das espécies, até porque a morfologia dos parasitas se altera durante o processo de desmoglobinização, além de requerer processamento rápido depois de colhida a amostra. Recomenda-se a coleta de sangue em diferentes horários do dia e durante o pico febril para diminuir a probabilidade de falsos negativos. Estes métodos aliados aos dados clínicos permitem a diferenciação das espécies de *Plasmodium*.



Exemplificando

É possível diferenciar a doença causada pelos diferentes tipos de *Plasmodium* por suas características clínicas de febre a cada 72 horas (*P. ovale* ou *P. malariae*) ou a cada 48 horas (*P. falciparum* ou *P. vivax*), pelo tempo de incubação até surgirem os sintomas, que é mais curto para o *P. falciparum* (alguns dias a 15 dias) e mais longo para os outros (algumas semanas até meses ou anos), porque nestas formas os hipnozoítos são formados. O *P. falciparum* invade qualquer hemácia, que se torna distorcida, não apresenta granulações de Schuffner e seus gametócitos aparecem na forma de meia lua ou banana na periferia do eritrócito, enquanto nos outros aparecem as granulações de Schuffner no interior de hemácias aumentadas (nas hemácias envelhecidas para *P. malariae* e somente nas hemácias jovens imaturas para *P. vivax*). Outra diferença é que para *P. vivax* e *P. malariae* é possível visualizar os trofozoítos adultos ou esquizontes, que não são observáveis no sangue periférico para o *P. falciparum*.

Como o acesso da população aos centros diagnósticos para realização dos exames específicos para diagnóstico da malária é dificultado em muitas situações, foram desenvolvidos métodos rápidos para diagnóstico da malária, que são testes imunocromatográficos com utilização de anticorpos para uma proteína que foi descoberta no *Plasmodium falciparum* denominada Pf-HRP2. Apresenta sensibilidade maior que 95% com parasitemia superior a 100 parasitas/ μ L. A desvantagem desse método são os falsos positivos, uma vez que a proteína permanece circulante por muito tempo após o tratamento da doença e a impossibilidade de detectar as formas não *falciparum*. Novos testes sorológicos, imunológicos e para detecção do DNA do plasmódio por PCR foram desenvolvidos, porém permanecem restritos aos grandes laboratórios devido ao seu alto custo.

HELMINTOS

Parasitoses helmínticas, conhecidas popularmente como verminoses, afetam principalmente crianças e adolescentes em idade escolar causando desnutrição, podendo levar a óbito, e são muito comuns entre a população carente do país. Existem dois tipos de helmintos: os bio-helmintos, cujo ciclo evolutivo exige habitualmente a participação sequencial de outro hospedeiro

animal, além do homem, e os geo-helmintos, cujo ciclo evolutivo pode ocorrer em parte no solo ou água (que é a fonte de infecção por ovos ou larvas) e parte no hospedeiro humano. Entre os helmintos mais frequentemente envolvidos nas parasitoses intestinais do Brasil estão os nematelmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenalis*, *Necator americanus*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis* e *Trichuris trichiura*), que são geo-helmintos e os platelmintos (*Schistosoma mansoni* e *Taenia solium* / *saginata*), que são bio-helmintos necessitando do caramujo (*Schistosoma mansoni*) ou de suíno (*Taenia solium*) e bovino (*Taenia saginata*) para completar seu ciclo. No Quadro 2.1 encontram-se, resumidas, as principais características das formas de infecção e os nomes das doenças parasitárias causadas por esses helmintos, com a exceção do *Trichuris trichiura* que, apesar de ter distribuição mundial e poder estar presente em infecções mistas, geralmente produz um parasitismo silencioso.

Quadro 2.1 | Helmintoses intestinais e suas formas de infecção

Agente Etiológico	Patologia/doença	Nome popular	Forma infectante	Forma de infecção
<i>Schistosoma mansoni</i>	Esquistossomose	Xistose, barriga d'água.	Cercaria na água (penetração ativa).	Nadar em açude ou córregos com caramujo infectado.
<i>Taenia solium</i> / <i>saginata</i>	Teníase	Solitária.	Cisticerco (carne de suíno ou bovino).	Ingestão de carne mal cozida.
<i>Taenia solium</i>	Cisticercose	Cisticercose.	Ovos ou proglotes (fezes). Proglotes no estômago.	Ingestão de água ou alimento contaminado. Vômitos ou retroperistaltismo.
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariíase	Lombriga.	Ovos embrionados (fezes no solo).	Ingestão de água ou alimento contaminado.
<i>Ancylostoma duodenalis</i> / <i>Necator americanus</i>	Ancilostomiase	Amarelão, opilação, doença de jeca tatu.	Larvas (fezes no solo). Larvas L3 de <i>A. duodenale</i> .	Andar descalço na terra. Ingestão de alimento ou água contaminados.

Agente Etiológico	Patologia/doença	Nome popular	Forma infectante	Forma de infecção
<i>Enterobius vermicularis</i>	Enterobiase Oxiuríase	Oxiúro.	Ovos (região perianal). Ovos eclodidos (região perianal).	Mãos e unhas contaminadas. Retroinfecção.
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Estrongiloidíase		Larva filarióide (fezes no solo e água). Larva (fezes de fralda ou roupa). Larva rabditoide (região anal).	Penetração ativa na pele. Autoinfecção externa. Autoinfecção interna (íleo e cólon).

Fonte: elaborado pela autora.



Assimile

A maioria das parasitoses intestinais são transmitidas por ingestão de água ou alimentos crus contaminados com ovos embrionados dos parasitas que se desenvolveram no solo devido à presença de fezes de pessoas infectadas; logo há uma relação direta com prática inadequada de higiene pessoal e dos alimentos, além da falta de saneamento básico. Outra forma de contrair uma verminose é pela penetração ativa das larvas através da pele, o que está também relacionado com o hábito de andar descalço, nadar em açudes ou córregos e manusear água de irrigação contaminada.

Os exames parasitológicos de fezes são os métodos mais utilizados para o diagnóstico dessas doenças, e é importante ter em vista que os laxantes não devem ser utilizados para coleta das fezes. Como não existe um único método capaz de diagnosticar ao mesmo tempo todas as formas de parasitas, em geral se emprega rotineiramente a realização de dois ou três métodos diferentes,

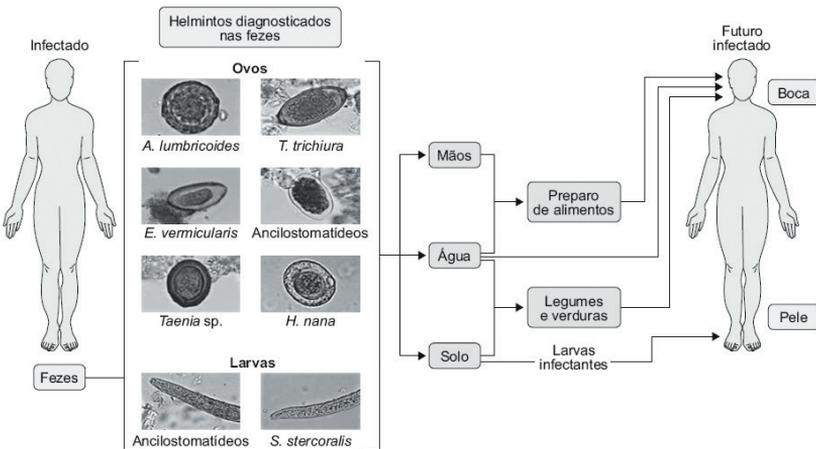
sendo recomendável três procedimentos diferentes ao se analisar uma amostra de fezes:

- a) Exame direto a fresco: bastante útil para observação de presença de muco e sangue, parasitos adultos ou fragmentos destes, larvas de áscaris ou oxiúros em exame macroscópico; larvas de estrombilóides e ovos de helmintos em exame microscópico e para visualização de movimentos de protozoários em fezes diarreicas recém-emitidas sem adição de preservantes.
- b) Técnica de concentração de ovos, cistos e formas parasitárias: porque muitas vezes a quantidade existente é pequena e o risco de resultado falso negativo é alto.
- c) Esfregaço de fezes com coloração permanente (Lugol) para larvas de helmintos, cistos e trofozoítos de protozoários.

Muitas vezes a estratégia para se obter um diagnóstico mais seguro é realizar os testes em três amostras subsequentes de fezes, coletadas em dias alternados, adicionando-se conservantes (álcool polivinílico - PVA, iodo e formol - MIF e SAF) quando a análise for feita após 24 horas. Também é uma boa estratégia a utilização de dois métodos diferentes de concentração para se garantir que tanto os ovos embrionados mais pesados como os ovos leves possam ser observados. Os mais utilizados são o método de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janer, também conhecido como método de Lutz, que é um método mais abrangente e que permite visualizar ovos e larvas de helmintos e cistos de protozoários, e um dos métodos de sedimentação por centrifugação, como os métodos de Blagg ou MIFC, método de Ritchie e Coprotest. Para a quantificação da carga parasitária é mais frequentemente utilizado o método de Kato-Katz, que permite a contagem de ovos de helmintos que são concentrados por filtração em tela e se usa o verde malaquita para destacar e diferenciar os ovos na preparação.

Um exemplo da utilidade do exame parasitológico de fezes para a diferenciação de algumas parasitoses helmínticas encontra-se ilustrado na Figura 2.1.

Figura 2.1 | Diagnóstico por meio de exame parasitológico de fezes de doenças helmínticas intestinais e suas diferentes formas de transmissão



Fonte: Ferreira e Costa-Cruz (2017, p. 607).

Para compreender quais são as características típicas no exame parasitológico de fezes que permitem reconhecer o tipo de parasitose, e também para associar essas diferentes doenças parasitárias intestinais com os seus principais sintomas clínicos, é necessário revisar alguns conceitos básicos de parasitologia dos helmintos.

As larvas de *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenalis* e *Schistosoma mansoni* (esquistossomose), após a penetração passiva no intestino (ovos embrionados de áscaris do alimento ou água ingeridos eclodem no intestino) ou ativa na pele (dos pés descalços no solo pela larva filarióide de ancilóstomo ou em contato com água contaminada pelas cercarias para esquistossomose), percorrem um trajeto semelhante até alcançar o seu local de fixação no intestino. Seguem pelos vasos linfáticos até as veias, passam pelo coração e chegam ao pulmão, saem para as vias aéreas e pela traqueia e chegam até a faringe, são deglutidas e alcançam o intestino. Os sintomas também são parecidos, podendo haver dor abdominal, diarreia, febre, náusea e anorexia, e pode ocorrer tosse e pneumonite devido à presença de vermes nos pulmões, que é associada com uma eosinofilia (síndrome de Loeffler), originando sinais típicos no raio-X de tórax. Durante o trajeto, os vermes alcançam a maturidade sexual, podendo se reproduzir, e as fêmeas passam a produzir ovos

nas fezes que podem ser encontrados no exame parasitológico de fezes. Procure lembrar, com as imagens da Figura 2.1, quais são as características diferenciais que permitem o diagnóstico: ovos de *áscaris* apresentam três membranas, sendo que a externa tem aspecto mamilonado; os ovos de *ancilóstoma* tem duas membranas, e no seu interior, uma massa germinativa constituída de blastômeros; os ovos de *Schistosoma* (não mostrado na figura) são os mais diferentes porque apresentam um grande espículo lateral na região mais dilatada do ovo. As formas adultas das larvas intestinais ou fragmentos de larvas também podem ser encontradas nas fezes, conforme a larva de *Ancylostoma* vista na Figura 2.1.

Outras características distintas para cada espécie são: as larvas adultas de *áscaris* são cilíndricas e grandes e, quando em grande número, podem causar complicações como a obstrução das vias aéreas ou do intestino e pancreatite, podendo ser fatal. Já a ancilostomíase pode ser relacionada com a história de Jeca Tatu pelos sintomas característicos de palidez, fraqueza e desânimo, com anemia agravada pela perda de sangue na parede do intestino ou nos pulmões (hemoptise). Um exame parasitológico de escarro ou de lavado brônquico pode ser indicado nesse caso. Na esquistossomose há o aumento do fígado e baço denominado hepatoesplenomegalia, que na fase crônica pode evoluir para fibrose hepática e ascite (barriga d'água).

A teníase e a cisticercose são causadas pela infecção do mesmo parasita (*Taenia solium*) em estágios diferentes do ciclo evolutivo. Na teníase, os sinais clínicos são decorrentes do parasitismo intestinal pelas tênia adultas, que podem alcançar de 20 a 30 centímetros – por vezes até metros de comprimento– e, devido ao grande desvio de nutrientes para o parasita, pode haver fome excessiva na pessoa parasitada. A forma de infecção da teníase é pela ingestão do cisticerco presente na carne malcozida de suíno (*T. solium*) ou de bovino (*T. saginata*). O embrião presente no seu interior eclode e se instala na musculatura da parede do intestino, formando pequenas elevações popularmente conhecidas como canjiquinha. Os ovos de *Taenia* são redondos e apresentam dupla membrana de aspecto radiado típico, não muito nítido na Figura 2.1. Na cisticercose, a larva atravessa a parede intestinal e se instala na forma de cisto em órgãos como olho, músculo, pele e cérebro. A ingestão de ovos ou proglotes (porções distais do verme achatado e segmentado onde

ficam os ovos fecundados na fêmea) causa a cisticercose. Este nome se dá porque os ovos podem formar a larva na forma protegida (cisticerco), que nos animais se instala nos músculos e no homem pode causar uma forma grave de doença que é a cisticercose cerebral, cujo diagnóstico é feito por imageamento cerebral.

A enterobíase ou oxiúriase é produzida por uma larva minúscula cujo aspecto lembra uma linha branca que pode ser visualizada na superfície do bolo fecal, mas, nesse caso, os vermes adultos instalam-se no ceco ou apêndice e as fêmeas saem pelo reto durante a noite para botar os ovos na região perianal, causando o típico prurido, que é o sintoma mais característico. A melhor técnica para coleta de ovos é a técnica da fita adesiva (método de Graham) e o processamento do exame laboratorial pela técnica de Baerman-Moraes ou Rugai, que se baseiam na concentração de larvas por hidro ou termo tropismo. O método permite a visualização de ovos típicos em forma de D maiúsculo. Lembre-se que existem métodos para enriquecimento (ou concentração) indicados para ovos leves e cistos, que são os de flutuação de Willis e centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco (método de Faust). Muitas vezes é indicada a realização de uma delas e de cultura de fezes, pois pode haver poliparasitismo por outros helmintos, por bactérias ou por fungos.



Pesquise mais

Leia mais sobre as técnicas laboratoriais de exames parasitológicos utilizados para o diagnóstico de enteroparasitoses no link a seguir:

OLIVEIRA, R. B. **Relações parasitas e hospedeiros**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S. A., 2016, p. 31-36. Disponível em: <<https://bit.ly/2Ldptr8>>. Acesso em: 7 maio 2018.

DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas ou tripanossomíase é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, que é um protozoário flagelado. A doença na fase aguda apresenta manifestações gerais como febre moderada e contínua, mal-estar geral, cefaleia, fraqueza (astenia) e falta de apetite (hiporexia), podendo apresentar hipertrofia de linfonodos e edema, hepatoesplenomegalia (principalmente em crianças de um a cinco anos) e meningoencefalite (raramente). Um sinal que muitas vezes ajuda no diagnóstico da fase aguda da doença de Chagas

é o chagoma de inoculação, que é o local da picada do barbeiro, conhecido como “porta de entrada”, e que pode se apresentar como um furúnculo que não supura (no rosto ou nas pernas) ou como o sinal de romaña (pálpebras superior e inferior de um olho inchadas). A transmissão é feita pela picada de um inseto triatomídeo conhecido popularmente como “barbeiro”, que costuma picar no rosto (daí o seu apelido) durante a noite e infesta casas rurais de construção mais precárias. Existem ainda as formas menos frequentes de infecção por transfusão de sangue: a congênita (placentária), acidental (no laboratório), pelo leite materno (muito raro) e uma forma que se apresentou mais recentemente, que ocorre pela ingestão de alimentos como açaí, babaçu e caldo de cana contaminados com insetos transmissores infectados ou com fezes de barbeiros. A doença de Chagas é uma hemoparasitose importante que pode apresentar, ainda na fase aguda, miocardite que só é visível no eletrocardiograma. Na fase intermediária em geral é assintomática, podendo nunca se manifestar ou manifestar-se após décadas da infecção.

O exame parasitológico direto no sangue é considerado a técnica padrão-ouro para diagnóstico da doença de Chagas na fase aguda. Recomenda-se coleta de sangue durante o pico febril, pois o parasita se encontra no sangue durante o período de febre, e quando o resultado for negativo na primeira coleta, devem ser realizadas novas coletas até confirmação do caso ou desaparecimento dos sintomas agudos. São processados três métodos diferentes: a pesquisa a fresco do tripanossomatídeo (é rápido e mais sensível do que o esfregaço corado), o método da gota espessa ou esfregaço e o método de concentração (Strout, microhematócrito ou creme leucocitário), que é o método de escolha quando o exame direto der negativo e a febre perdurar por 30 dias.



Refleta

Os exames parasitológicos de sangue são muito úteis para o diagnóstico da doença de Chagas apenas na fase aguda, exatamente quando os sintomas são muito inespecíficos e a evidência clínica da miocardiopatia causada pelo *T. cruzi* somente pode ser detectada por realização do eletrocardiograma. Nas fases intermediária e crônica, os exames parasitológicos diretos no sangue não são muito úteis. Dessa maneira,

tanto na fase aguda quanto na crônica, toda e qualquer ação preventiva que favoreça manter os profissionais de saúde e a população de risco devidamente informados e orientados é extremamente importante.

A fase crônica, que é a fase cardíaca da doença, é a mais debilitante e pode causar a morte. O achado clínico mais frequente é a insuficiência cardíaca progressiva, arritmia grave, havendo palpitação, dispneia, dor precordial, edema, tosse, tonturas, sopro diastólico e extra-sístoles. No raio-X é visível a cardiomegalia (aumento do tamanho do coração) e alterações da morfologia do tubo digestivo (comumente megaesôfago e megacólon). Após a fase aguda não se encontram parasitas no sangue, que estarão alojados no coração e outros órgãos. Outros métodos laboratoriais são indicados no diagnóstico da fase crônica: os exames sorológicos (para detecção de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* da classe IgG e IgM), que são realizados pelo teste de imunofluorescência indireta (IFI), método imunoenzimático (ELISA) e hemaglutinação indireta (HAI). A técnica de reação em cadeia polimerase PCR para diagnóstico molecular é de uso restrito, e todos estes testes são realizados por centros especializados.

LEISHMANIOSE

A leishmaniose é uma infectoparasitose causada por várias espécies de *Leishmania* sp, um protozoário da família *Trypanosomatidae*, a mesma do *T. cruzi* da doença de Chagas, apresentando ciclo de vida igual, diferindo na forma de transmissão que se faz por inseto *Phlebotomus* da família *Lutzomyia*, conhecido por mosquito palha, birigui, tatuquira ou cangalha, dependendo da região do Brasil. No interior do organismo do mosquito é concebida a forma infectante promastigota, que invade os macrófagos do sangue humano, multiplicam-se até romperem a célula hospedeira e disseminam-se pela corrente sanguínea e linfática, iniciando uma reação inflamatória.

A leishmaniose é uma infecção intracelular que se caracteriza pela produção de lesão com degeneração tecidual. No Brasil ocorrem a forma cutânea ou tegumentar, doença denominada Leishmaniose Tegumentar Americana, caracterizada por sérias lesões na boca, no

nariz e septo nasal. As úlceras também podem ocorrer nos braços, costas, pernas ou outro local onde o parasita é inoculado pela picada do inseto transmissor ou pela disseminação pelo sangue ou linfa (mais frequente na forma muco-cutânea). Existe também a forma visceral sendo, no Brasil, a forma cutânea causada pela *Leishmania (Viannia) braziliensis*, e a forma visceral, pela *Leishmania chagasi*. Na forma visceral ocorrem febre, diarreia e esplenomegalia (aumento do baço). A leishmaniose é uma doença mais frequente nas regiões Norte e Nordeste, porém em 2003, dados do Ministério da Saúde indicaram que dobrou o número de casos nas regiões Sul e Sudeste. Leia sobre o assunto no guia de bolso elaborado pelo Ministério da Saúde sobre doenças infecciosas e parasitárias disponível em <<https://bit.ly/1UyJT0j>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

O exame laboratorial utilizado para o seu diagnóstico é a pesquisa do parasita em esfregaço de sangue (gota espessa corada pelo Giemsa ou esfregaço delgado corado pelo método de Wright). Em casos de leishmaniose tegumentar americana, são colhidas amostras por meio de raspagem ou biópsia de bordo da lesão, e faz-se esfregaço direto para visualização de formas promastigotas ou exame histopatológico com visualização das formas amastigotas. Outras técnicas são a biópsia de medula óssea e punção aspirativa de baço ou linfonodos. Da mesma forma que para os outros hemoparasitas do tipo protozoários, foram desenvolvidos testes sorológicos com uso de anticorpos específicos (IFI, ELISA e hemaglutinação) e teste molecular por PCR. Um teste bastante utilizado é a Reação de Montenegro, que analisa a resposta imune de intradermoreação após injeção do antígeno (como nos testes de alergia). Existe um teste rápido para diagnóstico da leishmaniose que é uma análise imunocromatográfico com utilização de anticorpos para uma proteína da *Leishmania*, denominada rK39.



Pesquise mais

Reveja os métodos laboratoriais para os diagnósticos das hemoparasitoses no seguinte material: OLIVEIRA, R. B. **Relações parasitas e hospedeiros**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2016, p. 31-36. Disponível em: <<https://bit.ly/2Ldpdr8>>. Acesso em: 7 maio 2018.

Você poderá ainda visualizar como ocorre o ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* no inseto vetor e a transmissão da doença de Chagas assistindo aos seguintes vídeos:

1. vídeosINBEB. **Ciclo de vida do T. cruzi no homem**. 30 ago. 2012. Disponível em: <<https://bit.ly/2eSjaH8>>. Acesso em: 12 abr. 2018.
2. vídeosINBEB. **O ciclo de vida do T. cruzi no inseto**. 30 ago. 2012. Disponível em: <<https://bit.ly/2O55Cr7>>. Acesso em: 12 abril 2018.

Sem medo de errar

Após ter revisados todos os conceitos de parasitologia ficou fácil ajudar André a solucionar os casos apresentados, certo?

A amostra de sangue de Cristina, proveniente do Pará, apresentando febre que persiste por dez dias e não cede a tratamento com antipiréticos, edema generalizado e indícios de insuficiência renal com anúria, hepatomegalia moderada e icterícia leve está de acordo com o diagnóstico de malária por *Plasmodium falciparum*, que é a forma mais grave da doença, com febre a cada 48 horas e que pode ser diagnosticada pelo exame de gota espessa. Na microscopia as únicas formas encontradas rotineiramente são anéis ou vírgulas (trofozoítos jovens) e gametócitos típicos na forma de banana. A nefropatia é possível nos casos de malária por *P. falciparum*, sendo a glomerulonefrite/síndrome nefrótica explicada pelo mesmo mecanismo que pode levar à malária cerebral: as hemácias deformadas (jovens, maduras ou velhas) pela presença de grande quantidade de merozoítos, as hemácias rompidas e o acúmulo de citotoxinas e, principalmente, a deposição dos complexos imunes e a lesão do endotélio, que podem prejudicar o fluxo de sangue para esses órgãos.

A segunda amostra era de um menino de quatro anos, de família que provavelmente vive em área desprovida de saneamento básico adequado e/ou condições de higiene adequadas, apresentando dor abdominal, náusea e vômitos, falta de fome, fraqueza e constipação intestinal. A suspeita principal recai em *Ascaris lumbricoides* (nome popular da lombriga) devido aos sinais de passagem do parasita pelo pulmão (tosse seca, febre baixa, infiltrado no raio-X de tórax e

eosinofilia detectado no hemograma). A eosinofilia pulmonar causada por *Ascaris* é denominada Síndrome de Loeffler e geralmente tem evolução benigna, mas o risco de morte por asfixia quando vermes adultos obstruem as vias respiratórias nas hiperinfecções é alto. Nesse caso, em que não havia fezes diarreicas, é recomendável fazer um exame parasitológico macroscópico nas fezes à procura de vermes adultos, que no caso de *Ascaris* são grandes (cerca de 30 cm), enquanto outros como *Enterobius* e *Trichuris* são pequenos (1 cm com aspecto de fiozinho branco na superfície do bolo fecal). A ancilostomose fica praticamente descartada pela ausência de relato de moradia em área rural, costume de andar descalço e diarreia sanguinolenta, no entanto, é uma prática adequada que se faça pelo menos dois tipos de exames parasitológicos de fezes em três amostras coletadas em dias alternados: um mais abrangente como o de Lutz ou Hoffman, Pons e Janner e um de sedimentação por centrifugação (método de Blagg ou MIFC) que tem a vantagem de concentrar os parasitas e aumentar a precisão do exame em casos de baixa infestação. Pode-se realizar também um método quantitativo para ovos de helmintos como o Kato-Katz e, para informar sobre uma possível infestação múltipla, um método para pesquisa de cistos de protozoários intestinais (método de Ritchie ou Coprotest).

A terceira amostra era de um homem de 50 anos proveniente da região Amazônica (Tocantins), com relato de picada de inseto e ferida na perna e que apresentava febre com calafrio, anorexia e perda de peso, náusea e tosse seca, tendo sido realizado teste rápido para leishmaniose visceral com resultado negativo e imunofluorescência reagente para a doença. Apresentava edema orbitário, alterações eletrocardiográficas e resultado positivo para doença de Chagas no exame de gota espessa. É um caso de doença de Chagas agudo por transmissão vetorial (observa-se chagoma típico ou "porta de entrada" da picada de barbeiro) que é mais frequente em casas rurais, mas também nas matas dos arredores onde crescem pés de açaí ou babaçu. Os sinais eletrocardiográficos sugerem uma insuficiência cardíaca que pode estar presente na fase aguda da doença, mas não permite diagnóstico definitivo. A confirmação de um caso de doença de Chagas requer a realização de exame laboratorial. Na fase aguda o exame parasitológico direto no sangue a fresco é de execução rápida e mais sensível que o esfregaço corado e permite a visualização dos movimentos do *Trypanosoma cruzi*. O método

de lâmina corada de gota espessa ou esfregaço apresenta menor sensibilidade, mas é realizado prioritariamente nos casos provenientes da Amazônia Legal devido à sua utilidade para o diagnóstico de malária. O método de concentração (Strout, microhematócrito ou creme leucocitário) apresenta maior sensibilidade e é recomendado quando o exame a fresco for negativo. O exame de gota espessa pode permitir a visualização de tripomastigotas características da doença de Chagas. A sua proveniência de área endêmica para Chagas e leishmaniose visceral resultou em um caso raro de doença de Chagas com reação cruzada para leishmaniose visceral, diagnosticada por testes sorológicos. A detecção de anticorpos anti *T-cruzi* da classe IgG (exame sorológico) deve ser feita pelos métodos de ensaio imunoenzimático ELISA, imunofluorescência indireta IFI ou hemaglutinação indireta HAI, e o método de diagnóstico laboratorial de fase crônica, quando a parasitemia é pouco evidente e os métodos parasitológicos convencionais (hemocultura e xenodiagnóstico) são de baixa sensibilidade. Para a *Leishmania* existe teste rápido para a detecção da forma visceral baseado na detecção de anticorpos rK39 por imunoensaio qualitativo, porém esse teste é altamente reativo com tripanossomos.

Avançando na prática

Diagnóstico laboratorial das principais parasitoses sanguíneas e intestinais no Brasil

Descrição da situação-problema

Carlos é aluno do quarto ano de Biomedicina e precisa montar uma palestra para apresentar aos funcionários do laboratório em que faz estágio. A palestra é sobre os métodos laboratoriais usados para o diagnóstico das principais parasitoses sanguíneas e intestinais humanas. Carlos está preocupado, pois está confuso na organização do assunto e precisa colocar todos os pontos importantes em pauta. Em sua opinião, como Carlos poderia organizar os assuntos para a apresentação da palestra?

Resolução da situação-problema

Carlos poderá organizar o assunto da seguinte forma:

1. Exame parasitológico de sangue: tipos, detalhes das técnicas de exame direto a fresco e esfregaço (gota espessa e estirado). Ilustrar como são realizadas as etapas de coleta do sangue e preparo da lâmina.
2. Citar quais doenças (hemoparasitoses humanas) podem ser diagnosticadas por cada técnica, ilustrando com figuras as características dos parasitas visualizados no microscópio: plasmódio, tripanossomatídeo e leishmania no exame direto e formas amastigotas e tripomastigotas nas lâminas coradas.
3. Exame parasitológico de fezes: tipos de exames qualitativos e quantitativos de parasitas intestinais e doenças parasitárias intestinais humanas que podem ser diagnosticadas.

Ilustrar as características morfológicas dos parasitos, larvas e ovos ou cistos que permitem a sua diferenciação e o diagnóstico da parasitose.

Carlos poderá consultar atlas e manuais de parasitologia clínica, livros, apostilas e manuais de técnicas de laboratório, assim como outras fontes e bibliografias indicadas, além das citadas na seção:

ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 8, Parasitologia Básica, Lição 8-3 e Lição 8-4, p. 743-762.

UFF Universidade Federal Fluminense, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Atlas Virtual de Parasitologia. Disponível em: <<http://atlasparasitologia.sites.uff.br/>>. Acesso em: 9 maio 2018.

McPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry, 21a ed., Barueri SP: Manole, 2012. Parte VII, Cap. 61, Parasitologia Medica, p. 1273 - 1317. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1299>>. Acesso em: 7 maio 2018.

Faça valer a pena

1. Considerando a existência de uma variedade de procedimentos indicados e utilizados na preparação e no exame para a pesquisa de parasitos em amostras biológicas, analise as proposições a seguir:

- I. O exame parasitológico de fezes pode ser macroscópico ou microscópico e geralmente é a técnica indicada para auxiliar no diagnóstico de parasitoses intestinais por helmintos, permitindo identificar vermes adultos ou fragmentos dos mesmos e ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenalis*, *Taenia solium*, *Schistosoma mansoni* e *Enterobius vermicularis*.
- II. Métodos de concentração de fezes, tais como o de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janer e sedimentação por centrifugação (métodos de Blagg, ou MIFC, método de Ritchie, Coprotest) são métodos que permitem a quantificação da carga parasitária pela contagem de ovos.
- III. Análises microscópicas diretas do sangue a fresco ou pelos métodos da gota espessa e do esfregaço estirado e corado de sangue são muito utilizados para a pesquisa de *Plasmodium* sp, causador da malária, *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas e *Leishmania* sp, causador de leishmaniose.

É correto o que se afirma em:

- a) I e II apenas.
- b) I e III apenas.
- c) II e III apenas.
- d) III apenas.
- e) I, II e III.

2. No Brasil, a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e a leishmaniose visceral ou Calazar são mais frequentes nas regiões Norte e Nordeste, e são duas formas diferentes da doença causada por espécies diferentes da *Leishmania* sp. Embora a manifestação clínica da doença dependa muito da capacidade de resposta do hospedeiro, na Leishmaniose Tegumentar Americana – ou leishmaniose cutânea – ocorrem feridas ulcerativas inflamadas com bordas altas em rosto, braços, costas ou pernas (local da picada do inseto), enquanto na leishmaniose visceral ocorre febre, hepatoesplenomegalia, icterícia e ascite.

Assinale a alternativa que cita, corretamente e respectivamente, (1) o agente causador da LTA, (2) do Calazar e (3) a forma de transmissão destas doenças no Brasil:

- a) *Leishmania braziliensis*, *Leishmania chagasi*, picada do flebótomo fêmea do gênero *Lutzomyia* (nome popular do mosquito palha).
- b) *Leishmania guyanensi*, *Leishmania amazonensis*, picada do *Anopheles* (nome popular do mosquito prego).
- c) *Leishmania braziliensis*, *Leishmania chagasi*, picada do barbeiro (*Triatoma infestans*).
- d) *Leishmania chagasi*, *Leishmania braziliensis*, picada do *Phlebotomus* fêmea (nome popular para o mosquito palha).
- e) *Leishmania braziliensis*, *Leishmania chagasi*, picada do mosquito hematófago *Anopheles* (nome popular para o mosquito prego).

3.

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) alertou na sexta-feira sobre o aumento de casos de **malária** no Brasil, Equador, México, Nicarágua e Venezuela no ano passado e pediu para as autoridades da região que reforcem a vigilância e o controle. A tendência inverteu-se após quase uma década (2005-2014) de queda da malária na América Latina, uma doença transmitida pela picada de um mosquito e pode causar infecção cerebral, insuficiência renal ou meningite. (...) O Brasil notificou 174.522 casos de malária entre janeiro e novembro de 2017 na região Amazônica, um aumento em relação aos 117.832 casos reportados em 2016. (VEJA, 2018, [s.p.]

Com relação à malária, analise as afirmativas a seguir:

- I. A transmissão vetorial da malária se dá pela picada do inseto *Anopheles* fêmea que, ao sugar o sangue do ser humano infectado, junto ingere a forma de merozoítos do *Plasmodium* sp, os quais, no interior do seu tubo digestivo, convertem-se em forma infectante – os esporozoítos –, que são inoculados em outro hospedeiro humano.
- II. A região endêmica da malária no Brasil está situada na área da Mata Atlântica dos estados do Rio de Janeiro, Paraná, São Paulo e Santa Catarina.

- III. Diversos fatores têm contribuído para a persistência da malária no Brasil, podendo-se citar entre eles o desmatamento desordenado na Amazônia, que provoca a urbanização do mosquito vetor, o deslocamento de populações de áreas endêmicas para outros estados e/ou a circulação de indivíduos de uma região para outra, e a resistência do mosquito vetor aos inseticidas e do plasmódio aos medicamentos antimaláricos.

Está correto apenas o que se afirma em:

- a) I e II.
- b) II e III.
- c) I e III.
- d) II apenas.
- e) III apenas.

Seção 2.2

Microbiologia, infecções alimentares e hospitalares

Diálogo aberto

Caro aluno, convido você a entrar em um mundo invisível aos olhos humanos, povoado de microrganismos. Existem diversos microrganismos que estão por toda parte: no solo, nas plantas, no ar, na água, na nossa pele, no interior de nosso tubo digestivo, nas outras pessoas e nos objetos que nos rodeiam. Alguns não são patogênicos, mas alguns podem causar doenças e muitos indivíduos são portadores assintomáticos desses microrganismos patogênicos atuando como transmissores de doenças. Essas formas de transmissão de microrganismos patogênicos (bactérias, vírus, fungos e parasitas) são responsáveis por um grande número de doenças infecciosas, cujos diagnósticos muitas vezes dependem de técnicas de cultura de microrganismos a partir de amostras de fezes, urina, sangue, líquido e outras amostras como secreções, biopsias e aspirados. Focaremos o nosso estudo nos microrganismos que estão mais frequentemente envolvidos em infecções de origem alimentar e hospitalar, uma vez que estas categorias de infecções são muito frequentes no mundo todo.

Vamos, então, continuar acompanhando André na sua saga para adquirir experiência na rotina do laboratório de análises clínicas onde ele está estagiando e já fez muito progresso. André agora, depois de ter passado pelo laboratório de Parasitologia, conhecerá o que se faz no laboratório de Microbiologia. Este laboratório, na maioria das vezes, tem a finalidade primordial de realizar análises que permitam auxiliar no diagnóstico da etiologia de uma doença infecciosa por meio da execução de técnicas de cultura para a identificação de um microrganismo, seja ele uma bactéria, um vírus, um fungo ou um parasita.

André está procurando entender os exames de dois pacientes que foram realizados pelo laboratório de microbiologia. A primeira amostra é de M.H., 21 anos de idade que mora no Maranhão há dez anos e que, durante uma viagem para a capital do estado de São Paulo,

ingeriu uma coxinha em uma lanchonete e começou a sentir fortes dores abdominais acompanhadas de dor de cabeça e vômitos. No dia seguinte seu estado de saúde se agravou, levando-o a procurar uma unidade de saúde. Foi solicitado uma coprocultura para investigação de provável infecção alimentar, o que permitiu o diagnóstico de infecção alimentar por *Salmonella* sp. Como foi realizado o exame laboratorial que permitiu esse diagnóstico? Quais são os principais microrganismos relacionados com as infecções alimentares, como elas podem ocorrer, como podem ser diagnosticadas e como devem ser tratadas ou prevenidas? O segundo paciente é José, paraplégico devido à trauma raquimedular na coluna lombar por arma de fogo. Foram enviadas duas amostras, sendo uma de sangue e outra de urina porque, após 20 dias da alta hospitalar e tendo sido previamente treinado pelos enfermeiros a fazer cateterismo vesical de alívio três vezes ao dia, ele foi levado à urgência pela esposa apresentando respiração rápida, sudorese fria, sonolência e urina com aspecto de leite condensado. Foram, então, solicitados a urocultura e o antibiograma, mas antes do resultado do exame foi iniciado antibioticoterapia endovenosa, e em dois dias José já estava estável hemodinamicamente. No entanto, logo em seguida seu estado se agravou e ele desenvolveu uma uroseps, e uma nova bateria de exames foi então solicitada. Quais são os exames que podem auxiliar a solucionar esse caso? Como se explica a complicação da infecção do trato urinário-ITU descrita? Quais são os microrganismos mais frequentemente envolvidos em infecções hospitalares? Quais são os riscos dos microrganismos multirresistentes?

Não pode faltar

Vamos começar revisando conceitos da Microbiologia Básica que são fundamentais para a compreensão das principais técnicas utilizadas na Microbiologia Clínica para o diagnóstico laboratorial das doenças infecciosas. A Microbiologia estuda microrganismos que são classificados em grupos com características estruturais e biológicas distintas e são identificáveis por microscopia, sendo denominados de bactérias, vírus, fungos ou leveduras e parasitas. Em grandes laboratórios pode existir a subdivisão de setores para o estudo de cada uma dessas classes de microrganismos,

a saber, bacteriologia, virologia, micologia (fungos e leveduras) e parasitologia. Os vírus são muito menores do que uma célula e sobrevivem e se reproduzem somente em seu interior. Dessa forma, os testes diagnósticos em virologia se baseiam em cultura de células e métodos imunoenzimáticos específicos para pesquisa de anticorpos virais, em geral realizados em laboratórios de referência. As bactérias são um grupo de microrganismos unicelulares que crescem e formam colônias, e que podem ser identificadas microscopicamente de acordo com a sua morfologia: cocos (redondo) como o estreptococos e estafilococos, bacilos (bastão) como a *E. coli* e as *Enterobacteriaceae* e bactéria espiralada, como o causador da sífilis *Treponema pallidum*, havendo alguns bacilos filamentosos, cocobacilos, diplococos, entre outros. Algumas bactérias são aeróbicas enquanto outras são anaeróbicas, impondo exigências quanto ao tipo de meio de transporte da amostra para análise. As enterobactérias que tem como habitat o intestino humano são denominadas coliformes e cerca de 20 espécies (dentre centenas existentes na família) tem importância clínica, pois 95% delas são patogênicas – podem causar infecção do trato urinário - ITU, septicemias, infecção gastrointestinal ou meningite. Para diferenciação desses microrganismos no Laboratório Clínico é necessário conhecer as diferenças estruturais e muitas de suas propriedades bioquímicas que permite isolá-las em meios de cultivo diferenciados. Um dos métodos mais utilizados para o isolamento e diferenciação das enterobactérias é a técnica de Gram. Essa técnica se baseia em diferenças existentes na composição de suas membranas celulares que permite diferenciá-las em bacilos Gram positivos ou Gram negativos. Os Gram negativos apresentam membranas com teor lipídico elevado que se dissolvem com álcool em uma das etapas da coloração, e deixam escapar o corante violeta de metila. Diferentemente, os bacilos Gram positivos têm paredes grossas de peptidoglicano, quase sem lipídeos, e fixam o corante.

Outra diferença diz respeito à álcool-ácido-resistência da bactéria, sendo que os bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) se coram em vermelho no método de Ziehl-Neelsen, enquanto as outras descoram com o tratamento e ficam com a coloração de fundo. Existe ainda um método para destacar as micobactérias com presença BAAR com auramina fazendo com que elas emitam fluorescência (método de pesquisa de BAAR por auramina).

Grande parte dos exames bacteriológicos são feitos por meio de cultivo das bactérias que podem estar presentes na amostra biológica (fezes, sangue, escarro, líquidos ou secreções) em meios de cultura adequados. Esses meios podem isolar um determinado tipo de bactéria favorecendo a formação de colônias de bactérias fermentadoras de lactose (por exemplo, *Klebsiella* e *E. coli*) diferenciando-as das não fermentadoras (por exemplo *Shigella*, *Salmonella* e *Proteus*), favorecendo também o crescimento daquelas que formam colônias em ágar sangue ou, para o crescimento de fungos patogênicos, usa-se meios que contêm dextrose, maltose e peptonas (ágar dextrose Sabouraud).



Assimile

Todas as enterobactérias reduzem nitrato, fermentam glicose, são oxidase negativas e catalase positivas. Colocando-se indicadores de cor (cromogênicos) no meio, pode-se separar as diferentes espécies. Por exemplo, no meio Hektoen Entérico (HE), a *E. coli* forma colônias de cor laranja e a *Salmonella*, azul; no meio cromogênico Salmonella-Shigella, a *E. coli* fica rosa, a *Salmonella*, preta e *Shigella*, verde.

Outras metodologias utilizadas para identificar bactérias são baseadas em identificação de estruturas antigênicas (sorotipos), reações com anticorpos e imunofluorescência, sequenciamento de DNA e detecção de genes de resistência a antimicrobianos.

Vamos aplicar alguns desses conhecimentos estudando as infecções alimentares e hospitalares e a existência de microrganismos resistentes a antibióticos ou multirresistentes, popularmente denominados de superbactérias.

Infecções de origem alimentar

O Ministério da Saúde classifica doença de origem alimentar como sendo toda e qualquer doença que se manifesta após a ingestão de alimento ou água, podendo ser uma **toxinfecção**, ou seja uma síndrome diarreica causada por consumo de alimentos contaminados por bactérias ou suas toxinas, ou uma **infecção por bactérias patogênicas** que, após serem ingeridas, colonizam o intestino e causam danos ao hospedeiro, manifestando-se como uma diarreia aguda, em geral acompanhada por sangue e pus, e

que pode alcançar a corrente sanguínea e se disseminar causando uma infecção sistêmica ou atingir diferentes órgãos trazendo as complicações renais, hepáticas, de vias biliares, terminações nervosas ou do sistema nervoso central, de acordo com o agente envolvido.

O modo de transmissão em muitos tipos de infecção alimentar pode ser feito por manipuladores de alimentos assintomáticos que não seguem as recomendações de higiene, incluindo-se toda a cadeia desde a produção, transporte, venda, acondicionamento e preparo do alimento. Destacam-se, entre os maiores responsáveis por essa categoria de doenças, os alimentos de origem animal (carnes malcozidas de frango e suínos, crustáceos e peixes crus, ovos, leite e produtos preparados com os mesmos) e os alimentos preparados para consumo coletivo e vendidos na rua ou pequenos estabelecimentos. Para efeito de Vigilância e Prevenção de Doenças Alimentares, considera-se surto quando duas pessoas ou mais apresentarem doença semelhantes após terem ingerido alimento ou água da mesma origem.



Pesquise mais

Procure saber mais sobre as doenças transmitidas por alimentos, suas características clínicas e laboratoriais, os riscos que oferecem e as medidas de prevenção. Leia sobre o assunto no link que segue.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. p. 34-41.

Disponível em:

<<https://bit.ly/2FLDmG2>>. Acesso em: 10 maio 2018.

