

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes  
Tiago Sousa Melo  
(Organizadores)

# Biomedicina e Farmácia: Aproximações 3



**Atena**  
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes  
Tiago Sousa Melo  
(Organizadores)

# Biomedicina e Farmácia: Aproximações 3

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 3 / Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Biomedicina e Farmácia; v. 3)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-322-4

DOI 10.22533/at.ed.224191404

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes, Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.  
CDD 610

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ETIOPATOGENESE DA ERITROBLASTOSE FETAL RELACIONADO AO FATOR RH	
José Virgulino de Oliveira Lima	
Gisele Lopes Cavalcante	
Maria Camila Leal de Moura	
Rayssa Hellen Ferreira Costa	
Maria Clara Nolasco Alves Barbosa	
Jéssica Maria Coelho de Sousa	
Ilana Dennyse Amorim Rêgo	
Dayana Cristina dos Santos Lima	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2241914041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
EVENTOS ADVERSOS NOTIFICADOS APÓS IMUNIZAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA E O CONHECIMENTO POPULACIONAL	
Letícia de Souza Silva	
Márcia Cristina Pena Figueiredo	
Márcio Fernando Madureira Alves	
Sandra Heloisa Nunes Messias	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2241914042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>23</b>
FATORES ASSOCIADOS AO ABANDONO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS-BA NOS ANOS DE 2014 A 2016	
Victor Laranjeira Martins	
Laís Guedes Rodrigues	
Flamélia Carla Silva Oliveira	
Jane Francisca Benjamim Moraes	
Eliana Neres Mello	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2241914043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>34</b>
FREQUÊNCIA DOS CRISTAIS DE CHARCOT-LEYDEN NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO ANO DE 2017	
Jéssica Araújo Menezes	
Flávia Karen Carvalho Garcia	
Larissa Lisboa Rêgo Brito	
Marcos Emmanuel Vilanova da Costa	
Leonan Oliveira de Souza	
Vanessa Christine Gusmão Santos	
José Hugo Romão Barbosa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2241914044</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>37</b>
FUNGOS MACROSCÓPICOS DO SUDOESTE DO PARANÁ: PRIMEIROS REGISTROS	
Ligia Thix de Oliveira	
Fernanda Ferrari	
Daniela Aparecida Estevan	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2241914045</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 48**

IMPACTOS DA HISTOPLASMOSE EM PORTADORES DA SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Cicero Pinheiro Inácio  
Rejane Pereira Neves  
Maria Daniela Silva Buonafina  
Melyna Chaves Leite de Andrade  
Madi Veiga Diniz  
Armando Marsden Lacerda Filho  
Marcos Andre Cavalcanti Bezerra  
Igor de Farias Domingos  
Oliane Maria Correia Magalhães

**DOI 10.22533/at.ed.2241914046**

**CAPÍTULO 7 ..... 62**

INCIDÊNCIA DE PROTOZOÁRIOS E HELMINTOS NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO SEMESTRE DE 2018

Luana Tenorio Olímpio  
Flávia Karen Carvalho Garcia  
Janaína Fontes Ribeiro  
Larissa Lisboa Rêgo Brito  
Marcos Emanuel Vilanova da Costa  
Leonan Oliveira de Souza  
José Hugo Romão Barbosa

**DOI 10.22533/at.ed.2241914047**

**CAPÍTULO 8 ..... 67**

INCIDÊNCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE EM UM LABORATÓRIO PARTICULAR DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM-PA

Raimundo Gladson Corrêa Carvalho  
Elianne da Silva Vieira  
Carolina Beatriz Freitas Nunes  
Larissa de Souza Mendes

**DOI 10.22533/at.ed.2241914049**

**CAPÍTULO 9 ..... 81**

ISOPULEGOL APRESENTA ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS PROMISSORAS: REVISÃO DE LITERATURA

Deyna Francélia Andrade Próspero  
Manoel Pinheiro Lúcio Neto  
Kidner Angelino Próspero  
Emanuel Osvaldo de Sousa  
Aline Raquel de Sousa Ibiapina  
Antonio Alberto Ibiapina Costa Filho  
Daniele Martins de Sousa Oliveira  
Girzia Sammya Tajra Rocha  
Janainna Maria Maia  
Larissa Vanessa Ferreira Memória  
Nayana Santos Arêa Soares  
Camila Leyelle Sousa Neves Rocha  
Matheus Evelyn Martins

Litamara dos Santos Miranda  
Emília do Rosário Vale de Carvalho Silva  
Emones Santos Souza Rodrigues  
Juliana Nádia Figueiredo Piauiense

**DOI 10.22533/at.ed.22419140410**

**CAPÍTULO 10 ..... 90**

**LEUCEMIA ASSOCIADA A CANDIDEMIA**

Cicero Pinheiro Inácio  
Rejane Pereira Neves  
Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo  
Carolina Maria da Silva  
Franz de Assis Graciano dos Santos  
Maria Eduarda Ferro de Mello  
Maria da Conceição Alexandre Castro  
Madi Veiga Diniz  
Oliane Maria Correia Magalhães  
Luiz Nascimento Araújo Neto  
Melyna Chaves Leite de Andrade

**DOI 10.22533/at.ed.22419140411**

**CAPÍTULO 11 ..... 99**

**LEVEDUROSOS: FRONTEIRAS ENTRE A COLONIZAÇÃO E A DOENÇA PARA O DESAFIO DIAGNÓSTICO**

Rejane Pereira Neves  
Melyna Chaves Leite de Andrade  
Oliane Maria Correia Magalhães  
Armando Marsden Lacerda Filho  
Reginaldo Gonçalves de Lima Neto  
Franz de Assis Graciano dos Santos  
Carolina Maria da Silva  
Cícero Pinheiro Inácio

**DOI 10.22533/at.ed.22419140412**

**CAPÍTULO 12 ..... 111**

**MEDICAMENTOS INALATÓRIOS ORAIS: REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA FORMULAÇÃO E DOS DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO DE DOSE**

Ana Carolina Guimarães Ribeiro  
Taízia Dutra Silva  
Edilene Rodrigues  
Márcio de Matos Coelho  
Cristina Duarte Vianna-Soares

**DOI 10.22533/at.ed.22419140413**

**CAPÍTULO 13 ..... 123**

**MORTALIDADE INFANTIL NAS POPULAÇÕES INDÍGENAS DE RORAIMA**

Bianca Jorge Sequeira  
Ana Iara Costa Ferreira  
Fabiana Nakashima  
Leila Braga Ribeiro  
José Geraldo Ticianeli  
Fernanda Zambonin  
Wagner do Carmo Costa

**DOI 10.22533/at.ed.22419140414**

<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>138</b>
O ÁLCOOL E SEUS EFEITOS NO SISTEMA NERVOSO	
Aline Reis Silva	
Amanda Augusto De Arruda	
<b>DOI 10.22533/at.ed.22419140415</b>	
<b>CAPÍTULO 15</b> .....	<b>150</b>
O PERFIL CLÍNICO - EPIDEMIOLÓGICO DA MALÁRIA EM UM MUNICÍPIO DA AMAZÔNIA BRASILEIRA	
Raquel Alves Fernandes	
Joyce dos Santos Brasil	
Daniela Soares Leite	
<b>DOI 10.22533/at.ed.22419140416</b>	
<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>162</b>
OCORRÊNCIA DE PARASIToses INTESTINAIS EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DO MUNICÍPIO DE ATALAIA, ESTADO DE ALAGOAS, BRASIL	
Mayara de Melo Bezerra	
Polyanne de Melo Ferreira	
Alecio Marcelo Lima Dos Santos	
Evilma Nunes de Araújo	
Paulyanne Karlla Araújo Magalhães	
Thiago José Matos Rocha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.22419140417</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>170</b>
PERCEPÇÃO DA DOR NO PACIENTE DE PAQUIONÍQUIA CONGÊNITA (PC)	
Dhara Leite Lopes	
Luanna Waléria Oliveira Santos	
Vinicius Mendes Souza Carneiro	
Marcus Vinicius Cardoso Matos Silva	
Carlos Danilo Cardoso Matos Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.22419140418</b>	
<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>182</b>
PREDIÇÃO DA ABSORÇÃO PASSIVA DE FÁRMACOS POR MEIO DA PERMEABILIDADE DETERMINADA IN VITRO UTILIZANDO O ENSAIO EM MEMBRANA ARTIFICIAL PARALELA (PAMPA)	
Iara Dévula Tiso Tana	
Tamires Guedes Caldeira	
Renata Rodrigues Lima	
Dênia Antunes Saúde Guimarães	
Jacqueline de Souza	
<b>DOI 10.22533/at.ed.22419140419</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>193</b>
PRINCIPAIS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CRIANÇAS DO ESTADO DE RORAIMA	
Ana Iara Costa Ferreira	
Victor Hugo Araújo Moraes	
Geovanna Ferreira Silva	
Yasmin de Freitas Santos	
Larissa Soares Cardoso	
Leila Braga Ribeiro	
Fabiana Nakashima	
Cynthia Dantas de Macedo Lins	

Antonio Carlos Sansevero Martins  
Bianca Jorge Sequeira  
Wagner do Carmo Costa

**DOI 10.22533/at.ed.22419140420**

**CAPÍTULO 20 ..... 201**

PRODUÇÃO DE MOLÉCULAS EFETORAS, CITOCINAS E QUIMIOCINAS POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS C57Bl/6 E Balb-c INFECTADOS *in vitro* COM *Leishmania infantum*

Rafaela Miranda Barbosa  
Marcela Rezende Lemes  
Lara Beatriz Ferreira  
Laura Caroline de Faria  
Paula Tatiana Mutão Ferreira  
Jonatas da Silva Catarino  
Rafael Obata Trevisan  
Amanda Freire De Assis Riccardi  
Helioswilton Sales de Campos  
Juliana Reis Machado e Silva  
Carlo José Freire de Oliveira  
Virmondés Rodrigues Junior  
Camila Belfort Piantino Faria  
Marcos Vinícius Da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.22419140421**

**CAPÍTULO 21 ..... 216**

QUANTIFICAÇÃO DO CARBONATO DE CÁLCIO EM DENTIFRÍCIOS POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Déborah Fernandes Rodrigues  
Brenda Caroline Andrade Santana  
Whocely Victor de Castro  
Ruben Dario Sinisterra Millán  
Carlos Eduardo de Matos Jensen

**DOI 10.22533/at.ed.22419140422**

**CAPÍTULO 22 ..... 221**

REDE DE AJUDA ENTRE AMIGOS

Débora Rezeck Totti  
Isabela Vieira Santana  
Maria Paula Riolino  
Karina Perez Mokarzel Carneiro

**DOI 10.22533/at.ed.22419140423**

**CAPÍTULO 23 ..... 226**

TRANSFORMAÇÃO DE E. COLI DH5 $\alpha$  PELO MÉTODO DE ELETROPORAÇÃO E EXTRAÇÃO DOS PLASMÍDEOS POR MINIPREP CASEIRA

Artur Fontenelle Lima Montenegro  
Antônio Bruno Alves da Silva  
Martha Jéssika Oliveira Santos  
Walisson Leonidas de Albuquerque  
Carlos Roberto Koscky Paier  
Márcia Valéria Brandão dos Santos Martins

**DOI 10.22533/at.ed.22419140424**

**CAPÍTULO 24 ..... 238**

USO DA ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*) NO TRATAMENTO COADJUVANTE EM PACIENTES COM PROBLEMAS GASTROINTESTINAIS

Francisco Ítalo de Sousa Brito  
Carolina Francisca Alves de Jesus Sousa  
Mateus Marques Rodrigues de Jesus  
Lília Rafaela Barbosa de Sousa  
Carlos Átila Pereira de Araújo

**DOI 10.22533/at.ed.22419140425**

**CAPÍTULO 25 ..... 243**

UTILIZAÇÃO DE NEUROPROTETORES FAVORECE A SOBREVIVÊNCIA DOS MOTONEURÔNIOS DA MEDULA ESPINAL NA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA) – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Thaís Costa Porto Marinho  
Angélica Dutra de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.22419140426**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 255**

## ETIOPATOGENESE DA ERITROBLASTOSE FETAL RELACIONADO AO FATOR RH

### **José Virgulino de Oliveira Lima**

Centro Universitário Santo Agostinho – UNIFSA  
Teresina – Piauí

### **Gisele Lopes Cavalcante**

Universidade Federal do Piauí – UFPI  
Teresina – Piauí

### **Maria Camila Leal de Moura**

Centro Universitário Santo Agostinho – UNIFSA  
Teresina – Piauí

### **Rayssa Hellen Ferreira Costa**

Faculdade Integral Diferencial – FACID WYDEN  
Teresina – Piauí

### **Maria Clara Nolasco Alves Barbosa**

Faculdade de Ciências Humanas, Exatas e da  
Saúde do Piauí – FAHESP  
Parnaíba - Piauí

### **Jéssica Maria Coelho de Sousa**

Faculdade Integral Diferencial – FACID WYDEN  
Teresina – Piauí

### **Ilana Dennyse Amorim Rêgo**

Faculdade Integral Diferencial – FACID WYDEN  
Teresina – Piauí

### **Dayana Cristina dos Santos Lima**

Faculdade Integral Diferencial – FACID WYDEN  
Teresina – Piauí

eritroblastose fetal consiste na destruição das hemácias decorrentes de uma incompatibilidade entre o Fator Rh do sangue materno e fetal. Ocorre quando o Rh do feto é positivo e o da mãe é negativo, assim o sistema imunológico irá desencadear uma reação onde os anticorpos da mãe atacam os antígenos eritrocitários específicos do feto, ou seja, perde a autolerância a seus antígenos. O presente artigo tem como objetivo evidenciar a etiologia, patogenia, manifestações clínicas da eritroblastose fetal, bem como trazer formas de prevenção. O estudo trata-se de uma pesquisa bibliográfica, qualitativa, exploratória e analítica, acerca do tema, utilizando revistas indexadas em SciELO, Lilacs, Medline e também foram pesquisados livros referentes ao tema. Foi possível constatar que a patogênese da eritroblastose fetal se desenvolve comumente em uma segunda exposição ao fator Rh incompatível, pois na primeira exposição terá uma resposta imune primária, onde terá presença apenas antígenos IgM, que por ser muito grandes, não atravessam a placenta e por isso não irá desenvolver, há não ser que ocorra transfusões erradas. Em uma segunda exposição haverá anticorpos IgG que, por serem pequenas atravessam a placenta, causando eritroblastose, como forma de prevenção à gestante deve tomar a imunoglobulina anti-Rh ou Anti-D. Conclui-se que essa doença se dá pela isoimunização

**RESUMO:** O fator Rh é uma proteína sanguínea que o sangue humano pode apresentar (Rh positivo) ou não apresentar (Rh negativo). A

materna e que decorrência da destruição das hemácias, pode ocorrer consequências tais como anemia, icterícia e kernicterus.