Você pode também assistir ao seguinte vídeo:

ROBERTO FIGUEIREDO. **Dr Bactéria – Doenças Transmitidas por Alimentos**. 5 set. 2008. Disponível em: <<https://youtu.be/e8ruulvd6vs>>. Acesso em: 29 abr. 2018.

Os sintomas, o período de incubação, a duração dos sintomas e a característica de ser autolimitada ou não dependem de cada tipo de microrganismo e da característica da defesa imunológica do indivíduo. Vamos relembrar esse conceito importante: normalmente existe na parede do intestino delgado, particularmente no íleo, um conglomerado

de nódulos linfáticos chamados de placas de Peyer, que são o sistema de defesa imunológica do intestino contra as bactérias. Os anticorpos (produzidos por células imunitárias) contra o antígeno específico da bactéria ou vírus procuram impedir que eles se instalem, mas muitas vezes os microrganismos patogênicos superam esse mecanismo de defesa, e por meio de mecanismos de adesão e/ou invasão eles causam inflamação e lesões celulares, originando as gastroenterites e as enterocolites. Lembre-se que esse sistema é menos desenvolvido nos bebês e em idosos, o que os torna mais propensos a contrair infecções alimentares ou a desenvolver as formas mais graves da doença. Outro fator importante no processo de estabelecimento das infecções de origem alimentar é o equilíbrio da flora intestinal, constituída por milhares de bactérias benéficas que colonizam o intestino humano. Quando essa flora é danificada pelos antibióticos ou desequilibra devido à presença de microrganismos patogênicos ou de suas toxinas ocorrem as enterocolites, que se manifestam como doenças diarreicas agudas e que, em casos de reinfecção, acabam se tornando crônicas. Nas crianças, especialmente nos lactentes, nos idosos, nos pacientes imunodeprimidos ou portadores de algumas doenças crônicas as infecções alimentares são muito mais graves e podem levar à morte se não tratadas a tempo.



Assimile

A maioria das diarreias agudas causadas pela ingestão de alimentos contaminados com bacilos ou coliformes fecais tem um período de incubação de 12 a 36 horas, é autolimitada com desaparecimento dos sintomas após alguns dias, podendo ser tratadas com reidratação oral ou endovenosa e cuidados com a nutrição. O uso de antibióticos é recomendado para crianças menores de três meses, pacientes imunossuprimidos/ imunodeprimidos e diarreia por cólera. A indicação de antibiótico é relativa para a diarreia do viajante, shigeloses e infecções sistêmicas associadas. Há contra-indicação formal do seu uso em salmonelose em pacientes imunocompetentes e botulismo infantil, e para casos de *Clostridium difficile* é necessária a escolha acertada do antibiótico com base no antibiograma.

As doenças de origem alimentar podem ser provocadas por mais do que 250 tipos de microrganismos, incluindo parasitas protozoários como a *Entamoeba histolytica* e a *Giardia lamblia* e

bactérias como *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* e *perfringens*, *Bacillus cereus* (cepa diarreica) que são causadoras de infecção e/ou toxinfecção. *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus* (cepa emética) são causadoras de intoxicações por toxinas pré-formadas no alimento. As diferenças básicas entre a infecção e a toxinfecção alimentar são:

- A **infecção alimentar** é causada pela ingestão de microrganismos patogênicos, invasivos, capazes de penetrar e invadir tecidos originando o quadro clínico característico de infecção, com diarreias frequentes, mas não abundantes, contendo sangue e muco e exame de leucócitos positivo nas fezes. Ocorrem dores abdominais intensas, febre e desidratação e os sintomas aparecem geralmente após 12 a 36 horas e duram de dois a quatro dias.
- A **toxinfecção** é causada por microrganismos toxigênicos e o quadro clínico (diarreia intensa sem sangue ou leucócitos, febre discreta ou ausente tendo a desidratação como consequência preponderante) é provocado por toxinas liberadas quando as bactérias se multiplicam, esporulam ou sofrem lise na luz intestinal. As toxinas atuam no sistema de secreção/absorção da mucosa intestinal e levam à perda expressiva de água e eletrólitos. Os sintomas aparecem mais cedo (de poucas horas a dois dias).

Nos países desenvolvidos, a grande maioria das diarreias agudas são causadas por vírus como o norovírus. No Brasil as bactérias são os principais agentes patogênicos das doenças alimentares. A classificação das bactérias mais frequentemente envolvidas e/ou das que causam as síndromes mais graves depende de características de diferentes tipos, tais como, a estação do ano, a idade e as condições socioeconômicas familiares, a ocorrência de viagens, o perfil epidemiológico onde a infecção ocorreu e o tipo de alimento ingerido.

Os exames laboratoriais mais utilizados para o diagnóstico etiológico das infecções originadas pela ingestão de alimentos são as culturas de fezes para isolamento, identificação e quantificação de colônias do patógeno e a sorotipagem para algumas bactérias como a *E. coli* O157:H7. O custo para uma triagem completa de todas as bactérias causadoras de infecções alimentares em cada paciente é muito alto e a torna impraticável. O tratamento com antimicrobianos nem sempre é

indicado, mas para se decidir sobre o tratamento adequado é necessária a identificação do microrganismo patogênico. Por esse motivo, na rotina laboratorial estabelecem-se estratégias que favoreçam obter a maior positividade possível nas coproculturas realizadas.

1. Para triagem, pesquisa-se a presença de sangue, muco e leucócitos nas fezes. Resultado positivo para leucócitos é indicativo para bactérias que causam inflamação no intestino grosso (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* e *E. coli* enteroinvasiva EIEC). Resultado negativo direciona a pesquisa para as que causam toxinfecção (*Vibrio* e *E. coli* enterotoxigênica ETEC) e a pesquisa de toxina nas fezes, no soro, em vômitos e análise bromatológica no alimento suspeito são realizados em casos de surtos.
2. Quando pertinentes, nos meses de inverno são triados para rotavírus e casos negativos são direcionados para pesquisa de outros microrganismos prováveis.
3. Detalhes da história clínica do paciente ajudam a orientar os exames. Por exemplo, alguns alimentos estão potencialmente envolvidos com determinados microrganismos: frutos do mar e peixe cru com *Vibrio parahaemolyticus* ou *Salmonella typhi*, alimento ingerido em viagens com *E. coli* ETEC ou *Shigella*, *Salmonella* (ovos, carne de frango, leite, manteiga, queijo e pescados) e *Campylobacter* (ovos e leite crus, carne vermelha). Diarreia após ingestão de mel e chá de ervas em bebês aponta para *Clostridium botulinum*, enquanto enlatados e conservas (vegetais, palmito e pequi) e produtos cárneos artesanais sugerem toxina de *C. botulinum* e caldos e molho de carne, conservas de peixes e ostras podem conter toxina de *Clostridium perfringens*.
4. Características das fezes coletadas também orientam a pesquisa por microrganismos. Por exemplo, fezes com muco, sangue e pus com história de febre e dor sugere amebíase, shigelose ou *E. coli* enteroinvasiva EIEC; fezes com sangue sem leucócitos pode ser positivo para *E. coli* enterohemorrágica EHEC produtora de toxina shiga e causadora da síndrome hemolítico urêmica. Diarreia "água de arroz" sugere cólera (*Vibrio cholerae* sorotipo clássico ou El Tor e, mais recentemente, sorotipo O139 ou Bengal).
5. Surtos de gastroenterite com provável ingestão direta de

toxinas indicam pesquisa de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*.

6. Sempre que possível são utilizados meios seletivos: ágar MacConkey, meio cromogênico Salmonella-Shigella, EMB, Hektoen Entérico HE (*E. coli* laranja e Salmonella azul), meio TCBS (*Vibrio*), meio Karmali (*Campylobacter*), CHROM agarO157 para *E. coli* EHEC, meio Baird-Parker ou Vogel-Johnson (*Staphylococcus*), entre outros.



Exemplificando

Vamos analisar uma questão de prova sobre esse assunto, conforme consta na Figura 2.2 a seguir:

Figura 2.2 | Questão ENADE - 2013

QUESTÃO 20

Torcedores passam mal e Vigilância Sanitária apreende alimentos no Maracanã

Fim do jogo, Brasil campeão da Copa das Confederações, festa de grande parte do Maracanã. Em uma ambulância, um paramédico atende uma paciente. Ao informar que o caso não era grave, ele revelou a preocupação com a ingestão de alimentos de qualidade duvidosa no estádio. Vários torcedores procuraram o centro médico e as ambulâncias, apresentando mal-estar, vômito e diarreia, ao mesmo tempo em que a Vigilância Sanitária realizava a apreensão de 59 quilos de alimentos. Entre os alimentos apreendidos, alguns apresentavam prazo de validade vencido, outros não apresentavam identificação e ainda havia alguns alimentos que não estavam armazenados em temperatura ideal.

A Vigilância notificou imediatamente as empresas responsáveis pelos produtos, que haviam recebido concessão da Fifa para a venda no estádio. De acordo com a Secretaria de Saúde do Rio de Janeiro, lanches prontos, tais como hambúrguer e cachorro-quente, estavam fora da validade; três quilos de salsicha estavam sem identificação; sanduíches com pasta de frango, que seriam distribuídos aos *stewards* (seguranças), estavam guardados fora da temperatura ideal; o queijo ralado também não tinha procedência, embora embalado. Os relatos dos pacientes apontavam para o cachorro-quente como causador da intoxicação.

Disponível em: <<http://www.espbr.com>>. Acesso em: 10 jul. 2013.

Considerando a notícia acima, avalie as asserções a seguir.

- I. Vômito e diarreia são sintomas comuns de intoxicação ou toxinfecção alimentar causadas por bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli*, que podem se desenvolver e produzir toxinas em alimentos estocados por longos períodos de tempo ou em temperatura indevida.
- II. A rapidez do surgimento dos sintomas nos consumidores que estavam no estádio sugere a contaminação dos alimentos por *Staphylococcus aureus*, que pode ter ocorrido a partir do contato com as mãos dos manipuladores dos alimentos, provavelmente no momento do preparo.
- III. Medidas básicas de higiene, como, por exemplo, lavar as mãos antes do preparo de alimentos e após usar o banheiro, são suficientes para prevenir a contaminação dos alimentos por microrganismos como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* e, por isso, são medidas de prevenção aos surtos de intoxicação ou toxinfecção alimentar.
- IV. As análises microbiológicas e bromatológicas são ferramentas complementares das boas práticas de fabricação, contribuindo para a garantia da qualidade dos alimentos e para a prevenção de eventos adversos à saúde pública, bem como para a detecção do agente causal dos surtos de toxinfecção alimentar.

É correto apenas o que se afirma em

- A I e II.
- B II e III.
- C I, II e IV.
- D I, III e IV.
- E II, III, e IV.



As medidas básicas de higiene das mãos em manipuladores de alimentos são medidas preventivas importantes, mas não são suficientes para prevenir a contaminação por *E. coli* e *Salmonella*, que resistem a congelamento e necessitam de tratamento térmico adequado do alimento antes, durante e após o preparo. Alguns países irradiam carnes de aves para prevenir contaminação por *E. coli*. Portanto a afirmativa III está incorreta. A resposta correta da questão é a alternativa C.

Infecções hospitalares

As infecções hospitalares têm sido mais recentemente denominadas de **IRAS** ou **Infecções Relacionadas à Assistência em Saúde** e são definidas como sendo toda infecção contraída durante o período de internação hospitalar (tempo maior que 72 horas) e que não fosse preexistente no momento da internação. O ambiente hospitalar favorece o desenvolvimento desse tipo de infecção devido à presença simultânea de diversos pacientes infectados com os mais diferentes patógenos; além disso, doentes internados em geral encontram-se com suas defesas imunológicas enfraquecidas e estão debilitados. No ambiente hospitalar pode haver circulação de grande número de pessoas como as visitas, os funcionários, os agentes de saúde e a equipe médica, havendo um risco de transferência de agentes infectantes por meio dos objetos, das mãos e das vias aéreas, e existem condições que aumentam muito a frequência com que essas infecções ocorrem.

A causa mais frequente de infecção hospitalar é a infecção do trato urinário ITU por cateterismo vesical, seguida pelas infecções respiratórias e de sítio cirúrgico. Existe a possibilidade de infecções se desenvolverem após diversos procedimentos invasivos, tais como cateterismo venoso central para alimentação parenteral ou administração de medicamentos, intubação para ventilação mecânica em UTI, cateter venoso periférico, procedimentos endoscópicos, diálise renal e oxigenoterapia ou nebulização.

Os microrganismos mais frequentemente envolvidos variam para cada situação de risco e os mais presentes são: *Klebsiella pneumoniae* (enterobactéria causadora de pneumonias), *Staphylococcus aureus* (coco Gram positivo capaz de causar infecção do sítio cirúrgico, meningite, pneumonia, endocardite e síndrome do choque tóxico), *Pseudomonas aeruginosa* (causa infecção em diversas áreas do

corpo principalmente em pacientes imunocomprometidos) e *Staphylococcus epidermidis* (causa infecções oportunistas em procedimentos invasivos como implantes, próteses e cateteres). Além desses, *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* destacam-se como microrganismos uropatogênicos, além de vários outros que têm aptidão de se alastrar de locais contaminados com fezes para o aparelho urinário. Infecção fúngica do trato urinário por *Candida* tem se tornado mais frequente nos hospitais, e microrganismos naturalmente resistentes a antibióticos como o *Clostridium difficile* (causador de colite) e *Pseudomonas aeruginosa* têm tornado a terapia com antimicrobianos muito complicada.



Refleta

Alguns microrganismos como a *Klebsiella* spp podem causar infecções pediátricas relevantes em bebês prematuros e praticamente todos os microrganismos produzem infecções mais graves nos pacientes hospitalizados e imunocomprometidos, podendo levar o paciente a óbito, pois no ambiente hospitalar as superbactérias desenvolvem-se com maior facilidade, sendo resistentes a vários antibióticos. Além disso, vários patógenos em potencial estão presentes nas cavidades nasal, oral e nas vias aéreas, na pele e nas mucosas, nas secreções e nos exsudatos de pacientes e de outras pessoas que circulam pelo ambiente hospitalar, o que aumenta muito o risco de infecção.

Microrganismos multirresistentes

Esse é um assunto atual e de extrema importância. Existem mitos de bactérias que se alimentam de carne humana e outros mitos ainda mais insólitos, e a falta de informação é um perigo em potencial. Os mecanismos pelos quais a terapia antimicrobiana causa o desenvolvimento de bactérias multirresistentes são muitos e nem todos são conhecidos, mas são importantes as alterações genéticas causadoras de mutações que favorecem a resistência e até mesmo o aparecimento de novas cepas com resistência de espectro estendido ou providas de mecanismos físicos de camuflagem.

OKPC é a abreviatura para *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, uma enzima que pode ser produzida por enterobactérias Gram negativas e que gera resistência para drogas betalactâmicas (penicilinas sintéticas, cefalosporinas e carbapênicos) e outros

antibióticos. A *Klebsiella* spp apresenta plasmídeo que codifica essa enzima causando uma pneumonia hospitalar multirresistente. *Staphylococcus* podem adquirir resistência por aquisição de genes de resistência (para inativar a ação de antibióticos) de bactérias da mesma espécie e até mesmo de outras espécies, sofrendo mutações que conferem capacidade de produzir a enzima betalactamase. *Pseudomonas* tem mecanismos de resistência variados, como produção de betalactamases, hiperexpressão de bombas de efluxo (para expulsar antibióticos da célula), perda ou expressão reduzida de proteínas de membrana externa (verdadeiro mecanismo de camuflagem). Outro mecanismo incrível de camuflagem é a do *Staphylococcus epidermidis*, capazes de produzir um biofilme que impede a ação do antibiótico e de células do sistema imunológico.

Sem medo de errar

O relato de caso de M. H., 21 anos de idade, que desenvolveu uma enterocolite após ingerir uma coxinha em uma lanchonete durante viagem para São Paulo, reflete uma situação que acontece com muita frequência e pode ser explicada pela falha na defesa natural que todo indivíduo tem contra microrganismos aos quais não está acostumado, situação essa que recebeu o nome de "diarreia do viajante". Os alimentos da sua cidade de origem podem até conter certo número de bactérias infectantes para os quais o organismo desenvolveu anticorpos para combatê-los. Estima-se que 50% das pessoas possam desenvolver esse tipo de infecção alimentar quando viajam para qualquer país, mesmo em restaurantes e hotéis de luxo, porém, o risco para infecção ou toxinfecção bacteriana é bastante alto quando ingerem água de sistema de abastecimento com falhas e alimentos extensamente manipulados e mantidos por várias horas após o preparo sem o controle térmico adequado. A *Salmonella* sp costuma causar enterocolite por meio de alimentos preparados com ovos e contendo carne de aves, como a coxinha. A doença é autolimitada e os sintomas persistem por três a sete dias, dependendo do sistema imunológico da pessoa e da quantidade de bactérias ingeridas (a carga mínima infectiva é alta, 10^5 UFC/ml, sendo UFC = unidade formadora de colônia). A confirmação por exame laboratorial é feita por coprocultura em ágar *Salmonella-Shigella* com ou sem a capacidade de diferenciar de *E. coli* por fermentar

a lactose (Salmonella é lactose negativo) ou em ágar MacConkey quando não há pedido específico. O tratamento é a hidratação oral, nem sempre necessitando de soro endovenoso e raramente necessita antibioticoterapia ou internação. No segundo caso, foram enviadas duas amostras, sendo uma de sangue e outra de urina, de um paciente paraplégico chamado José, que esteve internado após trauma raquimedular e necessita de cateterismo vesical de alívio três vezes ao dia. Após 20 dias da alta hospitalar foi levado à urgência pela esposa apresentando respiração rápida, sudorese fria, sonolência e urina com aspecto de leite condensado. Foram, então, solicitadas a urocultura e o antibiograma, mas, antes do resultado do exame, foi iniciado antibioticoterapia endovenosa e, após uma breve melhora, o seu estado se agravou e ele desenvolveu uma urosepse. Uma das condições que oferece risco de infecção hospitalar é a infecção por cateter (endovenoso periférico e central e cateterismo vesical), sendo considerado de origem hospitalar quando se desenvolve após três dias de internação. Nesse caso, a infecção urinária original (urina com "aspecto de leite condensado") pode ter sido devida a falha nas condições de higiene para realização da introdução da sonda em casa, mas a urosepse que ocorreu logo após o início do tratamento com antibióticos e em ambiente hospitalar sugere uma complicação séria de infecção renal, secundária à infecção do trato urinário, que se alastrou para o sangue. Nesse caso é necessária a realização de urocultura, hemocultura e antibiograma. A maioria dos laboratórios recomenda para urocultura a inoculação em ágar sangue, que permite o crescimento de bactérias Gram positivas e Gram negativas para isolamento e contagem de colônias. Depois, para identificação, inocula-se em meios seletivos como EMB ou Mac Conkey. Após isolamento do patógeno nas amostras, testa-se a sensibilidade para os antibióticos. A hemocultura por métodos manuais, embora amplamente utilizada pelo seu baixo custo, não é a metodologia mais indicada por ser trabalhosa e sujeita a falsos positivo e negativo. Existem métodos automatizados para a realização desses testes que, quando realizado por pessoas experientes e criteriosas, oferecem resultados seguros, mas não totalmente isentos de resultado positivo em pessoas sem infecção ou resultado negativo na presença de sinais clínicos. O resultado desses exames é extremamente importante para orientar a terapia com antibióticos, uma vez que possivelmente a urosepse

ocorreu devido à resistência do microrganismo causador do foco de infecção no trato urinário para a antibioticoterapia iniciada precocemente (antes do resultado do laboratório). O mecanismo para desenvolvimento dessa resistência pode envolver aquisição de genes de resistência de outros microrganismos de mesma espécie ou até mesmo de outras espécies e mutações de seus genes que altera o sítio de ação do antibiótico. O uso de dose subterapêutica ou a suspensão do tratamento antes do tempo indicado favorece o aparecimento das cepas multirresistentes que podem se disseminar do foco da infecção para o rim e daí para o sangue.

Avançando na prática

Escherichia coli O157:H7 e síndrome hemolítico-urêmica

Descrição da situação-problema

Lilium está no seu último ano do curso de Biomedicina e está trabalhando como estagiária no laboratório de sua instituição de ensino. Ela foi procurada por uma caloura do seu curso chamada Sandra, que lhe trouxe um diagnóstico médico de sua avó que está internada no hospital e pediu para que ela lhe explicasse qual é o problema de sua avó. Ela disse que está muito preocupada, pois os médicos disseram que existe risco do rim dela parar de funcionar e que não entende como isso foi acontecer, uma vez que o problema começou com uma diarreia sanguinolenta depois de comer hambúrguer de um carrinho de lanche em uma viagem para o interior de São Paulo. Quando Lilium leu o documento que lhe foi mostrado observou a seguinte anotação: Diagnóstico investigativo – SHU por *E. coli* EHEC O157:H7? Você saberia ajudar Lilium a explicar o que pode estar acontecendo com a avó de Sandra?

Resolução da situação-problema

Em primeiro lugar, é preciso explicar para Sandra que o diagnóstico ainda não está concluído e que deverá ser feito uma bateria de exames para pesquisar se a avó dela está com infecção bacteriana por *Escherichia coli enterohemorrágica* (EHEC) que é um tipo de bactéria que pode ser transmitida pela ingestão de carne bovina

malcozida e foi associada a surtos de enterocolites hemorrágicas nos Estados Unidos, mas não no Brasil. Para que Sandra entenda melhor, será necessário dizer qual é a diferença da *E. coli* enterohemorrágica EHEC com os outros tipos de *E. coli* que também causam diarreia pela ingestão de alimentos contaminados, mas não produzem a toxina shiga, nem apresentam a capacidade de se aderirem em células do rim produzindo a insuficiência renal (como a *E. coli* enteropatogênica EPEC, *enterotoxigênica* ETEC e *enteroinvasiva* EIEC). Depois é importante explicar que a cepa mais patogênica em humanos é a *E. coli* O157:H7, capaz de causar a síndrome hemolítico-urêmica (SHU). Pesquise sobre a síndrome hemolítico-urêmica produzida pela *E. coli* EHEC, a ação da toxina shiga sobre as células renais, os exames bacteriológicos que permitem o isolamento da EHEC e o perfil de sensibilidade aos antibióticos que auxiliarão na definição do melhor tratamento. Com o tratamento correto poderá haver chance de melhora da avó de Sandra?

As seguintes fontes poderão ser consultadas:

ROSA, J. L.; BARROS, R. F.; SANTOS, M. O. Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). **Revista Saúde & Ciência em Ação**, Aparecida de Goiânia, v. 2, n. 1, p. 66-78, jan./ jul. 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/2uLWeAG>>. Acesso em: 8 maio 2018.

McPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**, 21ª ed., Barueri SP: Manole, 2012. Parte VII, Teste de agentes antimicrobianos in vitro, p. 1193. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1220>>. Acesso em: 7 maio 2018.

Avançando na prática

1. O método de Gram é a técnica de coloração mais frequentemente executada em laboratório de bacteriologia. Esse método explora as diferenças de composição lipídica da membrana celular das bactérias de forma a classificá-las em Gram-positivas ou Gram-negativas.

Nesse contexto, analise as afirmativas a seguir:

- I. A camada de peptidoglicano é muito mais espessa nas bactérias Gram-positivas.

- II. Os bacilos Gram-negativos apresentam camada externa composta de lipopolissacarídeos, lipoproteínas e fosfolípídeos.
- III. Apenas as bactérias Gram-positivas têm uma membrana externa contendo endotoxinas (lipopolissacarídeos).
- IV. Os bacilos Gram-negativos têm uma membrana múltipla e espessa impedindo a fixação do corante.

Está correto apenas o que se afirma em:

- a) I e II.
- b) I e III.
- c) I e IV.
- d) II e III.
- e) III e IV.

2. No Brasil, as bactérias da família *Enterobacteriaceae* são as principais responsáveis pelas infecções alimentares ou doenças transmitidas pelo alimento. Esse tipo de infecção ocorre quando um alimento ou água está contaminado com microrganismos patogênicos que podem liberar toxinas quando esporulam no interior do intestino do hospedeiro ou tem a capacidade de invadir as células da parede intestinal causando lesões e inflamação e originando doenças conhecidas como gastroenterites e enterocolites.

Com relação à fisiopatogenia das infecções de origem alimentar, analise as afirmativas a seguir:

- I. Somente as bactérias aeróbicas tem a capacidade de sobreviver em produtos alimentares e causar as infecções alimentares.
- II. Os tipos de alimentos que se destacam entre os responsáveis pelas doenças de origem alimentar mais frequentes no Brasil são os alimentos de origem animal (carnes malcozidas, frutos do mar e peixes crus, ovos, leite e produtos preparados com esses ingredientes) e os alimentos preparados para consumo coletivo e comercializados por vendedores ambulantes.
- III. A transmissão dos patógenos somente pode ser feita por contato direto ou indireto com uma pessoa infectada por cocos Gram-negativos.
- IV. Muitas enterobactérias resistem ao calor e ao congelamento, não sendo facilmente eliminadas pelo cozimento ou se o alimento preparado for mantido quente a 40 °C ou se a carne for refrigerada a 4 °C.

Está correto apenas o que se afirma em:

Seção 2.3

Antibiograma, urocultura e urinálise

Diálogo aberto

Caro aluno, se você pesquisar sobre a história da medicina, encontrará relatos de que o exame da urina foi o primeiro método utilizado para avaliar o estado de saúde de uma pessoa. É fascinante pensar que, desde a antiguidade (cerca de 6000 anos atrás) os curandeiros e médicos vêm utilizando a observação das características físicas da urina como um meio de identificar diversos problemas de saúde. Uma grande quantidade de evidências, após terem sido pesquisadas e aprimoradas ao longo do tempo, ainda pode ser usada para interpretar possíveis anormalidades orgânicas pela simples observação de características físicas da urina, mas, obviamente, a confiabilidade dessa análise depende muito da experiência profissional. Podemos citar alguns exemplos: uma urina fortemente amarela pode indicar diabetes mellitus ou hipotireoidismo, uma urina leitosa indica lipidúria e quilúria (gordura na urina) ou infecções do trato urinário, a urina fica da cor alaranjada pelo uso de Vitaminas B e C ou fenazopiridina (medicamento contra cistite). E a urina vermelha? Indica presença de sangue que hoje, com a ajuda de métodos bioquímicos e microscópicos, classificamos como hematúria macroscópica, hemoglobinúria, mioglobínúria ou, ainda, pode ocorrer por ingestão de beterraba ou uso de metronidazol (medicamento bacteriostático e antiparasitário). A urina fica marrom escura quando ocorre hemoglobinúria maciça na colestase com icterícia (entupimento das vias biliares por pedras na vesícula e aparecimento do amarelão na pele e olho devido ao acúmulo de bilirrubina no sangue).

Revisaremos os principais conceitos de urinálise, urocultura e antibiograma visando poder ajudar André a vencer o desafio da nova etapa de seu estágio no laboratório clínico, ao final do qual ele deverá estar dominando as técnicas de urocultura e urinálise e conseguindo usá-las para diagnosticar diversas condições patológicas. André também deverá aprender como fazer os antibiogramas para testar a resistência ou susceptibilidade aos antibióticos de alguns

microrganismos responsáveis por causar infecção alimentar, hospitalar ou do trato urinário de difícil tratamento.

Para praticar a habilidade de executar e analisar os resultados de forma criteriosa, ele acompanhará a realização dos exames de urocultura e antibiograma na amostra de urina de José, paciente do caso clínico da seção anterior que é paraplégico, usa sonda de alívio vesical, foi internado com infecção do trato urinário e encontra-se sob suspeita de urosepse. Também deverá discutir com o responsável pelo setor os resultados dos exames de uma paciente (P. J. 25 anos, sexo feminino) que foi internada em estado grave com queixas de febre, náusea, calafrios, vômito, dor muito forte no flanco, queda de pressão arterial, fraqueza, aceleração cardíaca, tremores e aparecimento de ínguas e erupções na pele. Foram solicitados hemograma, hemocultura, exame de urina, urocultura e antibiograma. O hemograma apresentou um número elevado de leucócitos com aumento também de células em bastonete, caracterizando uma infecção bacteriana. Já na urocultura houve crescimento de bactérias superior a 100.000 por mililitro de urina, e a espécie isolada foi o *Staphylococcus aureus*. O antibiograma revelou cepas resistentes à vancomicina, o que sugeriu o diagnóstico de sepse ou infecção sistêmica, que teve como causa inicial uma infecção urinária não tratada corretamente.

Ajudaremos André a responder aos seguintes questionamentos: 1. Quais são as técnicas apropriadas para a coleta de urina? 2. Como é realizada uma urinálise cuidadosa e quais são os critérios para o diagnóstico de anormalidades? 3. Como foram realizadas as uroculturas para identificar os agentes infecciosos no caso de José e no de P. J.? 4. Como foram realizados os testes de sensibilidade aos antimicrobianos ou antibiogramas? 5. Quando o resultado do antibiograma se torna fundamental?

Não pode faltar

A urinálise tornou-se uma técnica extremamente importante para auxiliar o diagnóstico clínico e representa um dos tipos de exames que é realizado com maior frequência nos laboratórios de análises clínicas. Na atualidade, o exame de rotina completo de urina (urina tipo I) ou urinálise pode receber diferentes

denominações, tais como exame simples de urina, uroanálise, EAS (Elementos Anormais e Sedimento), 3A+S (Albumina, Açúcar e Acetona mais Sedimento), entre outras. São incluídos os exames físico, químico e microscópico da urina, que são realizados (desde a etapa de coleta e transporte da amostra até a interpretação dos resultados) de acordo com a padronização técnica do CLSA'88 (*Clinical and Laboratory Improvement Amendments*) para permitir que os resultados sejam confiáveis e comparáveis. Esse exame apresenta duas vantagens principais: 1) a amostra de urina pode ser obtida facilmente por métodos não-invasivos e 2) é possível se obter muita informação sobre o estado de funcionamento do metabolismo do corpo, do fígado e dos rins, além de fornecer indícios da presença de doenças ou de infecção do trato urinário por meio de testes simples, confiáveis e baratos. No entanto, não é possível fechar o diagnóstico com o exame de rotina, servindo este apenas para rastreio e para apontar indícios de infecção do trato urinário e algumas doenças metabólicas. Os casos de infecção do trato urinário são confirmados com a realização de urocultura para a identificação e isolamento do microrganismo patogênico, sendo muitas vezes acompanhado do antibiograma para testar a sensibilidade ou resistência do microrganismo aos antibióticos, útil para orientar o tratamento mais adequado. Vamos revisar alguns conceitos fundamentais sobre o assunto.

Urinálise ou Exame de rotina de urina tipo I

Esse exame completo inclui a avaliação de características físicas da urina como a cor e o cheiro, de composição química da urina (em geral avaliados pelas tiras reagentes) e análise dos sedimentos da urina por meio de microscopia.

Para ser capaz de interpretar de forma correta os resultados de uma urinálise é preciso, em primeiro lugar, compreender como os rins funcionam para produzir a urina em condições normais. Lembrem-se que a urina normalmente é estéril e provém da filtração do sangue pelos glomérulos renais cuja membrana filtrante é bastante seletiva, impedindo a passagem de células sanguíneas e de proteínas. Ao longo dos túbulos renais, todas as substâncias filtradas que são essenciais para o organismo (como o sódio, glicose, aminoácidos e bicarbonato) retornam para o sangue e as substâncias

indesejáveis ou tóxicas que não foram filtradas são removidas dos capilares peritubulares e secretadas para dentro da urina. A urina formada é acidificada nas últimas porções do néfron, de maneira que a urina final que segue pelos ureteres e é armazenada na bexiga (para depois ser expulsa por micção) contém água, solutos não reabsorvidos como ureia, creatinina, ácido úrico, urobilinogênio e pequenas quantidades de sais e outras substâncias como pigmentos, enzimas e hormônios, além de células que descamam das paredes mucosas internas da bexiga e da uretra. Reveja o mecanismo de formação de urina assistindo o vídeo:

CINEMASPR. **Sistema Urinário**. 8 maio 2016.

Disponível em: <<https://bit.ly/2LI2klx>>. Acesso em: 24 maio 2018.

A padronização da coleta de urina (fase pré-analítica) é muito importante. As amostras de urina são obtidas pela técnica de coleta do jato médio, uso de saco coletor adesivo para crianças, por sonda vesical ou punção supra púbica quando necessários.



Assimile

O **exame físico da urina** será considerado normal quando apresentar odor *sui generis*, cor amarelo citrino, aspecto límpido e densidade entre 1005 a 1035. Lembrando que a densidade da água é 1000, a densidade será baixa (valores mais próximos de 1005) quando a urina estiver diluída e hipotônica, resultado que pode indicar hipervolemia, hipertensão arterial, aumento de pressão intracraniana, volume excessivo de soro endovenoso ou insuficiência renal crônica que podem reduzir a densidade para valores anormais em casos graves. Quando a urina está concentrada, ela tem cor e cheiro mais fortes e terá densidade elevada (valores próximos ou maiores que 1035), podendo estar associada a vômitos e diarreias, febre, *diabetes mellitus*, glomerulonefrite e insuficiência cardíaca congestiva. A presença de quantidade excessiva de solutos como glicose, ureia e contraste radiológico eleva a densidade para valores anormais. A turvação na urina pode indicar infecção do trato urinário, presença excessiva de proteínas, sedimentos, cristais e células. A urina escura (marrom) ou vermelha é anormal, o que pode indicar infecção renal, presença de sangue ou urobilinogênio na urina. O **exame químico** e a **sedimentoscopia** complementam o exame físico da urina, podendo investigar as possíveis anormalidades com melhor precisão.

O **exame químico da urina** amplamente utilizado e que fornece resultados mais rápido é realizado com utilização de tiras reagentes com número variável de *dipstick*, conforme Figura 2.2.

Figura 2.2 | Exame químico da urina com tiras reagentes



Fonte: iStock

Esse teste é baseado em reações químicas de diversos parâmetros como pH, glicose, proteínas, hemoglobina/hemácias, esterase leucocitária/leucócitos, corpos cetônicos, urobilinogênio/bilirrubina, nitritos e ácido ascórbico com reagentes presentes na fita e o desenvolvimento de cor em intensidades proporcionais à quantidade de captação do indicador cromogênio. Pela comparação com uma cartela de resultados que pode ser analisado de forma manual ou automatizada, detecta-se a presença desses elementos na urina e o resultado, dependendo do fabricante das fitas, pode ser expresso na forma de cruces (negativo, positivo + até ++++) ou concentrações aproximadas em mg/dL.

Veja mais detalhes em: MUNDT, L. A.; SHANAHAN, K. Exame de urina e de fluidos corporais de Graff. 2^a. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. Cap. 4 - Análise Química da Urina. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326900/cfi/76>>. Acesso em: 10 maio 2018.



A interpretação dos resultados da análise química da urina por tiras reagentes deve ser feita de forma cuidadosa, tendo sempre em mente a possibilidade de falsos positivos e as limitações da técnica gerando falsos negativos. Resumidamente, o significado dos resultados positivos são os seguintes:

Quadro 2.2 | Significado do resultado positivo da análise de urina

Parâmetro	Normal	Significado do resultado positivo
pH	5,5 a 6,5	Valores maiores que 6,5 podem indicar presença de bactérias ou fatores não patogênicos que alcalinizam a urina; valores menores do que 5,5 indicam acidose ou doença dos túbulos renais e perda de potássio na urina.
Glicose	negativo ou traços	Glicosúria ocorre quando a glicemia está acima de 180 mg/dL e geralmente é sinal de <i>diabetes mellitus</i> . Glicosúria na ausência de diabetes é sinal de doença nos túbulos renais.
Proteínas	negativo ou traços	Valores maiores que 100 mg/dL podem ser produzidos por infecção urinária, lúpus, glomerulonefrite, pielonefrite, nefropatia diabética, rim policístico e outras condições patológicas, como doença de Wilson e Síndrome de Fanconi.
Corpos cetônicos	negativo	Cetonúria é um sinal de <i>diabetes mellitus</i> descompensado, estado de desnutrição e inanição.
Urobilinogênio e Bilirrubina	negativo	Aparece na urina quando níveis sanguíneos ultrapassam 1,5 mg/dL, podendo indicar lesões hepáticas ou obstrução das vias biliares e sinalizar anemia perniciosa ou hemolítica.
Nitritos	negativo	Resultado Griess positivo ou nitrito positivo indica presença de bactérias que transformam nitrato em nitrito na urina.

Ácido ascórbico	negativo	Dado importante como controle porque a presença de ácido ascórbico pode alterar resultados de hemoglobina, glicose, nitritos, bilirrubina e cetonas.
Hemácias e hemoglobina	Negativo ou traços	Hematúria ou sangue na urina pode ocorrer em infecções renais ou pedras no rim.
Leucócitos ou píócitos	negativo	São identificados pela presença da enzima esterase leucocitária principalmente de neutrófilos. Valores positivos indicam processo inflamatório nas vias urinárias.

Fonte: a autora.

O diagnóstico clínico leva em consideração os resultados dos exames e dos sinais clínicos, e muitas vezes é necessária a associação de diversos tipos de exames para um diagnóstico diferencial seguro de uma doença metabólica como o *diabetes mellitus* ou de uma nefropatia infecciosa. Citando alguns exemplos, existem métodos bioquímicos quantitativos para a dosagem da proteinúria e métodos de imunoenensaio quantitativo (ELISA) para a dosagem de microalbuminúria (cadeias leves de imunoglobulinas), muito útil para avaliação da lesão tubular em diabéticos. A detecção de glicosúria ou de glicemia por tira reagente é mais prático para o controle constante do *diabetes mellitus* quando feito pelo próprio paciente.

A **análise do sedimento urinário e a contagem de células** (leucócitos, hemácias isomórficas ou dismórficas, células epiteliais ou tumorais) são feitas por microscopia juntamente com a pesquisa de cristais ou cilindros (aglomerados de células descamadas ou inflamatórias, hemácias, leucócitos, proteínas que se agrupam dentro dos túbulos renais tomando a forma cilíndrica). Atualmente existem recursos como as lâminas K-cell Kasvi <<https://bit.ly/2LCAaBW>>. Acesso em: 12 maio 2018) que facilitam a contagem de células da urina.

Lembrem-se que os cristais que se formam normalmente na urina são constituídos de oxalato ou fosfato de cálcio e uratos amorfos (urina ácida) ou carbonato de cálcio, biurato de amônio e fosfato amorfo (urina alcalina), porém são considerados anormais cristais como

os de cistina, que indicam risco de cálculos renais e os de estruvita (magnésio-amônio-fosfato ou fosfato triplo), provocadas por bactérias como *Proteus* ou *Klebsiella*. Cristais de tirosina indicam uma condição rara de prognóstico ruim chamada de leucinose ou doença da urina de xarope de bordo (DXB), porque a urina tem cheiro de açúcar queimado. É uma doença genética que oferece risco de desenvolvimento de retardo mental grave se não for tratada com dieta rigorosa sem proteínas animais. Outros cristais anormais são os de urato ou ácido úrico presente em pacientes com gota ou neoplasias como leucemia, os de colesterol e de bilirrubina que podem indicar doença hepática. A presença de cilindros (hemático, leucocitário, epiteliais, gordurosos e hialinos) em geral indicam doenças renais sendo necessário a realização de uroculturas para o diagnóstico das infecções do trato urinário.



Pesquise mais

Procure saber mais sobre a análise microscópica de células, de cristais e de sedimentos urinários lendo as seguintes referências:

Veja mais detalhes em: MUNDT, L. A.; SHANAHAN, K. **Exame de urina e de fluidos corporais de Graff**. 2ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. Cap. 5 - Exame microscópico do sedimento urinário. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326900/cfi/76!/4/4@0.00:0.00>>. Acesso em: 12 maio 2018.

Cap. 6 - Atlas de sedimento urinário. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326900/cfi/120>> e <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326900/cfi/44>>. Acesso em: 12 maio 2018.

Urocultura ou Cultura de Urina e Bacterioscopia

Esses exames são indicados quando há suspeita de infecção primária do trato urinário após avaliação clínica, quando o primeiro tratamento da infecção urinária com antibióticos não conseguiu eliminar completamente a infecção, em casos em que a urinalise detectou indícios de infecção do trato urinário ou pielonefrite, em casos de infecção urinária de repetição e antes de procedimentos urológicos.

A bacterioscopia consiste em se preparar, a partir da amostra de urina, uma lâmina corada pelo método de Gram para identificação da bactéria no microscópio.

A urocultura é um método muito utilizado para pesquisa e isolamento de agente patogênico de infecções do trato urinário, sendo mais sensível do que a bacterioscopia, com a vantagem de existir diversos meios seletivos para as diferentes bactérias Gram negativas ou Gram positivas, do tipo aeróbios ou anaeróbios facultativos, além de fungos e leveduras.

O meio sólido ou em ágar é o mais econômico e amplamente utilizado. Para urocultura, o meio usual é o CLED (cistina lactose deficiente em eletrólitos), que é um meio rico contendo lactose e cistina, permitindo diferenciar Gram positivos de Gram negativos fermentadores de lactose (alteram a cor verde do ágar para amarelo), impedindo crescimento do véu de *Proteus* e favorecendo o crescimento de colônias anãs. De acordo com a padronização de cada laboratório, pode-se optar por semear em ágar sangue e ágar MacConkey em vez de CLED, havendo à disposição placas duplas CLED – MacConkey.

Relembrando, o método consiste em semear, com alça calibrada de 10 µL, a amostra de urina homogeneizada e incubar por tempo e temperatura padronizadas. Em determinados casos em que houver elevada suspeita de existência de uma infecção mista, pode-se semear com alça de 1 µL. As colônias isoladas podem ser contadas, sendo o critério para diagnóstico positivo quando houver crescimento de mais do que 10⁵ UFC (Unidade Formadora de Colônia) por mL e com o isolamento de um único agente etiológico ou dois com indicação clínica. Em casos especiais, a contagem de 10⁴ UFC/mL é considerada positiva se houver associação de dados clínicos.

Agora um ponto importante: a cultura negativa é liberada como **ausência de crescimento bacteriano nas condições utilizadas para o teste**. Quando ocorre crescimento de três ou mais agentes em urina de jato médio, considera-se a possibilidade de contaminação e indica-se nova cultura com outra amostra. Mas atenção: em urina coletada por punção supra púbica, dois microrganismos podem indicar polinfecção.



As Infecções do Trato Urinário (ITU) são resultado da instalação e multiplicação bacteriana em diferentes segmentos do aparelho urinário, e os agentes etiológicos geralmente são bactérias de crescimento rápido e fungos ou leveduras. Os fatores de risco para ITU são uso de antimicrobianos, sonda vesical de demora, extremos de idade, sexo feminino e *diabetes mellitus*. Os tipos existentes de ITU de acordo com a sua localização e os principais microrganismos envolvidos são divididos em infecção do trato urinário alto (pielonefrite ou do parênquima renal) e cistite (da bexiga) além de epididimite (nos homens) e infecção do trato urinário baixo (da uretra ou uretrite e prostatite nos homens). O principal agente etiológico é a *Escherichia coli uropatogênica* (UPEC), cujo mecanismo de invasão é pela via ascendente, isto é, a partir da microbiota intestinal para as vias urinárias em sentido ascendente até alcançar o rim. A *E. coli uropatogênica* tem alta virulência e pode causar infecção sanguínea a partir dos rins. Outros microrganismos uropatogênicos são *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Proteus*. As infecções de bexiga incluem os microrganismos envolvidos nas doenças sexualmente transmissíveis como *Chlamydia Trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* e *Candida albicans*. *Pseudomonas aeruginosa*, que é uma bactéria oportunista, *Acinetobacter* spp, *Candida glabrata* e spp, *Staphylococcus coagulase negativa* são outros possíveis patógenos envolvidos em uretrites.

Antibiograma ou teste de sensibilidade e resistência a antimicrobianos

Talvez seja o exame microbiológico de maior importância, mas por ser dispendioso acaba sendo dispensado quando o tratamento empírico traz benefícios evidentes, e deve ser realizado principalmente nas infecções urinárias complicadas, hospitalares, associadas a septicemia e que sugerem desenvolvimento de resistência antimicrobiana. O teste avalia o padrão de sensibilidade ou de resistência de uma bactéria frente a diferentes concentrações preestabelecidas de um ou mais antibióticos de acordo com as normas técnicas do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). A identificação bacteriana por meio de cultura é pré-requisito para o teste, pois o agente patogênico deve ser primeiramente isolado para possibilitar o seu cultivo na placa própria para antibiograma (ágar Mueller Hinton).

O teste de sensibilidade por difusão em disco é um método antigo adotado como referência até os dias atuais. Para o teste, uma quantidade padronizada de colônias (determinadas pelo índice de turbidez segundo o padrão de McFarland) é semeada na placa e em seguida são adicionados os discos embebidos com antibióticos. O método é conhecido como teste de disco de difusão de Kirby e Bauer e existem dois tipos de antibiograma:

1. o qualitativo, que determina sensibilidade por meio dos parâmetros sensível, intermediário ou resistente, indicando, respectivamente, que o agente isolado pode ser tratado com sucesso com a dose recomendada do antibiótico, quando somente alta dosagem é eficaz ou quando doses normais padronizadas não conseguirão inibir. Para essa definição, usa-se medidas do diâmetro do halo formado no local onde um papel de filtro embebido com o antibiótico entrou em contato com a colônia de bactérias na placa de ágar.
2. o método quantitativo determina a concentração inibitória mínima (CIM) capaz de inibir o crescimento bacteriano. Reflete a potência do antibiótico e é padronizado em mg/L. Pode ser realizado por macrodiluição em caldo, microdiluição em placa ou gradiente de difusão (Etest®).

Veja mais detalhes em: McPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21ª ed. Barueri: Manole, 2012. Parte VII, Teste de agentes antimicrobianos in vitro, p. 1193.

Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1299>>. Acesso em: 7 maio 2018.

É cada vez maior, nos laboratórios de análises clínicas e de patologia clínica, a tendência de se implementar a automação, que oferece boas vantagens tanto em relação aos métodos manuais quanto à precisão e rapidez dos testes. Existem equipamentos que fazem automaticamente a inoculação de placas de cultura a partir de amostras de sangue, urina e outras amostras e, após suspensão em meio líquido, detectam de forma qualitativa e quantitativa o crescimento de bactérias e fungos/leveduras em meios de cultura, realizam testes de sensibilidade, além de poderem fazer a extração e detecção de ácidos nucleicos a partir de amostras clínicas. O teste de sensibilidade antimicrobiano é programado para ser realizado em paralelo com a identificação do

microrganismo, e tem a vantagem de menor chance de contaminação que torna comum a necessidade de repetir a hemocultura ou urocultura por técnicas manuais. Além dos resultados qualitativo e quantitativo do antibiograma, alguns equipamentos já indicam qual é o mecanismo de resistência do microrganismo como, por exemplo, por produção de enzima betalactamase de espectro ampliado (ESBL) para bactérias Gram negativas ou resistência a meticilinas e vancomicina em Gram positivas como o *Staphylococcus aureus* multirresistente (MRSA). A desvantagem, além do alto custo dessa automatização, é que existe uma imprecisão na determinação do CMI, porque testa-se poucas diluições de antimicrobianos e não diluições seriadas como pelo método de microdiluições em placa ou do gradiente de diluição em ágar. Outra limitação é a falha em detectar mecanismos de resistência induzíveis e que demoram mais tempo para se expressar, necessitando de testes fenotípicos ou genotípicos para o seu reconhecimento.

Sem medo de errar

Depois de rever como são realizados e interpretados os exames de urina tipo I, as uroculturas e o antibiograma, ficou fácil ajudar André a entender quais são os exames necessários para confirmar a urosepse (infecção sanguínea disseminada que se originou no trato urinário) em José, o paciente paraplégico que necessita de cateterização vesical frequente, foi internado com infecção do trato urinário e piorou logo depois de ter começado com a antibioticoterapia. O histórico indica a possibilidade de uma infecção do trato urinário do tipo ascendente que começou pela realização de inserção de sonda de alívio sem as devidas condições de higiene e que foi se instalando a partir da uretra, na bexiga, nos ureteres até alcançar os rins. Após infectar os rins, a bactéria pode alcançar a corrente sanguínea originando a septicemia.

Com esses dados em mãos, vamos partir para a investigação. Para conseguir causar nefropatia, o microrganismo precisa ter fatores de aderência que permitam a sua instalação nos rins. Uma bactéria candidata é a *Escherichia coli*, pois existem diversas pesquisas realizadas em adultos de diferentes estados do Brasil que indicam sua presença em mais do que 90% das infecções do trato urinário, sendo estas infecções associadas principalmente a baixas condições socioeconômicas. A virulência da *E. coli enteropatogênica* EPEC

(que causa diarreia infecciosa além de infecção no trato urinário) está ligada à produção de adesinas (localizadas nas fímbrias ou do tipo somáticas) que permitem a sua fixação nos tecidos, toxinas como a alfa-hemolisinas, fator necrosante citotóxico tipo 1, além de secreção de fatores capazes de modular a resposta inflamatória do hospedeiro e estimular a apoptose celular. Todos esses fatores permitem a adesão da *E. coli* no trato urinário e sua instalação em qualquer porção do trato urinário, inclusive nos rins.

Para confirmação da urosepse deve ser feito rastreio por exame de urina tipo I, buscando indícios de presença de hematúria, piúria ou leucócitos na urina, uremia e cilindros anormais típicos de infecção urinária. Depois, deve ser feita cultura em MacConkey Sorbitol para isolamento de *E. coli* e pela identificação bioquímica, e teste de toxina em cultura de células é possível diferenciar a *E. coli* uropatogênica de outras *E. coli* produtoras de toxina shiga, mas a confirmação do sorotipo somente pode ser feita com testes usando anticorpos específicos. Também é necessário se comprovar a sepse por meio de hemocultura procurando identificar a gravidade e o risco dessa infecção. Depois, será necessário realizar o antibiograma identificando para quais antibióticos essa bactéria desenvolveu resistência. Nesse caso, esse é o procedimento correto, pois antes do resultado da urocultura ficar pronto, os médicos iniciaram o tratamento com antibióticos de largo espectro (o mais comum para infecção do trato urinário e a combinação de Sulfametoxazol com Trimetoprina ou SMZ-TMP). Lembrar ainda que nas infecções por cateter, de origem hospitalar, é possível a infecção por dois microrganismos diferentes, sendo necessário pesquisar: *E. coli uropatogênica* multirresistente, *Proteus* (que é naturalmente resistente, mas facilmente identificado pois costuma produzir cristais de estruvita na urina), *Pseudomonas aeruginosa* (frequente em infecção por cateter em hospitais e resistentes a carbapenêmicos por produção de betalactamases) e a *Klebsiella*, que é produtora de *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), é a superbactéria mais difícil de tratar. Dependendo de qual (ou quais) microrganismo resistente for encontrado, outros antibióticos ou até doses mais altas do mesmo antibiótico podem ser usados. Alguns casos difíceis podem ser tratados com combinação de dez antibióticos diferentes durante 14 dias e todos exigem isolamento do paciente e todo cuidado para não disseminar a superbactéria.

Continuando a tarefa investigativa, o segundo caso que André deverá discutir com o responsável pelo setor é o de uma paciente (P. J., 25 anos, sexo feminino), internada em estado grave, cujo hemograma apresentou um número elevado de leucócitos com aumento também de células em bastonete, caracterizando uma infecção bacteriana. Na urocultura houve crescimento de bactérias superior a 10^5 UFC/mL e a espécie isolada foi o *Staphylococcus aureus*. O antibiograma revelou cepas resistentes à vancomicina, o que sugeriu o diagnóstico de sepse que teve como causa inicial uma infecção urinária não tratada corretamente. Relembrando: as mulheres jovens e sexualmente ativas estão mais sujeitas a desenvolver infecção urinária. Nesse caso, para permitir a identificação e o isolamento do agente infeccioso por urocultura, os cuidados começam com a realização correta da técnica de coleta da urina (urina de jato médio, após assepsia cuidadosa dos genitais e evitando contato da urina com a pele ou qualquer tipo de contaminação da amostra). A urinálise poderá revelar piúria, hematúria, presença de cilindros e outras evidências indicativas de lesão renal, e é bastante provável que o exame físico da urina já revelasse turvação, muitos sedimentos e até alteração da cor. Para realização da urocultura nesse caso, deve-se considerar que as enterobactérias são as mais frequentemente envolvidas em infecção do trato urinário. Poderá ser feita a inoculação em placas duplas de CLED-MacConkey porque o ágar CLED (cistina lactose deficiente em eletrólitos), assim como o MacConkey, é um meio rico contendo lactose e cistina, o que permite diferenciar Gram positivos de Gram negativos e isolar os fermentadores de lactose. A hemocultura para diagnóstico de bacteremia necessita de coleta de mais de uma amostra (mínimo de duas, o ideal são três) e o mais simples e barato é semear em ágar chocolate, ágar sangue e ágar MacConkey; inclusive já há hemocultura em placa tríplice com os três tipos de ágar na mesma placa. Existem, também, testes bioquímicos chamados de tiras API (Índice de Perfil Analítico) contendo pocinhos com reagentes para identificar cada bactéria (por exemplo, API STAPH para *Staphylococcus*). Métodos automatizados servem para identificação bacteriana e para o teste de sensibilidade/resistência antimicrobiana. O *Staphylococcus aureus* que, pode desenvolver resistência à penicilina e à meticilina por mutação, era tratada com vancomicina, mas agora tem se observado que eles também

desenvolveram resistência à vancomicina, tornando o tratamento ainda mais complicado.

Avançando na prática

Infecção renal rara em mulher diabética

Descrição da situação-problema

Simone trabalha como técnica em um laboratório de um hospital universitário de Juiz de Fora, estado de Minas Gerais. Ela recebeu um protocolo de solicitação de exames – rotina de urina, urocultura e antibiograma – a serem realizados em uma paciente negra, com 53 anos, portadora de *diabetes mellitus*, que se encontra internada com sintomas de cistite e sinal compatível com pielonefrite enfisematosa, uma forma grave de infecção bacteriana do rim com formação de gás e extensa lesão renal, havendo o risco de ser necessária a remoção do rim doente. É uma complicação que ocorre praticamente apenas em diabéticos. A detecção da bactéria, a escolha acertada do antibiótico e o início precoce do tratamento pode resultar em melhora. Simone está sentindo o peso da responsabilidade e deseja realizar os exames de forma precisa e obter o máximo de confiabilidade nos laudos. Você saberia como ajudá-la?

Resolução da situação-problema

Em primeiro lugar, é preciso conhecer que a pielonefrite enfisematosa aguda é uma condição rara que ocorre quase exclusivamente em diabéticos, representa risco de óbito e pode estar associada à uropatia obstrutiva (obstrução completa das vias urinárias por inflamação e cilindros urinários), às vezes podendo melhorar pela simples desobstrução por sonda urinária, drenagem percutânea do abscesso renal e antibioticoterapia, ou até mesmo com cuidados intensivos e antibioticoterapia. O agente patogênico mais comum é a *Escherichia coli*, mas também pode haver envolvimento de *Proteus sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e, raramente, anaeróbios, *Candida* e *Streptococcus sp*. Pode haver polinfecção e presença de bactérias resistentes aos antibióticos.

– Pesquise sobre o assunto na internet utilizando base de dados como o Scielo, a BVS - Biblioteca Virtual de Saúde e portal de periódicos da Capes. Uma referência sobre o assunto que você pode ler é: OLIVEIRA, R. A. G. et al. Pielonefrite enfisematosa. Relato de caso. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 354–357, jul./ago. 2012. Disponível em: <<https://bit.ly/2v0aFQY>>. Acesso em: 14 maio 2018.

– Para a coleta da amostra de urina o método da punção supra púbica pode ser a mais indicada quando houver anúria, obstrução das vias urinárias, bexiga neurogênica, alteração do nível de consciência com confusão mental. Muitos dos pacientes que apresentam a nefropatia enfisematosa têm obesidade mórbida e são hipertensos, logo, poderão usar cateter vesical.

– No exame de urina de rotina (tipo I) pode haver hematúria macroscópica, proteinúria grave, hemoglobinúria, hematúria e leucócitos elevados, presença de cilindros e cristais e outros sinais de lesão renal.

– A cultura de urina e o antibiograma são os exames mais importantes. É importante saber que a evolução da doença pode ter os seguintes mecanismos subjacentes: a glicemia elevada e a diminuição da perfusão sanguínea por doença vascular diabética associadas à ineficácia do mecanismo imunitário, produção de níveis baixos de oxigênio no tecido renal, indução ao metabolismo anaeróbico, permitindo que as bactérias anaeróbicas facultativas fermentem a glicose, produzindo gás. Com isto em mente, planeje como deverá ser feito o isolamento e a identificação dessas bactérias por urocultura.

Consulte a Lição 7.8 - Cultura de Urina e contagem de colônias na p. 675 e a Lição 7.9 - Identificação Bacteriana e Teste de Susceptibilidade a Antibióticos na p. 685 da seguinte obra: ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

Faça valer a pena

1. As culturas de urina são solicitadas principalmente quando a urinálise detectou indícios de infecção do trato urinário ou pielonefrite, em casos de infecção urinária de repetição e antes de procedimentos urológicos.

Com relação à urocultura, analise as proposições a seguir:

- I. Para semear a placa de ágar de urocultura utiliza-se uma alça calibrada de 10 μL ; a amostra de urina deve ser previamente homogeneizada, e quando houver indícios de infecção grave ou de existência de uma infecção mista, pode-se semear com alça de 1 μL .
- II. As colônias isoladas podem ser contadas, sendo o critério para diagnóstico positivo quando houver crescimento de mais do que 1000 UFC (Unidade Formadora de Colônia) por mL de urina, independente do caso ou do microrganismo.
- III. São consideradas somente as culturas com crescimento de um único agente etiológico, sendo considerada contaminação quando ocorre crescimento de dois ou três tipos diferentes de microrganismos, a não ser que haja indicação clínica da possibilidade de polinfecção.

Assinale a alternativa que contém apenas as afirmativas corretas.

- | | |
|--------------|----------------|
| a) I e II. | d) apenas I. |
| b) II e III. | e) apenas II . |
| c) I e III. | |

2. O exame da urina, segundo documentos existentes sobre a história da medicina, foi o primeiro método utilizado para avaliar o estado de saúde de uma pessoa. Na atualidade existem três tipos básicos de exames: o exame de características físicas e químicas da urina, o exame microscópico da urina e a urocultura.

De acordo com o contexto, assinale a alternativa correta:

- a) A urina de indivíduos saudáveis é normalmente estéril e por isso nem sempre é necessário o descarte do primeiro jato urinário durante a coleta de urina.
- b) A turvação na urina pode indicar infecção do trato urinário, presença excessiva de proteínas, sedimentos, cristais e células.

- c) As tiras reagentes para análise química da urina detectam a presença de oxalato, fosfato ou carbonato de cálcio, uratos amorfos e também substâncias anormais como a cistina ou a estruvita.
- d) Os cristais na urina são formados por agrupamento de células descamativas ou inflamatórias, hemácias, leucócitos ou proteínas.
- e) Não se pode inferir apenas pela observação da cor da urina, por exemplo quando a urina está escura (quase negra) ou vermelha, que pode haver presença de urobilinogênio ou de sangue na urina.

3. A urocultura e o antibiograma são testes muito úteis para a pesquisa e o isolamento do agente causador de uma infecção do trato urinário e determinação da sensibilidade ou resistência dos mesmos aos antibióticos, e o teste de disco de difusão de Kirby e Bauer, um método antigo de antibiograma adotado como referência até os dias atuais

Com relação ao exame de urocultura e ao antibiograma avalie as seguintes proposições:

- I. A urocultura e o antibiograma são métodos manuais complicados e muito demorados, não sendo possível a sua realização por métodos automatizados.
- II. O teste de sensibilidade/resistência aos antimicrobianos, conhecido como antibiograma, avalia o padrão de inibição do crescimento de colônias de uma determinada bactéria frente a diferentes concentrações preestabelecidas de um ou mais antibióticos.
- III. A urocultura pode ser realizada utilizando-se diversos meios sólidos (ágar) ou líquidos (caldos), que podem ser seletivos para as diferentes bactérias Gram negativas ou Gram positivas, além de fungos e leveduras, o que a sua identificação por meio de propriedades bioquímicas e características morfológicas das colônias.
- IV. O antibiograma é um método apenas qualitativo que determina a sensibilidade de um microrganismo isolado em cultura por intermédio dos parâmetros sensível, intermediário ou resistente a diferentes tipos de antibióticos.

Assinale a alternativa que contém apenas as afirmativas que estão corretas.

- a) I e II. d) II, III e IV.
- b) II e III. e) II e IV.
- c) I, II e III.

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**: Guia de Bolso. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 4ª. ed. ampliada. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em: <<https://bit.ly/1UyJToj>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 7ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. Disponível em:

<<https://bit.ly/2LGz4Sq>>. Acesso em: 23 abr. 2018.

_____. Ministério da Saúde. **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária**. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. Disponível em: <<https://bit.ly/2O22JqO>>. Acesso em: 10 maio 2018.

_____. Ministério da Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. p. 34-41.

Disponível em: <<https://bit.ly/2FLDmG2>>. Acesso em: 10 maio 2018.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília: Anvisa, 2013. Disponível em: <<https://bit.ly/2mDOYCj>>. Acesso em: 10 maio 2018.

_____. Ministério da Saúde. Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de Chagas aguda e crônica. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 2, p. 475-478, out./dez. 2013. Disponível em: <<https://bit.ly/2uI5ANI>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. Brasília: Anvisa, 2013. Disponível em: <<https://bit.ly/2mDOYCj>>. Acesso em: 10 maio 2018.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde**. 2ª ed. Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <<https://bit.ly/2NH639T>>. Acesso em: 10 maio 2018.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**. 2ª ed. Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <<https://bit.ly/2snYwBU>>. Acesso em: 10 maio 2018

CARVALHAL, G. F.; ROCHA, L. C. A.; MONTI, P. R. Urocultura e exame comum de urina: considerações sobre a sua coleta e interpretação. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 50, n. 1, p. 59-62, 2006.

DIAS, J. C. P. et al. (Orgs). II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 25, nº especial, p. 7-86, 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/2A1glzE>>. Acesso em: 20 abr. 2018.

ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5ª. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 5 – Urinálise, p. 449; Unidade 7 - Microbiologia Clínica Básica, p. 597.

_____. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 8, Parasitologia Básica, p. 715.

FACCO, C. **Presença de Escherichia coli em infecções do trato urinário e seu perfil de resistência aos antimicrobianos**. 2015. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – FAEMA Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Rondônia, 2015. Disponível em: <<https://bit.ly/2A5PX84>>. Acesso em: 5 maio 2018.

FERREIRA, M. B.; COSTA-CRUZ, J. M. **Vias de transmissão de parasitoses intestinais**. [S. l.], 2017. Encarte p. 607, figura 28.1. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732628/cfi/6/86/4/2/6@0:0.00>>. Acesso em: 4 maio 2018.

GONÇALVES, M. de F. A importância do exame de urina. Sínteses: Revista Eletrônica do SIMTEC, Campinas, n. 4, p. 158, jul. 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/2JS7P5U>>. Acesso em: 9 maio 2018.

KASVI PRODUTOS LABORATORIAIS. **Sedimentoscopia**: análise microscópica de sedimento de urina. 9 fev. 2018. Disponível em: <<https://bit.ly/2LCAaBW>>. Acesso em: 12 maio 2018.

McPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21ª ed. Barueri: Manole, 2012. Parte VII - Teste de agentes antimicrobianos in vitro; Parte III – Urina e outros fluidos corporais. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1299>>. Acesso em: 7 maio 2018.

McPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21ª ed. Barueri: Manole, 2012. Parte VII, Teste de agentes antimicrobianos in vitro, p. 1193. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1220>>. Acesso em: 7 maio 2018.

MUNDT, L. A.; SHANAHAN, K. **Exame de urina e de fluidos corporais de Graff**. 2ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. Cap. 4 - Análise Química da Urina. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536326900/cfi/76>>

. Acesso em: 10 maio 2018. MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**, 8ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 12ª ed. São Paulo: Atheneu, 2011.

OLIVEIRA, R. B. **Relações parasitas e hospedeiros**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S. A., 2016. p. 31-36. Disponível em: <<https://bit.ly/2Ldpr8>>. Acesso em: 7 maio 2018.

ROSA, J. L.; BARROS, R. F.; SANTOS, M. O. Características da Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC). **Revista Saúde & Ciência em Ação**, Aparecida de Goiânia, v. 2, n. 1, p. 66-78, jan./ jul. 2016. Disponível em: <<https://bit.ly/2uLWeAG>>. Acesso em: 8 maio 2018.

SALOMÃO, R. **Infectologia - Bases Clínicas e Tratamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Seção 2.4.: Infecções e Doenças Causadas por Parasitos. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732628/cfi/6/2!/4/2@0.00>>. Acesso em: 9 maio 2018.

_____. **Infectologia - Bases Clínicas e Tratamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Seção 2.4.: Infecções e Doenças Causadas por Parasitos. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732628/cfi/6/68!/4/2/6@0:0.00>>. Acesso em: 9 maio 2018.

SAMPAIO, C. P. S.; DIAS, I. M.; FARIA, F. M.; OLIVEIRA, M. V. M. Principais bactérias causadoras de infecção hospitalar. **Lecturas: Educación Física y Deportes**, Buenos Aires, ano 18, n. 182, jul. 2013. Disponível em: <<https://bit.ly/2LLiCul>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

SISTEMA EDUCACIONAL DE AVALIAÇÃO DA EDUCAÇÃO SUPERIOR SINAES. ENADE 2013. **Biomedicina**. [S.l.], 2013. Questão 20. Disponível em: <<https://bit.ly/2A4NtGM>>. Acesso em: 11 maio 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML): Boas Práticas em Microbiologia Clínica**. Barueri: Manole, 2015. Disponível em: <<https://bit.ly/2v2GVmh>>. Acesso em: 7 maio 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE - UFF. **Atlas Virtual de Parasitologia**. Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Disponível em: <<https://bit.ly/2uWzuwY>>. Acesso em: 10 maio 2018.

VEJA. **Organização alerta sobre aumento da malária no Brasil**. [S.l.], Caderno Saúde, 3 fev. 2018. Disponível em: <<https://abr.ai/2uXhToO>>. Acesso em: 23 abr. 2018.

XAVIER, R. M.; DORA, J. M.; BARROS, E. **Laboratório na prática clínica**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

Alterações bioquímicas e interpretação laboratorial em condições patológicas

Convite ao estudo

Caro aluno, iniciamos agora o estudo dos exames laboratoriais realizados por meio de dosagens bioquímicas em amostras biológicas. Lembre-se de que os exames do laboratório de bioquímica têm grande aplicação na clínica médica porque podem fornecer informações sobre o estado de diversas doenças, além de poderem rastrear a sua evolução ou o efeito do seu tratamento. Provavelmente muitas pessoas, quando pensam em fazer um exame clínico laboratorial, logo imaginam que será necessário colher uma amostra de sangue ou de urina. Mas, será que elas têm conhecimento da quantidade de análises da composição química do sangue ou da urina que se pode fazer e de como os resultados dessas análises podem auxiliar no diagnóstico de uma grande variedade de doenças? Nos laboratórios modernos executa-se uma diversidade de testes bioquímicos, que podem quantificar as concentrações de substâncias comuns, como glicose, colesterol, creatinina, ácido úrico, hemoglobina, bilirrubina, além de outras não tão comuns, como as diversas enzimas utilizadas para avaliar a função hepática, a presença de lesão nos músculos, inclusive do coração, sem falar dos marcadores tumorais. Voltaremos o foco do nosso estudo para as doenças renais, as doenças metabólicas e hepatobiliares, além de algumas patologias cujo diagnóstico é facilitado pelas dosagens enzimáticas ou de marcadores bioquímicos e tumorais. Para tornar o nosso estudo mais dinâmico, vamos acompanhar André em seu mais novo desafio: aprender a interpretar exames bioquímicos

de perfil renal, glicêmico, lipídico e cardíaco, do estado de equilíbrio ácido-básico e de avaliação da função hepática de alguns pacientes cujas amostras de sangue e urina foram recebidas pelo laboratório onde ele faz o seu estágio.

Seção 3.1

Interpretação de doenças renais, pH e gasometria

Diálogo aberto

Você saberia dizer por que os rins são tão importantes para a nossa sobrevivência? Sempre que os rins de uma pessoa param de funcionar, é necessário que ela faça hemodiálise ou receba um transplante renal, caso contrário ela morrerá. Esses procedimentos garantirão que substâncias metabolicamente tóxicas, normalmente eliminadas na urina, sejam removidas sem se acumularem no sangue e, também, farão com que os constituintes essenciais para a obtenção de energia pelas células, para o crescimento e desenvolvimento do corpo e para a manutenção de um estado de equilíbrio denominado homeostasia, sejam recuperados do plasma filtrado e não sejam eliminados na urina. É exatamente isso que os rins fazem ao filtrar o plasma (sem deixar passar as proteínas e as hemácias) na membrana filtrante dos glomérulos e, depois, ao produzir modificações nesse líquido filtrado ao longo do trajeto pelos túbulos renais. Por último, a urina quase pronta no ducto coletor é acidificada (sendo essas células renais as únicas do nosso corpo que são capazes de eliminar os ácidos na forma de íons H^+ ou de amônia, para que eles não se acumulem no sangue), sendo esse mecanismo importante no controle do equilíbrio ácido-básico. Se os rins são prejudicados por substâncias químicas ambientais ou medicamentos nefrotóxicos, ou, ainda, por microrganismos infecciosos, produtos metabólicos ou processos tumorais, surgem as nefropatias.

As doenças renais podem ser diagnosticadas por meio das dosagens bioquímicas de eletrólitos, do pH e de diversos produtos do metabolismo, como a ureia e a creatinina. Existem métodos de avaliação do Índice de Filtração Glomerular e da eficiência dos rins para livrar nosso organismo de certas substâncias, processo chamado de depuração ou *clearance* renal.

Para aplicar esses conhecimentos, vamos ajudar André a executar e interpretar os resultados dos exames realizados em Robson, um paciente de 15 anos, estudante e proveniente de Jundiá. Ele se

apresentava bem de saúde, quando sentiu uma dor súbita e forte em flanco e, após avaliação em um centro médico e com suspeita de cálculo renal, passou a usar um analgésico e a beber bastante líquido. O paciente melhorou logo em seguida, mas, alguns dias depois, iniciou um quadro de disúria e polaciúria (ardência ao urinar e aumento na frequência das micções), sendo solicitado um exame de urina de rotina que mostrou leucocitúria e hematuria. Foi lhe receitado antibiótico, mas ele não se lembra de qual, para tratamento de provável ITU (Infecção do Trato Urinário), sem a realização de urocultura. Robson não melhorou e evoluiu com hipertensão arterial de difícil controle e piora progressiva da função renal. Os exames realizados indicaram proteína ++, hemácias ++, leucócitos + na urina e elevação dos níveis sanguíneos de creatinina, ureia e ácido úrico, além de trombocitopenia e sinais de possível anemia hemolítica com presença de esquizócitos. Foram realizados testes sorológicos que deram negativo para doenças infecciosas renais, hepatite B e HIV. Ao final desta seção, teremos condições de interpretar esses resultados e construir uma hipótese diagnóstica e, também, poderemos descrever como foram realizados os exames laboratoriais de urina e de sangue.

Não pode faltar

Para início de conversa, podemos descrever, de forma bem simplificada, que a função dos rins é filtrar o sangue para remover substâncias indesejáveis como a ureia, creatinina, ácido úrico e outros ácidos formados no organismo, o excesso de sal e de potássio e até mesmo de água. O bom funcionamento dos rins está diretamente relacionado com o equilíbrio da água e de sais minerais do sangue, sendo os principais: cloreto de sódio (NaCl), cálcio, potássio, magnésio, bicarbonato e fosfato, que estão envolvidos no controle da pressão arterial, do funcionamento das células do corpo, do metabolismo, especialmente dos ossos, e também do pH (através do tampão bicarbonato).

Assim, pode-se facilmente concluir que, quando os rins não funcionam bem, diversas substâncias se acumulam no sangue, tais como a ureia e a creatinina, e que, dependendo do grau da lesão e de sua localização (nos glomérulos ou nos túbulos), pode haver

perda de proteínas, albumina, hemácias, sódio, além de falhas na produção de urina e de sua função excretora. Nesse momento, entra em ação a Bioquímica, pois a maioria dos exames para avaliação da função renal são realizados por meio de dosagens, no sangue ou na urina, de diversos elementos químicos.

Para se ter uma ideia da importância desses exames, basta lembrar que sempre que um paciente estiver na UTI (Unidade de Terapia Intensiva) do hospital, uma das principais ameaças à vida é o desequilíbrio dos eletrólitos, devido à parada do funcionamento dos rins. Em alguns hospitais, são incluídos nos Testes Laboratoriais Remotos (que podem ser feitos à beira do leito, sem a necessidade de transportar amostras de sangue para o laboratório) as dosagens de sódio, potássio, bicarbonato e cloreto, além de outros analitos. Esses métodos baseados em automação e aliados à informática são caros, mas muito práticos. Basta colocar as amostras num cassete específico para o que se quer analisar, introduzi-lo no equipamento e aguardar o resultado.

Os métodos laboratoriais mais utilizados para a dosagem de sódio e potássio por meio de equipamentos automatizados são **métodos enzimáticos**: um ensaio cinético para sódio que utiliza a β -galactosidase-sódio-dependente, enquanto na medida de potássio se usa a piruvato quinase. No entanto, vários laboratórios utilizam outros métodos (espectrofotometria de absorção atômica, eletrodos íon-seletivos ou ISE), sendo o mais comum a **fotometria de chama**, em que a amostra é atomizada, produzindo átomos no estado ativado, que emitem luz em comprimentos de onda específico para cada elemento (sódio amarelo e potássio violeta).

A dosagem de cloreto é um pouco mais complicada, podendo ser **enzimático reverso** utilizando alfa-amilase e medida espectrofotométrica, ou por titulação com compostos de mercúrio, ou, ainda, por **titulação coulométrica ou amperométrica** (por geração de íons de prata). Algumas dessas técnicas foram incorporadas ou modificadas para serem usadas na **tecnologia de fase sólida**, em que os reagentes estão na forma seca nas unidades de teste (como nas tiras reagentes para medir glicose, pH ou de urinálise, porém com maior precisão). Essas análises se baseiam na medida de luz refletida por um composto colorido (**fotometria de reflectância**).



Reveja os diferentes métodos utilizados para avaliação da função dos rins, assim como os valores de referência para os eletrólitos no sangue, lendo os tópicos *Eletrolitos e água e Rim e função renal*, do material a seguir:

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medbook, 2009. Disponível em: <<https://goo.gl/vGgXH7>>. Acesso em: 2 ago. 2018.

Os valores sanguíneos normais dos eletrólitos importantes para avaliação da função renal encontram-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 | Valores normais de concentração de eletrólitos no sangue (soro), líquido cefalorraquidiano (LCR) e urina*

Eletrólito	Soro	LCR	Urina
Sódio, Na ⁺	135 a 145 mmol/L	138 a 150 mmol/L	40 a 220 mmol/L
Potássio, K ⁺	3,5 a 5,0 mmol/L	70% valor do soro	25 a 125 mol/dL
Cloreto, Cl ⁻	98 a 106 mmol/L	110 a 250 mmol/L	110 a 250 mmol/dL
Bicarbonato, HCO ₃ ⁻	22 a 28 mmol/L		

*Nota: os valores podem diferir um pouco, de acordo com o método utilizado para a quantificação, e o valor de cloreto na urina varia muito, de acordo com a dieta. Para eletrólitos, os valores podem ser expressos em milimol por litro (mmol/L) ou mili equivalente por litro (mEq/L).

Fonte: adaptada de <<https://goo.gl/vGgXH7>>. Acesso em: 2 ago. 2018.

Em algumas clínicas e hospitais, o exame de **perfil bioquímico de rotina para avaliação da função renal** inclui, além da dosagem dos eletrólitos, a dosagem de creatinina, de glicose e de BUN (nitrogênio ureico sanguíneo, *Blood Urea Nitrogen*) que, no Brasil, é dosado como ureia. Quando os rins não funcionam adequadamente, os compostos nitrogenados, que deveriam ser eliminados pela urina, acumulam-se no sangue e pode haver perda de glicose pela urina na ausência de diabetes *mellitus*, o que torna essas dosagens muito úteis para o diagnóstico de doenças renais.

A **ureia** é formada no fígado como resultado do metabolismo de proteínas. O excesso de aminoácidos é convertido em ureia,

que fica no sangue, e a sua concentração pode ser medida por **método enzimático colorimétrico**, utilizando-se a enzima urease. Um outro método, chamado de **teste cinético**, difere apenas em relação ao produto final (a reação é complementada para produzir NADH) e mede a mudança na absorvância à medida que o NADH é convertido em NAD⁺. Esses métodos são disponíveis na forma de kits e são os mais frequentemente utilizados nos testes automatizados. A medida de ureia na urina deve ser feita em urina de 24 horas, havendo uma série de recomendações a serem seguidas para evitar que as bactérias causem a sua degradação na amostra. Para a **dosagem de glicose** existem diversos métodos: eletroquímicos, por amperometria, fotometria de reflectância de fase sólida e eletrodos íon sensitivos. A precisão da determinação da glicemia também depende de diversos cuidados na fase pré-analítica para evitar que a glicose seja consumida pelas células vermelhas (hemácias), falseando o resultado.

Os valores normais no soro, que podem variar de acordo com o método, são:

- Ureia: 17 mg/dL a 22 mg/dL (ou 10 mg/dL a 50 mg/dL, considerando influência da dieta).
- Glicose de jejum: 70 mg/dL a 110 mg/dL.
- Creatinina com hidratação normal: 0,6 mg/dL a 1,3 mg/dL.

A ureia na urina tem como valor de referência: 10 g/24 horas a 35 g/24 horas.

A importância da creatinina no diagnóstico de doenças renais

A creatinina é produto de excreção do fosfato de creatina, que é uma substância armazenada nos músculos como fonte de energia para a contração muscular. A sua quantidade no sangue varia de acordo com a massa muscular, havendo valores de referência diferentes para crianças, idosos, adultos, jovens, homens ou mulheres. A creatinina é livremente filtrada nos rins e sua concentração no sangue aumenta em casos de distúrbios renais, desequilíbrio hídrico e choque circulatório, sendo que, diferentemente da ureia ou BUN, cuja excreção é afetada pela dieta, por uso de esteroides anabolizantes e desnutrição, a concentração de creatinina não é afetada por dietas ou hormônios. É considerado

o melhor marcador da função renal e é um teste sensível que pode detectar o mal funcionamento dos rins na ausência de qualquer sintoma: em geral, quando se detecta níveis de creatinina elevada, quase 50% da função dos rins pode estar comprometida (lembre-se de que temos dois rins e uma reserva funcional dos rins).



Exemplificando

A dosagem de creatinina está incluída nos testes de Medicina Preventiva, sendo a dosagem simultânea de creatinina e ureia importante para diferenciar quando uma azotemia (acúmulo de compostos nitrogenados no sangue) é de origem pré-renal (dieta rica em proteínas ou excesso de massa muscular) ou renal (problema de excreção na urina). A dosagem de creatinina pode ser feita por **método colorimétrico de ponto final** (que usa ácido pícrico), **ensaio enzimático** ou **ensaio cinético** (baseado no antigo método de Jaffé) ou por **tecnologia de fase sólida**. Existem tiras reagentes especiais de um ou dois analitos que detectam substâncias que são indetectáveis nas tiras reagentes comuns. Por exemplo, a tira reagente Multistix PRO (Siemens) é especialmente útil para controlar doenças renais e complicações do diabetes *mellitus*, permitindo medir níveis de creatinina e de proteínas e calcular a relação proteína/creatinina, que antes só era possível analisando urina de 24 horas. Outras fitas podem medir microalbuminúria, indicador de dano renal como complicação do diabetes *mellitus*, enquanto outras medem glicose e cetonas ou somente cetonas. Como referência, sugerimos consultar o material a seguir:

ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. Exame químico da urina. In: _____. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. lição 5.4., p. 481.

Depuração ou *clearance* de creatinina para avaliação do Índice de Filtração Glomerular

Sabe-se que os dois rins filtram em média 180 litros de sangue por dia, ou, aproximadamente, de 90 ml a 125 ml por minuto, sendo essa a taxa de filtração glomerular ou Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) normal. Esse parâmetro pode ser avaliado em um indivíduo por meio de um teste conhecido como teste da depuração ou *clearance*, que, no método mais exato, usa como indicador uma substância exógena chamada de inulina, que é livremente filtrada, não é reabsorvida nem secretada nos túbulos de forma que tudo

o que aparece na urina foi proveniente da filtração. Um método invasivo, por conta da necessidade de injetar na circulação essa substância, podendo ser perfeitamente substituído pelo método da depuração da creatinina endógena, que é menos invasivo.

Uma vez que a creatinina produzida endogenamente é liberada nos líquidos corporais a uma taxa constante e os valores plasmáticos são mantidos dentro de limites estreitos, e uma vez que os rins filtram a creatinina livremente, existe quase um equilíbrio entre a quantidade filtrada e a quantidade que aparece na urina. A única imprecisão nesse método é gerada pela secreção tubular de creatinina, que faz com que os valores do volume de sangue livre (depurado) da creatinina em um determinado período de tempo seja superestimado em cerca de 25%. Essa imprecisão será maior quanto menor for o Ritmo de Filtração Glomerular. Para calcular a depuração de creatinina, basta colher toda a urina produzida preferencialmente em 24 horas, colher uma amostra de sangue preferencialmente na metade do período de tempo e calcular a depuração, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Depuração} = \frac{U}{P} \times \frac{\text{Volume}}{1440}$$

Em que: U = creatinina na urina (mg/dL); P = creatinina no plasma (mg/dL); Volume = volume de urina em 24 horas; 1440 = fator de correção (24 horas x 60 minutos).

Esse valor deverá ainda ser corrigido, utilizando-se um nomograma peso x altura = superfície corporal, em que é possível transformar os valores de peso e altura do paciente em m² de superfície corporal. Depois, basta fazer os cálculos para corrigir o valor de depuração encontrado para o padrão de 1,73 m². Atualmente, para maior exatidão desse cálculo, foram introduzidas na fórmula, conhecida como padronização/calibração pelo estudo MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*), fatores de correção para a idade e gênero feminino. Essa fórmula dispensa a medida de creatinina na urina de 24 horas e fornece valores da Taxa de Filtração Glomerular em mL/min/1,73 m². Nos Estados Unidos, existem, para uso à beira do leito, analisadores portáteis que usam fita reagente e determinam creatinina do sangue pelo método colorimétrico de ponto final e outros analisadores automáticos que

dosam creatinina e hematócrito e fornecem os valores de Taxa de Filtração Glomerular já calculados.



Refleta

Para calibrar a melhor fórmula para o cálculo da depuração de creatinina ou Ritmo de Filtração Glomerular, a partir da simples dosagem de creatinina no soro, foram necessários vários estudos comparando os valores obtidos pela fórmula com os determinados por um método padrão de referência, que é a espectrometria de massa por diluição isotópica (ID-MS), isto é, usando isótopo de iodo radioativo ou outros radio fármacos para a dosagem de creatinina. É importante saber também que, para que cada nova metodologia semiautomática ou automática seja aceita, ela deve passar por vários estudos de validação.

Constantemente vão surgindo novos conhecimentos, como:

- Novos biomarcadores (por exemplo, a cistina) – melhores do que a creatinina – para monitorar doença renal aguda ou crônica.
- Proteinúria, microalbuminúria e dismorfismo eritrocitário, que podem ser usados para diagnóstico e prognóstico das doenças renais.

Os valores de referência para o *clearance* de creatinina de forma simplificada são:

Crianças: 70 a 140 mL/min/1,73 m².

Homens: 85 a 125 mL/min/1,73 m².

Mulheres: 75 a 115 mL/min/1,73 m².

É importante saber disso porque, de acordo com a Sociedade Brasileira de Nefrologia, quando os valores obtidos do paciente estão abaixo de 60 mL/min/1,73 m², o diagnóstico é de **insuficiência renal crônica**. Os estágios da insuficiência renal são classificados, de acordo com os valores de *clearance* de creatinina (em mL/min/1,73 m²), da seguinte forma:

Estágio I – *clearance* maior do que 90, porém com alguma doença de risco como diabetes, hipertensão ou rins policísticos: existe risco de desenvolver insuficiência renal.

Estágio II – *clearance* entre 60 e 89: é considerado uma fase pré-insuficiência renal.

Estágio III – *clearance* entre 30 e 59: é a fase de insuficiência renal crônica confirmada, com sintomas diagnosticáveis. Nessa

fase, as complicações começam a aparecer: os rins não produzem a eritropoietina em quantidade suficiente e começa a haver anemia progressiva por falta de produção de glóbulos vermelhos pela medula óssea, ocorre desmineralização e lesões ósseas por elevação do hormônio paratireoideano e queda da produção de Vitamina D (hormônios que controlam a quantidade de cálcio nos ossos), além do desequilíbrio hidroeletrólítico.

Estágio IV – *clearance* entre 15 e 29: esta é a fase pré-diálise com acidose, elevação do potássio, anemia estabelecida, aumento do risco de doenças cardíacas e fraqueza.

Estágio V – *clearance* menor do que 15: fase de insuficiência renal terminal, em que os sintomas da uremia e a progressão do quadro podem levar o paciente a óbito por edema pulmonar. Podem ocorrer arritmias cardíacas, crise convulsiva e até coma.

Marcadores de lesão renal

Os principais marcadores de lesão renal são a proteinúria, albuminúria ou microalbuminúria e hematuria. Esses parâmetros podem ser detectados em exames de triagem como o exame de rotina de urina usando tiras reagentes, sendo necessária uma avaliação confirmatória ou mais detalhada. Existem **métodos colorimétricos para a dosagem de proteínas** (em urina de 24 horas ou em amostra isolada, uma vez que seja expressa como relação proteínas totais/ creatinina) e **métodos de eletroforese** para separação dos diferentes tipos de proteínas que podem estar presentes na urina (albumina, proteínas de Tamm-Horsfall, glicoproteína ácida, hemoglobina, mioglobina, proteína de Bence-Jones, etc.). A **albuminúria e microalbuminúria** são definidas como a presença de 30 mg a 300 mg de albumina em amostra de urina de 24 horas. É um sinal de lesão renal diabética ou da hipertensão arterial e os métodos mais utilizados na rotina laboratorial para a dosagem de albumina são a **nefelometria** e **turbidimetria**, mas o método mais preciso é a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Existem diversos outros métodos que podem ser utilizados, tais como o radioimunoensaio, enzima imunoensaio, método imunoquímico ou de imunodifusão. A **hematuria**, na prática clínica, deve ser avaliada por meio de análise microscópica, para pesquisa de dismorfismo eritrocitário (hemácias deformadas de diversos tipos), tornando possível discriminar entre a

causa glomerular e não glomerular da hematuria. O achado de 80% de hemácias dismórficas pode ser usado para confirmar o diagnóstico de hematuria glomerular.