**PALAVRAS-CHAVE:** Eritroblastose fetal. Hemácias. Sistema Rh.

**ABSTRACT:** The Rh factor is a blood protein that human blood can present (Rh positive) or not present (Rh negative). Fetal erythroblastosis is the destruction of red blood cells caused by an incompatibility between the Rh factor of maternal and fetal blood. Occurs when the fetus is Rh positive and negative of the mother is thus the immune system will trigger a reaction where the mother's antibodies attack the specific blood group antigens of the fetus, or lose their autolerância antigens. This article aims to highlight the etiology, pathogenesis, clinical manifestations of fetal erythroblastosis and bring prevention methods. The study deals with a bibliographic research, qualitative, exploratory and analytical, on the subject, using journals indexed in SciELO, Lilacs, Medline and were also researched books on the topic. It was found that the pathogenesis of fetal erythroblastosis develops commonly in a second exposure to incompatible Rh factor, as in the first exhibition will have a primary immune response, which will only IgM antigen presence, which is very large, do not cross the placenta and this will not develop, there is not occurring erroneous transfusion. In a second exposure will IgG antibodies which, being small cross the placenta, causing erythroblastosis, for prevention of pregnant women should take the anti-Rh immunoglobulin or anti-D. It is concluded that this disease is by maternal isoimmunization and due to the destruction of red blood cells, can occur consequences such as anemia, jaundice and kernicterus.

**KEYWORDS:** Fetal Erythroblastosis. RBCs. Rh system

## INTRODUÇÃO

Em 1940, Landsteiner e Wiener através de pesquisas com macacos da raça Rhesus, motivo pelo qual recebeu o nome de sistema Rh, cujo sangue injetado em coelhos provocava a produção de anticorpos (anti D) aglutinando o sangue destes. Posteriormente, descobriu-se que uma porcentagem de indivíduos possuía esses antígenos nas hemácias, denominaram-se esses indivíduos de Rh positivo, e o sangue que não apresentavam esses antígenos foram denominados Rh negativos (HARMENING, 2006).

O sistema Rh é considerado o mais complexo dentre os grupos sanguíneos, pois apresenta alto grau de imunogenicidade e polimorfismo, apresentando cerca de 49 antígenos eritrocitários sendo o D, C, c, e, E, os mais importantes (MARTINS, 2008). O antígeno Rh-D é encontrado em 85% das pessoas, sendo o único de importância clínica, ou seja, considerado o mais imunogênico e com maior probabilidade de imunização seguido dos antígenos c, E, C, e, chamados de antígenos irregulares. (SABINO, 2008)

A doença hemolítica perinatal (DHPN), também conhecida como eritroblastose fetal ou isoimunização Rh, é um quadro em que a mãe RhD negativo produz anticorpos

contra hemácias fetais RhD positivo, levando à hemólise, à anemia e, por vezes, ao óbito intrauterino. No entanto, consiste em uma patologia imunológica ocasionando a destruição dos eritrócitos do neonato ou feto através da passagem, pela placenta, de anticorpos maternos do tipo IgG, dirigidos especificamente contra os antígenos presentes na membrana eritrocitária fetal ou do recém-nascido (HASSAN et al, 2014).

As causas dessa patologia já descritas e comprovadas são as transfusões de sangue, derivados incompatíveis e transfusão feto-materna por aborto, gravidez ectópica e parto. Os danos gerados acometem somente o feto ou recém-nascido, dentre eles estão à icterícia, reticulocitose, palidez, hepatoesplenomegalia e edema generalizado. (MOLEIRO et al, 2004).

O objetivo do presente artigo traz como propósito principal descrever sobre a etiologia, patogênese e manifestações clínicas da eritroblastose fetal relacionado ao fator RH, bem como trazer formas de prevenção.

## **METODOLOGIA**

Esse trabalho foi desenvolvido por meio de uma revisão, acerca do tema, em artigos publicados, por revistas indexadas em Lilacs, SciELO, Medline, também foram pesquisados sites e livros referentes ao tema, do período de 2004 a 2015. O presente estudo é classificado como uma pesquisa bibliográfica, qualitativa, exploratória e analítica. Sua classificação se dá levando em consideração várias características, são elas: Quanto ao procedimento: classifica-se como pesquisa bibliográfica, pois foi feito utilizando levantamento de referências já publicadas e analisadas. Quanto à abordagem: classifica-se como pesquisa qualitativa, devido ao não interesse em representatividade numérica e sim no estudo teórico minucioso do tema. Quanto aos objetivos: classifica-se como pesquisa exploratória, pois tem como propósito tornar o assunto explícito e com maior familiaridade para os futuros leitores. Quanto à revisão: classifica-se como pesquisa analítica porque há uma avaliação dos conteúdos apresentados no trabalho, a fim de se obter um maior esclarecimento frente ao tema.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O sistema Rh recebe várias nomenclaturas, cada uma levando em consideração uma característica específica. A terminologia mais adotada é a de Fisher-Race (1948), dois estudiosos que descreveram que os antígenos pertencentes ao grupo Rh eram produzidos por três grupos de alelos. Cada gene era responsável pela produção de um antígeno na superfície do eritrócito. Porém, hoje é aceito que apenas dois genes controlam a expressão do Rh, o gene RHD que codifica o antígeno D, e o gene RHCE que codifica as proteínas C, c, e, E e estão situados no cromossomo um (TAVEIRA, 2015).

Analisando-se as publicações verificou-se que a eritroblastose fetal tem início em decorrência da entrada de hemácias, na circulação, com o antígeno que a mãe não possui através da placenta de eritrócitos fetais para a circulação materna, portadores de antígenos de superfície diferentes dos maternos. Então, o sistema imunológico materno começa o processo de sensibilização, que ocorre a exposição inicial, comumente, em um 1º parto, ao qual é exposto a um antígeno eritrocitário do sistema imune da mãe, que produz anticorpos do tipo IgM (resposta imune primária), que possuem elevado peso molecular, sendo assim transplacentário, ou seja, não atravessa a placenta, com isso não irá desenvolver a eritroblastose fetal, com exceção, de transfusões errôneas (SCHMIDT, 2010).

Porém, aos poucos vai sendo substituídos em uma segunda exposição a esse antígeno, geralmente, em um 2º parto desencadeia-se uma produção maciça de anticorpos do tipo IgG (resposta imune secundária), com baixo peso molecular, que podem atravessar a barreira placentária (figura I). Que se ligam especificamente aos antígenos eritrocitários do feto, devido à incompatibilidade tratam o feto como “invasor” (LORENZI, 2013).

O grau de sensibilização da mãe é diretamente proporcional à quantidade de hemorragia feto-maternal, onde os eritrócitos terão um número suficiente de moléculas de anticorpo que são destruídos no sistema reticulo-endotelial fetais, acarretando conseqüências ao feto que se estende até após o nascimento, como o óbito do feto. Portanto, quando isso não ocorre, o bebê pode nascer com lesões no sistema nervoso (PEREIRA, 2012).