Desequilíbrio acidobásico da insuficiência renal

Os rins desempenham uma função importante para a manutenção do equilíbrio acidobásico. Eles são capazes de eliminar ácidos orgânicos metabolizáveis originados de proteínas, carboidratos e lipídeos da dieta que o fígado metaboliza, gerando grande quantidade de íons hidrogênio (da oxidação dos aminoácidos sulfurados) e álcalis (da oxidação de ânions orgânicos). Os rins removem, ainda, os ácidos orgânicos não metabolizáveis (como o ácido glicurônico e o hipúrico), assim como os ácidos inorgânicos.

A capacidade de os rins removerem os ácidos do sangue depende do mecanismo tubular de secreção de íons hidrogênio, que é também o mecanismo regenerativo de bicarbonato, pois, no processo, para cada íon hidrogênio eliminado na urina, um íon bicarbonato é recuperado para o sangue. Esse mecanismo de reabsorção do bicarbonato e de eliminação de ácidos fica prejudicado na doença renal crônica, resultando em acidose chamada de metabólica. Outras condições que causam acidose, como a uremia (acúmulo de ácido úrico no sangue) ou cetoacidose diabética, sobrecarregam o rim, piorando o quadro. Existem duas formas principais de desequilíbrio acidobásico causado por doença renal: a insuficiência renal estágio V e a acidose tubular renal (por perda de bicarbonato).

O diagnóstico da acidose é feito por **gasometria arterial**. O sangue é coletado de uma artéria (radial, braquial ou femoral e, eventualmente, a ulnar) ou de uma veia, em certas condições. Em caso de recém-nascido, pode-se optar por artérias do couro cabeludo ou artéria umbilical. A coleta é feita segundo recomendações do CLSI (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais), com seringa plástica própria para gasometria preparada com heparina de lítio jateada na parede e a medida é feita imediatamente, com a própria seringa, no aparelho analisador de gases. O analisador de gases e eletrólitos usa **tecnologia de eletrodos íon seletivos** para medir diversos eletrólitos e o pH, além dos gases O_2 (oxigênio) e gás carbônico (CO_2), cujas concentrações são expressas em pressão parcial de gases (pO_2 e pCO_2) cuja unidade de medida é milímetros de mercúrio (mmHg).

Os intervalos normais da gasometria arterial e venosa estão representados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 | Valores de referência para o pH, concentração de CO₂ (pCO₂) e de bicarbonato (HCO₃⁻), determinados por gasometria arterial e venosa. BE ou excesso de base é calculado pela soma de ânions tampão (bicarbonato, hemoglobina, fosfato e proteína)

Parâmetro	Gasometria arterial	Gasometria venosa
pH	7,37 – 7,44	7,35 – 7,45
pCO ₂	34 mmHg – 45 mmHg (homens) 31 mmHg – 42 mmHg (mulheres)	36 mmHg – 50 mmHg
HCO ₃ ⁻	23 mEq/L – 29 mEq/L (homens) 20 mEq/L – 29 mEq/L (mulheres)	25 mEq/L – 30 mEq/L
BE (<i>Base Excess</i> , ou Excesso de Base)	-2 a +2	0 a +5

Fonte: adaptada de <<https://goo.gl/yQ1JQ9>>. Acesso em: 3 ago. 2018.

Veja os intervalos normais de gasometria em:

FURONI, R. M. et al. Distúrbios do equilíbrio ácido-básico. **Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba**, v. 12, n. 1, p. 5-12, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/m6usUP>>. Acesso em: 3 ago. 2018.

A interpretação do resultado da gasometria é feita considerando as complexas inter-relações metabólicas (geração de ácidos e falha renal na recuperação de bicarbonato) e respiratórias (aumento de pCO₂ por deficiência de ventilação pulmonar). Tenha como referência a equação:



Vejam que é possível concluir que a doença renal crônica e o distúrbio de absorção tubular de bicarbonato causam a acidose metabólica, com pH menor do que 7,30 e pCO₂ baixa (mostrando compensação respiratória) e é confirmado pela detecção de níveis de bicarbonato (HCO₃⁻) baixos no sangue. Essa combinação de

alterações permite concluir que houve desequilíbrio acidobásico e que ele não foi causado pelo sistema respiratório e sim pelos rins.

Outros exames para diagnóstico de doenças renais

Outros exames úteis para complementar o diagnóstico de doenças renais são os exames de **nefrolitíase** (pedras nos rins), que surge quando há condições favoráveis para a precipitação excessiva de cristais (por exemplo, hipersaturação de oxalato de cálcio e acúmulo de ácido úrico no sangue), agregação de cristais e produtos orgânicos para a formação dos cálculos.



Assimile

Os fatores de risco para nefrolitíase (pedras nos rins) são: a absorção exagerada de cálcio no intestino por hipersecreção de hormônio paratireoideano, quando os níveis de cálcio plasmático ficam baixos no sangue, característica genética que favorece a formação de pedras nos rins, a diminuição do fluxo de urina, favorecendo a saturação e diminuindo a solubilização dos cristais, o aumento do oxalato de cálcio na urina, a infecção urinária, doenças metabólicas e a diminuição dos inibidores da cristalização (como o citrato). Atualmente, sabe-se que a melhor forma de prevenir a nefrolitíase não é excluir da dieta as fontes de cálcio, mas, sim, reduzir a ingestão de proteínas animais, sal e as fontes de purinas/ácido úrico (miúdos, frutos do mar, sardinha, etc.), mantendo a quantidade de cálcio no sangue normal.

Diversos tipos de exame são utilizados em conjunto com os exames laboratoriais para o diagnóstico de doenças renais agudas e crônicas, podendo ser citadas entre as mais utilizadas a biópsia renal, o ultrassom de rins e vias urinárias e a tomografia computadorizada.

Sem medo de errar

Vamos analisar o caso de Robson, um jovem de 15 anos, estudante, proveniente de Jundiá, que já foi tratado de pedra no rim (cálculo renal) com analgésico, por causa de uma dor intensa no flanco, que o fez procurar um posto de saúde. Depois, foi tratado de uma suposta infecção do trato urinário (ITU), porque sentiu ardência ao

urinar (disúria), tinha polaciúria (aumento na frequência de micções) e o exame de rotina de urina detectou hematuria e piuria (leucócitos na urina), mas não foi feita a urocultura antes de iniciar o tratamento. Como ele não melhorou e evoluiu para uma piora progressiva da função renal, foram solicitados novos exames que indicaram: proteínas ++, hemácias ++, leucócitos + na urina e elevação da creatinina, ureia e ácido úrico no sangue, além de trombocitopenia e possível anemia hemolítica com presença de esquizócitos. Os exames sorológicos mostraram-se negativos para infecção renal, hepatite B e HIV. Avaliemos, primeiramente, os resultados do exame de urina: proteinúria com hematuria moderada e um pouco de leucócitos podem ser indicativos de alguma lesão renal, pois esses elementos não deveriam estar presentes na urina. Os exames de sangue mostrando altos níveis de creatinina, ureia e ácido úrico reforçam a ideia de alguma lesão renal. O que chama a atenção é a trombocitopenia, os esquizócitos e a anemia hemolítica. Os esquizócitos são hemácias fragmentadas com aspecto de triângulo, meia lua, "mordidas", que são produzidas por traumas mecânicos intravasculares. Essas hemácias se rompem e causam a anemia hemolítica e uma síndrome conhecida como síndrome hemolítico urêmica, na qual há um comprometimento renal com proteinúria e hematuria. A trombocitopenia é a diminuição do número de trombócitos ou plaquetas que são células que se agregam para formar coágulos intravasculares. O consumo alto de plaquetas leva à hipótese de microangiopatia trombótica nos pequenos vasos sanguíneos do rim, que é uma doença autoimune. Existe a Nefropatia IgA primária, que é caracterizada por dor no flanco quando ocorre a hematuria, é mais frequente entre 10 e 30 anos, mas pode se manifestar em crianças a partir de 3 anos de idade. Essa nefropatia tem a característica de estar associada a uma infecção das vias aéreas superiores, que não é relatada nesse caso, e à hipertensão arterial, que pode ser muito grave, e é a glomerulopatia primária mais comum em escala mundial. Porém, no caso de Robson, observa-se a ausência de hipertensão e afecção das vias aéreas superiores. Nessa síndrome IgA primária, não há plaquetopenia e síndrome hemolítica, portanto, trata-se de outra doença. Somente uma biópsia com teste de imunofluorescência para IgA, IgG e IgM nas células glomerulares, a observação de fibrose e atrofia dos túbulos e a confirmação da presença do anticorpo antifosfolípide

podem confirmar o diagnóstico final desse caso: microangiopatia trombocitopênica por anticorpo antifosfolípide.

Avançando na prática

Nefropatia diabética

Descrição da situação-problema

Dona Maria tem 68 anos, é aposentada e faz uso de insulina e metformina porque sofre de diabetes há 12 anos. Ela também segue dieta adequada com restrição de sal, carboidratos e gordura, mas não realiza atividades físicas. Teve um infarto agudo do miocárdio há 4 anos, quando descobriu que era hipertensa, e passou a tomar atenolol 50 mg/dia. Desde o infarto, a paciente faz acompanhamento médico para monitorar o seu quadro metabólico. No entanto, não se sentiu bem nos últimos dias, quase desmaiou, sentiu fraqueza e cansaço, muita sede e passou a urinar muito. A avaliação clínica e laboratorial indicou os seguintes resultados:

Paciente: 68 anos, feminino; medicamentos em uso: Insulina 2U subcutânea diária, Metformina 850 mg/dia, Atenolol 50 mg/dia.

Pressão arterial levemente baixa (100/60 mmHg).

Índice de Filtração Glomerular (*clearance* de creatinina): 40 mL/min/1,73 m² (VR: 75 a 115 mL/min/1,73 m²)

Dosagem no sangue (em que VR = valor de referência):

Creatinina: 5,2 mg/dL (VR: 0,5 a 1,0 mg/dL).

Ácido úrico: 8,0 mg/dL (VR: 2,5 a 6,0 mg/dL).

Ureia: 70 mg/dL (VR: 14 a 40 mg/dL).

Bicarbonato: 21 mmol/L (VR: 22 a 29 mmol/L).

Sódio: 130 mmol/L (VR: 135 a 145 mmol/L).

Potássio: 6,1 mmol/L (VR: 3,5 a 5,3 mmol/L).

Glicose jejum: 50 mg/dL (VR: 60 a 99 mg/dL).

Analise esses resultados laboratoriais e aponte o significado deles.

Resolução da situação-problema

As alterações observadas indicam uma insuficiência renal crônica que ocorreu como complicação do diabetes *mellitus* associado à hipertensão. Para chegar a essa conclusão, utilize os conceitos expostos sobre os exames de avaliação da função renal: 1) eletrólitos, 2) A importância da creatinina no diagnóstico de doenças renais, 3) depuração ou *clearance* de creatinina para avaliação do Índice de Filtração Glomerular e 4) desequilíbrio acidobásico da insuficiência renal.

1. Observe os resultados dos eletrólitos (sódio, potássio, bicarbonato) e o *clearance* de creatinina. Veja que há elevação do potássio e da creatinina e o Ritmo de Filtração Glomerular está abaixo de 60 mL/min/1,73 m². Esse valor de *clearance* de creatinina já indica a doença renal crônica.
2. Ureia e ácido úrico como produtos nitrogenados para excreção: há um acúmulo de ureia e de ácido úrico, indicando a piora na função excretora renal. Aliado a isso, o bicarbonato está tendendo a diminuir. Se essa condição piorar, ocorrerá uma acidose.
3. A glicemia está abaixo do valor de referência. Lembre-se de que a paciente usa insulina e hipoglicemiante (metformina) devido à existência de diabetes crônica e ao alto risco cardiovascular. Porém, sendo idosa, possivelmente as doses precisam ser ajustadas.

Considerando a medicação em uso e a idade da paciente, é necessário avaliar o possível efeito colateral nefrotóxico de doses elevadas dos medicamentos. Ela precisa receber tratamento e acompanhamento da doença renal crônica. Procure pesquisar mais sobre o tratamento da doença renal crônica em:

BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbn/v33n1/v33n1a13.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2018.

Faça valer a pena

1. A análise laboratorial dos eletrólitos, como o sódio, o cloreto, o potássio e o bicarbonato do sangue e de outras substâncias, como a creatinina, a ureia e o ácido úrico é bastante útil na avaliação do funcionamento dos rins. Aliados à determinação do *clearance* ou depuração de creatinina endógena e à análise da presença de proteinúria e hematuria, esses exames podem ser utilizados no diagnóstico de doenças renais.

Considerando esses exames laboratoriais, avalie as afirmativas a seguir:

- I. No soro de um paciente com suspeita de insuficiência renal crônica os valores de ureia e de creatinina encontram-se elevados.
- II. Resultados positivos e elevados de proteinúria e de hematuria no exame de urina indicam uma condição benigna qualquer, como a realização de um exercício físico intenso antes do exame.
- III. Os valores dos eletrólitos sódio e potássio no soro mostram-se elevados quando os rins não estão funcionando adequadamente, podendo haver diminuição na concentração de bicarbonato quando a função tubular de recuperação do bicarbonato estiver comprometida.
- IV. Para a realização do exame de depuração da creatinina endógena, a urina deve ser coletada durante 24 horas e, quanto maior for o volume de urina coletado, maior será a concentração de creatinina plasmática, permitindo o diagnóstico de insuficiência renal.

Está correto apenas o que se afirma em:

- a) I e II.
- b) II e III.
- c) I e III.
- d) III e IV.
- e) II e IV.

2. Nos laboratórios modernos são utilizados diversos equipamentos automáticos e semiautomáticos que podem executar com precisão e rapidez diversos tipos de análise bioquímica em amostras de sangue (soro ou plasma), urina, líquido cefalorraquidiano e outras secreções.

As principais técnicas utilizadas para dosagem de eletrólitos, ureia, creatinina e glicose por meio de análise bioquímica de amostras de soro ou plasma, são:

- a) Técnicas enzimáticas ou cinéticas com medidas em espectrofotômetros ou calorímetros.

- b) Turbidimetria e nefelometria.
- c) Eletroforese, amperometria e titulação na presença de um indicador.
- d) Reações em diversas etapas para se produzir oxidação de um eletrodo sensível.
- e) Radioimunoensaio e HPLC (cromatografia líquida de alta performance).

3. Um paciente com diabetes *mellitus* e hipertensão arterial estava sendo tratado com a medicação adequada, mas apresentou repentinamente um quadro de acidose grave. Com o objetivo de avaliar o seu quadro clínico, foi realizado um teste de gasometria arterial.

Com base nos princípios de equilíbrio ácido-básico do nosso organismo e na aplicação da técnica de gasometria para o diagnóstico de acidose de origem renal ou metabólica, analise as seguintes afirmativas:

- I. A amostra de sangue é coletada em seringa especial para gasometria por meio de cateterismo cardíaco.
- II. A elevação na quantidade de CO_2 associada a baixos níveis de bicarbonato e pH menor do que 7,30 indicam uma acidose metabólica da doença renal crônica.
- III. O pH reduzido (menor do que 7,30), baixos níveis de bicarbonato e de CO_2 indicam acidose metabólica típica da doença renal crônica.

Está correto apenas o que se afirma em:

- a) I e II.
- b) II e III.
- c) I e III.
- d) I.
- e) III.

Seção 3.2

Doenças metabólicas

Diálogo aberto

Caro aluno, vamos tratar agora de um assunto extremamente importante nos dias atuais: as doenças metabólicas.

No organismo saudável o metabolismo é controlado por hormônios denominados hormônios catabólicos ou anabólicos, os quais controlam diversos processos voltados para a degradação de substratos, a fim de se obter energia para as células (catabolismo), ou voltados para o armazenamento desses substratos nos nossos estoques corporais (anabolismo). As doenças metabólicas são aquelas que afetam esse equilíbrio, resultando no acúmulo prejudicial de glicose, lipídeos, lipoproteínas ou produtos excedentes do metabolismo em nosso sangue.

As anormalidades metabólicas podem ser estreitamente relacionadas entre si, podendo se observar elevação nos níveis sanguíneos de glicose (hiperglicemia), altos níveis de lipídeos (triglicerídeos, colesterol e as lipoproteínas), ganho de peso corporal, deposição de gordura nas paredes das artérias (aterosclerose) que, associados ao aumento da pressão arterial, causam acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio; também podem causar a síndrome nefrótica, entre outras complicações. O mais assustador é que esse tipo de doença está muito frequentemente associado ao sedentarismo e à nutrição desequilibrada, os quais atuam em conjunto com a predisposição genética, e tem se tornado a segunda causa mais prevalente de morte, logo após o tabagismo. Para revermos os conhecimentos referentes a essa categoria de doenças e aplicarmos os métodos laboratoriais utilizados para o diagnóstico delas, vamos ajudar André a desvendar o mistério do caso de Saulo, que tem 48 anos, é tabagista, nega consumo de álcool (etilismo) e sente dor precordial (típica de infarto cardíaco) quando faz grandes esforços físicos. Ele apresenta sobrepeso (Índice de Massa Corporal acima de 30 kg/m^2) e procurou o médico porque fez uma medida de colesterol em uma campanha de saúde

e o resultado indicou nível elevado. No consultório, a sua pressão arterial foi de 160/104 mmHg com frequência cardíaca de 68 batimentos por minuto e ausência de sopros cardíacos ou sinais de ausculta pulmonar. Foram solicitados exames de perfil lipídico e para pesquisa de diabetes *mellitus*, além de avaliação da função renal. Os resultados dos exames foram:

Colesterol total: 230 mg/dL (valor recomendado: menor do que 200 mg/dL)

LDL: 154 mg/dL (valor recomendado: menor do que 100 mg/dL)

HDL: 28 mg/dL (valor recomendado: maior do que 35 mg/dL)

Triglicérides: 300 mg/dL (valor desejável: menor do que 200 mg/dL)

Glicemia de jejum: 172 mg/dL (normal: 70-110 mg/dL)

Proteinúria 24 horas: 1,2 g/24 horas (normal: 0,03 a 0,15 g/24 horas)

Clearance de creatinina (índice de filtração glomerular): 40 ml/min/1,73 m² (valor de referência: 85 a 125 ml/min em homens, ou maior ou igual a 90 ml/min/1,73 m²)

Outros resultados: ureia, creatinina e ácido úrico elevados no sangue.

Ao final desta seção espera-se que você seja capaz de avaliar esses resultados para elaborar um diagnóstico além de descrever como foram realizados os exames.

Não pode faltar

Para iniciarmos o nosso estudo sobre as doenças metabólicas, vamos começar com a definição do termo metabolismo. O termo "metabolismo humano" define uma complexa interação de substratos, enzimas, produtos intermediários e produtos finais que tanto podem estar voltados para o armazenamento dos nutrientes no corpo ou para a formação dos constituintes bioquímicos das células e tecidos (renovação ou crescimento) como também podem estar relacionados com os processos de degradação de moléculas (dos reservatórios corporais de carboidratos e lipídeos) para a obtenção constante de energia pelas células. Para que você possa revisar conceitos do metabolismo de carboidratos e de gorduras, sugerimos a leitura dos capítulos 26 e 27 do material a seguir:

SACKHEIM, G. I.; LEHMAN, D. D. Metabolismo de carboidratos. In: _____. **Química e Bioquímica para Ciências Biomédicas**. Barueri: Manole, 2001. cap. 26, p. 478. Disponível em: <<https://goo.gl/eWpLJx>>. Acesso: 23 ago. 2018.

_____. Metabolismo de gorduras. In: _____. **Química e Bioquímica para Ciências Biomédicas**. Barueri: Manole, 2001. cap. 27, p. 492. Disponível em: <<https://goo.gl/eWpLJx>>. Acesso: 23 ago. 2018.

Procure imaginar que em um determinado instante, através da vasta rede de vasos sanguíneos do nosso corpo, estão circulando moléculas de glicose, de colesterol e frações do colesterol ligadas a proteínas chamadas de lipoproteínas, várias categorias de moléculas que funcionam como cofatores, enzimas, vitaminas, fatores de coagulação do sangue, tudo isso misturado com as proteínas, as células sanguíneas e os hormônios. O equilíbrio metabólico é ajustado para cada situação (por exemplo, repouso ou atividade física) pela ação do sistema nervoso e dos hormônios que controlam o gasto energético, a entrada de nutrientes para o sangue (por meio da fome e da saciedade), as velocidades de todos os processos metabólicos do organismo, além de controlar a eliminação dos produtos gerados pelo metabolismo através dos rins.

Quando as doenças afetam esse equilíbrio, acumulam-se no sangue a glicose, lipídeos, proteínas e/ou células inflamatórias que causarão disfunções e o mal funcionamento de vários órgãos. Existe um conjunto de anormalidades metabólicas que são estreitamente relacionadas entre si, podendo se observar, em uma única síndrome, elevação dos níveis sanguíneos de glicose (hiperglicemia), alterações dos níveis de lipídeos (dislipidemias), aumento da pressão arterial, deposição de gordura nas paredes das artérias (aterosclerose), doença renal crônica, ganho de peso corporal, infarto do miocárdio por doença coronariana entre outras disfunções.

Vamos detalhar os métodos de diagnóstico laboratorial para as três doenças metabólicas de maior incidência, que são: diabetes *mellitus*, dislipidemias e síndrome metabólica.

Diabetes mellitus (DM)

O DM consiste em distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente que é causado por uma deficiência na

produção de insulina pelo pâncreas ou na sua ação nos receptores teciduais, ou também por ambos os mecanismos.



Assimile

A classificação do diabetes pode ser feita de acordo com a sua etiologia em:

DM tipo 1A: há deficiência de insulina por destruição autoimune das células β pancreáticas, comprovada por exames laboratoriais de anticorpos circulantes. É mais comum em crianças, adolescentes e adultos jovens, geralmente sem sobrepeso ou obesidade.

DM tipo 1B: a deficiência de insulina é de natureza idiopática; anticorpos não são detectáveis; o diagnóstico apresenta limitações, podendo ser confundido com outras formas de DM.

DM tipo 2: tem a resistência à insulina como mecanismo preponderante, combinada com redução parcial na produção de insulina; corresponde a um total entre 90% e 95% de todos os casos de DM e é mais frequente em pessoas com mais de 40 anos. A etiologia é complexa e multifatorial, com componente genético e ambiental, tendo a obesidade como o maior fator de risco.

DM gestacional: é uma hiperglicemia em graus variados, diagnosticada durante a gestação, na ausência de histórico prévio de diabetes. Pode ser causada por hormônios diabetogênicos placentários e fatores predisponentes.

Exames para o diagnóstico do diabetes *mellitus*

Os critérios laboratoriais para o diagnóstico de DM ou de uma condição de risco para o seu desenvolvimento, chamado de pré-diabetes, são as concentrações de glicose no sangue acima dos valores de referência quando medidos em jejum ou 2 horas após a ingestão de sobrecarga de glicose (75 g de glicose dissolvido em água) no Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG). Também podem ser incluídos como critérios diagnósticos valor alto de glicemia casual se combinado com sintomas inequívocos de hiperglicemia e ainda, valores de hemoglobina glicosilada (HbA1C) acima de valores de referência. Os valores de referência adotados pela Sociedade Brasileira de Diabetes (2017) e que estão de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016) estão representados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 | Critérios para diagnóstico laboratorial de valores normais de glicemia, de pré-diabetes e de diabetes por dosagem de glicose ou de hemoglobina glicosilada (HbA1C) em amostra de sangue venoso. As concentrações de glicose estão em mg/dL

	Glicose em jejum	Glicose 2 horas após sobrecarga (75 g glicose v.o.)	Glicose casual (com sintomas inequívocos de hiperglicemia)	HbA1C (%)
Normal	< 100	< 140		< 5,7
Pré - diabetes	≥ 100 e < 126	≥ 140 e < 200		≥ 5,7 e < 6,5
Diabetes	≥ 126	≥ 200	≥ 200	≥ 6,5

Fonte: Sociedade Brasileira de Diabetes (2017).

Os sintomas clássicos de DM hiperglicêmica são poliúria (aumento do volume de urina), polidipsia (muita sede) e emagrecimento inexplicável, sendo que a cetonúria (corpos cetônicos na urina) pode estar presente ou não, mas algumas vezes é o primeiro sinal percebido. Esses sintomas são mais comuns no DM tipo 1 e podem demorar vários anos para aparecer após a detecção de anticorpos anti-ilhota (*islet cell antibody*, ICA), anti-insulina (*insulin autoantibody*, IAA) ou antidescarboxilase do ácido glutâmico (antiGAD65). No DM tipo 2 esses sintomas geralmente não ocorrem e a doença muitas vezes é assintomática durante 5 a 6 anos. Muitas pessoas têm glicose elevada no sangue e não sabem que têm, até fazerem um exame laboratorial.

A **dosagem da glicose** apresenta um desafio na fase pré-analítica: a amostra de sangue, coletado em tubo com anticoagulante EDTA ou heparina, não pode estar hemolisado e deve ser centrifugado, separando o plasma ou o soro, em até 2 horas após a coleta para evitar erro de dosagem ocasionado pelo consumo da glicose pelas hemácias. Uma opção é adicionar um inibidor da metabolização que é o fluoreto de sódio, mantendo a amostra estável por 3 a 4 horas. A dosagem da glicose é realizada mais frequentemente por método enzimático utilizando as enzimas hexoquinase ou glicose oxidase e a glicose-6-fosfato-desidrogenase. A leitura de absorbância é feita por espectrofotometria.

A **hemoglobina glicosilada** ou hemoglobina glicada (HbA1c) é a porção da hemoglobina (Hb, pigmento natural das hemácias) do tipo

A que tem a cadeia beta ligada à glicose, a qual está em equilíbrio com a glicose do sangue, sendo o melhor teste para determinar risco de dano aos nervos e pequenos vasos sanguíneos dos olhos e rins do diabético porque informa como o paciente controlou a sua glicemia nos últimos meses. A dosagem da hemoglobina glicosilada oferece vantagens porque sofre menor variabilidade durante o dia e independe do jejum para a sua determinação. O problema é que a sua dosagem deve ser feita por laboratório com certificação do NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) por método de cromatografia de troca iônica (HPLC, cromatografia líquida de alta eficiência).

Testes de Laboratório Remoto (à beira do leito em hospitais ou em clínicas) e testes por equipamentos automatizados podem utilizar diversas técnicas padronizadas para a tecnologia de fase sólida (enzimáticos, cinéticos, imunoensaio de inibição, cromatografia por afinidade, etc.), podendo determinar perfil bioquímico do sangue, glicemia e insulinemia, hemoglobina, HbA1c, colesterol, e alguns equipamentos fazem, no mesmo aparelho, bioquímica de urina, lipídeos e marcadores enzimáticos. Devido à importância de monitoração da glicemia em diabéticos, principalmente naqueles que fazem uso diário de insulina, existem diversos medidores de glicose para uso domiciliar. Há até mesmo equipamentos mais apropriados para automonitorização diária da glicemia capilar acoplados ou não à bomba de infusão de insulina e outros semelhantes ao *Holter* (aparelho que armazena dados de pressão arterial e eletrocardiograma para análise digital) e que armazenam medidas de glicemia por meio de um sensor colocado em baixo da pele e ativa um alarme em casos de hipoglicemia (sistema CGM = monitorização contínua de glicose).

Para a **avaliação da resistência à insulina** no diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2 é aceito o **teste oral de tolerância à glicose (TOTG)** com um protocolo diferenciado, sendo colhidas amostras de sangue para dosagem da glicemia nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após a ingestão da carga de glicose (dextrosol). É bastante utilizado também o cálculo do Índice HOMA IR (*Homeostasis Model Assessment of insulin Resistance*) para avaliação da resistência à insulina. Para isso são realizadas as dosagens de glicemia e de insulinemia (concentração de insulina no sangue) na mesma

amostra de sangue, após jejum de 8 a 12 horas, e aplica-se a fórmula: HOMA IR = glicemia (mmol/L ou mg/dL x 0,0555) multiplicado por insulinemia (μ U/ml) e dividido por 22,5. O valor de referência do HOMA IR é resultado menor do que 2,15, sendo maior a resistência quanto maior o valor encontrado.

O método padrão ouro para determinação da resistência à insulina é o **clamp euglicêmico hiperinsulinêmico**, mas existe limitação técnica para a sua aplicação porque ele necessita dois acessos venosos para infusão contínua de insulina e de glicose. Para o teste da **curva glicêmico-insulinêmica** são realizadas dosagens de insulina e glicose no sangue a cada 15 ou 30 minutos após a ingestão de glicose ou estímulo por fármacos (tolbutamida ou glucagon). A sensibilidade à insulina pode ser calculada por meio de aplicação de fórmula matemática (índice QUICKI – *Quantitative Insulin Check Index*).

Outras avaliações laboratoriais do DM: a cetoacidose diabética (por acúmulo de corpos cetônicos ao se utilizar lipídeos no lugar de glicose para obter energia) é avaliada por fita reagente especial que mede β hidroxibutirato em amostra de sangue; para avaliação da nefropatia diabética, dosa-se na urina de 24 horas a albuminúria e microalbuminúria (positivo quando ≥ 300 mg/24 horas) e a proteinúria (positivo quando ≥ 500 mg/24 horas), além do *clearance* de creatinina.



Refleta

O diabetes *mellitus* tem se mostrado como uma doença que vem crescendo nas últimas décadas em todos os países, independentemente do seu grau de desenvolvimento. Há a previsão de um aumento maior ainda até 2040, principalmente devido à rápida urbanização com reflexo negativo sobre os hábitos alimentares e o estilo de vida. O envelhecimento da população, os altos índices de obesidade e a maior sobrevida dos indivíduos com doenças crônicas tornarão as patologias que afetam o metabolismo, tais como o diabetes *mellitus*, as dislipidemias e a síndrome metabólica, uma das principais causas de mortalidade prematura. O diagnóstico precoce dessas doenças e o seu tratamento ou as medidas preventivas para evitar a sua progressão e minimizar seus danos no organismo tornam-se medidas urgentes que merecem a atenção de todos da área da saúde. Vale lembrar

que no diabetes *mellitus* crônico pode ocorrer cegueira por causa da retinopatia diabética, amputação de membros inferiores, como pés ou pernas, e até mesmo insuficiência renal crônica com necessidade de diálise ou transplante.

Dislipidemias

Dislipidemia é um distúrbio do metabolismo de lipídeos que está fortemente associado com a aterosclerose e doença coronariana crônica (obstrução das artérias coronárias que irrigam o miocárdio, músculo do coração). Os lipídeos que não são solúveis em água são transportados no plasma, na forma de macromoléculas denominadas lipoproteínas. As lipoproteínas são diferenciadas de acordo com a densidade, tamanho da partícula, composição química e mobilidade eletroforética em: HDL (lipoproteína de alta densidade ou *high density*), LDL (lipoproteína de baixa densidade ou *low density*) e VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa ou *very low density*). Tecnicamente, existem duas classes principais de lipoproteínas: as lipoproteínas que transportam triglicerídeos e colesterol para os tecidos (contendo predominantemente apoproteína B, quilomícron, VLDL, IDL – densidade intermediária – e LDL) e a lipoproteína HDL (partícula de maior densidade contendo apoproteína A, que é formada no fígado) que faz transporte reverso do colesterol, isto é, retira o excesso dos tecidos e retorna-os para o fígado, onde são transformados em sais biliares e excretados na bile, sendo por isso chamado de colesterol bom, enquanto o LDL, principal partícula formadora de placas arteroscleróticas é chamado de colesterol ruim.

Exames para diagnóstico de dislipidemias

Nos **exames de perfil lipídico** são empregados os seguintes testes de rotina: colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, LDL-colesterol, relação colesterol total/HDL, relação LDL/HDL, podendo ainda ser dosada a lipoproteína (a) (Lp(a)), que tem atividade pró-aterogênica e pró-trombótica (formação de trombos ou coágulos) e está associada com infarto cerebral (AVC – Acidente Vascular Cerebral) e infarto do miocárdio (infarto agudo do miocárdio). Em certos casos também se dosa a apolipoproteína B (Apo B), que atua

como determinante da união de LDL com receptores para formar a placa ateromatosa. Os valores de referência de perfil lipídico são estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, e estão representados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 | Valores de referência de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides no plasma

Colesterol total	< 200 mg/dL – recomendado	HDL-colesterol	> 60 mg/dL – alto
	220-239 mg/dL – limítrofe		< 40 mg/dL – baixo
	≥ 240 – alto		
LDL-colesterol	< 100 mg/dL – ótimo	Triglicérides	< 150 mg/dL – normal
	100-129 mg/dL – desejável		150-199 mg/dL – limítrofe
	130-159 mg/dL – limítrofe		200-499 mg/dL – alto
	160-189 mg/dL – alto		≥ 500 – muito alto
	≥ 190 – muito alto		

Fonte: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v101n4s1/v101n4s1.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2018.

Os valores de referência da tabela sofrem variações devido a diferenças de técnicas empregadas na dosagem, variabilidade relacionada à idade, ao gênero e ao país de origem.



Exemplificando

As doenças metabólicas que antes ocorriam com maior frequência em idosos (como diabetes e aterosclerose) ou em mulheres após 40 anos, como doença coronariana crônica e a resistência à insulina, na atualidade tem se manifestado cada vez mais precocemente. Por esse motivo, existem tabelas de perfil lipídico especial para crianças e adolescentes (faixa etária entre 2 e 19 anos) e com valores diferenciados para homens e mulheres. Estudos revelaram que uma das principais causas das dislipidemias, do risco cardíaco da síndrome metabólica

e do diabetes tipo 1 e tipo 2 é a predisposição genética, havendo também as formas secundárias dessas doenças que ocorrem como consequência de outras patologias, como o hipotireoidismo, doenças autoimunes, doenças hepáticas e até mesmo por causas ambientais, como o alcoolismo, desequilíbrio nutricional e o sedentarismo.

A coleta de sangue para triglicerídeos deve ser feita em jejum de 12 horas, em indivíduos com abstenção de álcool, mantendo dieta e atividade física habitual nas 2 semanas antes do exame. Atualmente os métodos mais empregados para dosagem de triglicerídeos, colesterol e HDL são os enzimáticos, sendo o LDL calculado pela fórmula de Friedewald: $LDL = CT - (HDL + TG/5)$, em que CT = colesterol total, TG = triglicerídeos e TG/5 corresponde ao colesterol ligado ao VLDL.

A fórmula somente pode ser aplicada quando a quantidade de triglicerídeos for menor do que 400 mg/dL, havendo método de dosagem do LDL com o uso de antissoro policlonal enzimático em partículas de látex. As relações entre LDL e HDL e colesterol total/HDL determinam o risco coronariano porque quanto maior o LDL e menor o HDL, maior é o risco de formação de placas de arteriosclerose. As dosagens de colesterol tornaram-se mais populares e acessíveis, havendo kits e medidores de colesterol semelhantes aos de glicose, mas, quando há necessidade de precisão nas dosagens, é necessário que se faça a dosagem laboratorial.

Síndrome metabólica, aterosclerose e infarto agudo do miocárdio

Síndrome metabólica é um conjunto de anormalidades metabólicas associadas que resultam em alto risco de arteriosclerose. Para o seu diagnóstico, a Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2016) estabeleceu os seguintes critérios:

1. Circunferência abdominal ≥ 90 cm (para homens) ou ≥ 80 cm (para mulheres).
2. No mínimo três dos seguintes parâmetros:
 - Triglicerídeos ≥ 150 mg/dL ou tratamento em curso.
 - HDL < 40 mg/dL (homens) ou < 50 mg/dL (mulheres).

- Pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg ou pressão arterial diastólica ≥ 85 mmHg.
- Glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes.

Segundo a diretriz da Abeso de 2016, o Índice de Massa Corporal (IMC, calculado dividindo-se o peso corporal pela altura ao quadrado), embora muito utilizado, não é um índice confiável. Propõe-se calcular o índice de obesidade pela circunferência abdominal, em que, com uma fita métrica, é medido o diâmetro da cintura no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca ou entre a cicatriz umbilical e a crista ilíaca superior.

Acredita-se que o diabetes *mellitus* tipo 2 seja algo que se destaca nessa síndrome, porém o fator desencadeante da resistência à insulina é um tipo específico de obesidade, com acúmulo de gordura visceral (na cintura). O *turnover* da gordura visceral é mais acelerado e está associado ao aumento da concentração de proteína que atrai monócitos, adipocinas pró-inflamatórias e ácidos graxos não esterificados (NEFA), que estimulam a gliconeogênese, resultando em hiperglicemia e hiperinsulinemia. Devido ao aumento da insulina plasmática, ocorre aumento de triglicerídeos no fígado e no músculo (no fígado isso promove a dislipidemia e no músculo causa a resistência à insulina). As citocinas e plasminogênio promovem o estado pró-trombótico com maior agregação plaquetária e ativação de fatores de coagulação. O aumento de fatores pró-inflamatórios (interleucina 6 e proteína C reativa, PCR), e de fator de necrose tumoral (TNF α) resultam na disfunção endotelial e, por último, a homocisteína (que também aumenta devido a hiperinsulinemia) ativa a cascata de coagulação e a produção de espécies reativas de oxigênio, que tem efeito citotóxico no endotélio vascular. O resultado final é hipertensão, arteriosclerose, obstrução das artérias do coração e infarto agudo do miocárdio. Essa combinação de fatores pode ser diagnosticada por exames laboratoriais, mas para efeito de rastreio epidemiológico a execução de todos esses exames é impraticável.



Pesquise mais

Leia mais sobre a complexa relação entre as dislipidemias, diabetes, hipertensão e aterosclerose nos materiais a seguir:

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 101, n. 4, supl. 1, p. 3-5, 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/d8a7jk>>; <<https://goo.gl/bpW38h>>. Acesso em: 23 ago. 2018.

Um bom vídeo de animação, o qual ajuda a compreender melhor os mecanismos do desenvolvimento da resistência à insulina no diabetes *mellitus* tipo 2, pode ser visto em:

ACADEMIADECENCIA. **Diabetes**. Disponível em: <<https://goo.gl/LpvJeo>>. acesso em: 23 ago. 2018.

Sem medo de errar

Depois dessa revisão sobre as doenças metabólicas, será possível ajudar André a solucionar o caso de Saulo, que tem 48 anos e sente dor precordial (típica de infarto cardíaco) quando faz grandes esforços físicos. Ele fuma, mas não consome álcool. Apresenta Índice de Massa Corporal acima de 30 Kg/m², que leva para o diagnóstico de obesidade, e procurou o médico porque está preocupado com o seu colesterol alto. No consultório a sua pressão arterial foi de 160/104 mmHg, com frequência cardíaca de 68 batimentos por minuto, portanto, ele é hipertenso. Foram solicitados exames de perfil lipídico e para pesquisa de diabetes *mellitus*, além de avaliação da função renal. Os resultados dos exames foram:

Colesterol total: 230 mg/dL (valor recomendado: menor do que 200 mg/dL)

LDL: 154 mg/dL (valor recomendado: menor do que 100 mg/dL)

HDL: 28 mg/dL (valor recomendado: maior do que 35 mg/dL)

Triglicérides: 300 mg/dL (valor desejável: menor do que 200 mg/dL)

Glicemia de jejum: 172 mg/dL (normal: 70-110 mg/dL)

Proteinúria 24 horas: 1,2 g/24 horas (normal: 0,03 a 0,15 g/24 horas)

Clearance de creatinina (índice de filtração glomerular): 40 ml/min/1,73 m² (valor de referência: 85 a 125 ml/min em homens, ou maior ou igual a 90 ml/min/1,73m²)

Outros resultados: ureia, creatinina e ácido úrico elevados no sangue.

Começando pelo perfil lipídico, Saulo apresenta um de alto risco para desenvolver aterosclerose e doença coronariana/infarto cardíaco: colesterol total e triglicérides elevados, com HDL baixo e LDL alto. Notamos que todos os parâmetros lipídicos estão dentro da faixa diagnóstica de síndrome metabólica. Porém, para fechar o diagnóstico falta encontrar indícios de diabetes tipo 2. Observamos também que a glicemia de jejum está muito elevada. Não foi informado a medida de circunferência abdominal, mas o IMC está alto. A obesidade, hipertensão, hiperglicemia e dislipidemia aterosclerótica associadas com a dor típica de infarto agudo do miocárdio que ele sente quando faz esforços físicos é suficiente para o diagnóstico de síndrome metabólica. A condição dos rins de Saulo está muito ruim, pois o *clearance* de creatinina está muito baixo, típico de insuficiência renal crônica fase III (entre 30 e 59 ml/min/1,73 m²) e ainda há sinais de acidose (ureia e ácido úrico elevados), além da proteinúria indicando que ele apresenta uma nefroesclerose diabética.

Vamos procurar imaginar como foram feitos esses exames.

Coleta: as dosagens do perfil lipídico e da glicemia de jejum devem ser feitas em sangue coletado após jejum de 12 horas e cuidados para manter dieta e atividade física habitual por 2 semanas e não ingerir álcool (exigência para dosagem de triglicérides). O sangue para glicemia deve ser coletado em tubo com fluoreto de sódio e o soro ou plasma, separados no período máximo de 3 a 4 horas. O sangue para lipídeos pode ser coletado com EDTA ou heparina, mas a posição do corpo do paciente no momento da coleta deve ser anotada (preferencialmente, sentado e depois de 5 minutos nessa posição). Um resultado anormal para lipídeos deve ser confirmado por nova dosagem depois de 8 a 15 dias existindo um índice máximo aceitável para valores divergentes.

Dosagens bioquímicas: as dosagens são geralmente por métodos enzimáticos, havendo a opção de dosar glicose, colesterol, triglicérides e HDL-colesterol em equipamentos automáticos que necessitam de pequeno volume de sangue coletado em tubos capilares por punção digital. Nos métodos enzimáticos de rotina a leitura é feita por espectrofotometria em comprimento de onda específico para cada material testado, utilizando-se os kits e os calibradores de

acordo com manual do laboratório. O LDL é calculado pela fórmula de Friedewald. Os métodos de ultracentrifugação, precipitação da apolipoproteína B com solução de poliânions, eletroforese em vários meios e procedimentos imunquímicos também podem ser utilizados por alguns laboratórios clínicos para dosagens de lipídeos.

Dosagens de ureia e de ácido úrico: pode-se dosar a ureia em soro e plasma heparinizado por método enzimático (que gera amônia, sendo a absorbância lida em espectrofotômetro) ou utiliza-se eletrodo íon seletivo, método que serve para dosar eletrólitos. Alguns cuidados a serem tomados para a dosagem do ácido úrico são: o sangue não deve conter EDTA ou fluoreto, e a presença de lipídeos pode gerar interferências.

O teste de função renal pode ser realizado em outro dia, sendo necessário uma amostra de sangue para dosar creatinina e coletar toda a urina eliminada em 24 horas (ou 12 horas, se recomendado pelo médico). Na amostra de urina 24 horas pode ser dosada a creatinina, a ureia e o ácido úrico (necessita adição de conservante). A proteinúria também deve ser quantificada em urina de 24 horas, dosando as proteínas totais por método colorimétrico.

Avançando na prática

Diabetes *mellitus* gestacional e pré-eclâmpsia

Descrição da situação-problema

Rosa é descendente de mãe negra, com história familiar de diabetes *mellitus* (DM), mas nunca teve diabetes. Ela está grávida de seu primeiro filho, tem 35 anos e está na 12ª semana de gestação. Notou que está engordando muito e ultimamente tem sentido muita sede e fome, além de estar eliminando muita urina, a qual tem uma cor amarela bem escura. A sua médica lhe explicou que ela tem risco elevado de desenvolver DM gestacional e que esse tipo de diabetes causa elevação na glicemia, podendo causar a polidipsia, polifagia e poliúria que ela está relatando e apresenta risco para ela e para o bebê. Assim, foi solicitado que Rosa fizesse exames laboratoriais de DM gestacional. Você saberia dizer quais são e como são realizados esses exames? Quais são os critérios

para diagnóstico de DM gestacional? Quais são as precauções com a mãe e o bebê durante a gestação, durante o parto e após o nascimento do bebê se o resultado der positivo?

Resolução da situação-problema

O DM gestacional se desenvolve durante a gestação, mais frequentemente entre a 24^a e 28^a semana, em mulheres que não eram diabéticas anteriormente, podendo desaparecer após o nascimento do bebê. No entanto, podem se desenvolver mais precocemente e geralmente levam ao desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 após a gestação, em mulheres com histórico familiar de DM tipo 2 ou de DM gestacional em gestações anteriores. Esse tipo de diabetes aumenta o risco de desenvolvimento de pré-eclâmpsia e hipertensão e oferece riscos para o bebê (nascimento prematuro, síndrome do desconforto respiratório, hipoglicemia grave logo após o nascimento e diabetes tipo 2 no futuro). Os fatores e grupos de risco para desenvolvimento do DM gestacional são: história familiar de diabetes, idade superior a 25 anos, tolerância à glicose diminuída e glicemia de jejum alterada, mas não suficientes para diagnóstico de diabetes, excesso de peso antes ou durante a gravidez, pessoas negras, hispânicas ou asiáticas.

O diagnóstico é feito pela glicemia de jejum, curva glicêmica ou Teste Oral de Tolerância a Glicose (TOTG) e análise de hemoglobina glicada. Segundo diretrizes da OMS, o ponto de corte para diagnóstico em mulheres, com fatores de risco positivos, devem ter critérios diferenciados:

- Glicemia de jejum (8 horas) acima de 85 mg/dL ou 90 mg/dL.
- TOTG (com 75 g de glicose anidra em 250-300 ml de água, ingerida em 5 minutos): glicemia 1 hora após ≥ 140 mg/dL.

Para a realização do teste de tolerância a glicose deve-se manter alimentação com menos do que 150 g de carboidratos/dia durante 3 dias antes do exame, manter atividade física normal e fazer jejum de 8 horas antes do exame. Para o TOTG em gestantes, deve-se coletar amostras de sangue nos tempos 0, 30 minutos, 1 e 2 horas após a ingestão de glicose. Quando os fatores de risco não estão presentes, mas existem sintomas clínicos de hiperglicemia nas gestantes, os valores de referência para diagnóstico de DM gestacional são:

- Glicemia de jejum ≥ 92 mg/dL.

- Glicemia no TOTG: 1 hora após ≥ 180 mg/dL; 2 horas após ≥ 153 mg/dL.

Precauções em caso de exame positivo para DM gestacional: acompanhamento da glicemia de 4 a 5 vezes ao dia durante a gestação, acompanhamento da glicemia durante o parto e medida da glicemia do bebê logo após o nascimento. Exames para diagnóstico de DM tipo 2 durante algumas semanas após o parto. Veja mais detalhes em:

SCHMIDT, M. I., REICHEL, A. J. Grupo de Trabalho em Diabetes e Gravidez. Consenso sobre Diabetes Gestacional e pré-gestacional. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 43, n. 1, p. 14-20, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v43n1/12048.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2018.

Faça valer a pena

1. Diabetes *mellitus* é uma patologia cuja incidência vem aumentando muito nas últimas décadas e tem merecido a atenção dos órgãos governamentais de âmbito nacional (como o Ministério da Saúde e Secretaria de Atenção à Saúde) e internacional (Organização Mundial da Saúde, OMS), interessados em promover a saúde da população e garantir a proteção e recuperação da saúde por meio de cuidados e atenção básica. Essa atenção é justificável por causa da gravidade das complicações associadas ao diabetes *mellitus*: doenças cardiovasculares, renais e neuropatias.

Avalie as afirmativas sobre diferentes características da etiologia, diagnóstico laboratorial e clínico do diabetes *mellitus*.

O diabetes *mellitus* tipo 1 é uma condição crônica causada por dois fatores: resistência à insulina e diminuição na produção de insulina pelas células beta do pâncreas.

O diabetes *mellitus* tipo 2 tem como traço mais marcante a ocorrência em adultos acima de 40 anos com longa história de excesso de peso e a resistência à insulina.

Os exames laboratoriais para diagnóstico do diabetes *mellitus* são baseados na dosagem de glicemia de jejum, teste de tolerância à glicose após ingestão de 75 g de glicose e, eventualmente, dosagem da concentração de hemoglobina glicada (HbA1c) no sangue.

Os sintomas clássicos de hiperglicemia, que é o sinal principal de desenvolvimento de diabetes *mellitus*, são polidipsia, polifagia e poliúria.

Assinale a alternativa que contém todas as afirmativas corretas:

- a) Apenas as afirmativas I, II e III estão corretas.
- b) Apenas as afirmativas I e II estão corretas.
- c) Apenas as afirmativas III e IV estão corretas.
- d) Apenas as afirmativas II, III e IV estão corretas.
- e) Apenas as afirmativas I e IV estão corretas.

2. A aterosclerose é uma doença crônica, caracterizada pela deposição de placas de gordura na parede interna das artérias, que pode causar manifestações clínicas tardias. Essas manifestações incluem o infarto agudo do miocárdio por obstrução das artérias coronárias e acidente vascular cerebral. Tais patologias estão associadas a altas taxas de morbidade e mortalidade e podem ser consequência de hábitos alimentares com altas taxas de carboidratos e gorduras, sedentarismo, estresse e o hábito de fumar. Analise as afirmativas a seguir sobre os exames laboratoriais e as diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia e Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Sociedade Brasileira de Análises Clínicas relativas ao diagnóstico de dislipidemias e risco de aterosclerose:

- I. O principal exame laboratorial que auxilia no diagnóstico do risco de aterosclerose é a determinação bioquímica do perfil lipídico.
- II. Em um exame de rotina de perfil lipídico são determinados os níveis plasmáticos de colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol e LDL-colesterol.
- III. O diagnóstico de dislipidemia com risco aterosclerótico é feito quando os níveis de triglicerídeos, colesterol total e de LDL (calculado pela fórmula de Friedewald) estão acima dos níveis de referência considerados altos, enquanto o nível de HDL está baixo.
- IV. Qualquer tipo de dislipidemia (hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, dislipidemia mista) que esteja associada com diabetes *mellitus* tipo 1 ou tipo 2 será classificada como síndrome metabólica e representa uma condição com risco de infarto agudo do miocárdio.

Assinale a alternativa correta:

- a) Somente as afirmativas I e II estão corretas.
- b) Somente as afirmativas I, II e III estão corretas.
- c) Somente as afirmativas II e IV estão corretas.
- d) Somente as afirmativas II e III estão corretas.
- e) As afirmativas I, II, III e IV estão corretas.

3. As doenças metabólicas mais prevalentes são o diabetes *mellitus* tipo 2 e as dislipidemias. Quando elas estão associadas com a obesidade visceral (acúmulo de gordura na região da cintura) e hipertensão arterial, representam um risco elevado de doenças coronarianas crônicas ou infarto agudo do miocárdio, caracterizando a síndrome metabólica de etiologia complexa e multifatorial.

Com relação aos fatores não genéticos que participam da etiologia das principais doenças metabólicas, como o diabetes *mellitus*, as dislipidemias, a aterosclerose e a síndrome metabólica, está correto afirmar-se que:

a) Em países desenvolvidos, há consumo exagerado de alimentos ricos em gorduras, colesterol, carboidratos e açúcares, com altos índices de obesidade na população infantil, de adolescentes e adultos, contribuindo para a prevalência de dislipidemias, diabetes e aterosclerose. Já nos países em desenvolvimento, onde a desnutrição é mais prevalente, a principal causa dessas doenças são os fatores genéticos familiares.

b) O sedentarismo favorece o desenvolvimento de excesso de peso, exercendo papel importante no desenvolvimento secundário de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, resistência à insulina e diabetes *mellitus* tipo 2. Dessa forma, o exercício físico associado à dieta adequada (iniciados o mais precocemente possível) pode reverter esses fatores de risco, impedindo a progressão dessas doenças.

c) O tratamento mais eficaz para as doenças metabólicas na fase crônica, que ocorre em adultos acima de 40 anos, do sexo feminino e com IMC (Índice de Massa Corporal) bastante elevada, é o tratamento cirúrgico (cirurgia bariátrica) porque logo depois da cirurgia a pessoa emagrece e, emagrecendo, a resistência à insulina fica normalizada.

d) Os fatores não genéticos, como hábitos alimentares, sedentarismo, outras doenças, como o hipotireoidismo, e o uso de medicamentos como os anticoncepcionais, podem favorecer o aparecimento de dislipidemias, mas não têm participação no desenvolvimento de diabetes *mellitus*.

e) A aterosclerose somente se desenvolve nas pessoas que têm hipertensão arterial maligna, não tendo nenhuma associação com fatores nutricionais, tabagismo ou sedentarismo.

Seção 3.3

Bilirrubina, ensaios enzimáticos e marcadores tumorais

Diálogo aberto

Caro aluno, para completar o assunto sobre interpretação de exames laboratoriais da bioquímica clínica para o diagnóstico de condições patológicas, não poderíamos deixar de abordar as áreas que mais têm se expandido nos últimos tempos: a enzimologia clínica, a dos marcadores bioquímicos de doenças hepáticas e biliares e a dos marcadores tumorais.

Estas são áreas do diagnóstico clínico laboratorial que podem detectar diversas patologias, muitas vezes em seu estágio inicial, trazendo esperança para milhares de pessoas que sofrem de doenças hepáticas, biliares, do pâncreas, da próstata, infarto do miocárdio e que desenvolveram neoplasias de mama, ovário, próstata, tireoide, fígado e medula óssea. E lembrem-se também que, com a expansão dos conhecimentos nestas áreas e o desenvolvimento de novas tecnologias, muitas outras patologias e neoplasias poderão ser diagnosticadas por exames laboratoriais. Ao mesmo tempo que revisamos o assunto, vamos nos preparar para aplicar os conhecimentos adquiridos na busca de resposta para mais um desafio que André deve superar: aprender a analisar os exames realizados em um paciente com a finalidade de elaborar um laudo laboratorial de boa qualidade.

Vamos ver a descrição do caso: trata-se dos exames laboratoriais de HCA, homem de 60 anos, cirrótico por uso abusivo de álcool, porém abstinente há 3 anos, que foi internado com ascite volumosa, icterícia, anorexia e hematêmese (vômito com sangue). A pressão arterial estava em 90/60 mmHg, frequência cardíaca de 120 batimentos por minuto e saturação de oxigênio de 89%. Apresentava-se agitado e confuso, com edema importante e diminuição na produção de urina (oligúria). Foram solicitados exames para avaliação de disfunção renal, do hemograma e de doença hepática, sendo obtidos os seguintes resultados:

Sódio (Na) = 154 mEq/L (referência: 135 a 148 mEq/L)

Potássio (K) = normal

Creatinina = 2,3 mg/dL (referência: 0,7 a 1,3 mg/dL)

Ureia = 130 mg/dL (referência: 10 a 50 mg/dL)

Albumina = 2,5 g/dL (referência: 3,5 a 5,0 g/dL)

Hemoglobina = 8,0 g/dL (referência: 12,8 a 16,3 g/dL)

Hematócrito = 25% (referência: 40 a 50 %)

Bilirrubina total = 2,2 mg/dL (referência 0,2 a 1,2 mg/dL)

Bilirrubina direta elevada e Bilirrubina indireta normal

AST (aspartato aminotransferase) ou TGO (transaminase glutâmico oxalacética) = 80 U/L (valor desejável: até 37 U/L para homens)

ALT (alanina aminotransferase) ou TGP (transaminase glutâmico pirúvica) = 150 U/L (valor desejável: até 41 U/L para homens)

Com base nos resultados dos exames deveremos avaliar a condição clínica de HCA e dizer quais métodos laboratoriais podem ser utilizados para essas determinações

Não pode faltar

O fígado e a bilirrubina

Você se lembra que o fígado é um órgão abdominal grande (o maior do corpo, pesando mais que 1,5 Kg no adulto normal), vermelho escuro (contendo muito sangue e sendo local de renovação de glóbulos vermelhos), que recebe o sangue da artéria hepática e da veia porta e possui centenas de enzimas para metabolizar os nutrientes absorvidos no intestino, os hormônios e fármacos para sua eliminação na urina, o álcool e as hemácias velhas, além de ser o local de produção das proteínas e dos fatores de coagulação do sangue, de vitamina D e colesterol? O fígado é o local onde fica o reservatório de glicose (na forma de glicogênio), de vitaminas e de ferro. Executando a função de separar o que é bom e deve ser armazenado do que deve ser eliminado do organismo (processo de detoxificação), o fígado é uma verdadeira usina em pleno funcionamento e, quando ele está gravemente prejudicado, é necessário fazer um transplante de fígado para evitar o óbito.

Outro conceito antigo e bem conhecido é que o fígado tem capacidade regenerativa o que resulta em um benefício – ele precisa estar quase 90% lesado para emitir sinal de dano – e uma desvantagem – um câncer de fígado tem evolução rápida e mata em pouquíssimo tempo.

A **bilirrubina** é derivada da hemoglobina das hemácias velhas destruídas pelo baço, fígado e medula óssea, num processo de renovação de hemácias e reaproveitamento do ferro. A **bilirrubina não conjugada (indireta)** liga-se à albumina no sangue e, no fígado, é conjugada para se tornar hidrossolúvel e é liberada junto com a bile no intestino. Bactérias da flora intestinal a transformam em urobilinogênio que é excretado junto com as fezes, conferindo-lhes a cor marrom. Uma parte é reabsorvida para ser excretada na urina.

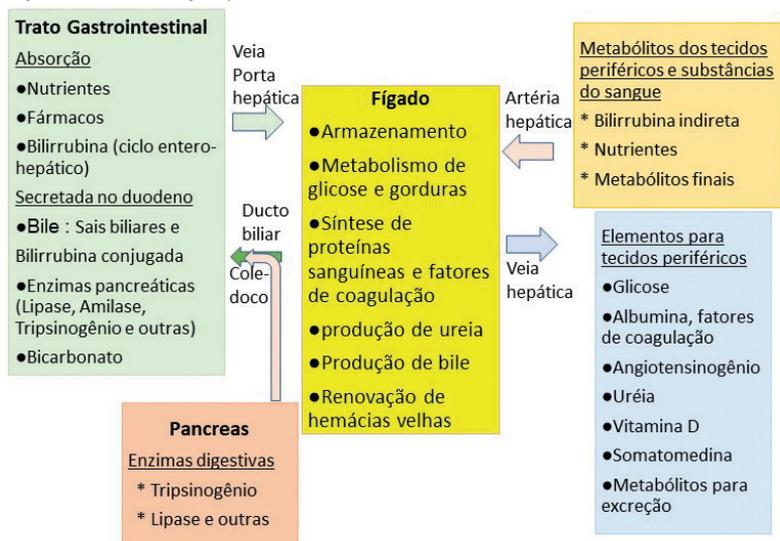


Exemplificando

Quando a concentração plasmática de bilirrubina ultrapassa 1,5 mg/dL devido a patologias hepatobiliares, como na hepatite infecciosa ou alcoólica, na **colestase** que é a obstrução do fluxo de bile, as fezes ficam esbranquiçadas (sem bilirrubina e urobilinogênio) e a urina escura (muito urobilinogênio) enquanto o acúmulo de bilirrubina no sangue causa a icterícia (pele e esclerótica do olho amarelados). Esses costumam ser os primeiros sinais de doença hepática com colestase. Com a progressão da doença, o fígado inflama (**hepatite**) e aumenta de tamanho (hepatomegalia) podendo haver extravasamento de líquido para a cavidade peritoneal (ascite) devido à congestão vascular no fígado. Depois, as células hepáticas vão morrendo e sendo substituídas por tecido fibroso (**fibrose hepática**), estágio este irreversível. Esses conceitos são muito importantes para o diagnóstico e prognóstico das doenças hepáticas.

Lembre-se ainda de que, como a bile é secretada no duodeno pelo canal do colédoco, o qual é comum ao ducto biliar da vesícula biliar e ducto pancreático por onde as enzimas pancreáticas amilase, lipase e tripsinogênio são secretadas, doenças do pâncreas podem causar destruição enzimática das células do canal biliar (colestase extra-hepática) e a obstrução do canal biliar por litíase biliar pode causar pancreatite. Para fixar esses conceitos sobre a função hepática e visualizar essa inter-relação entre o fígado e o pâncreas veja o esquema da Figura 3.1.

Figura 3.1 | Resumo esquemático sobre a função hepática, dos elementos que chegam ao fígado através da artéria hepática e da veia porta hepática, dos elementos que deixam o fígado através da veia hepática e da excreção hepática de bile e sua relação com a secreção pancreática.



Fonte: elaborada pelo autor.

Métodos de dosagem de bilirrubina

No laboratório, dosa-se no soro (obtido em jejum de 8 horas e mantido no escuro e refrigerado) a **bilirrubina total** que é fracionada em bilirrubina não conjugada ou indireta e bilirrubina direta ou conjugada (mono e diglicuronídeo e bilirrubina delta). Os métodos utilizados para determinação da bilirrubina direta (hidrossolúvel e desenvolve cor em solução aquosa) e da bilirrubina indireta, que é insolúvel em água e desenvolve cor com o álcool (método de Van den Bergh) ou metanol 50% (método de Malloy-Evelyn), são **métodos colorimétricos** com uso do reagente diazo. O uso de cafeína-benzoato-acetato (método de Jendrassik-Grof) para acelerar a reação diazo é também bastante utilizado. Outros métodos são a **técnica de espectrofotometria** que é usada para avaliação da icterícia do recém-nascido e a **cromatografia líquida de alta performance (HPLC)** que pode quantificar as várias frações de bilirrubina, incluindo a bilirrubina delta que é uma bilirrubina conjugada irreversivelmente com a albumina. Os **métodos enzimáticos** são mais modernos e utilizam reação com a enzima bilirrubina

oxidase apresentando a vantagem de ser possível utilizá-los em técnicas de automação (tecnologia de base sólida ou técnica de química seca) e nas tiras reagentes.



Os valores de referência para a bilirrubina indireta no recém-nascido são elevados devido à habilidade limitada de conjugação da bilirrubina pelo fígado imaturo e nos prematuros os valores são ainda mais elevados. A bilirrubina pode ser tóxica para o sistema nervoso central merecendo cuidados para a identificação de possível origem patológica de hiperbilirrubinemia principalmente nos neonatos.

Valores normais para bebês recém-nascidos:

Bilirrubina Total sérica = 4 a 8 mg/dL, em média, retornando espontaneamente ao normal em 7-10 dias (hiperbilirrubinemia fisiológica).

Valores elevados: >12,9 mg/dL (ou >15 mg/dL em prematuros) ou bilirrubina direta maior do que 1,5 mg/dL.

Valores normais em adultos:

Bilirrubina total no soro – 0,1 a 1,2 mg/dL (2 a 21 μ mol/L)

Bilirrubina direta – 0 a 0,3 mg/dL (0 a 6 μ mol/L)

Referência: MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório:** princípios e interpretações. 5. ed., Rio de Janeiro: Medbook, 2009. Laboratório Central. Parte – Sistema hepatobiliar. Disponível em: <<http://www.laboratoriocentral.com.br/livro-bioquimica-clinica-principios-e-interpretacoes/>>. Acesso em: 23 maio 2018.

Ensaio enzimáticos na clínica laboratorial

Vamos lembrar o que são enzimas e para que elas servem? As enzimas são proteínas muito abundantes nas células sendo todas produzidas intracelularmente. Algumas enzimas são denominadas de **enzimas plasmáticas secretadas**, como exemplo, as amilases, lipases, tripsinogênio e fosfatase ácida prostática. Outras são **enzimas plasma-específicas** que se encontram ativas no plasma e são utilizadas para coagulação sanguínea e fibrinólise (trombina, plasmina e os fatores de coagulação). A terceira categoria de

enzimas é a das **enzimas celulares** que podem estar localizadas no citoplasma ou ligadas a estruturas das membranas: celular, do núcleo, das mitocôndrias, do aparelho de Golgi, de microsossomos, etc. Essa categoria de enzimas normalmente apresenta baixos teores séricos sendo que o seu aumento no plasma indica lesão celular. Podemos citar como exemplos as **transaminases** ou **aminotransferases** do fígado, músculos (esquelético e cardíaco), rins e eritrócitos, a **lactato desidrogenase**, muito rica também nesses mesmos órgãos, a **creatina quinase** enzima presente em grande quantidade no cérebro, músculo cardíaco e músculo esquelético, a **gama-glutamil transferase** presente no fígado, rins, pâncreas e próstata.

A grande maioria das enzimas está presente em vários órgãos e, portanto, falta especificidade diagnóstica na medida das enzimas plasmáticas. Essa falta de especificidade pode, em parte, ser superada pela dosagem de várias enzimas em conjunto com outros parâmetros que podem estar alterados numa determinada doença. Por exemplo, as concentrações de aspartato aminotransferase (AST) que também é conhecida por transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e de alanina aminotransferase (ALT) conhecida também como transaminase glutâmico pirúvica (TGP) são quase equivalentes no fígado, mas no músculo cardíaco a concentração de ALT/TGP é vinte vezes maior do que AST/TGO. A determinação simultânea das duas enzimas pode indicar a origem do tecido lesado, mas a especificidade do perfil hepático aumenta ainda mais com a dosagem conjunta de fosfatase alcalina (que está presente nos ductos biliares), gama glutamiltransferase (o fígado é a principal fonte da enzima presente no plasma) e lactato desidrogenase isoformas LD-4 e LD-5 (do fígado e músculo esquelético). Para o perfil cardíaco, além da AST/TGO, dosa-se a creatina quinase isoforma cardíaca (CK-MB), podendo-se dosar a lactato desidrogenase isoformas LD1 e LD2 (do miocárdio e eritrócitos).

As principais enzimas de uso clínico, a sua distribuição no organismo ou fonte principal e as principais aplicações clínicas de cada uma delas estão representadas na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 | Principais enzimas de uso clínico, as fontes principais de sua produção e as suas aplicações no diagnóstico clínico

Enzima	Fonte principal	Principais aplicações clínicas
Amilase	pâncreas, glândula salivar, ovários	pancreatites agudas, obstrução de vias biliares extra-hepática
Aminotransferases (Transaminases)	fígado, músculo esquelético, coração, rim, eritrócitos	lesões do parênquima hepático, infarto agudo do miocárdio
Antígeno prostático específico	próstata	carcinoma da próstata
Creatina quinase (CK)	músculo esquelético, coração, cérebro	infarto agudo do miocárdio, doenças musculares (por exemplo, rabdomiólise)
Fosfatase acida	próstata, eritrócito	carcinoma da próstata
Fosfatase alcalina	fígado, osso, placenta, rim	doenças ósseas (sarcoma osteogênico, doença de Paget), amiloidose hepática, obstrução biliar extra-hepática
Gama glutamiltransferase	fígado, rim	Cirrose hepática, fígado gorduroso alcoólico (esteatose hepática)
Lactato desidrogenase	coração, fígado, músculo esquelético, eritrócitos, plaquetas	infarto agudo do miocárdio, hemólise, doença do parênquima hepático
Lipase	pâncreas	Pancreatite aguda (aumenta) e crônica (diminui)

Fonte: <<http://www.laboratoriocentral.com.br/livro-bioquimica-clinica-principios-e-interpretacoes/>>. Acesso em: 29 maio 2018.

Enzimas de diagnóstico e métodos de determinação laboratorial

Aminotransferases

Outra característica importante das aminotransferases é que a ALT/TGP é uma enzima que está no citoplasma enquanto a AST/TGO encontra-se na mitocôndria, portanto quanto mais elevada a relação AST/ALT mais grave é a lesão. Na prática clínica, aumento (de 10 a 100 vezes o valor de referência) de ALT/TGP é utilizado para o diagnóstico de hepatites agudas viróticas ou tóxicas e aumento de AST/TGO é utilizado para o diagnóstico de hepatite crônica, cirrose e tumores hepáticos. O método de determinação mais utilizado atualmente é o de monitoração contínua (mudança na absorbância, a 340 nm, pela transformação do NADH em NAD⁺) que pode ser utilizado em tecnologia de química seca (DT Vitros).



Refleta

Testes de disfunção hepática: os testes bioquímicos de disfunção hepática podem detectar lesões do parênquima hepático antes do aparecimento de sintomas, podem ainda determinar o tipo e o local da lesão, facilitar o acompanhamento do paciente com hepatopatias e ser subdividido em Testes bioquímicos de rotina e Testes bioquímicos especiais (dosagem de alfa-fetoproteína, 5'-nucleotidase, amônia, ceruloplasmina, ferro e ferritina sérica, leucina aminopeptidase).

Os testes bioquímicos de rotina são:

- Marcadores de função hepática: proteínas totais, albumina e bilirrubina.
- Marcadores de obstrução (colestase): fosfatase alcalina e gama-glutamilttransferase (gama-GT).
- Marcadores de dano celular: alanina aminotransferase (ALT/TGP) e aspartato aminotransferase (AST/TGO) e relação AST/ALT.

Outros testes e marcadores que também podem ser utilizados são: testes imunológicos para as hepatites por vírus ou do tipo autoimune, testes hematológicos e testes de biologia molecular. O assunto pode ser encontrado em: McPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21. ed., Barueri SP: Manole, 2012. Cap. 21 – Avaliação da função hepática. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/334>. Acesso em 28/05/2018>. Acesso em: 24 ago. 2018.

Gama-glutamyltransferase

É uma enzima envolvida no transporte de aminoácidos e proteínas através das membranas celulares. É útil para diferenciar desordens hepáticas do trato biliar, estando muito aumentada nas colestases intra-hepática (como a da cirrose) e extra-hepática. O método colorimétrico de monitoração contínua ou de ponto final (pela formação de p-nitroanilida cromogênico) são os mais utilizados para sua determinação.-

Lactato desidrogenase

A determinação de lactato desidrogenase no soro pode ser feita por método colorimétrico pela interconversão lactato/piruvato ou ensaios de monitoração contínua (metodologia cinética no ultravioleta). As isoenzimas são determinadas por eletroforese em acetato de celulose ou em agarose existindo imunoensaio para a isoforma cardíaca LD1.

Creatina Quinase (CK) ou Creatina Fosfoquinase (CPK)

A CK possui isoenzimas compostas por duas subunidades: B (*brain*, cérebro) e M (músculo). As isoformas são BB (cerebral), MM (músculo esquelético) que se eleva 20 a 200 vezes na distrofia muscular progressiva (tipo Duchene) e MB (miocárdica) que está elevada no infarto agudo do miocárdio. O método de dosagem (Oliver-Rosalki) é a reação reversa para quantificar a velocidade de formação do NAD⁺ em 340 nm. Para separação das isoformas existem vários métodos imunológicos: com anticorpo anti-CK MM inibe-se a isoforma muscular (que é a forma predominante no soro) e o CK restante é a CK-MB. Essa reação é a empregada na tecnologia de química seca. A maioria dos protocolos para infarto agudo do miocárdio determina a CK total, a CK-MB e outros biomarcadores cardíacos como a Troponina e proteína C reativa ultrasensível.

Fosfatase ácida

A fosfatase ácida em homens é proveniente da próstata (50% do total) e da desintegração de eritrócitos e plaquetas. Nas mulheres, é proveniente do fígado, eritrócitos e plaquetas. É usado para o diagnóstico de câncer de próstata (principalmente por metástases e de estágio D). A dosagem da Fração Prostática da Fosfatase Ácida (FACP) é feita em soro ou plasma com heparina ou citrato e acidificado para preservar sua atividade. Pode ser dosado por um

método auto-indicador (Roy) de timolftaleína monofosfato, mas o método mais utilizado na automação é a enzima imunoensaio que usa um anticorpo monoclonal ligado a um suporte sólido e um segundo anticorpo conjugado que liga na FACP. Outros métodos são o radioimunoensaio e cinética fluorimétrica.

Marcadores tumorais

Você saberia citar algum marcador tumoral? Como e onde é possível se dosar esse marcador? De que forma esse exame pode ser usado para triagem de processos cancerígenos, para acompanhamento de sua evolução ou da eficácia do tratamento (retardamento da progressão ou ausência de metástases)?

Esse assunto é de grande interesse na atualidade porque o câncer continua sendo uma das principais causas de morte nos seres humanos. Como resultado de muitas pesquisas nessa área, alguns marcadores tumorais podem ser usados, com relativa confiança, para detecção de tumores na sua fase inicial aumentando a chance de seu controle (mas não de cura, infelizmente). Podemos citar como exemplos os antígenos oncofetais CEA (antígeno carcinoembrionário) e o PSA (antígeno prostático específico), que normalmente são expressos apenas durante o desenvolvimento fetal e, por mecanismos de ativação e superexpressão aumentam a sua concentração no plasma/soro quando as células do câncer começam a crescer e se dividir sem controle. O que torna essas células tão mortais é que elas têm a capacidade de se desprender e criar novos tumores em outros locais (processo chamado metástase): hoje se sabe que a maioria das pessoas com câncer não morrem por causa do câncer primário, mas sim por causa das metástases.

Os **marcadores tumorais sorológicos** são substâncias que podem ser dosadas no sangue (plasma ou soro) através de métodos laboratoriais padronizados e cuja concentração elevada indica um processo neoplásico. Eles podem ser de diferentes tipos. Vamos citar os principais biomarcadores e o tipo de câncer que pode ser diagnosticado por sua dosagem no soro:

- 1. Proteínas plasmáticas e hormônios:** CA 15-3 (câncer de mama), CA 72-4 (carcinoma gástrico), CA 19-9 (carcinoma pancreático e de vias biliares), CA 125 (carcinoma de ovário), proteína C-reativa ou PCR (melanoma), proteína de Bence-Jones (mieloma múltiplo), beta2microglobulina

(neoplasias de células linfoides B), isoforma placentária da fosfatase alcalina (osteossarcoma), gonadotrofina coriônica humana ou β -HCG (câncer de testículo, tumores placentários e tumores hipofisários), gastrina (gastrinoma), glucagon (glucagonoma), insulina (insulinoma), calcitonina (carcinoma medular da tireoide), prolactina (microadenoma hipofisário), tireoglobulina (câncer da tireoide), hormônio paratireoideano ou PTH (tumores da paratireoide), polipeptídeo pancreático (tumor pancreático endócrino), cortisol (tumores hipofisários-adrenais), hormônio do crescimento ou IGF-I (tumores hipofisários).

- 2. Antígenos oncofetais** que são proteínas que se expressam no tecido fetal durante o desenvolvimento embrionário: antígeno carcinoembrionário ou CEA (câncer colorretal), antígeno prostático específico ou PSA (câncer de próstata), Alfa-feto proteína ou AFP (carcinoma hepatocelular).
- 3. Oncoproteínas** que são proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular (receptor de fator de crescimento, fator de transcrição, fator de adesão) e sofrem superexpressão ou mutação: HER2/Neu (câncer de mama, ovário e gástrico), EGFR/HER1 (câncer de pulmão e mama, glioblastoma), entre outros.
- 4. Oncogenes:** são genes ligados a processos tumorais. Em alguns tumores humanos, alguns genes supressores de tumor (antioncogenes) se encontram inativados. Podemos citar como exemplos, a mutação dos genes BRCA1 e BRCA2 associados ao câncer de mama e de ovário, a deleção de APC (gene da adenomatose polipose) e mutação de hMSH2 e hMLH1 (genes de reparo mutS humano tipo 2 e mutL humano tipo 1) que estão associados com câncer de colo uterino; mutação de NF1 e NF2 (proteína supressora neurofibromina tipo 1 e 2) causa a neurofibromatose.

As proteínas que têm sensibilidade suficiente para uso no diagnóstico de câncer são poucas, destacando-se o antígeno prostático específico para o câncer de próstata, a alfa-fetoproteína para carcinoma hepatocelular e os oncogenes cuja sensibilidade é mais elevada do que as proteínas do soro utilizadas no passado. Atualmente os marcadores séricos são usados para a triagem e o

diagnóstico, bem como para a predição do prognóstico e da resposta terapêutica. O uso para triagem é mais adequado quando aplicado nas populações de risco da doença. Outra abordagem satisfatória é o uso de múltiplos marcadores havendo as recomendações para jamais confiar no resultado de um único teste, preferindo-se o teste seriado, ou seja, realizar outro teste 2 semanas depois (a concentração do marcador aumenta nos malignos e diminui nos benignos).

O CEA (antígeno carcinoembrionário) é considerado elevado quando sua concentração no soro ultrapassa 5,0 nanogramas/mL em não fumantes ou 10,0 nanogramas/mL em fumantes, podendo indicar carcinoma de cólon, tumor de ovário ou presença de metástases. Esse marcador não é específico e sua especificidade aumenta quando usado em combinação com outros. Por exemplo, CEA + CA 15.3 (câncer de mama), CEA + CA 125 (carcinoma de ovário), etc.

Os marcadores tumorais sorológicos são quantificados por diferentes métodos. Um dos ensaios aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para quantificação de biomarcadores tumorais sorológicos é o ELISA (*Enzyme Linked Immunosobent Assay*) que é um teste imunoenzimático feito em microplacas de titulação e com instrumentos automatizados. Outras técnicas são o imunoenensaio com uso de dois anticorpos para dosar antígenos oncofetais, técnica padronizada de reação em cadeia de polimerase (PCR), PCR via transcriptase reversa (RT-PCR) para proteínas com mutação, proteômica (combinação de espectrofotometria de massa com chip de proteína que envolve ionização a laser, SELDI – *surface-enhanced laser desorption ionization*) e tecnologia genômica para detecção de genes com mutação.



Pesquise mais

Os marcadores tumorais vêm sendo assunto de diversas pesquisas e, a todo momento, surgem novos marcadores e novas tecnologias para sua detecção. Pesquise sobre esse assunto em: McPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21. ed., Barueri SP: Manole, 2012. Cap. 74. Diagnóstico e tratamento de câncer com o uso de marcadores tumorais serológicos. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1560>>. Acesso em: 28 maio 2018.

Sem medo de errar

Estamos prontos para solucionar o caso de HCA, homem de 60 anos, **cirrótico por uso abusivo de álcool**, porém abstinente há 3 anos, que foi internado com **ascite volumosa, icterícia, anorexia e hematêmese** (vômito com sangue). A **pressão arterial estava em 90/60 mmHg**, frequência cardíaca de 120 batimentos por minuto e saturação de oxigênio de 89%. Apresentava-se **agitado e confuso**, com **edema importante** e diminuição na produção de urina (**oligúria**). Foram solicitados exames para avaliação de disfunção renal, do hemograma e de doença hepática, sendo obtidos os seguintes resultados:

Sódio (Na) = 154 mEq/L (referência: 135 a 148 mEq/L)

Potássio (K) normal

Creatinina = 2,3 mg/dL (referência: 0,7 a 1,3 mg/dL)

Ureia = 130 mg/dL (referência: 10 a 50 mg/dL)

Albumina = 2,5 g/dL (referência: 3,5 a 5,0 g/dL)

Hemoglobina = 8,0 g/dL (referência: 12,8 a 16,3 g/dL)

Hematócrito = 25% (referência: 40 a 50 %)

Bilirrubina total = 2,2 mg/dL (referência 0,2 a 1,2 mg/dL)

Bilirrubina direta elevada e Bilirrubina indireta normal

AST (aspartato aminotransferase) ou TGO (transaminase glutâmico oxalacética) = 80 U/L (valor desejável: até 37 U/L para homens)

ALT (alanina aminotransferase) ou TGP (transaminase glutâmico pirúvica) = 150 U/L (valor desejável: até 41 U/L para homens)

Primeiro vamos voltar para o início do assunto (veja o que foi visto em o fígado e as bilirrubinas) e entender a cirrose alcoólica. Como o fígado tem a função de armazenamento de nutrientes, o consumo exagerado de álcool faz com que o fígado transforme o excesso de etanol em gorduras e, quanto mais os adipócitos aumentam de tamanho, as células hepáticas ficam espremidas, o parênquima hepático vai inflamando (hepatite) e o fígado aumenta de tamanho (hepatomegalia). Ocorre compressão dos vasos sanguíneos do fígado e a pressão sanguínea no interior do fígado aumenta muito podendo haver extravasamento de líquido para a cavidade peritoneal (**ascite**). Os ductos biliares intra-

hepáticos também ficam obstruídos e a **bile se acumula** no meio dos hepatócitos e faz com que a bilirrubina, que está continuamente sendo formada pela destruição/renovação das hemácias velhas, se acumule no sangue (veja que há **aumento da bilirrubina total** nos exames do paciente e que esse aumento é devido à bilirrubina direta ou conjugada, indicativo de **colestase intra-hepática**). Quando a concentração plasmática de bilirrubina ultrapassa 1,5 mg/dL, as fezes ficam esbranquiçadas (sem urobilinogênio) e a urina escura (muita bilirrubina) e o acúmulo de bilirrubina no sangue causa a **icterícia** (pele e esclerótica do olho apresentam amarelados). Esses costumam ser os primeiros sinais de doença hepática com colestase. A congestão do sangue no sistema porta causa formação de varizes no esôfago que sangram, por isso há a **hematêmese** (vômitos com sangue) e a perda de sangue causa a **pressão arterial baixa**. Com a progressão da doença, as células hepáticas vão morrendo e sendo substituídas por tecido fibroso (fibrose hepática) e esse estágio da lesão hepática chamado de **cirrose** é irreversível. Se o fígado não funciona direito, diminui a produção de proteínas e de hemoglobina (veja os **valores baixos da albumina e do hematócrito** no exame) porque é o fígado que fabrica as proteínas e faz o transporte, metabolização e reserva de ferro necessário para produção de hemoglobina. Ainda se verifica **acúmulo de ureia no sangue** e nessa fase pode haver a **encefalopatia hepática** (ele estava agitado e confuso) e a **insuficiência renal aguda** (paciente com oligúria, diminuição na produção de urina). Em consequência da insuficiência renal o **sódio está se acumulando causando edema** e a hipoalbuminemia resulta em diminuição da pressão coloidosmótica do sangue e isso também causa o edema. A comprovação do dano no fígado ou da cirrose hepática é dada pelas **dosagens do AST** (aspartato aminotransferase) e do **ALT** (alanina aminotransferase), **ambos estão elevados** (duas a três vezes os valores de referência), sendo a elevação de ALT maior do que a elevação do AST fazendo com que a relação AST/ALT seja menor do que 1, indicando que ainda é possível reverter o quadro com o tratamento adequado. Vimos isso em: enzimas de diagnóstico e métodos de determinação laboratorial – aminotransferases. O método de dosagem da bilirrubina total e das frações bilirrubina direta (conjugada, hidrossolúvel) e bilirrubina indireta (não conjugada, ligada à albumina, solúvel em metanol) pode ser o método colorimétrico com utilização do reagente diazo, pois esse paciente parece não

ter hiperlipidemia e está abstinente de álcool há 3 anos, ou pode ser o método automatizado (tecnologia de química seca ou de fase sólida). As análises das enzimas (aminotransferases) AST e ALT em geral são feitas por monitoração contínua (leitura da variação de absorbância em espectrofotômetro ou por fotometria de reflectância de fase sólida).

Avançando na prática

Cirrose crônica descompensada em paciente com Doença de Wilson

Descrição da situação-problema

Júlio é um jovem de 25 anos que foi atendido no serviço de urgência de um hospital público com febre e tosse mucopurulenta. A primeira hipótese diagnóstica foi de pneumonia, pois ele apresentava sinais de condensação na base do pulmão direito no exame de raios X e necessitou de auxílio ventilatório, mas os exames microbiológicos deram negativos. Os resultados do exame de sangue indicaram aumento dos parâmetros inflamatórios, trombocitopenia (6500 plaquetas por microlitro, Normal = 150.000), prolongamento do tempo de protrombina, albumina baixa (1,6 mg/dL, valor de referência = 3,4 a 5,0 mg/dL).

Resultado do teste de perfil hepático:

AST (aspartato aminotransferase) = 116 U/L (valor de referência = 15 a 39 U/L)

ALT (alanina aminotransferase) = 96 U/L (valor de referência = 8 a 37 U/L)

Bilirrubina direta = 1,3 mg/dL (valor de referência = 0 a 1 mg/dL)

Durante a internação ele apresentou forte dor epigástrica (na boca do estômago), vômitos, e um exame de imagem mostrou fígado pequeno com estrutura heterogênea compatível com cirrose, esplenomegalia (baço aumentado) e ascite moderada. Fez exames que excluíram doença hepática infecciosa (sorologia negativa para hepatite A, B e C, citomegalovírus, herpes e HIV). Cinética de ferro e função da tireoide sem alterações. Foram solicitados exames de marcadores de hepatite autoimune e processos neoplásicos: alfa-1-

antitripsina, alfafetoproteína, imunoglobulinas e autoimunidade (ANA, AMA, ASMA e anti-LKM) todos sem alteração ou negativos. Foi então dosado o nível sérico de ceruloplasmina e o nível urinário de cobre.

Resultado dos exames:

Ceruloplasmina sérica = 3 mg/dL (valor de referência: 22 a 58 mg/dL)

Cobre em urina 24 horas = 4,4 $\mu\text{mol}/24$ horas (valor de referência < 0,78 $\mu\text{mol}/24$ horas).

Analise os resultados dos exames do paciente e comente.

Resolução da situação-problema

O que mais chama a atenção nos exames do paciente é a excreção elevada de cobre na urina e os resultados de perfil hepático indicativos de doença hepática: AST e ALT cerca de três vezes o valor do limite máximo de normalidade, sendo a relação AST/ALT maior que 1. Esse resultado indica que as células do fígado foram lesadas e suas enzimas de citoplasma (ALT) e até mesmo de mitocôndrias (AST) estão em níveis elevados no sangue (cirrose hepática), comentando os exames realizados para pesquisar se a origem dessa cirrose poderia ser do tipo infecciosa ou autoimune. Deram negativos para autoimune porque nesse tipo de doença aparece anticorpos que atacam o fígado [anticorpos antinúcleo (ANA), antimitocondria (AMA), antimúsculo liso (ASMA) e antimicrosoma do fígado e do rim (anti-LKM)]. Também foi pesquisado a alfa-1-antitripsina que é uma glicoproteína que apresenta mutação e que pode causar cirrose hepática depositando-se nos hepatócitos e causar lesões pulmonares. A alfafetoproteína como vimos é um bom marcador de hepatocarcinoma. As hepatites autoimunes muitas vezes estão associadas à tireoidite autoimune e por isso foi realizado teste de função da tireoide. Excluídas essas possibilidades, resta o diagnóstico de uma doença genética rara em que falta a expressão de uma enzima no fígado que é essencial para eliminar o cobre na bile ou incluir o cobre nas estruturas de proteínas. O cobre então aumenta no plasma e vai se depositando no rim, fígado e cérebro e pode ser fatal ou causar doenças neurológicas (sintomas Parkinsonianos ou pseudobulbares) e neuropsiquiátricas (depressão mental). O marcador dessa doença no plasma é a ceruloplasmina,

uma glicoproteína que contém 90% do cobre sérico total. A ceruloplasmina baixa e o cobre em grande quantidade na urina confirmaram o diagnóstico. Com o tratamento com agente quelante é possível melhorar bastante o prognóstico da doença.

Faça valer a pena

1. A bilirrubina é produto de degradação da hemoglobina no processo de reaproveitamento de ferro e renovação de hemácias velhas que ocorre no sistema retículo endotelial do baço e do fígado. Normalmente o fígado capta a bilirrubina do sangue arterial que se encontra ligada à albumina e a transforma em bilirrubina conjugada (mono e diglicuronídeos da bilirrubina). O processo de conjugação transforma a molécula não polar da bilirrubina (insolúvel em água) em uma forma hidrossolúvel que é excretada pelos canais biliares dos hepatócitos juntamente com a bile.