A sensibilização, de modo geral, se dá como um reconhecimento do sistema imunológico frente a um antígeno. Essa resposta pode ser dividida em fases: o reconhecimento do antígeno, ativação dos linfócitos, eliminação dos antígenos, declínio e memória. Após essa fase, há a ativação dos linfócitos, o reconhecimento parte do linfócito TCD4 que liberam citocinas que, por sua vez, irão ativar os linfócitos TCD8 e linfócitos B (GRIFFITHS, 2006).

Essa fase engloba diversos processos como a expansão clonal (multiplicação das células ativadas), diferenciação (nesse momento células imaturas tornam-se células efetoras que são capazes de eliminar os antígenos). Após a eliminação eficaz, o sistema imunológico entra em homeostase guiado por enzimas que diminuem o gasto energético do organismo através da apoptose do excesso de células produzidas na expansão clonal para que não provoque novas complicações à mãe e feto e, por fim, há a conversão de algumas células que sobrevivem em células de memória imunológica (ABBAS, 2011).

A eritroblastose fetal acontece quando a mãe não possui antígenos específicos e é sensibilizada. A sensibilização além de ser acometido por gravidez anterior, bem como por transfusão de sangue, também, pode acontecer por amniocentese (avaliação do pigmento de bilirrubina presente no líquido amniótico), abortos anteriores induzidos ou naturais, ou qualquer outro traumatismo placentar (SILVA, 2011).

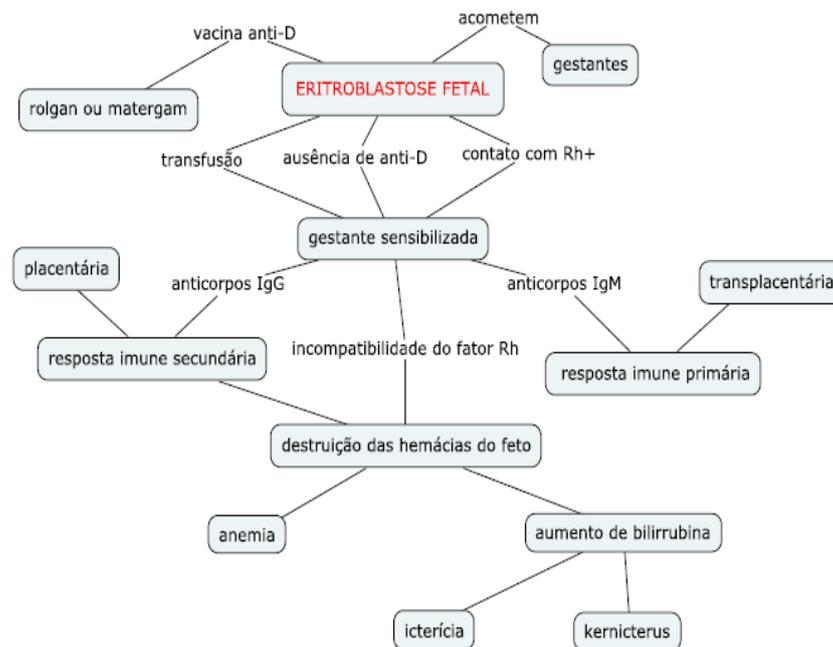


Figura 1. Patogênese da Eritroblastose Fetal

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

O risco de hemorragia em decorrência da eritroblastose está aumentado em situações como: placenta abrupta, aborto espontâneo ou provocado, gravidez ectópica, traumatismo abdominal, ou em certas técnicas invasivas. Para diminuir o risco, no caso da mãe Rh negativo, indica-se a administração de imunoglobulina anti D, vacina conhecido comercialmente como rolgan ou matergam, que destrói as células Rh+ do feto, prevenindo a produção de anticorpos anti Rh D, porém deve ser administrado o mais cedo possível, uma vez que sua meia-vida na circulação de indivíduos de IgG é de aproximadamente, 3 a 4 semanas. (NARDOZZA et al, 2010).

Portanto, essa hemólise associada à incompatibilidade de classificação ABO é limitada às mães do de tipo sanguíneo O nas quais os filhos são do grupo sanguíneo A ou B positivos (BAIOCHI, 2009). Na incompatibilidade sanguínea ou de fator Rho(D) entre mãe e feto, os eritrócitos do feto podem atravessar para o organismo materno e levar à produção de anticorpos, capazes de atuar contra os eritrócitos do próprio feto devido a incompatibilidade entre o fator Rh da mãe e feto e podem retornar (figura 2), causando assim a eritroblastose fetal (SÁ, 2006).

A eritroblastose fetal gerada pela incompatibilidade Rho (D) manifesta-se em, aproximadamente, 6% de todos os nascimentos. Comumente, a produção de anticorpos pelo organismo materno começa após a primeira gestação, representando assim um risco para a maioria das gestações subseqüentes devido à sensibilização da primeira gestação, como já citado anteriormente (MOLEIRO et al, 2004).

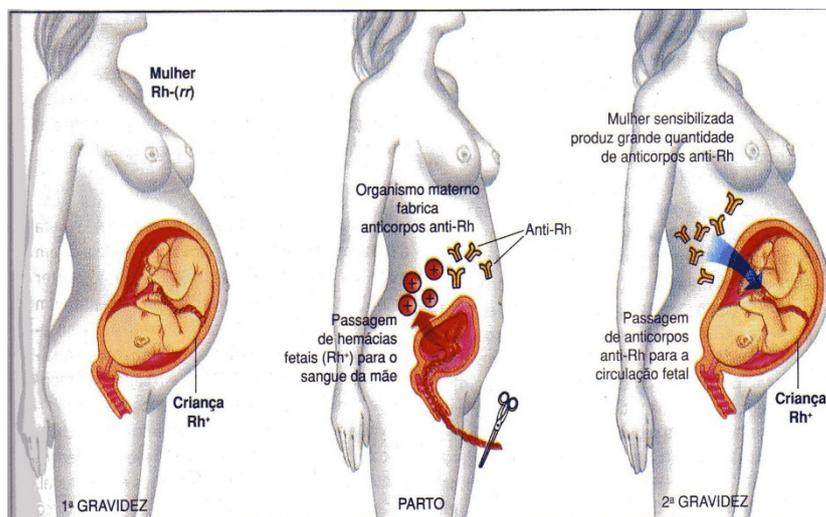


Figura 2. Esquema de Isoimunização Rh.

Fonte: Mesquita et al, 2005.

A hemólise gerada por esses anticorpos não ocorre no sistema intravascular, pois não ligam o sistema complemento, mas sim no sistema retículo endotelial do feto, através do reconhecimento dos eritrócitos sensibilizados, sendo destruídos no baço (RECHE, 2014). A destruição eritrocitária traz algumas consequências a homeostase do seu organismo, podendo ser estabelecida um quadro anêmico que se não tratada de forma adequada gera o lançamento de células imaturas para a circulação, os eritroblastos e reticulócitos (SÁ, 2006).

A anemia intensificada leva a um feto anêmico e com baixa na concentração de albumina, condições que explicam a insuficiência congestiva, o edema generalizado e hepatoesplenomegalia, caracterizando a Hidropisia fetal (determinada como o aspecto edemaciado no tecido subcutâneo com efusão serosas de cavidades, uma ou mais) (MALTA et al, 2010).