Com relação ao exame laboratorial de dosagem da bilirrubina no sangue avalie as afirmativas a seguir:

- I. A bilirrubina direta é a fração da bilirrubina total que se encontra mais elevada na colestase intra-hepática ou obstrução biliar pós-hepática.
- II. A bilirrubina indireta é a fração da bilirrubina que está ligada à albumina plasmática e que desenvolve cor com o reagente diazo adicionando-se metanol na amostra.
- III. A bilirrubina total é calculada pela soma da concentração de bilirrubina contida no plasma com a concentração da bilirrubina na urina.
- IV. Na colestase intra-hepática a bilirrubina se acumula no meio dos hepatócitos não causando a icterícia ou hiperbilirrubinemia.

Assinale a alternativa que contém todas as afirmativas corretas.

- a) I e II.
- b) III e IV.
- c) I, II e III.
- d) II, III e IV.
- e) II e III.

2. Os ensaios bioquímicos laboratoriais para a quantificação de enzimas presentes em quantidades alteradas nos líquidos biológicos são bastante utilizados para auxiliar no diagnóstico de diversas patologias. As enzimas celulares, que normalmente se encontram em grandes quantidades dentro

das células (no citoplasma ou mitocôndrias e membranas de estruturas intracelulares) quase não estão presentes na circulação sanguínea. Os seus níveis tornam-se elevados no plasma quando as células são lesadas. Algumas enzimas, apesar de não serem específicas de um único órgão, podem ser usadas (especialmente quando são dosadas em conjunto várias enzimas ou as suas isoformas) para indicar certas patologias, constituindo um método de diagnóstico laboratorial bastante útil.

Com relação aos métodos de avaliação diagnóstica com a utilização de dosagens de enzimas em amostras de sangue (soro), analise as seguintes afirmativas:

- I. As enzimas de perfil cardíaco que podem ser avaliadas para o diagnóstico de doença cardíaca coronariana ou infarto agudo do miocárdio são a lactato desidrogenase e a fosfatase alcalina.
- II. As enzimas de perfil hepático que podem ser utilizadas para avaliação de doenças hepáticas com lesão do parênquima hepático são a aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT).
- III. A fosfatase ácida é utilizada para o diagnóstico de cirrose hepática.
- IV. A creatina quinase (CK) possui isoformas como a CK-MM e CK-MB que são utilizadas, respectivamente, para o diagnóstico de lesões do músculo esquelético e do miocárdio.

Assinale a alternativa que contém todas as afirmativas corretas.

- a) I e II.
- b) II e III.
- c) I e III.
- d) II e IV.
- e) III e IV.

3. Câncer é um grupo de centenas de doenças envolvendo o crescimento anormal de células que podem invadir e prejudicar o funcionamento de diferentes órgãos e estruturas do corpo tendo a capacidade de se espalhar através do sangue para outros locais (metástases). São também conhecidos como neoplasias malignas ou tumores malignos, sendo que nem toda neoplasia ou tumor é do tipo maligno. Os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento dos processos cancerígenos são altamente complexos havendo a participação de fatores ambientais (por exemplo, radiação ionizante, fumo e agentes tóxicos) ou internos ao organismo (por exemplo, acúmulo de radicais livres oxidativos, predisposição genética e sistema imunológico comprometido).

Atualmente são reconhecidos diversos marcadores tumorais sorológicos que podem ser dosados no plasma/soro por meio de técnicas padronizadas e cuja detecção pode auxiliar no diagnóstico de processos neoplásicos malignos, além de serem úteis no acompanhamento de sua evolução (estadiamento tumoral) assim como da resposta ao tratamento. Com relação a esses marcadores tumorais é correto afirmar que:

- a) As proteínas CA 125, CA 15-3, CA 72-4, entre outras, são marcadores bioquímicos de metástases em múltiplos órgãos.
- b) Um marcador tumoral específico para câncer gástrico é o CEA (antígeno carcinoembrionário)
- c) O antígeno prostático específico (PSA) é utilizado para a detecção de câncer de próstata.
- d) Um marcador tumoral de câncer de mama é a proteína C-reativa ou PCR.
- e) A alfafetoproteína é um marcador específico de carcinoma de ovário.

Referências

- ABBAS, Abul K.; KUMAR, Vinay; FAUSTO, Nelson. **Robbins & Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 9. ed. São Paulo: Elsevier Editora, 2016.
- ABESO – Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 4. ed. São Paulo: ABESO, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/mhStbf>>. Acesso em: 23 ago. 2018.
- BASTOS, M. G.; KIRSZTAJN, G. M. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbn/v33n1/v33n1a13.pdf>>. Acesso em: 3 ago. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Diabetes mellitus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. (Cadernos de Atenção Básica, n. 16) (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diabetes_mellitus.PDF>. Acesso em: 24 ago. 2018.
- CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. Química. Ácidos e bases. In: _____. **Bioquímica**. Tradução e revisão de Robson Mendes Matos. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015. cap. 2.1. Disponível em: <<https://goo.gl/DQkCe5>>. Acesso em: 22 maio 2018.
- _____. **Bioquímica**. Mary K. Campbell, Shawn O. Farrell, tradução e revisão Robson Mendes Matos, 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015. Cap. 6 - O comportamento das proteínas: Enzimas. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522125005/cfi/187!4/4@0.00:16.4>>. Acesso em: 14 jun. 2018.
- DUSSE, L. M. S. et al. Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente? **Revista RBAC**, Belo Horizonte, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/DUz4Dp>>. Acesso em: 3 ago. 2018.
- ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. Exame químico da urina. In: _____. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. lição 5.4., p. 481.
- EVORA, P. R. B.; GARCIA, L. V. Equilíbrio ácido-base. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, 2008. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/275/276>>. Acesso em: 3 ago. 2018.
- FURONI, R. M. et al. Distúrbios do equilíbrio ácido-básico. **Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba**, v. 12, n. 1, p. 5-12, 2010. Disponível em: <<https://goo.gl/m6usUP>>. Acesso em: 3 ago. 2018.
- HAMMER, G. D.; MCPHEE, S. J. **Fisiopatologia da doença**: uma introdução à medicina clínica [recurso eletrônico], Gary D. Hammer, Stephen J. McPhee, tradução: Geraldo de Alencar Serra, Patrícia Lydie Voeux, 7. ed., Porto Alegre: AMGH, 2016. Cap. 14 - Distúrbios do fígado. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555288/cfi/532!4/2@100:0.00>>. Acesso em: 8 maio 2018.

_____. **Fisiopatologia da doença:** uma introdução à medicina clínica. Tradução: Geraldo de Alencar Serra, Patricia Lydie Voeux. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. cap. 18. Distúrbios do pâncreas endócrino. Disponível em: <<https://goo.gl/5HBzez>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

McPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry.** 21. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap. 20 - Enzimologia clínica, disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/312>>; Cap. 21 - Avaliação da função hepática, disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/334>>; Cap. 74 - Diagnóstico e tratamento de câncer com o uso de marcadores tumorais serológicos, Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1560>>. Acesso em: 28 maio 2018.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações.** 5. ed., Rio de Janeiro: Medbook, 2009. Disponível on-line em: Livro Bioquímica Clínica princípios e interpretações, Laboratório Central. Disponível em: <<http://www.laboratoriocentral.com.br/livro-bioquimica-clinica-principios-e-interpretacoes/>>. Acesso em: 29 maio 2018.

OLIVEIRA, J. E. P. de et al. (Orgs.). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018.** São Paulo: Editora Clannad, 2017. Disponível em: <<https://goo.gl/5ZL9yB>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

PINTO, W. de J. **Bioquímica clínica.** São Paulo: Gen Guanabara Koogan, 2017.

SACKHEIM, G. I.; LEHMAN, D. D. Metabolismo de carboidratos. In: _____. **Química e bioquímica para ciências biomédicas.** Barueri: Manole, 2001. cap. 26, p. 478. Disponível em: <<https://goo.gl/eWpLJx>>. Acesso: 23 ago. 2018.

_____. Metabolismo de gorduras. In: _____. **Química e bioquímica para ciências biomédicas.** Barueri: Manole, 2001. cap. 27, p. 492. Disponível em: <<https://goo.gl/eWpLJx>>. Acesso: 23 ago. 2018.

SCHMIDT, Maria I., REICHEL, A. J. [Grupo de Trabalho em Diabetes e Gravidez]. Consenso sobre diabetes gestacional e pré-gestacional. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 43, n. 1, p. 14-20, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v43n1/12048.pdf>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA; CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Gasometria. In: _____. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML):** coleta e preparo da amostra biológica. Barueri, SP: Manole: Minha Editora, 2014. cap. 6.7, p. 113-120. Disponível em: <http://www.sbp.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf>. Acesso em: 3 ago. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global report on diabetes.** Genebra: WHO, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/98zKBR>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 101, n. 4, supl. 1, p. 1-22, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v101n4s1/v101n4s1.pdf>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

Hematologia e imunologia

Convite ao estudo

Caros alunos, sejam bem-vindos ao estudo de duas áreas das análises clínicas que contribuem enormemente para o diagnóstico e prognóstico de uma grande variedade de doenças. Estamos nos referindo à hematologia e à imunologia, cujos conteúdos teóricos e práticos costumam aparecer com muita frequência em questões da grande maioria dos concursos classificatórios para vagas de biomédicos na área de análises clínicas.

A hematologia é a área que estuda o sangue e seus componentes, podendo avaliar o funcionamento do sistema hematopoiético que é constituído por órgãos e tecidos como a medula óssea, o baço, o fígado, os linfonodos, o timo e os rins e pelos hormônios e fatores (neuro-humorais e imunológicos) responsáveis pelo controle da produção das células do sangue (da série vermelha e da linha de defesa do corpo). O exame de sangue mais requisitado na prática clínica ambulatorial e hospitalar é, com certeza, o hemograma. O hemograma completo é constituído por um conjunto de avaliações bioquímicas e microscópicas das células do sangue que, juntamente com os dados clínicos, permitem conclusões diagnósticas e prognósticas de um grande número de patologias dos mais diferentes tipos, tais como anemias, doenças da medula óssea, hemoglobinopatias, intoxicações por produtos químicos, infecções e doenças hereditárias. A avaliação laboratorial do risco trombótico e de distúrbios da coagulação sanguínea, assim como a tipagem sanguínea do sistema ABO e Rh fazem parte também da rotina do laboratório de hematologia clínica. A imuno-hematologia faz o estudo sorológico e genético de compatibilidade

sanguínea e a análise sorológica, bioquímica e molecular dos aloanticorpos e autoanticorpos sanguíneos, especialmente para os hemocentros.

No Laboratório de Imunologia Clínica é possível detectar os anticorpos e antígenos específicos para o diagnóstico de infecções virais, tais como as hepatites A, B e C, doenças autoimunes e doenças infecciosas e parasitárias. Na atualidade, por meio de técnicas avançadas envolvendo a utilização de anticorpos monoclonais e anticorpos marcados é possível a realização de diversos tipos de exames (imunoenaios, imunohistoquímica, exames de DNA e exames de células do sistema imune por imagem) que permitem o diagnóstico de uma variedade enorme de doenças.

Para tornar o estudo mais dinâmico vamos acompanhar André na etapa final do seu estágio laboratorial clínico e ajudá-lo a interpretar os resultados dos exames realizados em três pacientes e, com base na análise desses resultados, emitir um diagnóstico para esses casos.

Seção 4.1

Anemias, anticoagulantes e sistema ABO Rh

Diálogo aberto

Caros alunos, vocês não acham empolgante conhecer detalhes sobre o nosso sangue e o sistema imunológico? Poder examinar como estão a produção e o funcionamento das células do sangue através da interpretação laboratorial do hemograma e diagnosticar doenças da medula óssea, da produção de hemoglobina, as anemias de diferentes tipos e os problemas de coagulação sanguínea com um exame de sangue é incrível, não é mesmo? A Hematologia Clínica evoluiu e ganhou tanto destaque que virou área de especialização e de pós-graduação. Outra área que se expandiu e se valorizou tremendamente é a da imunologia clínica. Através da detecção de antígenos e anticorpos, de suas dosagens sorológicas e pesquisa de novos marcadores de doenças e infecções, a imunologia clínica tem exercido papel fundamental no diagnóstico de doenças simples como as alergias, até doenças complicadas como o câncer. É essa área que possibilita a produção de vacinas contra agentes infectantes e soros contra venenos de animais peçonhentos e, com a evolução tecnológica dessa área, em breve teremos medidas preventivas eficazes e vacinas contra doenças como diabetes e muitas outras. Para aplicarmos os conhecimentos dessas áreas, iremos fazer uma breve revisão dos conceitos mais importantes com o propósito de vencer, juntamente com André, o desafio de analisar os resultados dos exames laboratoriais de um paciente e emitir o diagnóstico. Trata-se do caso de Leandro, que tem 45 anos e é portador da doença de Crohn há 15 anos. Ele foi submetido a várias cirurgias nos últimos 10 anos sendo que, na última cirurgia, foi realizada ressecção e anastomose do intestino delgado. Os exames realizados recentemente mostraram os seguintes resultados:

- Hemoglobina: 8,9 g/dL (valores de normalidade: 12 – 17 g/dL)
- HCM: 27,0 pg (valor de normalidade: 27 – 32 pg)
- VCM: 92,0 fl (valor de normalidade: 77 – 92 fl)
- RDW: 20,0 % (valor de normalidade: 12 – 15 %)

- Leucócitos: $9,7 \times 10^9/L$ (valor de normalidade: $4 - 11 \times 10^9/L$)
- Plaquetas: $398,0 \times 10^9/L$ (valor de normalidade: $150 - 400 \times 10^9/L$)
- Ferro sérico: $9,0 \text{ mmol/L}$ (valor de normalidade: $11 - 32 \text{ mmol/L}$)
- Ferritina: $10,0 \text{ mg/L}$ (valor de normalidade: $12 - 200 \text{ mg/L}$)
- CTFL: 80 mmol/L (valor de normalidade: $42 - 80 \text{ mmol/L}$)
- Vitamina B12: $12,0 \text{ ng/L}$ (valor de normalidade: $> 150 \text{ ng/L}$)
- Folatos: $1,8 \text{ mg/L}$ (valor de normalidade: $> 2,0 \text{ mg/L}$)
 - Sendo: pg = picogramas, fl = fentolitros, HCM = hemoglobina corpuscular média, VCM = volume corpuscular médio, RDW = índice de variação de tamanho das hemácias, CTLF = Capacidade Total Ligadora de Ferro.

Vocês concordam que, além de interpretar esses resultados seremos capazes de dizer como foram realizados os exames laboratoriais?

Não pode faltar

Hematologia clínica: exames laboratoriais e sua interpretação

Hemograma é o nome dado a um conjunto de avaliações das células sanguíneas sendo constituído de eritrograma, leucograma, análise de plaquetas e esfregaço sanguíneo ou hematoscopia. Esse exame é realizado em sangue total, coletado por punção venosa, adicionando-se anticoagulante, sendo recomendado o EDTA potássio na forma seca que mantém as características morfológicas das células, não altera a concentração de hemoglobina e permite que os testes sejam executados até 24 horas após a coleta se o sangue for mantido sob refrigeração a $2-8^\circ\text{C}$. Vale a pena lembrar que, para os testes de coagulação, o EDTA não deve ser usado, sendo o citrato de sódio o mais indicado. A heparina (de sódio ou lítio) e o fluoreto de sódio são mais indicados para dosagens bioquímicas, gasometria (heparina) e dosagem de glicose (fluoreto), não sendo adequados para a hematologia porque causam alterações morfológicas dos leucócitos e permitem formação de grumos plaquetários.

Eritrograma é a análise da série vermelha ou eritrócitos, e é constituído por **contagem de hemácias ou de células vermelhas**

(**RBC**, *red blood cell* ou **Eritrócitos**), referido em milhões por mm^3 ou $\times 10^6/\mu\text{L}$, **dosagem de hemoglobina (Hb)** em gramas por decilitro (g/dL), determinação do **hematócrito (Ht ou Hct)** que é a proporção de hemácias no sangue total, dado em % e referindo-se à altitude e à pressão atmosférica do local.

Também são determinados os índices **hematimétricos**, que são: o **Volume Corpuscular Médio (VCM)** que representa o tamanho/volume médio das hemácias e é referido em fentolitros (fL), a **Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)**, que é o conteúdo médio de hemoglobina por célula e é referido em picogramas (pg) e a **Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)**, parâmetro da concentração da hemoglobina em relação ao tamanho das hemácias (em g/dL).

Leucograma é a análise da série branca ou dos leucócitos (indicam alterações no funcionamento do sistema imunológico evidenciando a presença de infecções e inflamações) sendo constituído por: contagem **total de leucócitos (WBC, White blood cell count)** referido em valor absoluto ou leucócitos/ mm^3 e **contagem diferencial de células**: neutrófilos bastonetes (célula jovem), neutrófilos segmentados (ou maduro), eosinófilos, basófilos e os agranulócitos que são os monócitos e os linfócitos.

Plaquetograma ou Contagem de plaquetas avalia alterações da capacidade de coagulação do sangue e os seus valores de referência podem ser em número de células por campo.

Análise do esfregaço sanguíneo: trata-se de um exame simples de análise em microscópio de um esfregaço sanguíneo que, após coloração (Leishman, Giemsa, Wright ou May-Grunwald) é analisado para avaliar características do tamanho, da forma, da intensidade de coloração e de presença de inclusões nas células. Os termos utilizados para descrever os resultados em eritrócitos são: isocitose quando todas as hemácias são do mesmo tamanho, anisocitose quando não são do mesmo tamanho, podendo ser microcítica (células pequenas) ou macrocítica (células grandes); poiquilocitose quando existem hemácias de vários formatos; normo/hipo/hipercrômicas em relação à intensidade de coloração e às inclusões (pontilhados basófilos, corpúsculos nucleares de Howell-Jolly, anel de Cabot, plasmódio, etc.).

Métodos de contagem de células e de determinação dos índices hematimétricos

O método clássico para contagem de células (hemácias, leucócitos e plaquetas) utilizava a câmara de Neubauer, lâmina corada e microscópio. Atualmente utiliza-se o **hemocitômetro**, uma lâmina especial para a contagem manual que é preenchido com micropipeta utilizando pequeno volume de sangue. O **hematócrito** pode ser obtido por centrifugação da amostra de sangue em um tubo capilar (micro-hematócrito) ou por automação. A dosagem de hemoglobina é feita pelo método colorimétrico da cianometahemoglobina ou da azidametahemoglobina, havendo **hemoglobinômetros** portáteis para utilização em consultório médico, hemocentros, centros de saúde e serviços de emergência que dosam a hemoglobina rapidamente em uma gota de sangue colocado em um cartão de teste. Em grandes laboratórios os equipamentos podem realizar a quantificação de todos os parâmetros do hemograma, leucograma e plaquetograma usando o princípio da impedância elétrica ou da dispersão de luz. **Equipamentos de contagem diferencial das células do sangue** por dispersão de luz dispensam a necessidade de fazer o esfregaço e permitem a contagem manual das células por tecnologia de processamento de imagem.

A descrição desses diferentes métodos pode ser encontrada em: (ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 2 – Hematologia Básica, Lição 2-4- O hemocitômetro, p.207, Lição 2-13- Princípios de automação em Hematologia, p. 315).

Vamos então para a interpretação dos resultados do hemograma! Para a interpretação dos resultados do eritrograma e da hematoscopia é essencial lembrar que a função dos eritrócitos é transportar o oxigênio para as células por meio de sua fixação nas moléculas de hemoglobina e que, portanto, uma diminuição no seu número, na quantidade e/ou tipo de hemoglobina, na maturação das células e na espessura e deformabilidade da sua membrana celular podem resultar em deficiência de oxigênio nos tecidos, causando os típicos sintomas de anemia: palidez, fraqueza muscular, cansaço, falhas no crescimento e outros sinais, dependendo do tipo de anemia. A análise dos índices hematimétricos em conjunto, principalmente os resultados de hemoglobina e das alterações morfológicas

das hemácias fornecem pistas dos diferentes tipos de anemia e de outras condições patológicas que afetam a hematopoiese ou causam a hemólise.



Refleta

Os valores de referência da série vermelha variam de acordo com a idade, havendo a tendência de os valores serem maiores no recém-nascido e menores nas crianças (1 a 11 anos), quando comparados com adultos e, também, há diferenças entre homens e mulheres adultos. Pequenas alterações podem ocorrer em pessoas saudáveis ou sob efeito de condições como desidratação, consumo de tabaco, estresse (até mesmo do procedimento de retirada de sangue) e uso de medicamentos. Por esse motivo, após a análise laboratorial do hemograma, o profissional de laboratório tem o dever de conferir os resultados, confrontando-os com idade, sexo, uso de medicamentos, álcool ou fumo, estado físico do paciente no momento da coleta, gravidez, febre e outros detalhes técnicos que possam afetar os resultados. Poderá indicar a repetição dos testes em casos de resultados duvidosos ou, também, a realização de exames adicionais que possam auxiliar a esclarecer o diagnóstico (por exemplo, eletroforese de hemoglobinas, exame de reticulócitos, dosagens hormonais ou de elementos como ferro, cobalamina e folato, mielograma que é a pesquisa de células precursoras na medula óssea, sorologia para pesquisa de anticorpos antieritrocitários ou de outros tipos, pesquisa de marcadores tumorais, etc.)

Lembrem-se de que os valores de referência do hemograma variam de acordo com a metodologia empregada, havendo em cada laboratório tabelas desses valores, assim como exemplos de casos previamente analisados que servem como referência para a interpretação dos resultados. Uma tabela de valores normais do hemograma pode ser encontrada em: (ESTRIDGE, B. H., REYNOLDS, A.P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011. Apêndice B, p. 783).

Anemia é definida como qualquer condição que resulta em diminuição da massa eritroide ou na qual a função da hemoglobina ou das hemácias encontram-se abaixo das necessidades do corpo. Na prática, o diagnóstico de anemia é feito pelos valores de

hemoglobina abaixo de 11-12 g/dL em mulheres adultas e crianças, e abaixo de 13 g/dL em homens adultos (LORENZI, 2006).

As anemias são resultantes de: 1) **produção deficiente** de hemácias funcionais ou 2) **Perda excessiva** de hemácias. Em ambos os casos pode haver resposta do baço e da medula óssea que passam a liberar na circulação hemácias imaturas como os reticulócitos (células contendo RNA e que continuam a produzir hemoglobina) e os megaloblastos e, também, células malformadas como a microesferocitose da anemia hemolítica, esquizocitose da talassemia, células em alvo (codócitos) da anemia ferropênica. Essas alterações eritrocitárias são muito utilizadas no diagnóstico diferencial das anemias.

A produção de hemácias é deficiente quando falta fatores essenciais para a produção de hemoglobina (falta de ferro) ou do DNA (falta de ácido fólico e vitamina B12), sendo esse tipo de anemia denominada **anemia carencial**. Outras anemias, que geralmente são hereditárias, estão associadas à anormalidade de um ou mais constituintes do eritrócito: defeito de membrana como na **anemia falciforme** (hemácias em forma de foice devido à presença de hemoglobina S), defeito na hemoglobina como na **talassemia**, defeito nas enzimas eritrocitárias que resultam em encurtamento da vida média da célula na circulação e hemólise (**anemia hemolítica**).

As anemias carenciais são de evolução crônica, diferentemente das anemias causadas por queda brusca da hemoglobina por hemólise, hemorragia ou destruição das hemácias (anemias agudas causadas por radiação, quimioterapia, benzeno, toxinas, infecção ou medicamentos).

A **anemia por deficiência de ferro** é a forma mais frequente das anemias. Conforme dados do Ministério da Saúde (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas**. Volume 3, Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_clinicos_diretrizes_terapeuticas_v3.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2018), a deficiência de ferro é a deficiência nutricional mais negligenciada no mundo todo, particularmente em mulheres e crianças, mas que pode afetar pessoas de todas as idades. A sua característica marcante é que, devido à carência de ferro e baixa concentração de hemoglobina corpuscular (CHCM), as hemácias são microcíticas e hipocrômicas.



O estoque de ferro no organismo encontra-se principalmente na forma de hemoglobina, e cerca de um terço está na mioglobina e nas proteínas responsáveis por captar, transportar e armazenar o ferro que são a ferritina, a transferrina e o receptor de transferrina. O ferro fica estocado nos macrófagos do sistema retículo endotelial em duas formas: ferritina e hemossiderina (forma de armazenamento quando há acúmulo excessivo de ferro no organismo). O ferro sérico pode ser dosado por métodos coulométricos, colorimétricos e por absorção atômica, mas a quantificação da capacidade máxima de ligação do ferro da transferrina é o melhor índice da reserva de ferro no organismo. Esse parâmetro é conhecido como TIBC (Capacidade total de ligação do ferro) e é utilizado para o diagnóstico de anemia ferropênica, pois sua atividade está aumentada em resposta ao decréscimo de ferro e não se altera nos distúrbios inflamatórios crônicos (por exemplo, renais ou hepáticos que causam anemia secundária). Os resultados clássicos de anemia por deficiência de ferro são ferro sérico e ferritina reduzidos, baixa saturação da transferrina e TIBC elevado. Veja mais detalhes em MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica para o laboratório**: princípios e interpretações. 5. ed., Rio de Janeiro: Medbook, 2009. Parte – Aspectos Bioquímicos da Hematologia, Ferro sérico, p. 206. Disponível em: <<http://www.laboratoriocentral.com.br/livro-bioquimica-clinica-principios-e-interpretacoes>>. Acesso em: 25 maio 2018.

Outro tipo de anemia carencial é aquela causada por anomalia na síntese de DNA (necessário nas células que se renovam constantemente como as hemácias). A maioria dos casos deve-se à **deficiência de ácido fólico** (por exemplo, na desordem nutricional do alcoolismo, na síndrome de má absorção intestinal e na gestação) ou de **vitamina B12**. Lembrem-se que a absorção de vitamina B12 depende do fator intrínseco (vitamina B1) – secretado pelo estômago – havendo deficiência do mesmo na anemia perniciosa ou pós-gastrectomia. A absorção de vitamina B12 fica prejudicada também nas parasitoses e infecções bacterianas intestinais. Esse tipo de anemia é denominado **anemia megaloblástica** devido à presença característica de hemácias com volume aumentado (macrocíticas). Outras características típicas são: anisocitose, macro-ovalócitos, anéis de Cabot (restos de fuso mitótico no núcleo) e macrófagos hipersegmentados (com 6 a 10 lóbulos).

Talassemias são doenças congênitas hereditárias, mais frequente na raça italiana, caracterizadas por síntese de hemoglobina que, diferente da hemoglobina A normal, não possui as duas cadeias alfa e duas cadeias beta, sendo referidas pela cadeia que está faltando em α -Talassemia ou β -Talassemia sendo esta última a mais frequente. Como consequência do desequilíbrio entre as cadeias alfa e beta, a hemoglobina precipita lesando a membrana celular. A β -Talassemia minor é uma forma branda assintomática, mas, a β -Talassemia maior causa anormalidade do crescimento ósseo (deformidades crânio-facial e baixa estatura), aumento do fígado, baço e do coração, com alterações celulares típicas no eritrograma: anemia hipocrômica, microcítica, com inúmeras células-alvo e pontilhado basófilo, além de muitos eritroblastos circulantes. A confirmação do diagnóstico pode ser feita pela eletroforese de hemoglobina.

Outra forma muito frequente de anemia no Brasil, de origem genética, autossômica recessiva e predominante em afrodescendentes, é a **anemia falciforme** que se trata de uma hemoglobinopatia com produção de grande quantidade de hemoglobina fetal (hemoglobina S) que polimeriza quando é desoxigenada e deforma a membrana de forma irreversível (a membrana torna-se rígida). Essas hemácias são destruídas no baço causando hiperbilirrubinemia. São anemias normocíticas e normocrômicas com aparecimento de quantidades variáveis de hemácias em forma de foice podendo apresentar hemólise significativa e fenômenos vaso-oclusivos perigosos.

Coagulopatias e os anticoagulantes

A coagulação do sangue é controlada por uma reação em cascata envolvendo a ativação de diversos fatores de coagulação presentes no sangue. Ela é desencadeada sempre que ocorre uma lesão vascular tendo a função de promover a hemostasia pela ativação da trombina e formação de um coágulo de fibrina. Em condições normais, esse coágulo é depois fragmentado pela plasmina, uma enzima fibrinolítica que se origina do plasminogênio sob a ação do ativador de plasminogênio tecidual (TPA). Os produtos de degradação da fibrina (PDF) e do coágulo (XPD, produto de ligação cruzada) e seus derivados (D-dímeros) são dosados (por meio de testes rápidos de hemostasia) em pacientes com coagulopatias (como trombose venosa profunda e coagulação intravascular

disseminada). O endotélio vascular secreta fatores anticoagulantes como a heparina e antitrombóticos como as prostaciclina e óxido nítrico para manter o sangue sem coagular, porém, em algumas condições patológicas ocorre um desequilíbrio entre os mecanismos opostos (pró-coagulantes e anticoagulantes) resultando em falha na capacidade de coagulação e hemorragias (como na doença de von Willebrand = falha na adesão plaquetária e na hemofilia) ou em coagulação intravascular denominada de trombose.

Os ensaios de laboratório clínico mais comumente usados para avaliar a coagulação são 1) o **tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT)** que induz a formação do coágulo através de contato com uma superfície de vidro e avalia as proteínas de coagulação do chamado sistema intrínseco (de via comum) porque se inicia com a ativação do fator XII e termina com a formação de filamentos de fibrina e 2) o **tempo de protrombina (TP)** que é induzido pelo acréscimo de fator tecidual em excesso e pesquisa a cascata de coagulação ativada por fatores extrínsecos. Um teste denominado **tempo de coagulação da trombina (TCT)** ou **tempo de coagulação ativada (TCA)** avalia diretamente se há algum defeito na formação de fibrina por existência de fibrinogênio anormal. Em todos esses testes, o aumento no tempo indica defeito de coagulação. O **coagulograma** completo, que serve para avaliar os distúrbios de coagulação sanguínea, pode ser constituído de: tempo de tromboplastina parcial, tempo de protrombina, testes de tempo de sangramento e de fragilidade capilar (feitos no paciente), tempo de coagulação e retração do coágulo, contagem de plaquetas e dosagem quantitativa do fibrinogênio. Atualmente existem diversos tipos de analisadores de coagulação, alguns portáteis para testes remotos, que fazem esses testes por automação: agitam, aquecem e detectam a formação do coágulo.



Pesquise sobre a coagulação, a hemostasia e os testes de coagulação em: ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 3 – Hemostasia Básica – Lições 3.1 a 3.6, p. 326-369.

Assista o vídeo de animação que ilustra bem esses processos em:

Coagulação do sangue. Postado por Academia da Ciência, em 18/03/2009, duração 3:56 minutos. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=e4cQw70owYA>>. Acesso em: 22 jun. 2018.

A **imuno-hematologia** é uma especialidade da Imunologia que tem papel fundamental na Medicina Transfusional, realizando testes sorológicos, bioquímicos, genéticos e moleculares de constituintes da membrana dos eritrócitos e do sangue para o estudo de suas propriedades imunológicas (tipagem ABO e Rh, detecção e identificação de anticorpos atípicos, de reações cruzadas, autoanticorpos e aloimunização). Os antígenos do **grupo sanguíneo ABO** expressam-se em ampla escala pelo corpo todo e é o único grupo sanguíneo mais importante para a seleção e a transfusão de hemoderivados, sendo realizados rotineiramente testes pré-transfusão (para prevenir reações transfusionais), em grávidas e no recém-nascido (para evitar a doença hemolítica do recém-nascido) e em doadores de sangue.

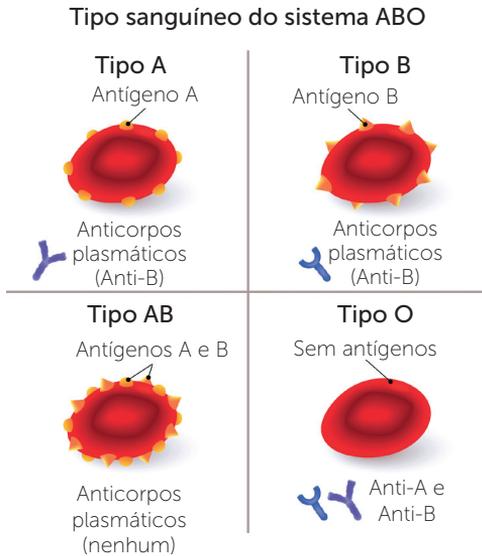
Testes de aglutinação para determinação do tipo sanguíneo do sistema ABO

Existem quatro tipos de sangue, de acordo com os antígenos existentes na membrana dos eritrócitos: sangue tipo A, tipo B, tipo AB e tipo O.



A Figura 4.1 mostra os antígenos na superfície de hemácias e os anticorpos presentes no plasma de cada tipo sanguíneo.

Figura 4.1 | Tipo sanguíneo do sistema ABO



Fonte: iStock.

O **sangue tipo A** contém anticorpos na circulação contra o antígeno B e, na superfície da membrana eritrocitária possuem antígeno A, o **sangue tipo B** contém anticorpos anti-A e, na membrana eritrocitária possuem antígeno B. O **sangue tipo AB** não possui anticorpos ABO e na membrana do eritrócito possui antígenos A e B, não podendo doar sangue para outros tipos sanguíneos diferentes de AB. O **sangue tipo O** é conhecido como doador universal porque não contém antígenos eritrocitários, possui anticorpos A e B no plasma (Anti-A and Anti-B), o que o torna incompatível para receber sangue A, B ou AB.

O teste de tipagem sanguínea pode ser simples, necessitando de uma lâmina limpa, na qual se deposita uma gota de sangue e por cima se coloca uma gota de antissoro e mistura-se os dois. A reação antígeno-anticorpo ocorrerá e, como o anticorpo ABO

é muito potente, a aglutinação das hemácias é visível a olho nu. Conforme a orientação do Ministério da Saúde (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imunohematologia laboratorial**, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2018), para a tipagem sanguínea devem ser realizados obrigatoriamente dois tipos de teste: a **prova direta** (em lâmina ou em tubo) e a **prova reversa** na qual se coloca duas gotas do **soro da amostra** (parte líquida do sangue após coagulação) em dois tubos rotulados, adiciona-se uma gota de **hemácia A** no tubo 1 e de **hemácia B** no tubo 2, centrifuga-se e faz-se a leitura de aglutinação ou ausência de aglutinação ressuspendendo o botão (material que fica no fundo do tubo após a centrifugação que contém os **anticorpos do grupo ABO**). O soro com anti-A (sangue B) não aglutina com o sangue B, enquanto o soro do sangue O aglutina com todos os tipos de sangue, etc. Quando houver discrepância entre o teste direto e o reverso, será necessário pesquisar as possíveis causas da discrepância que são: antígenos ABO fracos (mais frequentemente A1 ou A2) que não podem ser demonstrados por esses testes, ausência ou diminuição de anticorpos naturais anti-A ou anti-B em imunossuprimidos, idosos ou recém-nascidos, presença de anticorpo irregular no soro como o anti-A delta, artefato (*roleaux* ou empilhamento de hemácias) tornando todas as reações falsamente positivas.

A maioria dos anticorpos para os grupos sanguíneos são de ocorrência natural, ou seja, não necessita de estímulo antigênico para estar presente. É o que ocorre para o sistema ABO. Porém, as hemácias humanas apresentam na sua superfície numerosos antígenos próprios não ligados ao sistema de MHC (complexo principal de histocompatibilidade maior) que geram incompatibilidade sanguínea e pode causar aloimunização (produção de anticorpos que reagem com antígenos estranhos). O principal exemplo é o **sistema Rh** do grupo sanguíneo que, de forma simplificada, está relacionado ao **antígeno D** (que é o mais imunogênico do sistema Rh). A função biológica das proteínas Rh é desconhecida, abrangendo cerca de 50 antígenos e muitas variedades fenotípicas, mas, basicamente os tipos sanguíneos podem ser classificados em **Rh positivo** (mais comum) ou **Rh negativo** (mais raro) influenciando

na compatibilidade sanguínea. Uma pessoa que é Rh positivo pode receber sangue de qualquer Rh, inclusive Rh negativo, enquanto quem tiver Rh negativo não pode receber sangue Rh positivo. Na gravidez, quando a mãe é Rh negativo e o feto é positivo, existe a possibilidade de a gestante produzir anticorpos anti-Rh causando a **doença hemolítica do recém-nascido**, especialmente se for a segunda gestação de feto Rh positivo quando o título de anticorpos alcança valores elevados. O teste para o fator Rh é feito da mesma forma adicionando-se uma gota de anti-Rh (**soro anti-D**) em uma gota de sangue e colocando-se o slide Rh em uma caixa de aquecimento para acelerar a reação.

Sem medo de errar

Poderemos agora analisar o caso de Leandro, que tem 45 anos e é portador da doença de Crohn há 15 anos. Devido a essa doença inflamatória crônica do tubo digestivo, ele foi submetido a várias cirurgias nos últimos 10 anos sendo que, na última cirurgia, foi realizada ressecção e anastomose do intestino delgado. Esse é um detalhe importante! O intestino delgado é o local de absorção de todos os nutrientes e a inflamação de sua parede está relacionada com a síndrome de má absorção intestinal. O íleo terminal é a parte do intestino no qual ocorre a absorção da vitamina B12 acoplada com o fator intrínseco que é produzido na mucosa do estômago. Outro detalhe importante é que a vitamina B12 tem várias funções e uma delas é favorecer a produção da forma ativa do ácido fólico sendo importante para a produção de DNA no processo de diferenciação e maturação das células sanguíneas. Então, vamos olhar os resultados dos exames laboratoriais que foram realizados:

- Hemoglobina: 8,9 g/dL (valores de normalidade: 12 – 17 g/dL)
- HCM: 27,0 pg (valor de normalidade: 27 – 32 pg)
- VCM: 92,0 fl (valor de normalidade: 77 – 92 fl)
- RDW: 20,0 % (valor de normalidade: 12 – 15 %)
- Leucócitos: $9,7 \times 10^9/L$ (valor de normalidade: $4 - 11 \times 10^9/L$)
- Plaquetas: $398,0 \times 10^9/L$ (valor de normalidade: $150 - 400 \times 10^9/L$)
- Ferro sérico: 9,0 mmol/L (valor de normalidade: 11 – 32 mmol/L)
- Ferritina: 10,0 mg/L (valor de normalidade: 12 – 200 mg/L)

- CTFL: 80 mmol/L (valor de normalidade: 42 – 80 mmol/L)
- Vitamina B12: 12,0 ng/L (valor de normalidade: > 150 ng/L)
- Folatos: 1,8 mg/L (valor de normalidade: > 2,0 mg/L)
 - Sendo: pg = picogramas, fl = fentolitros, HCM = hemoglobina corpuscular média, VCM = volume corpuscular médio, RDW = índice de variação de tamanho das hemácias, CTLF = Capacidade Total Ligadora de Ferro.

Vamos começar analisando a série branca: temos contagem de leucócitos normal. E as plaquetas também dentro da faixa normal. As anormalidades aparecem na série vermelha: dosagem de hemoglobina baixa e, apesar do índice de tamanho das hemácias (VCM) se apresentar no limite máximo de normalidade, o RDW está alto. O que significa isso? RDW (*red blood cell distribution width*) é um cálculo do Índice de Variabilidade do tamanho das Células Vermelhas. É um parâmetro de isocitose (tamanhos iguais) ou anisocitose (tamanhos desiguais), sendo calculado através da construção de histogramas de frequência de aparecimento de células de volume reduzido e de células de volume maior (por técnica automatizada). Esse valor alto indica que existe muita variabilidade no tamanho das hemácias (anisocitose). E por que será que a hemoglobina está baixa? Vejamos como está o ferro. Ferritina e ferro sérico baixos e a capacidade total ligadora de ferro (CTLF é o mesmo que TIBC – *total iron binding capacity*) se elevando. São indícios da deficiência de ferro. Ainda temos folato baixo e vitamina B12 muito baixa. Então, devido à doença inflamatória intestinal crônica e à cirurgia, esse paciente está desenvolvendo anemia carencial que é classificada clinicamente como anemia normocítica e normocrômica que ocorre porque na deficiência de ferro as hemácias ficam microcíticas enquanto na deficiência de folato e vitamina B12 são lançadas na circulação hemácias imaturas (megaloblastos) que são grandes e esse paciente tem ambas as deficiências. Também é por essa razão que os índices hematimétricos VCM e HCM permanecem normais: o tamanho médio das hemácias (VCM) está na faixa normal, e apesar da quantidade de hemoglobina ter diminuído, os tamanhos das hemácias também diminuíram, então a concentração da hemoglobina corpuscular (HCM) permanece normal. Esse paciente deve receber suplementação de ferro, folatos e vitamina B12.

Doença hemolítica do recém-nascido

Descrição da situação-problema

Suzete é uma jovem de 16 anos que está desenvolvendo uma gravidez indesejada. A família não sabe quem é o pai da criança e está preocupada porque suspeitam que ela possa ter o tipo sanguíneo Rh negativo. Ela já está na 29ª semana de gestação e ainda não fez nenhum acompanhamento pré-natal. Quais serão os procedimentos essenciais durante o pré-natal? Quais serão os cuidados necessários no acompanhamento da evolução do feto, durante o parto e com o recém-nascido?

Resolução da situação-problema

Procedimentos essenciais no pré-natal: avaliação do grupo sanguíneo materno e dosagem do título de anticorpo Rh (anti-RhD). Caso a mãe seja Rh negativo, para evitar procedimentos invasivos, o feto poderá ser avaliado por meio de um exame com utilização de doppler para medir o pico de velocidade sistólica na artéria cerebral. Esse exame permite avaliar o grau de anemia fetal que poderia ocorrer caso o feto seja Rh positivo. Nesse caso, a presença do fator Rh positivo do feto pode induzir a formação de anticorpos anti-RhD no sangue da mãe. Esses anticorpos conseguem atravessar a barreira placentária e reagir com as hemácias fetais causando hemólise e, conseqüentemente a anemia hemolítica. Em casos graves, pode haver comprometimento do desenvolvimento do sistema nervoso e insuficiência cardíaca como consequência de insuficiência hepática e hiperbilirrubinemia no feto. Na primeira gestação de feto Rh positivo de mãe Rh negativo, raramente ocorre a hidropsia fetal (edema grave no feto com acúmulo de líquido no pericárdio e na pleura devido à insuficiência cardíaca que se desenvolve em consequência da anemia hemolítica), condição grave que pode causar o aborto, pois a quantidade de anticorpos produzidos durante a gestação costuma ser baixa aumentando bastante no momento do parto quando o sangue do bebê entra em contato com o da mãe. Por esse motivo, caso sejam detectados

anticorpos anti-RhD no sangue da mãe é recomendado administrar imunoglobulina anti-RhD nos últimos meses de gestação para evitar a resposta imunogênica. Também, logo após o parto deve ser feita a análise do sangue do bebê para tipagem sanguínea, hemograma para pesquisa de anemia hemolítica, macrocitose e reticulocitose. Observar presença de icterícia e instituir fototerapia caso necessário. Nos casos graves é necessário fazer transfusão de sangue no recém-nascido com substituição de sangue Rh positivo por Rh negativo evitando-se assim as consequências negativas da eritoblastose fetal.

Faça valer a pena

1. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a anemia é caracterizada pela redução nos níveis de hemoglobina abaixo dos valores de referência. Além disso, são classificadas segundo a sua fisiopatologia em hemolíticas, carenciais, hereditárias e autoimunes.

Analise as afirmativas com relação a esses tipos de anemia:

- I. A anemia falciforme tem como característica a presença de hemácias em forma de foice que se deve à polimerização da hemoglobina S.
- II. A anemia por deficiência de ferro tem como característica a ocorrência de hemólise e a hiperbilirrubinemia.
- III. A deficiência de folatos na dieta tem como consequência a redução na absorção de vitamina B12, essa carência vitamínica causa diminuição no tamanho das hemácias.
- IV. A eritropoietina é um hormônio produzido nos rins e, em menor parte, no fígado tendo como função estimular a eritropoiese na medula óssea.