A hemólise além de ocasionar anemia, gera um aumento da bilirrubina (gerada a partir da degradação do grupo heme da hemoglobina), levando a icterícia e no caso mais grave, a Kernicterus, doença caracterizada pelo acúmulo de bilirrubina indireta no cérebro, essas duas consequências ocasionadas pelo aumento de bilirrubina foram citadas na Figura I. (LORENZI, 2013).

O diagnóstico pode ser realizado tanto no período gestacional como após o nascimento e é concluído através de vários exames como a pesquisa de anticorpos fixados sobre as hemácias (Teste da Antiglobulina Direta – TAD), Eluição que serve para remover os anticorpos presentes na membrana dos eritrócitos para identificá-los posteriormente, pesquisa de anticorpos no soro (Pesquisa de Anticorpos Irregulares – PAI), entre outros (RECHE, 2014).

Como forma de prevenção à eritroblastose fetal, a gestante deve tomar a imunoglobulina anti-Rh ou Anti-D, aplicada geralmente na 28ª semana de gestação e também em até 72 horas após o parto, bloqueando, assim, a produção dos

anticorpos anti-Rh, evitando a sensibilização da mãe. Porém mesmo com tantos avanços na profilaxia da eritroblastose fetal, ainda existem mulheres Rh-negativo com sensibilização após o parto de uma criança Rh-positivo. (SÁ, 2006).

Segundo a lista de causas de mortes evitáveis por intervenções do Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil (2010), as doenças hemolíticas do feto devidas à isoimunização são classificadas como família principalmente da mãe, realização de testes clínicos e exames sorológicos corretamente compõem as medidas preventivas suficientes para evitar o desenvolvimento da eritroblastose fetal (MALTA et al, 2010).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eritroblastose fetal é uma isoimunização de anticorpos maternos da classe IgG, conduzidos contra os eritrócitos do feto, é uma doença grave que pode acarretar inúmeras complicações para o feto ou recém nascido até o óbito do mesmo. A incompatibilidade por RhD é comum, porém tomando as medidas preventivas, a incidência do desenvolvimento de patologias decorrentes desses anticorpos é praticamente inexistente.

O estudo enfatiza a etiologia, patogênese, manifestações clínicas, além de abordar que há possibilidade de prevenção, tornando uma doença evitável. Sendo assim, tendo um acompanhamento correto no pré-natal, realização de testes clínicos e exames sorológicos adequados compõem as medidas preventivas e estas são suficientes para evitar o desenvolvimento da eritroblastose fetal. No entanto, esta patologia ainda é uma situação que ocorre devido ao acompanhamento ineficiente das gestantes e/ou administração tardia da imunoglobulina Anti-D.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K; LICHTMAN A.H; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7th ed. Elsevier: Rio de Janeiro; 2011.

BAIOCHI, E; NARDOZZA, L.M.M. **Aloimunização**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, 2009.

GRIFFITHS, A.J.F; WESSLER, S.R; LEWONTIN, R.C. et al. **Introdução à Genética**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006.

HARMENING, D. M. **Técnicas modernas em banco de sangue e transfusão**. 4th ed. Livraria e Editora Revinter Ltda: Rio de Janeiro, 2006.

HASSAN, M.N; NOOR, N.H.M; NOOR, S.R.J. et al. **Hemolytic disease of fetus and newborn due to maternal red blood cell alloantibodies in the Malay population**. *Asin. J. Transfus. Sci*, v.8, n. 2, p.113-117, 2014.

LORENZI, T.F. **Atlas de hematologia: clínica hematológica ilustrada**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013.

- MALTA, D.C; SARDINHA, L.M.V; MOURA, L. et al. **Atualização da lista de causas de mortes evitáveis por intervenções do Sistema Único de Saúde do Brasil**. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 19, n. 2, p.173-176, abr-jun 2010.
- MARTINS, P.R.; ALVES, V.M.; PEREIRA, G.A. et al. **Frequência de anticorpos irregulares em politransfundidos no Hemocentro Regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005**. Rev. Bras. Hemoter, v.30, n.4, p. 272-276, 2008.
- MESQUITA, S.; PROENÇA, E.; ALEXANDRINO, A.M. **Isoimunização Rh e múltiplos antígenos. Nacser e Crescer**, v.14, n.1, p. 31-34, 2005.
- MOLEIRO, A.; PEREIRA, A.; SILVA, A. et al. **Consensos Nacionais em Neonatologia**. Secção de Neonatologia. Sociedade Portuguesa de Pediatria: Coimbra, p. 139-142, 2004.
- NARDOZZA, L.M.M.; SZULMAN, A.; BARRETO, J.A.; **Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional**. Revista da Associação Médica Brasileira, 2010.
- PEREIRA, P.C.M. **Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: aspectos atuais**. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia, 2012.
- RECHE, G.M. **Determinação da frequência de anticorpos ABO e Rh em recém-nascidos**. Universitas: Ciências da Saúde, Brasília, v.12, n.2, p. 77-82, jul./dez. 2014.
- SÁ, C.A.M. **Doença hemolítica perinatal pelo fator Rh: experiência de 10 anos do Instituto Fernandes Figueira**. [dissertação]. Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro; 2006.
- SÁ, Cynthia Amaral Moura. **Doença hemolítica perinatal pelo fator Rh: experiência de 10 anos do Instituto Fernandes Figueira**. Rio de Janeiro, 2006.
- Sabino JS. **Determinação da incidência de Rh D fraco e Rh D parcial na população da área da abrangência do Hemocentro de Botucatu [dissertação]**. Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Medicina de Botucatu, 2008.
- SCHMIDT, L. C. **Atualizações na profilaxia da isoimunização Rh; FEMINA**, vol 38, nº 7, Julho 2010.
- SILVA, F.P. **A abordagem clínica e hemoterápica na doença hemolítica do recém-nascido Rh [dissertação]**. Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto: Curso de Hematologia e Banco de Sangue; 2011.
- TAVEIRA, P.A.; RIOS, A. **Doença hemolítica do recém-nascido causada pelo antígeno c**. Núcleo interdisciplinar de pesquisa. 2015.
- TARELLI, C.A; SANTOS, A; ROMANI, G. et al. **Eritroblastose fetal: uma atualização da literatura**. II Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG. Caxias do Sul – RS, 2014.

## EVENTOS ADVERSOS NOTIFICADOS APÓS IMUNIZAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA E O CONHECIMENTO POPULACIONAL

### **Letícia de Souza Silva**

Universidade Paulista, UNIP  
São Paulo – SP

### **Márcia Cristina Pena Figueiredo**

Docente do curso de biomedicina, Universidade Paulista, UNIP  
São Paulo – SP

### **Márcio Fernando Madureira Alves**

Coordenador aux. do curso de biomedicina, Universidade Paulista, UNIP  
São Paulo – SP

### **Sandra Heloisa Nunes Messias**

Coordenadora geral do curso de biomedicina, Universidade Paulista, UNIP  
São Paulo – SP

**RESUMO:** A vacina da febre amarela é produzida no Brasil e distribuída ao Sistema Único de Saúde (SUS), a fim de promover imunização da população, com objetivo de erradicar a doença ou minimizar os riscos. No entanto, alguns indivíduos após receberem a vacina podem apresentar reações adversas. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recebe notificações de eventos adversos após imunização contra febre amarela e outras vacinas distribuídas ao SUS. O estudo presente teve como objetivo avaliar o conhecimento populacional em adultos, homens e mulheres entre 18 e 60 anos da cidade de São

Paulo, em relação a eventos adversos após imunização contra febre amarela. A pesquisa foi aplicada através de um questionário a 223 indivíduos moradores da Cidade de São Paulo, com perguntas relacionadas à vacinação contra febre amarela e conhecimento sobre eventos adversos. Dos indivíduos entrevistados, 70,4% (157/223) disseram confiar nas vacinas oferecidas pelo sistema único de saúde e 6,3% (14/223) disseram não confiar nas vacinas de febre amarela distribuídas. Além disso, os indivíduos que responderam o questionário 14,8% (33/223) deles disseram apresentar eventos adversos. Os dados coletados mostraram que a maioria dos indivíduos confia nas vacinas oferecidas pelo SUS e mesmo quem desconfia sobre as vacinas, apresentam uma chance alta de vacinar seus filhos. Além disso, tanto os indivíduos que tomaram a vacina, quanto os que não foram imunizados, 52% dos entrevistados disseram não sentir-se pressionados para tomar a vacina contra febre amarela, mesmo com o surto em São Paulo entre 2017 e 2018. Apesar de representarem apenas 14,8% dos indivíduos entrevistados, 33 eventos adversos foram descritos no questionário por indivíduos que apresentaram os seguintes sintomas: dor de cabeça, dor no corpo, febre, mal estar, enjoo, entre outros sintomas. Portanto, foi possível observar que os eventos adversos são percebidos, no entanto,

não são notificados à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Contudo, necessita de ações mais significativas e fazer uma divulgação maior sobre o assunto, ressaltando a importância das notificações de eventos adversos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vacina, Febre amarela, Sintomas, imunização.

**ABSTRACT:** The yellow fever vaccine is produced in Brazil and distributed to the Single Health System (SUS), in order to promote immunization of the population, aiming to eradicate the disease or minimize the risks. However, some individuals after receiving the vaccine may have adverse reactions. In Brazil, the National Agency Sanitary Surveillance (ANVISA) receives notifications of adverse events after immunization against yellow fever and other vaccines distributed to SUS. The present study had as objective to evaluate the population knowledge in adults, men and women between 18 and 60 years old of the city of São Paulo, regarding adverse events after immunization against yellow fever. The research was applied through a questionnaire to 223 individuals living in the City of São Paulo, with questions related to vaccination against yellow fever and knowledge about adverse events. Of the individuals interviewed, 70.4% (157/223) said they trusted the vaccines offered by the single health system and 6.3% (14/223) said they did not trust the yellow fever vaccines distributed. In addition, individuals who answered the questionnaire 14.8% (33/223) of them reported adverse events. The data collected showed that most individuals rely on the vaccines offered by the SUS and even those who distrust vaccines have a high chance of vaccinating their children. Thus, both those who took the vaccine and those who were not immunized, 52% of respondents said they did not feel pressured to take the yellow fever vaccine, even with the outbreak in São Paulo between 2017 and 2018. Although, 14 adverse events were described in the questionnaire by individuals who presented the following symptoms: headache, body pain, fever, malaise, nausea, among other symptoms. Therefore, it was possible to observe that adverse events are perceived, but are not reported to the National Sanitary Surveillance Agency. However, it requires more significant actions and a greater divulgation on the subject, emphasizing the importance of the notifications of adverse events.

**KEYWORDS:** Vaccine, yellow fever, symptoms, immunization.

## 1 | INTRODUÇÃO

A vacina é uma substância do agente infeccioso capaz de ativar uma resposta imune contra agentes infecciosos para proteger contra uma reinfecção, podendo ou não causar sintomas. Para isto, a vacina induz a memória imunológica, quando os linfócitos entram em contato com o antígeno e o reconhecem, estimulando a produção de anticorpos. Assim, quando ocorre uma reinfecção, o sistema imunológico reconhece o antígeno e atua com uma resposta mais rápida (REINHARDT; WALFLOR; TRIGO; RIBAS, 2011).

Em 1796, Edward Jenner provou sua teoria após perceber que ordenhadoras

de vacas que estavam infectadas com a varíola bovina, apresentavam bolhas nas mãos, porém, não apresentavam sintomas da doença. Jenner então iniciou seu desafio imunológico: coletar material biológico das ordenhadoras e inocular em um menino saudável. Por fim, Jenner descobriu que inoculando material das bolhas das mãos das ordenhadoras no menino saudável, o mesmo apresentava objeção a varíola humana. O pesquisador Pauster anos depois, após criar a vacina da raiva, consagrou os imunobiológicos com nome de vacina (das vacas). A vacina da varíola foi o primeiro imunoprolífico a ser produzido (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

O sistema imunológico tem um reconhecimento do próprio e não próprio. O sistema imune é dividido em imunidade inata, na qual apresenta uma primeira defesa para o organismo com resposta rápida e inespecífica por sempre responder da mesma maneira; e imunidade adquirida ou adaptativa que é lenta e específica para o tipo de infecção. Esta última é classificada em celular: ativa que pode ser induzida (vacinas) ou natural (infecção); ou humoral: artificial (soros) ou natural (colostró apresentando anticorpos maternos) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2013).

As vacinas podem ser produzidas com organismos em diferentes estados ou geneticamente modificados. As vacinas podem conter organismos atenuados, organismos mortos, organismos subcelulares, toxinas ou vacinas de DNA (FIGUEIREDO, 2014).

- As vacinas inativadas apresentam o agente morto antes de ser injetado no corpo humano (ocorre mudanças na capa proteica), essa técnica é utilizada para produção de vacinas da gripe, pólio, raiva, Hepatite A, cólera, febre tifoide, coqueluche.
- As vacinas atenuadas apresentam a virulência enfraquecida através de seleção de mutantes com patogenicidade reduzida. O agente permanece vivo, porém não pode causar danos ao organismo.
- As vacinas de subunidades utilizam um vetor. Os genes que codificam as proteínas de interesse são isolados para que ocorra sua expressão. Diferente das vacinas anteriores, esta pode apresentar genes de vírus diferentes na mesma vacina, como uma vacina múltipla, sendo necessária uma única dose. Alguns exemplos desse tipo de vacina são Papiloma Vírus Humano (HPV) e Vírus da Hepatite B (HCVB).
- As vacinas gênicas apresentam uma imunização pelo Ácido Desoxirribonucleico (DNA). A vacina ainda em estudo, deve utilizar plasmídeos sob controle de um forte promotor, que serão introduzidos no músculo por meio de injeção de partículas de ouro. Um plasmídeo pode codificar genes de vários agentes diferentes.

## 2 | VACINA DA FEBRE AMARELA

A febre amarela é uma doença infecciosa transmitida por mosquitos em áreas que contem mata. A contaminação pode ser dividida em dois ciclos: ciclo silvestre e ciclo

urbano. No ciclo silvestre o mosquito *Haemagogus* ou *Sabethes* infecta os macacos que servem como principais hospedeiros. Os macacos infectados são picados por outros mosquitos que se contaminam e servem como vetores. Os mosquitos, por sua vez, infectam o homem, hospedeiro acidental, que contrai a infecção. O mosquito *Aedes* infecta outros homens na área urbana, por isso a febre amarela não apresenta transmissão direta entre humanos. O *Aedes* é conhecido não só por transmitir a febre amarela, mas também o zikavirus, chikungunya e dengue (NORONHA & CAMACHO, 2017).