Assinale a alternativa que contém somente as alternativas que estão corretas.

- a) Apenas I e II.
- b) Apenas II e III.
- c) Apenas I e IV.
- d) Apenas II, III e IV.
- e) Apenas I, II e III.

2. Os testes de coagulação sanguínea realizados no laboratório baseiam-se na cascata de coagulação, utilizando-se para a sua descrição a nomenclatura de via intrínseca e via extrínseca da coagulação na dependência do estímulo inicial que desencadeia a coagulação ser por

ativação do fator XII (por contato com superfície sólida) sem a participação do fator III (tromboplastina tecidual) – via intrínseca – ou ser ativada pela adição de excesso de fator tecidual – via extrínseca.

Com relação aos testes de coagulação sanguínea, avalie as afirmativas a seguir:

- I. O teste da trombina avalia a eficiência de formação do coágulo e sua posterior absorção pelas células do endotélio.
- II. O tempo de tromboplastina ativada é um parâmetro de avaliação do funcionamento da via intrínseca e comum da cascata de coagulação.
- III. O tempo de protrombina avalia a via extrínseca e comum da coagulação e é induzido pelo acréscimo de fator tecidual em excesso.
- IV. O teste de tempo de sangramento avalia a presença de ativador de plasminogênio tecidual (TPA).

- a) Apenas I e II.
- b) Apenas II e III.
- c) Apenas III e IV.
- d) Apenas II e IV.
- e) Apenas I e IV.

3. Os antígenos do grupo sanguíneo ABO são fortemente imunogênicos, podendo causar aglutinação das hemácias quando a reação antígeno anticorpo ocorre. Associado a esse sistema, existe na superfície dos eritrócitos os antígenos D do fator Rh, cujo anticorpo (anti RhD) não ocorre naturalmente como os antígenos ABO, sendo induzidos por contato com o antígeno devido a transfusões ou gestação.

Em um teste de tipagem sanguínea que tenha mostrado os seguintes resultados de aglutinação direta:

Soro anti A – positivo
Soro anti B – positivo
Soro anti D – negativo

O tipo sanguíneo é:

- a) A positivo.
- b) B positivo.
- c) O negativo.
- d) AB negativo.
- e) O positivo.

Seção 4.2

Hepatites e títulos de anticorpos

Diálogo aberto

Caros alunos, vocês saberiam dizer quais são as principais aplicações da imunologia clínica? Quem pensou em diagnóstico ou tratamento de infecções por vírus, bactérias e fungos e a prevenção dessas infecções por meio de vacinas, acertou um pouquinho. Quem pensou em diagnóstico, tratamento e prevenção de alergias respiratórias, alimentares ou cutâneas, acertou um pouquinho também. Quem pensou em aplicação de reações antígeno-anticorpo para diagnóstico e controle da evolução de síndromes de imunodeficiência, de doenças autoimunes e alguns tipos de câncer, acertou mais um pouco. Com a evolução dos conhecimentos na área e como consequência dos avanços tecnológicos no âmbito clínico-laboratorial, a imunologia atualmente pode ser útil no diagnóstico e acompanhamento de uma quantidade enorme de doenças, além de poder identificar diversos subtipos de um agente patogênico, detectar células hipersensibilizadas por aloanticorpos e a disfunção de diversas proteínas do sistema imunológico auxiliando também no diagnóstico de imunodeficiências e doenças autoimunes. Para entender as diversas técnicas de imunodiagnóstico e saber como interpretar os resultados obtidos é importante compreender bem como esse sistema funciona no organismo saudável e nas fases aguda e crônica das doenças.

Vamos então revisar conceitos fundamentais de imunologia clínica para ajudar André a vencer o próximo desafio de seu estágio que consiste em interpretar os resultados dos exames clínicos de Clarisse. Ela trabalha como agente de saúde, tem 22 anos e está grávida de 4 meses. Deu entrada no hospital com quadro de icterícia, mialgia, astenia, abdome doloroso à palpação em hipocôndrio direito e hepatomegalia. As suas fezes estão esbranquiçadas e a urina escura. Foram realizados exames para hepatite B devido ao exame positivo de seu parceiro um mês atrás. Os resultados dos exames de disfunção hepática foram compatíveis com

hepatite aguda apresentando valores de ALT e AST elevados, com predominância de ALT, além de elevação significativa de fosfatase alcalina e gamaglutamiltransferase indicando colestase hepática. Os resultados dos exames sorológicos foram:

- HBsAg: positivo
- Anti-HBc: positivo
- HBeAg: negativo
- Anti-HBe: positivo
- Anti-HBc IgM: positivo
- Anti-HAV IgM: negativo
- Anti HCV: negativo
- Sendo: ALT – Alanina aminotransferase, AST – aspartato aminotransferase, HBsAg – Antígeno de superfície de vírus da Hepatite B, Anti-HBc – anticorpo total contra Hepatite B, HBeAg – antígeno de vírus da Hepatite B do período de convalescença, Anti-HBe – anticorpo contra antígeno “e” da Hepatite B, Anti-HBc IgM – anticorpo contra vírus da Hepatite B durante a “janela negativa”, Anti-HAV IgM – anticorpo contra vírus da Hepatite A, Anti HCV – anticorpo contra vírus da Hepatite C.

A paciente teve alta com melhora do quadro após 15 dias de internação e ficou em seguimento ambulatorial. Após quase 10 meses do início do quadro desenvolveu marcador sorológico compatível com imunidade (Anti-HBs). O bebê nasceu em boas condições, foi vacinado e recebeu gamaglobulina hiperimune contra hepatite B nas primeiras 12 horas de vida e, após a segunda dose da vacina, desenvolveu marcador sorológico compatível com imunidade: Anti HBs e Anti-HBc positivos com HBsAg negativo. Poderemos, ao final desta seção, explicar como é feita a interpretação dos exames para infecção por Hepatite B e para a avaliação de imunidade em pessoas (ou neonatos) sujeitos a risco de contágio com HBV.

Não pode faltar

Para início de conversa, vamos relembrar os conceitos gerais dos mecanismos de defesa imunológica e a sua aplicação para o diagnóstico clínico. O primeiro conceito importante é que o mecanismo de defesa é direcionado contra uma variedade de substâncias estranhas ao organismo chamadas de **antígenos (Ag)**. Esses antígenos podem ser componentes da(s) membrana(s) ou do núcleo de microrganismos invasores patogênicos (vírus, bactérias, fungos e parasitas) ou moléculas (em geral epítopos de proteínas de superfície, do citoplasma ou liberados no plasma, e polissacarídeos) fortemente antigênicas e não necessariamente de microrganismos, podendo ser de eritrócitos, células tumorais ou órgãos transplantados, substâncias inoculadas por picadas de insetos, toxinas, alimentos não digeridos, etc. Os antígenos reagem com **anticorpos específicos** para cada antígeno e que são **imunoglobulinas (Ig)** produzidas e liberadas no soro durante a resposta imune. As imunoglobulinas que são pesquisadas nos imunoenaios podem ser de classe M (IgM) ou gamaglobulinas (IgG). O **IgM** é o anticorpo de primeira resposta, isto é, são liberados no plasma logo depois que a reação antígeno-anticorpo ocorre (fase aguda da resposta imune que, dependendo da força da resposta imune, permanece por cerca de seis meses e decai depois de 15 meses). O **IgG** é o anticorpo que pode permanecer no soro durante longo período de tempo e proporciona imunidade de longa duração (permanece durante anos) e, em uma segunda exposição ao mesmo antígeno, apresenta resposta muito mais intensa e duradoura devido a um processo conhecido como sensibilização ou memória. É a proteção que adquirimos com vacinações ou exposição a antígenos (imunização ativa) ou de forma passiva através do leite materno.



Assimile

A habilidade de nosso sistema imunológico em reconhecer o que é antígeno próprio (de células e tecidos do nosso organismo) e quais são os antígenos estranhos potencialmente perigosos é a base de um sistema imune inteligente (imunocompetente). Desarmar as defesas imunológicas, em um processo chamado tolerância imunológica, contra as células do próprio corpo ou microrganismos/corpusculos não

patogênicos evitando uma reação que custa muito para o organismo é uma das tarefas mais complexas que o sistema imunológico deve fazer. O desequilíbrio da resposta humoral (anticorpos resultantes da interação linfócitos T e B) e celular (toda a cadeia de células efetoras, complementos e o linfócito T citotóxico) do sistema imune resulta em hipersensibilidade e alergias, imunodeficiências e doenças autoimunes. O diagnóstico dessas disfunções pode ser feito por testes de citometria, moleculares e sorológicos (com a quantificação de antígenos e anticorpos humorais). Veja mais detalhes em: LEVINSON, Warrem. **Microbiologia Medica e Imunologia**. [recurso eletrônico], tradução: Danielle Soares de Oliveira Daian, tradução e revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca, 13ª. ed., McGraw Hill, 2016. Cap. 58. Bases celulares da resposta imune e Cap. 59. Anticorpos. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555578/cfi/497!4/2@100:0.00>>. Acesso em: 2 jul. 2018.

Vale a pena lembrar as **principais aplicações da sorologia ou imunodiagnóstico**:

- Triagem sorológica de doadores de sangue para bancos de sangue e hemocentros: além da tipagem sanguínea ABO e Rh, são feitos exames confirmatórios para vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus linfotrópico humano (HTLV), vírus de hepatite B (HBV) e hepatite C (HCV), sífilis e doença de Chagas para produção de hemoderivados.
- Diagnosticar doenças do sistema imunológico: autoimune (por exemplo, artrite, lúpus eritematoso, diabetes tipo I, hepatite autoimune, miastenia grave, doenças hemolíticas), doenças malignas (por exemplo, linfomas, leucemias, mieloma múltiplo), imunodeficiências adquiridas (como a AIDS, por intoxicação com fármacos ou radiação) ou congênicas e hipersensibilidade (alergias e dermatites, por exemplo).
- Auxiliar no diagnóstico, prognóstico e prevenção de doenças infecciosas através da detecção de anticorpos séricos contra vírus (hepatite, influenza, toxoplasma entre outros), bactérias (como a *E.coli*) e parasitas (por exemplo, teste sorológico rápido de doença de Chagas, malária e leishmaniose).
- Detectar substâncias como drogas ilícitas e lícitas, fármacos ou hormônios como o hCG (gonadotrofina coriônica).

humana) no teste de gravidez, o hormônio tireoideano entre vários outros.

- Identificar proteínas celulares (marcadores antigênicos celulares) e marcadores tumorais.

Testes laboratoriais aplicados a Imunologia Clínica: imunoensaios

Os imunoensaios (historicamente conhecidos como testes sorológicos) são realizados em amostras de soro ou outros fluidos biológicos (plasma, fluido oral, urina, líquido cefalorraquidiano) de pacientes para diagnóstico laboratorial. Podem demonstrar a presença de anticorpos específicos no soro, sendo este tipo de teste chamado de **indireto** ou de **diagnóstico presuntivo** porque nem sempre a presença de anticorpos na circulação indica presença de infecção. A identificação de presença de antígenos do agente infeccioso ou do próprio microrganismo é chamado de método **diagnóstico direto**, porém existem algumas limitações que é importante conhecer: pode haver poucos microrganismos circulantes ou mecanismos de camuflagem de vírus provocando resultados falso negativos e pode ocorrer reações cruzadas quando o anticorpo reconhece apenas uma parte do antígeno (determinante antigênico ou epitopo).

As vantagens dos testes sorológicos são a rapidez, a simplicidade de muitos tipos de testes, a possibilidade de automação, o baixo custo operacional com oferta de kits comerciais padronizados e um grande número de testes de laboratório remoto (TLR) atualmente disponíveis.



Refleta

Para a aplicação e interpretação correta dos diferentes testes sorológicos ou imunoensaios, é muito importante conhecer a validade ou acurácia (precisão, exatidão) de cada teste, a sua sensibilidade (capacidade de detecção de resultados corretamente positivos) e a sua especificidade (capacidade de diagnosticar corretamente os indivíduos saudáveis ou negativos). Igualmente importantes são o conhecimento do limiar de reatividade (ponto de corte ou "cut off") de um teste e as possíveis reações cruzadas, ou seja, a possibilidade de reação com outro antígeno ou anticorpo devido à similaridade tridimensional entre

as moléculas. Leia sobre o assunto em: McPHERSON, R. A., PINCUS, M.R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**, 21. ed., Barueri SP: Manole, 2012. Cap. 43 - Imunoensaio e Imunoquímica. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/938>>. Acesso em: 2 jul. 2018.

Os resultados de um teste podem ser qualitativos (resultado expresso como positivo ou negativo; detectado ou não detectado) ou quantitativo (título de um soro ou de anticorpos, carga viral, concentração de anticorpos). O **título de um soro ou título de anticorpos** refere-se à máxima diluição na qual um teste continua dando resultado positivo. Por exemplo, quando se refere que um soro deu título de 1:3000 para toxoplasmose, significa que mesmo diluindo-se a amostra 3000 vezes, a reação continua positiva. Mas **atenção!** Uma mesma amostra pode dar título de 1:100 em um tipo de teste (por exemplo, no teste de precipitação) e título de 1:10.000 em outro teste (por exemplo ELISA - *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) porque depende do limiar de detecção de cada ensaio. O título de um anticorpo é um parâmetro muito utilizado para avaliação sorológica de uma infecção. Por exemplo, existe um título a partir do qual o teste sorológico para doença de Chagas é considerado reagente (acima de 1:80 ou 1:160 por imunofluorescência indireta), da mesma forma que existem valores limites para a população normal (título de até 1:2 ou 1:4 para ser considerado não infectado).

Veja como preparar diluições em série para encontrar o título em: ESTRIDGE, B.H.; REYNOLDS, A.P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011, Lição 1-11-Preparação de diluição em série, p. 141.

Lembrem-se de que os imunoensaios podem ser usados para detecção de antígenos com anticorpos específicos chamados de anticorpos reagentes, ou para detecção de anticorpos (anticorpos analitos), normalmente IgG, IgM ou IgA. Os anticorpos reagentes são obtidos por imunização animal com antígeno purificado podendo ser anticorpos policlonais (geralmente com avidéz maior, mas especificidade baixa) ou monoclonais (direcionados a epítomos específicos, com especificidade alta, mas incapazes de reconhecer toda a molécula, podendo dar reação cruzada).

Vocês podem encontrar a descrição dos principais testes laboratoriais do tipo imunoenensaio em: BENDER, A.L., von MÜHLEN, C.A. **Testes laboratoriais aplicados à imunologia clínica**. Cap. 5, Voltarelli, Julio Cesar, Donadi, E. A. *Imunologia Clinica na Pratica Medica*, 4ª. ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2009. Disponível em: <<http://www.sobrau.com/wp-content/uploads/2016/11/Testes-Laboratoriais-Aplicados-Imunologia-Clinica.pdf>>. Acesso em: 2 jul. 2018.

Vamos então resumir os principais testes:

- **Testes de aglutinação:** teste simples caracterizado pela formação de agregados visíveis quando ocorre a reação do anticorpo com o antígeno particulado ou de superfície. São exemplos a hemaglutinação direta para tipagem de grupos sanguíneos do sistema ABO, testes para identificação bacteriana (toxoplasmose, tripanossomíase, salmonelose, etc.) e teste de aglutinação de látex para detecção de fator reumatoide IgM. Nesse teste, os IgM (marcador de fase aguda) reagem melhor do que os IgG (marcador de fase crônica) e, para confirmação do diagnóstico de infecção geralmente é realizado um imunoenensaio mais sensível, com utilização de marcador (enzimático, fluorescente ou radioativo).
- **Testes de inibição da aglutinação:** é o método utilizado para detecção de hCG (gonadotrofina coriônica humana) no teste de gravidez e através de testes de inibição da hemaglutinação direta ou indireta, podendo-se detectar a presença de anticorpos virais (rubéola, sarampo, influenza) ou antígenos haptenos (molécula pequena que gera resposta imunológica somente quando acoplada a proteínas) na hepatite e na hemofilia.
- **Testes de precipitação em gel:** envolvem combinação de antígeno solúvel com anticorpos solúveis, sendo que neste teste os anticorpos IgG são os que reagem melhor diferentemente do teste de aglutinação.
- **Imunodifusão radial dupla ou simples:** detecta IgG, IgM e IgA presentes no soro que é colocado em poços e difunde para o gel contendo anti-IgG ou anti-IgA ou anti IgM. Pode estimar a concentração avaliando o halo de precipitação e comparando com padrões.

- **Eletroforese Rocket:** é similar à imunodifusão, mas usa corrente elétrica e a precipitação ocorre em forma de foguete (*rocket*) e **imunoeletroforese** que pode, por exemplo, analisar anormalidades de globulinas séricas.
- **Técnica envolvendo dispersão de luz** como a **nefelometria** é usada para detecção de subclasses de imunoglobulinas e proteínas plasmáticas específicas como haptoglobulina, alfa-1 antitripsina, fator reumatoide e proteína C reativa.
- **Técnicas de fixação do complemento** são métodos sensíveis para detectar anticorpos específicos. Geralmente são realizados em laboratórios de referência para detectar infecções virais ou fúngicas incomuns, para os quais não existem testes disponíveis.
- Existem **vários testes com anticorpos marcados** como o Imunoensaio Enzimático (EIA) e o imunoensaio cromatográfico (imunocromatografia) disponíveis na forma de kits.
- **Ensaio com marcadores fluorescentes** como a reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) e **ensaios com marcadores enzimáticos** como o ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*): são considerados testes confirmatórios para diagnóstico de diversas doenças podendo detectar IgG, IgA e IgM.
- O radioimunoensaio (RIA) com a utilização de **marcador radioativo**, tendo diversas aplicações.
- Para **testes de genotipagem** (detecção de DNA ou RNA de vírus) e de antígenos de classe II envolvidos em doenças autoimunes podem ser usadas técnicas de *imunoblotting* de proteínas, como as técnicas de *Western blot*.

Hepatitis virais

Para exemplificar a aplicação do imunodiagnóstico em doenças infecciosas, vamos detalhar os marcadores imunológicos das hepatites virais. A hepatite é um processo inflamatório do fígado que causa lesão e morte de células hepáticas e pode ser aguda ou crônica. A causa mais comum das hepatites agudas é a infecção por vírus, existindo cinco tipos de vírus: vírus da hepatite A (HAV), vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), vírus da hepatite D (HDV) e vírus da hepatite E (HEV). Os vírus HBV e HCV podem se associar com

doença hepática crônica, são transmitidos por contato sexual ou com sangue e causam maior dano ao fígado exigindo maior efetividade no seu diagnóstico precoce para evitar a evolução da doença para a fase crônica. Os outros tipos de hepatite (A, D e E) normalmente são agudos, tem cura espontânea não necessitando de tratamento, ocorrendo na forma de coinfeção da hepatite B (vírus da hepatite D, HDV) ou são transmitidos por via fecal-oral (HEV e HAV) estando relacionados com as condições de saneamento básico, higiene e qualidade da água. O diagnóstico diferencial é importante, pois outros vírus (citomegalovírus, *Epstein Barr*, herpes e febre amarela) podem causar hepatites agudas, havendo ainda as hepatites agudas e crônicas não virais (medicamentoso, autoimune, doença de Wilson, hemocromatose, do alcoolismo ou por produtos tóxicos).

Mais detalhes sobre esse assunto podem ser vistos em: HAMMER, G. D., McPHEE, S. J. **Fisiopatologia da doença:** uma introdução à medicina clínica [recurso eletrônico], 7. ed., Porto Alegre: AMGH, 2016. Cap.14 - Doenças do fígado, assunto Fisiopatologia de doenças do fígado selecionadas.

Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555288/cfi/417!4/4@0.00:29.3>>. Acesso em: 3 jul. 2018.

O quadro clínico na fase aguda é semelhante para todas as hepatites, podendo ser diagnosticadas por sintomas descritos semelhantes a gripe, como febre, fadiga, dores musculares e nas articulações e falta de fome. Depois da fase prodrômica os sintomas tendem a desaparecer e podem surgir a icterícia e sinais de disfunção hepática detectados laboratorialmente por alterações de transaminases séricas, gamaglutamiltransferase e fosfatase alcalina. É importante conhecer que, juntamente com os sinais clínicos de inflamação dos hepatócitos, a viremia se eleva até o seu valor máximo (que pode ser variável) e depois decai. A concentração de antígeno do vírus de hepatite diminui à medida que aumenta a concentração de anticorpo IgM e somente vários meses depois ocorre aumento do anticorpo IgG. O grande problema é que a maioria das hepatites virais são assintomáticas na fase de transmissão da doença.



Procure conhecer mais detalhes sobre a patogênese de hepatites virais e sobre o curso dos níveis séricos de antígeno e de anticorpos nas diferentes fases da doença, assistindo o vídeo e/ou buscando informações em livros:

- Vídeo: **Hepatites Virais**. Postado por Cursos TELELAB, 10/nov./2014, duração: 8:08 minutos, Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=Vh9dVdrFo9o>. Acesso em 26/06/2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde [caderno único]**, 2ª. Ed., Recurso eletrônico, Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Hepatites Virais, p. 258-264. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>. Acesso em 25/06/2018.

As hepatites B e C são as mais frequentes no mundo todo, são transmitidos principalmente por via sexual, podendo haver infecção por agulhas e seringas e por via transfusional. Pode haver transmissão parenteral do HCV: procedimentos médicos, odontológicos, de acupuntura ou de tatuagem, alicates de manicure e até escova de dentes. A transmissão materno-fetal também é possível, mas menos frequente do que para HBV, sendo importante a possibilidade de infecção de profissionais da saúde por picada acidental com agulha infectada, havendo até mesmo a recomendação de vacinação preventiva nesses casos, pois a hepatite C (assim como a hepatite B) é vista como uma causa comum de cirrose e carcinoma hepatocelular.

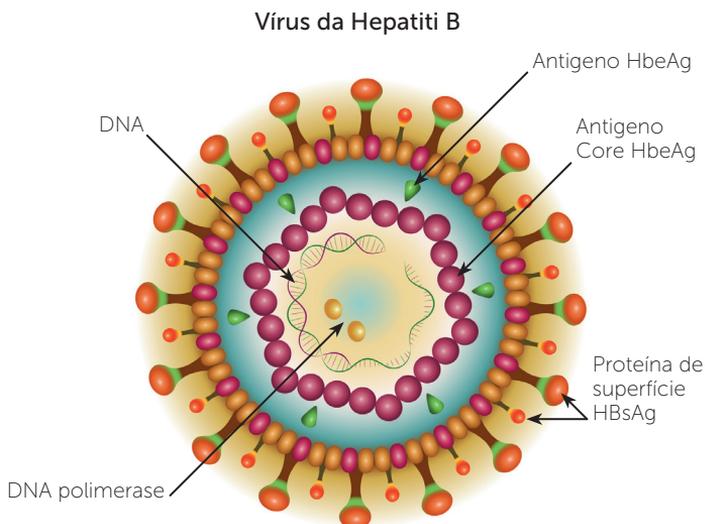
O **diagnóstico laboratorial da hepatite C** é feito por detecção do anti-HCV que é encontrado tardiamente (3 meses após a infecção), sendo que na fase mais aguda só é possível identificar a infecção pelo RNA viral por método de biologia molecular (reação em cadeia da polimerase, PCR). Todos os profissionais de saúde que mantêm RNA-HCV positivo na 12ª semana após acidente com material contaminado devem ser avaliados sobre a necessidade de ser tratado com medicamentos antivirais para prevenir evolução para forma crônica. Para escolha adequada do tratamento e de sua duração em pacientes com diagnóstico positivo para hepatite C, a Sociedade

Brasileira de Hepatologia recomenda que seja feita a confirmação da etiologia pelo HCV por realização de biopsia hepática, além da quantificação da carga viral (antígeno *core* do HCV e anticorpo IgG anti-HCV) através de teste sorológico por enzima imunoensaio de adsorção (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*) e acompanhamento constante do ALT (alanina aminotransferase) que é o marcador de lesão hepatocelular.

O **diagnóstico laboratorial da hepatite B** é um pouco mais complexo, mas extremamente importante, pois a infecção por hepatite B, por transmissão sexual, permanece como importante problema de saúde pública em todo o mundo, podendo resultar em diferentes graus de doença hepática: hepatite aguda autolimitada, hepatite fulminante, hepatite crônica com progressão para cirrose, além do estado de portador crônico assintomático. O **antígeno HBsAg** (antígeno de superfície do vírus de hepatite B) é o primeiro marcador sorológico detectável, aparecendo entre a 2ª e 10ª semana após exposição ao vírus, antes da elevação de ALT (alanina aminotransferase) e das manifestações clínicas. O anticorpo contra esse antígeno (**anti-HBsAg**) em geral persiste na maioria das pessoas por toda a vida, mostrando imunização enquanto que, nas infecções autolimitadas, a viremia rapidamente se torna indetectável. Se a infecção pelo vírus HBV persiste, a resposta imune inicial é substituída pela produção de anticorpo **anti-HBc IgM**, que é um marcador de fase aguda direcionado contra os **antígenos HBcAg** (antígeno do nucleocapsídeo do vírus denominado *core*) que aparece 30 dias após a infecção e permanece por mais 6 meses aproximadamente. Essa fase é chamada de **fase imunotolerante** porque os anticorpos estão sendo produzidos para combater a viremia elevada (HBV-DNA sérico elevado).

Logo depois ou ao mesmo tempo, passa a ser produzido o anticorpo **anti-HBeAg** (contra o **antígeno HBeAg** que é uma partícula "e" do citoplasma do vírus). Essa é a **fase imunorreativa** que pode durar semanas ou anos e a atividade inflamatória no fígado pode ser moderada ou grave (com fibrose acelerada). A permanência do antígeno HBeAg no 3º mês após infecção indica evolução para a fase crônica, sendo produzidos anticorpos IgG contra os antígenos HBc e HBs. Para entender melhor esses diferentes antígenos do vírus da hepatite B, observe a Figura 4.2 onde o vírus de hepatite B e seus antígenos encontram-se ilustrados.

Figura 4.2 | Esquema do vírus de hepatite B e da localização dos antígenos HBsAg, HBcAg e HBeAg



Fonte: adaptada de iStock.



Exemplificando

Os testes imunológicos para diagnóstico de hepatite B detectam os antígenos HBsAg, HBcAg e HBeAg e os anticorpos produzidos contra esses diferentes antígenos virais: Anti-HBsAg, anti-HBcAg e anti-HBeAg. Na hepatite aguda os anticorpos são imunoglobulinas IgM e na fase crônica são imunoglobulinas IgG. Os exames laboratoriais para detecção de IgM ou IgG podem ser realizados em amostras de soro, através de quimioluminescência que utilizam reação de oxidação com luminol e isoluminol para emissão de luz que é captada por filme fotográfico com detector. Esse ensaio é altamente sensível e o nível de detecção é de atomol. Para detecção do anti-HBeAg geralmente se utiliza método imunoenzimático de adsorção (ELISA). Para detecção do antígeno viral HBsAg existem técnicas imunocromatográficas do tipo teste rápido (que usa o sangue total), mas para detecção de infecção por vírus mutante ou quando o HBsAg não pode ser detectado por imunoensaio laboratorial, é necessário realizar testes moleculares para detecção do HBV-RNA.

Sem medo de errar

Vamos lembrar e resolver o nosso desafio. Trata-se do caso de Clarisse, que trabalha como agente de saúde, tem 22 anos e está grávida de 4 meses. Ela deu entrada no hospital com quadro de icterícia, mialgia, astenia, abdome doloroso à palpação em hipocôndrio direito e hepatomegalia. Notem que estes **são sintomas de hepatite aguda**. As suas fezes estão esbranquiçadas e a urina escura. Vejam que temos aqui a hipocolia fecal – fezes esbranquiçadas por falta de urobilinogênio/bile e colúria – urina escura devido à presença de bilirrubina. Esses **são sinais de que há uma colestase** (redução no fluxo da bile nos canais biliares) levando ao acúmulo de bilirrubina no sangue que explica a **icterícia** (cor amarelada da pele). O aumento no tamanho do fígado (hepatomegalia) com dor, indica que está se desenvolvendo um processo inflamatório no fígado, ou seja, a hepatite.

Foram realizados exames para hepatite B devido ao exame positivo de seu parceiro um mês atrás. Os resultados dos exames de disfunção hepática foram compatíveis com hepatite aguda apresentando valores de ALT e AST elevados, com predominância de ALT, além de elevação significativa de fosfatase alcalina e gama-glutamilttransferase, indicando colestase hepática. Os resultados dos exames sorológicos foram:

- HBsAg: positivo
- Anti-HBc: positivo
- HBeAg: negativo
- Anti-HBe: positivo
- Anti-HBc IgM: positivo
- Anti-HAV IgM: negativo
- Anti HCV: negativo
- Sendo: ALT – Alanina aminotransferase, AST – aspartato aminotransferase, HBsAg – Antígeno de superfície de vírus da Hepatite B, Anti-HBc – anticorpo total contra Hepatite B, HBeAg – antígeno de vírus da Hepatite B do período de convalescença, Anti-HBe – anticorpo contra antígeno “e” da Hepatite B, Anti-HBc IgM – anticorpo contra vírus da Hepatite B durante a “janela negativa”, Anti-HAV IgM –

anticorpo contra vírus da Hepatite A, Anti HCV – anticorpo contra vírus da Hepatite C.

Interpretando os resultados: o teste para presença de vírus de hepatite B deu positivo para o antígeno de superfície HBsAg, mas não para o antígeno HBeAg, provavelmente devido à produção dos anticorpos anti-HBe. Também se observa anti-HBc (anticorpo total IgM + IgG) e anti-HBc IgM contra o antígeno *core* do capsídeo nuclear do vírus, ambos positivos. A presença de positividade para o antígeno viral HBsAg indica que a infecção está prevalecendo e o vírus está se replicando apesar da resposta imune da paciente. Os testes para outros tipos de hepatite deram negativos: ausência de anticorpos para antígeno de hepatite A (anti-HAV IgM) e para hepatite C (anti-HCV). Foi importante realizar esses testes porque ela trabalha como agente de saúde, fazendo parte de um grupo de risco, mas a maior possibilidade é que a fonte de infecção tenha sido por contato com o parceiro infectado pela hepatite B. O **anti-HBe positivo indica que a paciente está no período de convalescença** com chance de resolução espontânea, sem a necessidade de medicamentos que apresentam muitos efeitos colaterais. No entanto, filhos de mães infectadas por hepatite B correm alto risco de desenvolver, a curto ou médio prazo, a hepatite crônica. Podem apresentar icterícia ao nascimento e necessitar fototerapia, sendo imprescindível a observação cuidadosa da possibilidade de a criança nascer com a infecção por HBV por transmissão vertical (de mãe para filho). A resolução da hepatite aguda é diagnosticada pela negativação do HBsAg e aparecimento de anti-HBs total positivo.

A paciente teve alta com melhora do quadro após 15 dias de internação e ficou em seguimento ambulatorial. Após quase 10 meses do início do quadro desenvolveu marcador sorológico compatível com imunidade (Anti-HBs). O bebê nasceu em boas condições, foi vacinado e recebeu gamaglobulina hiperimune contra hepatite B nas primeiras 12 horas de vida e, após a segunda dose da vacina, desenvolveu marcador sorológico compatível com imunidade: Anti HBs e Anti-HBc positivos com HBsAg negativo. Vejam que foram muito importantes a vacinação e a **administração da gamaglobulina hiperimune** que também é conhecida como imunoglobulina humana hiperimune, e é um produto contendo altos títulos de anticorpo IgG que, no caso, foi contra o vírus de hepatite B, mas também existe contra hepatite A, raiva, tétano e varicela.

Hepatite C em idosos

Descrição da situação-problema

Sr. Eduardo é aposentado, tem 60 anos de idade, trabalhava como barbeiro no interior de Minas Gerais e está com problemas de saúde há algum tempo, e atualmente seu quadro vem piorando a cada dia, pois está com tontura, enjoo, vômitos, febre, dor abdominal, pele e olhos amarelados, urina escura e fezes muito claras. Foi internado no hospital porque vomitou sangue, a barriga está inchando e ele sente dores abdominais. Devido à suspeita de hepatite crônica foram solicitados exames de marcadores de função hepática, testes para infecção por vírus de hepatite B e C, herpes, citomegalovírus e HIV. Os exames revelaram hepatite crônica por HCV (vírus de hepatite C) sem coinfeção por HIV, e foi então solicitado biópsia hepática para estadiamento da hepatite crônica e definir o tratamento. Explique como foram realizados os testes laboratoriais e a frequência com que pode ocorrer casos de hepatite C em idosos.

Resolução da situação-problema

Os exames de função hepática para diagnóstico de hepatite são:

- As aminotransferases: ALT ou alanina aminotransferase e AST ou aspartato aminotransferase, cuja elevação indica lesão de hepatócitos, sendo que quanto maior a relação AST/ALT mais grave é a lesão.
- Gama GT ou gamaglutamiltransferase: sua elevação indica colestase intra-hepática que pode ser secundária à cirrose hepática.

A presença de obstrução de vias biliares e a inflamação e fibrose do parênquima hepático causa aumento na pressão sanguínea portal e, como consequência, há formação de varizes no esôfago e sangramentos que aparecem nos vômitos (hematêmese). Essa alteração da circulação do sangue também pode causar insuficiência cardíaca e a ascite, sinais clínicos que podem estar presentes na hepatite crônica. A biópsia hepática é feita para avaliar se há acúmulo de bile intra-hepática, o grau de

fibrose e a gravidade da lesão no fígado para saber se o tratamento com interferon-alfa e ribavirina (antiviral) é indicado ou se será necessário transplante do fígado.

- Os exames essenciais para pesquisa de infecção viral são: HBs-Ag, HBc-Ag, HBe-Ag, anti-HBs, anti-HBc, anti-HBe para a hepatite B e anti-HCV e PCR qualitativo do RNA de hepatite C.
- Existem testes sorológicos para HIV (anti-HIV 1 e anti-HIV 2) utilizando o imunoensaio enzimático ELISA e em caso de positividade em um dos testes, a confirmação é feita por imunofluorescência indireta (IFI) ou *Western blot*.
- Para detectar o anticorpo anticitomegalovirus (IgG e IgM) utiliza-se o PCR (reação em cadeia polimerase) ou um teste rápido CMG IgG/IgM por imunoensaio de fluxo lateral.
- O teste para herpes simples vírus (HSV) tipo 1 e tipo 2 deve ser feito no DNA, existindo teste rápido para HSV 1 IgG/IgM.

Atualmente tem aumentado o número de casos de hepatite C em idosos e em parte, isso se deve à redução na capacidade imunológica devido ao envelhecimento. Outro fato importante para explicar esse aumento é o fato de que somente a partir de 1993 (25 anos atrás) o controle de hemoderivados permitiu a eliminação de risco de transmissão de hepatite B ou C por transfusão ou hemodiálise e os métodos modernos de esterilização de objetos utilizados por salões de manicure e barbeiros, para colocação de piercings ou para tatuagens reduziram o risco de transmissão de hepatite C. A hepatite C pode permanecer silenciosa (assintomática) durante vários anos e se manifestar até mesmo após os 50 anos de idade. Não existe vacina para hepatite C como ocorre para a hepatite B e, da mesma forma que a hepatite B, ela pode causar hepatite crônica com necrose de hepatócitos, fibrose e carcinoma hepatocelular.

Veja mais detalhes em: BARONE, A. A., GONÇALVES Jr., F. L., FOCACCIA, R. Hepatites virais crônicas: diagnóstico e tratamento atual. Especial Hepatites, **Tratamento Hoje**, Boletim terapêutico de HIV/Aids, DST e Hepatites Virais da Sociedade Brasileira de Infectologia, ano I, n. 4, p. 1-4, dezembro 2003.

Disponível em: <https://www.infectologia.org.br/admin/zcloud/137/2016/07/tratamento_hoje_04.pdf>. Acesso em: 3 jul. 2018.

Faça valer a pena

1. Estudo piloto sugere que pacientes HBeAg positivos conseguem a supressão virológica e perda de HBeAg com menor nível de HBsAg no soro por tratamento com entecavir em longo prazo e que a terapia de combinação sequencial com imunomoduladores podem aumentar a perda de HBsAg e a restauração imune parcial.

(Sequential combination therapy with IFN, rhIL-2 and therapeutic vaccine enhanced HBsAg loss and led to partial immune restoration in entecavir-suppressed CHB patients (the Endeavor study) – Di Wu et al - "The Liver Meeting® 2017 – Abstract 931).

Disponível em: <<https://www.hepato.com/2017/11/o-que-foi-apresentado-de-novidades-na-hepatite-b-no-the-liver-meeting-2017/>>. Acesso em: 4 jul. 2018.

Com relação a esta pesquisa que foi apresentada no Encontro Internacional *The Liver Meeting 2017* ocorrido em Washington em novembro de 2017, avalie as seguintes afirmativas:

- I. HBeAg é um antígeno do vírus de hepatite B que se encontra na forma de uma partícula denominada "e" no interior do vírus.
- II. HBsAg é o antígeno de superfície do vírus, cuja positividade no imunoensaio indica resolução da infecção por vírus de hepatite B.
- III. Menor nível de HBsAg e perda de positividade para o HBeAg é um indício de que o medicamento antiviral está efetivamente combatendo o vírus.
- IV. Restauração imune parcial refere-se ao aumento na capacidade do organismo infectado produzir mais imunoglobulinas (IgG e IgM) contra o vírus da hepatite.

Assinale a alternativa contendo apenas as afirmativas corretas:

- a) I, II e III.
- b) II, III e IV.
- c) I, III e IV.
- d) I, II e IV.
- e) I, II, III e IV.

2. Um total de 325 milhões de pessoas em todo o mundo vivem com uma infecção crônica de hepatite B ou C, e poucas sabem, de acordo com números divulgados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). [Apenas 9% dos enfermos de hepatite B sabem que contraíram a doença, de acordo com a OMS. No caso da hepatite C, 20% dos enfermos têm conhecimento da doença]. **Revista Exame**, disponível em: <<https://exame.com>>.

abril.com.br/ciencia/325-milhoes-de-pessoas-tem-hepatite-e-poucas-sabem/>. Acesso em: 4 jul. 2018.

Com relação ao assunto contido nessa notícia, avalie as seguintes afirmativas:

- I. A hepatite B é transmitida pelo sangue (transfusões, transmissão vertical mãe-filho na gravidez e parto, hemodiálise, contato com sangue até mesmo seco, pois o vírus HBV é bastante resistente) e, principalmente, por contato sexual.
- II. A hepatite C pode ser transmitida por via fecal-oral estando relacionada com problemas de higiene e saneamento básico.
- III. A hepatite B e C podem se manter assintomáticas por vários anos, e muitos indivíduos são transmissores da doença, sendo por isso importante a realização de teste sorológico preventivo e vacinação (existente para a hepatite B).
- IV. A hepatite B é transmitida frequentemente por objetos que não foram adequadamente esterilizados como alicates de manicure, piercings e equipamentos de tatuagem, sendo a transmissão por via sexual mais rara.

Assinale a alternativa que contém apenas as afirmativas corretas.

- a) I e II.
- b) I e III.
- c) II e III.
- d) II e IV.
- e) I, III e IV.

3. Os imunoenaios utilizados para o diagnóstico de patologias em humanos têm como base a reação entre antígeno e anticorpo específico, havendo a possibilidade de utilização de anticorpos reagentes monoclonais ou policlonais para detecção de antígenos microbianos, celulares, antígenos solúveis ou particulados, marcação direta ou indireta de anticorpos com produtos fluorescentes, radioativos ou resultantes de reação enzimática e/ou bioquímica.

Com relação aos detalhes técnicos dos imunoenaios avalie as seguintes afirmativas:

- I. O imunoensaio qualitativo fornece resultados de concentração de anticorpos, antígenos ou imunorreagentes presentes nas amostras biológicas.
- II. O título de um anticorpo indica a diluição máxima da amostra na qual o resultado do teste continua sendo positivo.

- III. A sensibilidade dos diferentes testes de imunoensaio variam muito, sendo considerados testes de melhor sensibilidade aqueles que são capazes de fornecer corretamente os resultados positivos, e os testes terão especificidade maior quando identificam corretamente os resultados negativos.
- IV. Diversos recursos como ensaios conjugados, heterogêneos, com utilização de marcadores radioativos ou fluorescentes e detectores mais precisos, assim como ensaios de inibição ou competição tem melhorado tremendamente a sensibilidade dos imunoensaios e a sua rapidez.

Assinale a alternativa que contém todas as afirmativas corretas:

- a) I, II e III.
- b) I, II e IV.
- c) I e III.
- d) II, III e IV.
- e) III e IV.

Seção 4.3

Hematologia e imunologia

Diálogo aberto

Caros alunos, nesta parte do programa, vamos abordar a aplicação da Imunologia Clínica para: 1) detectar células sensibilizadas por aloanticorpos ou identificar anticorpos irregulares (atípicos) para prevenção de reações transfusionais e doenças hemolíticas; 2) apontar as disfunções de diversos componentes (celulares, proteínas, complementos) do sistema imunológico para auxiliar no diagnóstico de imunodeficiências e de doenças autoimunes e 3) fazer o diagnóstico e acompanhamento de diferentes tipos de infecções (causadas por vírus, bactérias, fungos ou parasitas) com base em reações antígeno-anticorpo, com a possibilidade de detecção dos diferentes sorotipos existentes para um mesmo microrganismo.

Esses conhecimentos serão essenciais para a resolução do novo desafio de André em sua última etapa do estágio no hospital, e que consiste em analisar os resultados dos exames laboratoriais realizados em uma paciente, rever como foram realizados esses exames como forma de controle de qualidade destes e verificar se os resultados obtidos permitirão um diagnóstico confiável.

Os exames são de uma paciente chamada Edite que tem 54 anos e é portadora de hipertensão arterial essencial com pressão arterial constantemente elevada, apesar do uso de quatro drogas para tratamento. Iniciou tratamento com metildopa há poucas semanas, mas apresentou cefaleia, icterícia e tontura seguida de síncope e, por esse motivo, foi levada à emergência do hospital onde André trabalha. Os resultados dos exames laboratoriais realizados foram os seguintes:

- Hemoglobina: 9,2 g/dL (valor de normalidade: 11,5 – 16,0 g/dL)
- HCM e VCM: dentro da normalidade
- Leucócitos e plaquetas: dentro da normalidade
- Ferro sérico, Ferritina e CTLFe – TIBC (capacidade de transportar ferro): Normais

- Vitamina B12 e Folatos – Normais
- Bilirrubina Total: 45 mol/L (valor de normalidade: 3 – 17 mol/L)
- Enzimas de perfil hepático (AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina): sem alteração
- Reticulócitos: 12 % (valor de normalidade 0,5 – 2,5 %)
- Urobilinogênio urinário: positivo
- Coombs direto: positivo
 - Sendo: HCM – Hemoglobina Corpuscular Média, VCM – Volume Corpuscular Médio, AST – Aspartato Aminotransferase, ALT – Alanina Aminotransferase, GGT – gamaglutamil Transferase, CTLFe – Capacidade Total Ligadora de Ferro.