Geralmente, a febre amarela não apresenta sintomas ou apresenta sintomas fracos como dor de cabeça, náuseas, vômito por cerca de três dias, febre alta, fadiga. Em casos raros de manifestações graves os sintomas aparecem alguns dias pós um período de melhora levando a icterícia, insuficiência hepática e insuficiência renal (FIOCRUZ, 2017).

A vacina da febre amarela é produzida no Brasil e distribuída ao Sistema Único de Saúde (SUS), a fim de promover imunização da população, com objetivo de erradicar a doença ou minimizar os riscos. Um dos principais produtores desta vacina é a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – Bio-Manguinhos), instituto de tecnologia e imunobiológicos localizado no Rio de Janeiro. A produção das vacinas 17DD da febre amarela no Brasil se fortaleceu no Instituto Oswaldo Cruz com forças unidas entre Henrique de Azevedo Penna, seu grupo e a fundação Rockefeller (MAGALHAES, 2016).

A fabricação da vacina da febre amarela ocorre em bioprocessos. É utilizado um vírus vivo atenuado (vírus vivo e enfraquecido). O vírus vivo atenuado é inoculado em ovos de galinha que são fecundados sem germes. Após o período de incubação, os embriões contendo esse vírus enfraquecido que se multiplicaram, são triturados para produzir a suspensão viral que é congelada a  $-70^{\circ}\text{C}$ . São realizados testes de qualidade para avaliar o produto, após isso, as suspensões recebem estabilizadores e são envasadas. Antes da liberação, essas suspensões passam por novos testes. A resposta imune no organismo humano é resultado da infecção de células próximo ao local da aplicação. O vírus se replica e ativa a resposta imunológica, estimulando os linfócitos a produzirem anticorpos (BOUSADA & PEREIRA, 2017).

### 3 | CONTROLE DE QUALIDADE DAS VACINAS

A vantagem da imunização ativa é que ela é gerada pelo próprio sistema imune e sua imunidade e memória são semelhantes à infecção, mas sem apresentar a doença. Porém, a vacina da febre amarela não deve ser aplicada em alguns casos como: casos de pacientes imunodeprimidos ou usuários de imunossupressores, gestantes, alérgicos a algum componente da vacina podendo ocasionar uma reação anafilática, crianças que apresentam convulsão a primeira dose, crianças menores de nove meses (NÓBREGA, 2015).

O CRIES (centro de referência de imunobiológicos especiais) foi criado para produção de imunizantes a partir da substituição de alguns produtos permitindo a imunização em imune eficientes, pessoas apresentando crise alérgica a algum componente da vacina (como alergia a albumina, eritromicina ou kanamicina) entre outras reações para diversas vacinas. Essas vacinas são consideradas específicas para uma pessoa. Esse recurso foi criado para intervenção em casos de reações anafiláticas (NÓBREGA, 2015).

O Programa Nacional de Imunização (PNI) foi criado em 1973 a fim de controlar as vacinações, controlar surtos e erradicar ou eliminar ao máximo as doenças imunopreveníveis. Apresenta um dos melhores calendários de imunização do mundo, levando em consideração a epidemiologia do lugar para calcular melhor as doses e sua distribuição aos postos de saúde do Brasil. Através do PNI em 1992 iniciou-se a estruturação do sistema nacional de vigilância epidemiológica de eventos adversos pós-vacinação (SNVEAPV), no entanto, apenas em 1998 com a publicação do manual de vigilância epidemiológica de eventos adversos pós-vacinação, essa prática passou a ser reconhecida no Brasil (LIMA & PINTO, 2017).

Além de programas como PNI e CRIES, outras ferramentas foram criadas para melhorar a qualidade na produção de vacinas. A BPF (certificação de boas práticas de fabricação) assegura integridade e qualidade na fabricação de produtos agrícolas e alimentos. Durante a produção, todo o processo é armazenado em POPs (Procedimento Operacional Padrão) que permite a eficácia na produção seguindo o mesmo método, padronizando o procedimento. O RPL (registro de produção de lote) permite um controle maior sobre os lotes liberados pelo instituto. Dessa forma, qualquer evento adverso notificado, ou qualquer ocorrência devido a prazo de validade pode ser identificado de uma maneira simples através dos lotes (HOMMA; POSSAS; MARTINS, 2014).

A qualidade da produção de vacinas envolve todo um processo, desde uma carteira de vacinação que permita a melhor imunização possível, até a preparação e liberação dos imunobiológicos (ROCHA; GONÇALVES; SILVA; VELOSO, 2015).

#### **4 | SISTEMA NACIONAL DE NOTIFICAÇÕES PARA A VIGILÂNCIA SANITÁRIA (NOTIVISA) E CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (CVE)**

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) *“O NOTIVISA é um sistema informatizado desenvolvido pela ANVISA para receber notificações de incidentes, eventos adversos (EA) e queixas técnicas (QT) relacionadas ao uso de produtos e de serviços sob vigilância sanitária”* (TODA & ANDRE, 2016).

O sistema da NOTIVISA permite que profissionais da saúde, usuários de medicamentos e núcleos de segurança do paciente (NSP) consigam notificar eventos adversos, apresentando uma linguagem diferente para diversos tipos de públicos.

Todos os órgãos de saúde sejam públicos ou privados devem estabelecer Núcleos de segurança do paciente para notificações e melhorias na qualidade de atendimento ao paciente. O NSP desses órgãos deve manter cadastro atualizado no portal da ANVISA (OLIVEIRA; MASUDA; MAGALHAES; DIMECH; JUNIOR, 2015).

A ANVISA apresenta orientações de como realizar o cadastro do NSP e como atualizar cadastros existentes. Como preferencia a ANVISA solicita que notifiquem apenas casos graves, falta de eficácia do fármaco e eventos que não apareçam descritos na bula do medicamento (PORTARIA Nº 1.660, DE 22 DE JULHO DE 2009).

Se for um profissional da saúde é necessário ter um cadastro na NOTIVISA e notificar a reação e dados sobre paciente. As notificações são feitas de forma voluntaria e são avaliadas pelos profissionais da ANVISA que classificam e apuram, podendo ser descartadas ou gerar medidas para melhoria (PORTARIA Nº 1.660, DE 22 DE JULHO DE 2009).

O CVE (Centro de Vigilância Epidemiológica) apresenta uma plataforma online e presencial com fichas para notificação e investigação de eventos adversos pós-vacinais como dores no corpo, dor de cabeça e qualquer outro sintoma que fuja do normal (CVE, 2018).