Não pode faltar

Primeiramente vamos relembrar alguns conceitos básicos importantes para entender o que são os **aloanticorpos** e a **aloimunização**. O sangue é comparado com um tecido vivo que circula por todos os órgãos do corpo. As células do sangue, assim como as dos órgãos do nosso corpo, possuem antígenos próprios que são únicos para cada indivíduo, de forma que o sangue ou órgãos de outras pessoas são rejeitados pelo sistema imunológico por conterem antígenos estranhos contra os quais o nosso sistema imunológico reage com a produção de **aloanticorpos** (maioria do tipo IgG). A esse processo se dá o nome de **aloimunização** e, como consequência da propriedade de memória imunitária, numa próxima exposição a esses antígenos (sejam eles de agentes patogênicos, tecido transplantado ou sangue transfundido), a reação anticorpo-antígeno ocorrerá. Essa reação poderá ser fraca ou forte dependendo da antigenicidade do antígeno e da quantidade de anticorpos circulantes ou título de anticorpos. Vamos começar pelos antígenos dos grupos sanguíneos. Os sistemas ABO e Rh são responsáveis por 98% dos problemas de incompatibilidade sanguínea, porém os outros antígenos e anticorpos chamados de irregulares e que são responsáveis pelos outros 2% de incompatibilidade, podem trazer complicações graves e até mesmo óbito pós-transfusional.

Foram reconhecidos mais do que 30 grupos sanguíneos possíveis e cerca de 285 antígenos eritrocitários de importância clínica, o que torna a investigação da compatibilidade transfusional bastante complicada, porque a tipagem sanguínea ABO e Rh (do antígeno D) por aglutinação direta não detecta a sensibilização das hemácias por aloimunização contra antígenos eritrocitários dos sistemas Kell, Duffy, Kidd nem antígenos de baixa frequência do sistema Rh (D fraco, C, c, E, e). Os antígenos mais importantes clinicamente que podem estar presentes na superfície eritrocitária, diferentes do sistema ABO, são: 1) do **Sistema Rh**: D, C, E, c, e, 2) do **sistema Kell**: K e k; 3) do **sistema MNS**: M, N, S, s; 4) do **sistema Kidd**: Jk^a e Jk^b; 5) do **sistema Duffy**: Fy^a e Fy^b; 6) do **sistema Lewis**: Le^a e Le^b; 7) do **sistema P**: P₁; 8) do **sistema Lutheran**: Lu^a e Lu^b. Veja mais detalhes em: OLIVEIRA, M. B. S. C., RIBEIRO, F. C., VIZZONI, A. G. (org.) **Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia**, Rio de Janeiro: EPSJV, 2013. Imuno-hematologia eritrocitária, p. 65. Disponível em: <http://www.retsus.fiocruz.br/sites/default/files/publicacoes/arquivos/livro_conceitos_basicos_e_aplicados_em_imuno-hematologia.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2018.

Com a exceção do antígeno D do sistema Rh que aglutina as hemácias quando exposto ao anticorpo anti-D, todos os outros induzem à formação de anticorpos que não são capazes de aglutinar as hemácias, mas formam na sua superfície um complexo antígeno-anticorpo IgG que resulta em **sensibilização das hemácias**. As hemácias sensibilizadas reagem com a anti-globulina humana (anti-IgG humana ou AGH) resultando em aglutinação eritrocitária e, dessa forma, o **teste de antiglobulina direta** ou **Coombs direto** tornou-se um método para a detecção desses anticorpos eritrocitários que pode receber várias denominações: anticorpos irregulares, fracos, incompletos ou aloanticorpos.

Diversas pesquisas foram feitas para se identificar quais são os tipos de aloanticorpos mais frequentes em diferentes etnias e quais são os mais antigênicos, porque existem alguns aloanticorpos eritrocitários que estão frequentemente envolvidos em reações transfusionais (muitas vezes com hemólise grave) nos pacientes politransfundidos (que receberam mais do que seis transfusões no período de um ano), na doença hemolítica do recém-nascido ou na anemia hemolítica autoimune.



Aloanticorpos é o nome que se dá para os anticorpos não naturais produzidos em resposta à imunização por exposição a antígenos estranhos. Os anticorpos IgM (do sistema sanguíneo ABO) causam forte aglutinação, mas não atravessam a barreira placentária enquanto os anticorpos IgG resultantes de aloimunização (como os anti-Rh D) são pequenos e atravessam a barreira placentária. Esses anticorpos anti-Rh D são produzidos pelo sistema imunológico da mãe Rh negativo durante a gestação do primeiro filho Rh positivo e, em uma segunda gestação de feto Rh positivo, podem destruir e causar a lise das hemácias do feto. Essa doença é conhecida como Doença Hemolítica do Recém-Nascido (DHRN) ou eritroblastose fetal, porque com a destruição maciça de hemácias no recém-nascido, a medula óssea passa a liberar células vermelhas imaturas (eritroblastos) na circulação, sendo a macrocitose com presença de reticulócitos e esferócitos no hemograma do recém-nascido um sinal indicativo da doença hemolítica. O diagnóstico pode ser feito por tipagem sanguínea ABO-Rh e teste de Coombs por cordocentese (sangue do cordão umbilical intra-útero ou no recém-nascido) para pesquisa de anticorpos IgG nos eritrócitos. A doença hemolítica do recém-nascido pode ser resultado de qualquer tipo de incompatibilidade sanguínea entre mãe e feto [ABO, Rh (D), Rh (C/c), Rh (E/e), Kell, Fy^a (Duffy) e Jk^a (Kidd)], existindo atualmente um teste denominado *cell-free DNA* que permite realizar a tipagem sanguínea do feto de forma não invasiva, através do sangue materno. Referência indicada: Sociedade Portuguesa de Pediatria. Seção Neonatologia. **Consenso clínico**: Doença hemolítica do feto e recém-nascido. Edição n. 1, 2014. Disponível em: <https://www.spneonatologia.pt/wp-content/uploads/2016/11/2014-D_Hemolitica.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

Existe a recomendação para que toda mulher Rh negativo grávida de parceiro Rh positivo faça a prova de Coombs direto para os antígenos C, c, E, e (com soro poliespecífico CDE), sendo a classificação feita como Rh negativo ou Rh negativo CDE positivo. Mulheres Coombs positivo devem realizar, durante o exame pré-natal, o teste de **Coombs indireto**, isto é, um teste para a presença de anticorpos irregulares no seu soro, com a determinação do título de anticorpos. Em casos com título menor que 1/16 o teste deverá ser repetido a cada trimestre e em casos com título maior

que 1/16 o teste deverá ser repetido a cada 4 semanas e o feto deverá ser monitorado para prevenir as consequências da DHRN: anemia hemolítica, hiperbilirrubinemia com risco de encefalopatia, hepatoesplenomegalia e hidropsia (edema generalizado com acúmulo de líquido pleural e pericárdico). Esse assunto pode ser encontrado em:

MALONO, J. et al. **Doença hemolítica do recém-nascido**. Consensos Nacionais em Neonatologia, 2004, p. 139-142. Disponível em: <http://www.spp.pt/UserFiles/File/Consensos_Nacionais_Neonatologia_2004/Doenca_Hemolitica_RecemNascido.pdf>. Acesso em: 8 jul. 2018

Quando existe suspeita de aloimunização de um paciente que irá receber concentrado de hemácias ou transfusão sanguínea, o seu soro deverá ser fenotipado para avaliação de compatibilidade. Um estudo feito em 3.044 pacientes politransfundidos no Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, mostra alta incidência de aloanticorpos isolados ou em combinação, autoanticorpos e autoanticorpos contra antígenos de baixa frequência. Veja mais detalhes em: CRUZ, R. O. et al. Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos. **Einstein** v. 9, n. 2, pt 1, p. 173-178, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/eins/v9n2/pt_1679-4508-eins-9-2-0173.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

Teste de antiglobulina humana ou Teste de Coombs

Coombs direto ou Teste Antiglobulina Direto (TAD) é um método simples que permite detectar hemácias revestidas *in vivo* por imunoglobulinas e/ou frações do complemento (C3 e C3d).

Para realização do teste é necessário **soro de antiglobulina humana (AGH)** obtido por sensibilização de animais com globulinas humanas e/ou anticorpos monoclonais. Soros antiglobulinas humanas são disponíveis comercialmente e podem ser: soros monoespecíficos (contém apenas uma especificidade de anticorpos anti-IgG anti-IgM, anti-IgA ou contra componentes específicos do complemento como C3b, C3c ou C3d) ou poliespecíficos (contém anticorpos contra IgG humana e contra frações do complemento C3).

O TAD é um teste muito sensível que se caracteriza pela reação das hemácias diretamente com o soro antiglobulina: observa-

se aglutinação quando os anticorpos irregulares testados estão presentes na superfície das hemácias do paciente.

Coombs indireto ou teste da antiglobulina indireto (TAI) – é um teste realizado para detectar anticorpos circulantes contra hemácias sensibilizadas. A triagem é feita testando-se o soro do paciente contra hemácias fenotipadas do grupo O (fornecidas por fabricação comercial), que fazem parte de um grupo reagente escolhido de um painel de triagem que deve conter todos os antígenos clinicamente importantes, inclusive o antígeno Di^a, adicionado recentemente. O Coombs indireto pode ser aplicado para testes de compatibilidade, triagem de anticorpos (aloanticorpos ou autoanticorpos), identificação de anticorpos, fenotipagem de hemácias e estudos de titulação de anticorpos. Veja para referência: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imunohematologia laboratorial**, 2014. Cap. 4 – Teste de Antiglobulina, p. 45. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.



Exemplificando

O teste de antiglobulina humana (Coombs direto ou indireto) pode ser aplicado por **tecnologia de aglutinação em coluna (teste em gel)**. Em colunas de gel teste (ou cartões de gel teste Coombs) contendo a antiglobulina humana, adiciona-se as hemácias a serem testadas (Coombs direto) ou adiciona-se o soro do paciente em cartões com hemácias comerciais fixadas no gel e acrescenta-se a antiglobulina (Coombs indireto) e depois centrifuga-se. Se a aglutinação ocorre, as hemácias aglutinadas ficam retidas no gel enquanto que se não há aglutinação as hemácias concentram-se no fundo do tubo (não reagente). A intensidade da aglutinação é referida por padrões de 1 a 4 cruzes: quanto mais para o fundo forem as hemácias aglutinadas, menor será a intensidade (uma cruz) e quando todas aparecem na linha superior, mais intensa é a aglutinação (quatro cruzes). Veja a ilustração da técnica em: VIZZON, A. G., SILVA, F. R. M. Teste de antiglobulina humana: uma revisão de literatura. **Electronic Journal of Pharmacy**, v. 12, n. 3, p. 5-14, 2015. Disponível em: <[https://farmacia.ufg.br/up/130/o/1/_REF_vXII_n3_-_Artigo_1_\(5-14\)_-_Teste_da_Antiglobulina_Humana.pdf](https://farmacia.ufg.br/up/130/o/1/_REF_vXII_n3_-_Artigo_1_(5-14)_-_Teste_da_Antiglobulina_Humana.pdf)>. Acesso em: 12 jul. 2018.

Prova de reação cruzada é um procedimento útil para proporcionar hemotransfusões mais seguras. Inclui tipagem ABO e Rh e teste para detecção de anticorpos ou **Triagem de anticorpos** testando-se hemácias do doador com o soro do receptor. Após triagem inicial que indica ou não a presença de anticorpos irregulares, procede-se a identificação destes em casos positivos. Esse teste pode ser feito manualmente ou através de reação cruzada eletrônica ou automatizada.

É importante lembrar que existe um **teste sorológico imediato** no qual as hemácias do doador são colocadas em contato com o soro do receptor e analisa-se a presença de hemólise e/ou aglutinação após a centrifugação. Esse teste não detecta presença de ABO fraco do doador nem anticorpos de título baixo no receptor, mas pode ser realizado em emergências quando não há tempo para a realização dos testes de imunoglobulina humana.

Diagnóstico laboratorial de doenças autoimunes e doenças infecciosas

Os testes sorológicos são muito úteis não só para diagnóstico e triagem de doenças infecciosas como para a vigilância de surtos epidêmicos. Existem diferentes tipos de testes como os testes rápidos imunocromatográficos (de hepatite B, dengue, zika, herpes, etc.), testes de aglutinação em látex, de hemaglutinação indireta e enzima-imunoensaios como o ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) para testes manuais ou automatizados. Esses testes foram padronizados para detectar os antígenos do microrganismo infeccioso permitindo fazer a sorotipificação destes. Os testes também podem ser aplicados para detectar os anticorpos IgM e IgG produzidos contra esses antígenos no soro do paciente. Dentre todos esses testes, o ELISA é um teste de triagem considerado de sensibilidade alta para a maioria dos agentes infecciosos e, para confirmação do resultado positivo, usa-se o *Western blot*, cuja especificidade é maior. Na categoria de testes moleculares o PCR (reação em cadeia polimerase), que é um teste de amplificação do DNA, é considerado "padrão ouro" porque detecta o DNA do vírus e pode calcular a carga viral, havendo variações do teste como o PCR em tempo real (para detecção do RNA de sorotipos diferentes do vírus) e o RT-PCR no qual se utiliza o método de transcrição reversa combinado ao PCR.



Na maioria dos países, há um Centro de Vigilância em Saúde como o que existe no Brasil ligado ao Ministério da Saúde. Esses órgãos governamentais testam e padronizam técnicas laboratoriais para o diagnóstico (triagem) de doenças que representam problemas de saúde pública, tais como as infecções parasitárias intestinais (como amebíase, estrogiloidíase, esquistossomose), as viroses endêmicas e as doenças endêmicas transmitidas por picadas de insetos (como a malária, leishmaniose, doença de Chagas, influenza, dengue, Zika) ou por vetores como baratas (febre tifoide, hepatite A) e ratos (leptospirose, hantavirose), as zoonoses (que envolvem gado, cães e gatos como hospedeiros), as doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) e as doenças contagiosas (como a meningite e HIV). Existe uma diversidade de testes padronizados para cada uma dessas doenças, sendo que, atualmente, muitos testes são baseados em imunoenaios. Existem vários testes rápidos e simples do tipo imunocromatográficos que são feitos colocando-se uma gota de sangue do paciente no dispositivo e observando-se o resultado do teste pelo aparecimento de uma linha colorida. O problema desses testes são as reações cruzadas e os resultados falsos positivos, havendo a necessidade de confirmação por meio de testes laboratoriais mais específicos. Veja mais detalhes em: BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_transmissao_doencas_sangue.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2018. Cap. 7 – Princípios dos métodos de triagem e de confirmação laboratorial, p. 57.

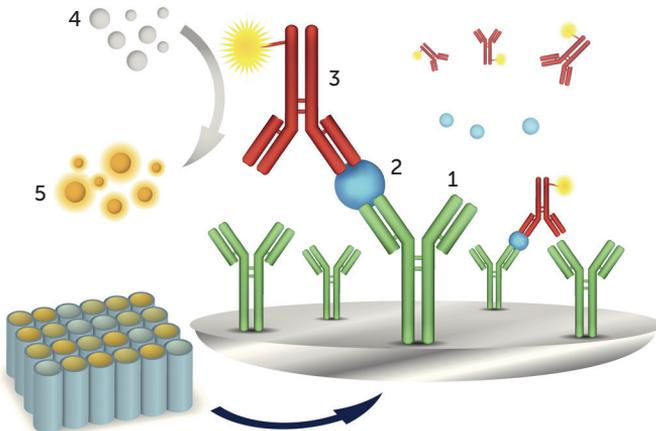
ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*)

O ensaio imunoenzimático ELISA é muito utilizado em exames laboratoriais de análises clínicas de diversos tipos: bioquímicos (dosagem de ferritina, de hormônios como o cortisol, de proteínas, de marcadores tumorais como o PSA-antígeno prostático específico, de vitamina D, etc.), de microbiologia (sorotipagem de diversos microrganismos) e de imunologia para o imunodiagnóstico de infecções (por detecção de anticorpos ou antígenos de vírus, bactérias, fungos e parasitas), para dosagem de citocinas e proteínas inflamatórias de fase aguda, assim como para diagnóstico de hipersensibilidade, alergias, doenças autoimunes, doença do enxerto

contra o hospedeiro, etc. É uma técnica eficiente de identificação de proteínas e de antígenos e anticorpos por meio de marcador colorimétrico, fluorescente ou radioativo que é disponibilizado na forma de kits comerciais para diferentes aplicações. O ensaio é realizado em uma placa de microtitulação composta por diversos poços, onde são depositados os reagentes. Existem quatro tipos de ensaios imunoenzimáticos: o direto, o indireto, o sanduíche ou de captura e o competitivo.

A Figura 4.3 ilustra o **método direto** que é utilizado para detectar antígenos, conforme ilustra a figura, um anticorpo primário está fixado nas unidades da microplaca. Adiciona-se o soro do paciente e, caso haja antígenos presentes na amostra, a ligação antígeno-anticorpo ocorrerá. Para permitir visualização da presença desse antígeno, um segundo anticorpo (anti IgG humana) ligado à enzima é adicionado e este formará um complexo ligando-se ao antígeno. Por último, um substrato para a enzima é adicionado e a reação com a enzima produzirá um marcador de cor ou fluorescente que poderá ser lido no espectrofotômetro ou fluorímetro.

Figura 4.3 | Representação esquemática da técnica de ensaio imunoenzimático ELISA (*enzyme immunosorbent assay*) direto



Detalhamento da técnica do ensino imoenzimático Elisa direto:

- Anticorpos (1) fixos nos poços sa microplaca
- Antígeno (2) da amostra de soro reagem com o anticorpo 1
- Anticorpo+enzina (3) adicionado forma complexo com o antígeno ligado
- Substrato (4) adicionado forma moléculas fluorescentes (5)

Fonte: adaptada de iStock.

Diferentemente, no **método indireto**, que é usado para detectar anticorpos, o antígeno que está ligado nos poços de teste reage com o anticorpo da amostra e um segundo anticorpo (anti IgG humana), marcado com a enzima, forma um complexo capaz de ativá-la para reagir com o substrato e desenvolver cor ou fluorescência.

O **método sanduíche ou de captura** é usado para detectar produtos secretados por células do sistema imune como as citocinas. O anticorpo de captura específico para o antígeno alvo é fixo na placa e, através de reações com dois outros anticorpos – um de detecção e outro conjugado com a enzima e que reconhece um epítopo diferente, a marcação é desenvolvida. No **método competitivo**, a presença e a quantidade de um antígeno na amostra de soro são determinadas pela sua habilidade em competir com o antígeno marcado que está ligado a um anticorpo fixo na placa. O ensaio pode medir a quantidade de antígeno na amostra pela construção de uma curva padrão adicionando-se quantidades crescentes de uma preparação padrão conhecida não marcada. Esses métodos são disponíveis na forma de teste de fluxo lateral (testes rápidos).

Os **métodos de radioimunoensaio** (ensaios conjugados) e de **imunofluorescência** são bem semelhantes havendo diferença no marcador que emite radioatividade ou luz (fluorocromo) e a aplicação destes métodos em ensaio imunoradiométrico e em imunocitoquímica para pesquisa de diversos microrganismos infecciosos em amostras de tecidos ou células devido à capacidade de localizar a marcação em células, organelas ou tecidos. Existem a quarta e a terceira geração do ELISA que combina técnicas de radioimunoensaio com o ensaio imunoenzimático que ampliaram a aplicação dessa técnica para o diagnóstico clínico.

Teste Western blot é uma técnica bastante utilizada para detectar anticorpos virais ou de outros tipos como autoanticorpos e haloanticorpos por meio de reação com antígeno alvo imobilizado em uma membrana fina de nitrocelulose. Nesta técnica, as proteínas são primeiramente separadas com eletroforese em gel e então as bandas são transferidas para a membrana de nitrocelulose onde elas são identificadas por método semelhante ao ELISA. Modificações dessa técnica são o **LIA (line immunoassay)** ou **imunoensaio de linha** e o **Imunoblot recombinante (RIBA)** que utilizam antígenos sintéticos ou recombinantes.

As **doenças autoimunes** são decorrentes da ação do sistema imunológico contra estruturas próprias (ou antígenos autólogos) causando danos teciduais. Geralmente tem a participação de linfócitos autorreativos que escapam da seleção durante processo de autotolerância imunológica nos órgãos linfoides ou outro mecanismo que é chamado de mimetismo molecular – epítopos dos antígenos presentes no agente infeccioso podem ser iguais aos dos antígenos próprio. O terceiro mecanismo é que a inflamação expõe sítios teciduais não reconhecidos pelo sistema imune. O ataque ocorre na forma de produção de autoanticorpos, originando doenças como a anemia hemolítica autoimune, artrite reumatoide, lúpus eritematoso e diversas doenças autoimunes órgão-específicas como glomerulonefrite antifosfolípide, *Diabetes mellitus* autoimune tipo 1, hepatite autoimune, doença celíaca, doença de Crohn, tireoidite de Hashimoto, doença de Graves (da tireoide), entre outras. Os exames laboratoriais para o diagnóstico incluem teste de Coombs indireto, PCR (proteína C-reativa), ELISA, microscopia de imunofluorescência indireta (MIFI), *imunoblotting*, ensaios imunoenzimáticos e o teste de fator antinúcleo em células de cultura (FAN-Hep2). Os exames de imunodiagnóstico são os mais utilizados para detectar anticorpos e marcadores específicos para cada doença como ANA (anticorpo antinucleares), AMA (anticorpo antimitocondriais), antiantígeno neutrofílico citoplasmático perinuclear (p-ANCA), anticorpo antitireoglobulina, anticorpo antimembrana basal glomerular, anticorpo anticélulas da ilhota (do pâncreas) ou autoanticorpo anti-insulina e vários outros.



Pesquise mais

Os exames de imunodiagnóstico são os mais utilizados para detectar anticorpos e marcadores específicos para as doenças autoimunes por meio de técnicas especializadas para uma diversidade de antígenos teciduais (celulares, nucleares ou mitocondriais) e autoanticorpos com diferentes especificidades imunológicas. A **técnica de citometria de fluxo** que combina dispersão de luz (normalmente laser) com sinais fluorescentes obtidos por combinação antígenos-anticorpos marcados podem contar as células do sistema imunológico (linfócitos B e T e subpopulações de células C4 auxiliares, C8 supressoras, etc.) sendo útil no diagnóstico de doenças autoimunes, da hipersensibilidade e

também de imunodeficiências hereditárias ou adquiridas.

Pesquise mais sobre o assunto em: McPHERSON, Richard A., PINCUS, M.R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**, 21. ed., Barueri SP: Manole, 2012. Parte VI- Imunologia e Imunopatologia, Cap. 52. Doenças autoimune órgão-específico. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/1105>>. Acesso em: 12 jul. 2018.

Sem medo de errar

Com base nas revisões que fizemos sobre os assuntos de hematologia e de imunologia ficou fácil resolver o desafio de André, não é mesmo? Vamos lembrar alguns detalhes do caso apresentado. Trata-se dos exames de uma paciente chamada Edite que tem 54 anos e é portadora de hipertensão essencial com pressão arterial constantemente elevada apesar do uso de quatro drogas para o seu tratamento. Depois que ela iniciou o tratamento com metildopa, foi levada à emergência apresentando cefaleia, icterícia e tontura seguida de síncope. Primeiramente vamos lembrar o que é a metildopa. A alfa-metildopa é um fármaco anti-hipertensivo da classe dos agonistas alfa2-adrenergicos de efeito central (nome comercial Aldomet®, Aldoril, Dopamet). Pode ser indicado para hipertensão maligna e pré-eclâmpsia e o seu mecanismo de ação anti-hipertensivo está associado ao bloqueio do sistema nervoso simpático (simpatolítico). Esse medicamento é contraindicado para pessoas com hepatopatias porque pode apresentar hepatotoxicidade. A cefaleia e tontura podem ser efeitos colaterais da metildopa e a icterícia é um sinal de que algo não vai bem com o fígado. Vejamos os resultados dos exames de Edite.

Os resultados dos exames laboratoriais foram os seguintes:

- Hemoglobina: 9,2 g/dL (valor de normalidade: 11,5 – 16,0 g/dL)
- HCM e VCM: dentro da normalidade
- Leucócitos e plaquetas: dentro da normalidade
- Ferro sérico, Ferritina e CTLFe – TIBC (capacidade de transportar ferro): Normais
- Vitamina B12 e Folatos – Normais

- Bilirrubina Total: 45 mol/L (valor de normalidade: 3 – 17 mol/L)
- Enzimas de perfil hepático (AST, ALT, GGT, fosfatase alcalina): sem alteração
- Reticulócitos: 12 % (valor de normalidade 0,5 – 2,5 %)
- Urobilinogênio urinário: positivo
- Coombs direto: positivo
 - Sendo: HCM – Hemoglobina Corpuscular Média, VCM – Volume Corpuscular Médio, AST – Aspartato Aminotransferase, ALT – Alanina Aminotransferase, GGT – gamaglutamil Transferase, CTLFe – Capacidade Total Ligadora de Ferro.

A bilirrubina muito elevada e o urobilinogênio urinário positivo na ausência de sinais de hepatite ou colestase (enzimas de perfil hepático normais) são indicativos de hemólise. Observe que a hemoglobina está baixa, sem alteração no tamanho das hemácias (VCM) nem da quantidade de hemoglobina por hemácia (HCM), portanto a hemoglobina total reduzida confirma a hipótese de que está havendo uma **anemia hemolítica**. O aumento exagerado de reticulócitos reforça o diagnóstico de anemia hemolítica. O Coombs direto positivo isoladamente pode ocorrer no tratamento com metildopa sem grandes consequências, mas, quando associado com anemia indica uma condição grave que geralmente começa a aparecer após cerca de três meses de tratamento com metildopa ou na fase crônica (após anos de tratamento): **anemia hemolítica autoimune verdadeira**. No caso de Edite, o efeito pode ter aparecido mais precocemente devido a doses altas do medicamento que, ao ser metabolizado no fígado, forma metabólitos capazes de desencadear a reação autoimune. Os anticorpos antieritrocitários são IgG e causam a destruição das hemácias. A hemólise e a icterícia podem ser revertidas pela suspensão do tratamento quando isto é feito no seu estágio inicial. Esse tipo de anemia causada por fármacos atualmente está mais comumente associado a drogas imunossupressoras como ciclofosfamida e os casos de metildopa que tem se reduzido bastante. Veja mais sobre o assunto em: MAARRAOUI, Susane C.S. **Autoanticorpo induzido por uso crônico de Aldomet® (Metildopa) - relato de caso**. Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto, 2010. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/imunologia/artsusanemaarroui.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2018.

Anemia hemolítica autoimune em artrite reumatoide

Descrição da situação-problema

Jovem do sexo masculino com 21 anos de idade, portador de artrite reumatoide juvenil há seis anos, sem uso recente de medicações, procurou atendimento médico com febre vespertina que vinha ocorrendo nos últimos dias, cefaleia, tontura seguida de síncope. Na avaliação ambulatorial apresentou Pressão arterial de 120x80 mmHg, frequência cardíaca de 100 bpm, Temperatura de 38,1°C, mucosas descoradas, escleróticas ictéricas, abdome sem sinal de visceromegalias e extremidades apresentando limitação à mobilização. Os exames laboratoriais mostraram: hemoglobina = 4,2 mg/dL, hematócrito = 13%, leucograma = 64.500 sem desvio, Coombs direto positivo, bilirrubina total = 4,0 mg/dL com fração indireta = 2,2 mg/dL, FAN por IFI (células Hep-2) positivo, Miелоgrama: hiper celularidade com diseritropoiese sem aumento de blastos.

Observações: Valores Normais (masculino adulto): hemoglobina = 13,5 a 18 mg/dL, hematócrito = 40 a 50 %, leucograma = 4500 a 11.000 / mm³, bilirrubina total = 0,2 a 1,0 mg/dL com fração indireta até 0,8 mg/dL, FAN (fator antinúcleo, marcador de artrite reumatoide), IFI = imunofluorescência indireta.

Interpretar os resultados dos exames e emitir um diagnóstico compatível

Resolução da situação-problema

A **artrite reumatoide** é uma doença autoimune caracterizada por inflamação crônica comprometendo principalmente as articulações, podendo causar manifestações sistêmicas na forma de anemia por distúrbio do metabolismo do ferro, redução da resposta medular à eritropoetina e hemólise devido à hiperatividade do sistema retículo-endotelial. Procure se lembrar que as hemácias são produzidas na medula óssea a partir de células-tronco hematopoiéticas sob estímulo do hormônio eritropoietina produzido pelos rins e, quando as hemácias envelhecem elas são eliminadas no sistema retículo-endotelial do baço e do fígado. Quando existe hiperatividade do

sistema retículo-endotelial muitas hemácias são destruídas causando **anemia hemolítica**, e um sinal de que isso está ocorrendo neste caso é a bilirrubina total e indireta (fração ligada à albumina) muito elevadas associadas com hemoglobina e hematócrito muito reduzidos. Na forma crônica da artrite reumatoide a anemia se caracteriza por neutropenia (diminuição no número de neutrófilos), leucocitose (aumento de leucócitos), plaquetose (é sinônimo de trombocitose que é aumento no número de plaquetas) e linfadenopatia (nódulos linfáticos aumentados em tamanho). Observe a comprovação de leucocitose (o número de leucócitos totais está muito elevado no leucograma) mas, nesse caso não está presente a neutropenia porque o laudo do leucograma diz "sem desvio". Não há dados sobre as plaquetas. Esse resultado é positivo porque a neutropenia pode ter como consequência as infecções excessivas e a plaquetopenia pode causar hemorragias. A **anemia hemolítica autoimune** devido à presença de autoanticorpos eritrocitários raramente ocorre em pacientes com artrite reumatoide, sendo mais frequente no lúpus eritematoso sistêmico mas, no caso desse jovem está presente porque observa-se **Coombs direto positivo** indicando que existem anticorpos IgG recobrando as hemácias. O mielograma é a análise de função da medula óssea, feito para avaliar a produção de células do sangue. A hiperplasticidade com diseritropoiese, mas sem aumento de blastos no mielograma, indica que a medula óssea está tentando recuperar a perda excessiva de eritrócitos. A ausência de blastos excessivo é um bom sinal, pois existe uma anemia refratária com excesso de blastos que é chamada de síndrome mielodisplásica que pode evoluir para leucemia. Nesse caso existe apenas uma diseritropoiese, ou seja, hemácias imaturas irregulares que indicam que está havendo dificuldade para produção e maturação de hemácias. O FAN positivo é um resultado esperado porque o jovem é portador de artrite reumatoide. O FAN positivo com títulos baixos (até 1/180) pode ocorrer em indivíduos normais. Títulos elevados (1/640, por exemplo) são características da artrite reumatoide em evolução. O caso desse jovem mostra uma anemia hemolítica autoimune associado com artrite reumatoide que é considerada uma condição pouco frequente e, como a anemia hemolítica autoimune não pôde ser explicada pelo uso de medicamentos que podem causar essa doença, pode se sugerir que a perda de tolerância do sistema imunológico devido à artrite reumatoide

crônica (seis anos de duração) possa ter favorecido o aparecimento dos autoanticorpos, sendo necessários exames mais acurados de identificação desse autoanticorpo, pesquisa de outros possíveis anticorpos e do estado funcional do sistema imunológico humoral, celular e medular para concluir se a anemia hemolítica autoimune foi causada pela artrite reumatoide neste caso. Veja mais detalhes sobre o assunto em: SOUZA, Ricardo A. S. et al. Observação de anemia hemolítica autoimune em artrite reumatoide. **Rev. Bras. Hemoter.** v. 25, n. 4, p. 247-249, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842003000400011&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 14 jul. 2018.

Avançando na prática

1. O teste de Coombs direto ou da antiglobulina humana direta (TAD) constitui um método simples para demonstração da presença de imunoglobulinas e/ou complementos revestindo a superfície das hemácias *in vivo*. O Coombs indireto ou teste da antiglobulina humana indireta (TAI), por sua vez, é realizado para a detecção de anticorpos circulantes contra as hemácias sensibilizadas.

Com relação aos testes de antiglobulina humana ou Coombs, analise as afirmativas a seguir:

- I. TAD (Coombs direto) positivo em amostras de hemácias de uma gestante cujo sangue é Rh negativo, indica o risco de doença hemolítica do recém-nascido no feto, especialmente se for a segunda gestação de feto Rh positivo.
- II. O TAI (Coombs indireto) é utilizado para detectar anticorpos contra antígenos virais não possuindo especificidade para detecção de aloanticorpos ou autoanticorpos.
- III. O TAI pode ser realizado por tecnologia de aglutinação em coluna ou gel, disponível na forma de cartões comerciais com hemácias fenotipadas contendo os antígenos eritrocitários clinicamente importantes.

Assinale a alternativa que contém apenas as afirmativas corretas.

- a) I e II.
- b) I e III.
- c) II e III.
- d) I, II e III.
- e) Apenas II.

2. O ensaio imunoenzimático ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) é um dos métodos frequentemente utilizados para a triagem de diversos tipos de doenças infecciosas. Esse método pode ser utilizado para exames laboratoriais de diversos tipos, tais como dosagens de hormônios, proteínas em líquidos biológicos, marcadores tumorais, sorotipagem de diversos microrganismos e imunodiagnóstico de infecções, doenças autoimunes, de alergias, entre várias outras aplicações, havendo atualmente uma variedade de tipos desse teste que são referidos, por alguns autores, como segunda, terceira e quarta geração do ELISA.

Com relação às técnicas básicas de ELISA que são os métodos direto, indireto, sanduíche e competitivo, analise as seguintes afirmativas:

- I. O método direto é utilizado para detectar um antígeno que fica fixado nos poços de uma placa de microtitulação e reage com um anticorpo específico fluorescente que é acrescentado.
- II. O método indireto é utilizado para detectar anticorpos específicos para antígenos fixados na microplaca de titulação, cuja presença é detectada através da reação com um segundo anticorpo acoplado à enzima que é a responsável pela formação de um produto colorido ou fluorescente que pode ser medido por espectrofotometria ou em fluorímetro.
- III. O método competitivo identifica a presença de um antígeno na amostra, podendo medir a quantidade deste através da construção de uma curva padrão (com uma preparação padrão conhecida não marcada que compete com o anticorpo secundário marcado pelo mesmo epítipo do anticorpo primário).

Assinale a alternativa que contém apenas as afirmativas corretas.

- a) I e II.
- b) II e III.
- c) I e III.
- d) I, II e III.
- e) Apenas I.

3. A aloimunização é a sensibilização do sistema imunológico que ocorre após exposição a antígenos estranhos e está com frequência ligada a problemas de reações transfusionais. A tipagem sanguínea ABO-Rh pelo teste de aglutinação não é capaz de detectar incompatibilidade sanguínea decorrente da presença de aloanticorpos no soro do doador ou de

hemácias sensibilizadas por transfusões anteriores com sangue contendo antígenos irregulares.

Os profissionais da área de imuno-hematologia devem ser treinados para conhecer as normas contidas na Portaria nº 158 do Ministério da Saúde que regulamenta a prática transfusional para garantir a sua segurança e eficácia. Com relação aos testes de Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) e prova cruzada que fazem parte dos testes pré-transfusionais, está correto afirmar que:

- a) Quando o PAI resultar positivo em um teste com anti IgG humana poliespecífica será necessário realizar testes com soros monoespecíficos para a identificação dos anticorpos.
- b) A prova de reação cruzada é feito para testar se o feto de uma grávida Rh positivo tem sangue Rh negativo.
- c) A prova de reação cruzada testa a possível aglutinação ou hemólise quando as hemácias do doador são adicionadas ao plasma do receptor do sangue para transfusão.
- d) A prova de reação cruzada testa se o sangue do doador é Rh positivo ou Rh negativo.
- e) O PAI é outro nome que se dá para o teste de Coombs direto.

Referências

BAIOCHI, E., NARDOZZA, L. M. M. Aloimunização. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** V. 31, n. 6, p. 311-319, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v31n6/08.pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2018.

BARONE, A. A.; GONÇALVES Jr., F.L.; FOCACCIA, R. Hepatites virais crônicas: diagnóstico e tratamento atual. Especial Hepatites, Tratamento Hoje, **Boletim terapêutico de HIV/Aids**, DST e Hepatites Virais da Sociedade Brasileira de Infectologia, ano I, n. 4, p. 1-4, dezembro 2003. Disponível em: <https://www.infectologia.org.br/admin/zcloud/137/2016/07/tratamento_hoje_04.pdf>. Acesso em: 3 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_transmissao_doencas_sangue.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imunohematologia laboratorial** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Cap. 4 – Teste de Antiglobulina, p. 45-54. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf>. Acesso em: 6 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde** [caderno único]. 2. Ed., Recurso eletrônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>>. Acesso em: 16 jul./ 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Imunohematologia laboratorial**, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas**. Volume 3, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_clinicos_diretrizes_terapeuticas_v3.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2018.

BENDER, A. L., VON MÜHLEN, C. A. **Testes Laboratoriais Aplicados à Imunologia Clínica**. Cap. 5, Voltarelli, Julio Cesar, Donadi, E.A. Imunologia Clínica na Prática Médica, 4. ed., São Paulo: Editora Atheneu, 2009. Disponível em: <<http://www.sobrau.com/wp-content/uploads/2016/11/Testes-Laboratoriais-Aplicados-Imunologia-Clinica.pdf>>. Acesso em: 2 jul. 2018.

CRUZ, R.O. et al. Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos. **Einstein** v. 9, n. 2, pt 1, p. 173-178, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/eins/v9n2/pt_1679-4508-eins-9-2-0173.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

ESTRIDGE, B. H.; REYNOLDS, A. P. **Técnicas básicas de laboratório clínico**. 5. ed., Porto Alegre: Artmed, 2011. Unidade 4 – Imunologia Básica e Imunoematologia-Lição 4.3. Determinação do grupo ABO, p. 400-407; Lição 4.4 Tipagem do Rh, p. 419; Unidade 3 – Hemostasia Básica p. 323; Unidade 2 – Hematologia Básica p. 173.

FORTE, Wilma Carvalho Neves. **Imunologia: do básico ao aplicado**. 2. ed., Porto Alegre: Artmed, 2008. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536312897/cfi/0!/4/2@100:0.00>>. Acesso em 11/07/2018.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. Overview of coagulation, anticoagulation and fibrinolysis. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 34, p. 229-237, 2001. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/3998/4689>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

HAMMER, GARY D. **Fisiopatologia da doença: uma introdução à medicina clínica** [recurso eletrônico], Gary D. Hammer, Stephen J. McPhee, tradução: Geraldo de Alencar Serra, Patricia Lydie Voeux, 7. ed., Porto Alegre: AMGH, 2016. Cap. 6. Distúrbios do Sangue. Disponível em:

<<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555288/cfi/130!/4/2@100:0.00>>. Acesso em: 20 set. 2018.

LEVINSON, Warrem. **Microbiologia Médica e Imunologia**. [recurso eletrônico], tradução: Danielle Soares de Oliveira Daian, tradução e revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca, 13. ed., McGraw Hill, 2016. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580555578/cfi/542!/4/2@100:0.00>>. Acesso em: 20 set. 2018.

LORENZI, Therezinha Ferreira (coord.). **Atlas de Hematologia: Clínica hematológica Ilustrada**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978.85.277.1997-1/cfi/0!/4/4@0.00:0.00>>. Acesso em: 10 maio 2018.

MAARRAOUI, Susane C. S. Autoanticorpo induzido por uso crônico de Aldomet® (Metildopa) - relato de caso. **Academia de Ciência e Tecnologia**, [revista eletrônica], curso de pós-graduação Latu sensu em Imunologia Clínica, São José do Rio Preto, 2010. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/imunologia/artusanemaarroui.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2018.

MALONO, J. et al. Doença hemolítica do recém-nascido. **Consensos Nacionais em Neonatologia**, 2004, p. 139-142. Disponível em: <http://www.spp.pt/UserFiles/File/Consensos_Nacionais_Neonatologia_2004/Doenca_Hemolitica_RecemNascido.pdf>. Acesso em: 8 jul. 2018.

McPHERSON, Richard A., PINCUS, M. R. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21. ed., Barueri SP: Manole, 2012. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520451854/cfi/983>>. Acesso em: 20 set. 2018.

MENDES, Claudio G. Figueiredo. Hepatites agudas. Artigos de Revisão. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto** v. 5, n. 1, jan./jun. 2006. Disponível em: <http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=242>. Acesso em: 21 maio 2018.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 5.

ed., Rio de Janeiro: Medbook, 2009. Disponível on-line em: Livro Bioquímica Clínica princípios e interpretações, Laboratório Central. <<http://www.laboratoriocentral.com.br/livro-bioquimica-clinica-principios-e-interpretacoes/>. Parte – Aspectos Bioquímicos da Hematologia>. Acesso em: 25 maio 2018.

NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. **Interpretação Laboratorial do Hemograma**. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/Artigos_cientificos/Interphemo.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2018.

OLIVEIRA, Maria Beatriz S. C., RIBEIRO, F. C., VIZZONI, A. G. (org.) **Conceitos básicos e aplicados em imuno-hematologia**, Rio de Janeiro: EPSJV, 2013. Imuno-hematologia eritrocitária, p. 65. Disponível em: <http://www.retsus.fiocruz.br/sites/default/files/publicacoes/arquivos/livro_conceitos_basicos_e_aplicados_em_imuno-hematologia.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2018.

OMS-Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento DST, Aids e Hepatites virais. **Diagnostico Laboratorial de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo o vírus da imunodeficiência humana**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. Cap. 15 – Infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), p. 175. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85343/9789241505840_por.pdf;jsessionid=00538C5354444670D138AA2FE17C833?sequence=7>. Acesso em: 23 jun. 2018.

PLAYFAIR, J. H. L., CHAIN, B. M. **Imunologia básica: guia ilustrado de conceitos fundamentais**, tradução Soraya Imon de Oliveira, 9. ed., Barueri SP: Manole, 2013. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520450154/cfi/0>>. Acesso em: 26 jun. 2018.

SCOTT, Ann Senisi. **Estruturas e funções do corpo**. Ann Senisi Scott e Elizabeth Fong, tradução técnica Jean-Christophe Houzel, revisão técnica Aparecida Emiko Hirata, São Paulo: Cengage Learning, 2017. Hemostase. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522125920/cfi/2651/4/2@100:0.00>>. Acesso em: 20 set. 2018.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE PEDIATRIA. Seção Neonatologia. **Consenso Clínico: Doença Hemolítica do Feto e Recém-nascido**. Edição n. 1, 2014. Disponível em: <https://www.spneonatologia.pt/wp-content/uploads/2016/11/2014-D_Hemolitica.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA. **Consenso sobre Condutas nas Hepatites Virais B e C: Hepatite B**, São Paulo 26 e 27 agosto, 2005. Disponível em: <http://sbhepatologia.org.br/pdf/consensos/consenso_redacao_final_b.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2018.

SOUZA, Ricardo A.S. et al. Observação de anemia hemolítica autoimune em artrite reumatoide. **Rev. Bras. Hemoter.** V. 25, n. 4, p. 247-249, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842003000400011&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 14 jul. 2018.

VALENTE, C., FERNANDES, C., TRINDADE, L. Hepatite C aguda no profissional de saúde – revisão a propósito de um caso clínico. **Jornal Portugues de Gastreenterologia** v. 17, n. 6, p. 255, 2010. Disponível em: <www.scielo.mec.pt/pdf/ge/v17n6a03.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2018.

VIVAS, Vanessa Lordélo P. **Manual Prático de Hematologia**. Disponível em: <<http://www.aa.med.br/upload/biblioteca/Manual%20de%20Hematologia.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

VIZZON, Alexandre Gomes, SILVA, Flavia Regina Medeiros. Teste de antiglobulina humana: uma revisão de literatura. **Electronic Journal of Pharmacy**, v. 12, n. 3, p. 5-14, 2015. Disponível em: <[https://farmacia.ufg.br/up/130/o/1/_REF_vXII_n3_-_Artigo_1_\(5-14\)_-_Teste_da_Antiglobulina_Humana.pdf](https://farmacia.ufg.br/up/130/o/1/_REF_vXII_n3_-_Artigo_1_(5-14)_-_Teste_da_Antiglobulina_Humana.pdf)>. Acesso em: 6 jul. 2018.

ISBN 978-85-522-1187-7



9 788552 211877 >