## **5 | DISTRIBUIÇÃO DAS VACINAS NO BRASIL**

O ministério da saúde adquire e distribui um total de 45 imunobiológicos, destes: 28 vacinas, 13 soros e 7 imunoglobulinas. De acordo com a CGPNI (Coordenação-Geral do Programa Nacional de Imunizações) e DEVIT (Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis), são distribuídas cerca de 250.000.000 (duzentos e cinquenta milhões) de doses anualmente para o sistema único de saúde, para todos os estados. Em parceria com o governo, os órgãos públicos que produzem estas vacinas são: FAP – Fundação Ataufo de Paiva no Rio de Janeiro, Instituto Butantan em São Paulo, FIOCRUZ Bio-Manguinhos no Rio de Janeiro, FUNED- Fundação Ezequiel Dias em Belo Horizonte e Tecpar – Instituto de tecnologia do Paraná. Além destes laboratórios oficiais, o ministério da saúde adquire também da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) (BISETTO & CIOSAK, 2017).

A vacina da febre amarela é produzida pela FIOCRUZ – Bio-manguinhos, a partir de cepa atenuada 17DD do vírus febre amarela, cultivada em ovos de embrionados de galinha livres de agentes patogênicos, de acordo com as normas estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (ROCHA; GONÇALVES; SILVA; VELOSO, 2015).

## **6 | OBJETIVO**

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ocorrência de sintomas percebidos pelos indivíduos entrevistados após a imunização contra febre amarela e aceitação

populacional referente à confiança nas vacinas da febre amarela distribuídas ao SUS.

## 7 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo, foi realizada uma pesquisa qualitativa, com aplicação de questionários através da plataforma Google para 223 indivíduos, mulheres e homens, com idade entre 18 e 60 anos residente da cidade de São Paulo – Capital. O questionário apresenta perguntas diretas e de múltipla escolha fim de avaliar o conhecimento populacional em relação a vacina da febre amarela e confiança da população nas vacinas oferecidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Os participantes receberam um termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Paulista (Comprovante nº 046343/2018. Numero do parecer 2.717.896), descrevendo o propósito da pesquisa.

Como critério de inclusão estão adultos entre 18 e 60 anos, homens e mulheres e que respondam corretamente o questionário.

Após coletar os dados, os mesmos foram organizados, analisados e representados graficamente utilizando o programa Excel. Os dados foram comparados com artigos científicos e dados da ANVISA sobre eventos adversos notificados.

## 8 | RESULTADOS

No estudo presente, a análise do questionário realizado com 223 indivíduos revelou que 27,4% (61/223) indivíduos, eram do sexo masculino e 72,6% (162/223) do sexo feminino (Tabela 01).

Perfil das participantes	Frequência	
	Número	Percentual %
<b>Gênero</b>		
Feminino	162	72,6%
Masculino	61	27,4%
<b>Faixa etária</b>		
18 a 25 anos	114	51,1%
26 a 35 anos	59	26,5%
36 a 45 anos	22	9,9%
46 a 55 anos	19	8,5%
56 a 60 anos	9	4,0%
<b>Escolaridade</b>		
Ensino fundamental incompleto	2	0,9%
Ensino fundamental completo	6	2,7%
Ensino médio incompleto	4	1,8%
Ensino médio completo	45	20,2%
Ensino superior incompleto	98	43,9%
Ensino superior completo	68	30,5%

Tabela 01. Distribuição percentual e absoluta das participantes. A tabela mostra as participantes do estudo segundo características socioeconômicas.

Dos indivíduos que apresentavam faixa etária entre 18 e 25 anos, 43,9% (98/223) tomaram a vacina da febre amarela e 6,72% (15/223) não foram imunizados. Dos adultos entre 26 e 35 anos 21,1% (47/223) foram imunizados contra febre amarela e 5,82% (13/223) não foram vacinados. A faixa etária de 36 a 45 anos apresentou 8,5% (19/223) vacinados e 0,89% (2/223) não vacinados, além de mostrar que 0,44% (1/223) não tinha certeza sobre a imunização. Além disso, 7,62% (17/223) dos indivíduos entre 46 e 55 anos tomaram a vacina e 0,89% (2/223) não foram imunizados. Por fim, dos indivíduos entre 56 e 60 anos que responderam a pesquisa, 2,69% (6/223) foram vacinados e 0,44% (1/223) não tomaram a vacina (Figura 01), além de apresentar 0,89% (2/223) dos indivíduos que não sabiam dizer se foram ou não imunizados.

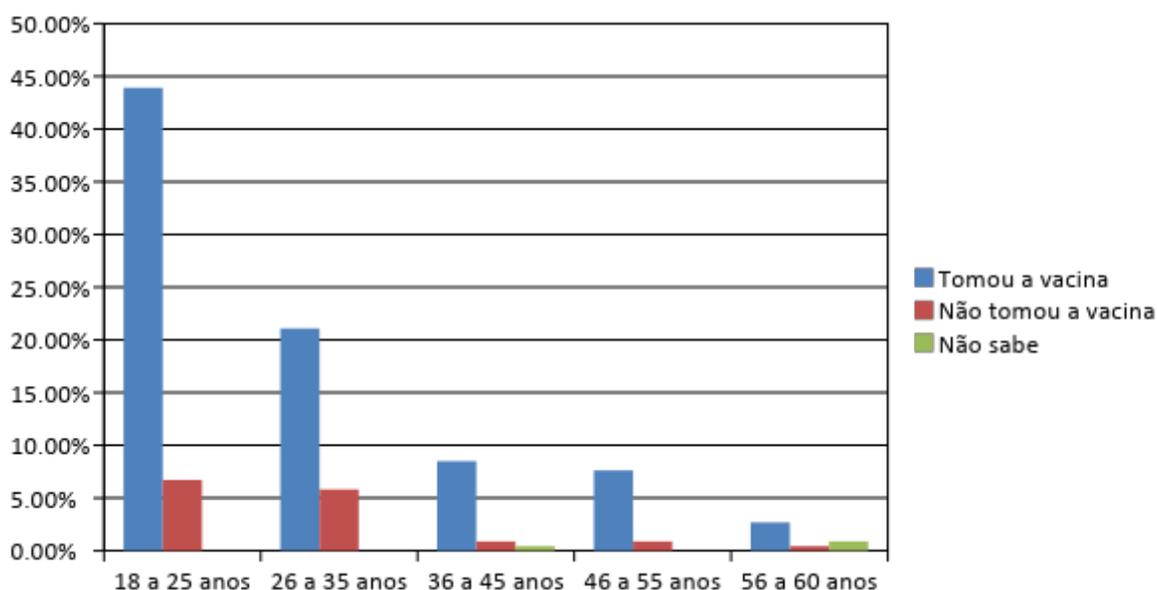


Figura 01. Associação entre a faixa etária e vacinação

Os indivíduos que tomaram a vacina da febre amarela confirmaram tomar dose inteira ou fracionada e se após a imunização apresentaram eventos adversos, sintomas como dor de cabeça, dor no corpo, febre, mal estar, enjoo, entre outros.

O presente trabalho apresenta dados relacionados à dose aplicada nos entrevistados. 57,8% (129/223) foram imunizados com a dose inteira, enquanto 20,2% (45/223) foram imunizados com a dose fracionada. Os outros 7,2% (16/223) não sabiam o tipo de dose aplicada e 14,8% (33/223) não foram imunizados. Dos indivíduos que apresentaram algum sintoma após a imunização, 24,2% (8/33) tomaram a dose fracionada, 69,9% (23/33) foram imunizados com a dose inteira e 6,06% (2/33) não sabiam responder sobre a dose. Os dados obtidos podem sugerir associação entre maior número de sintomas percebidos após a imunização com a maior dose aplicada.

Alguns sintomas foram percebidos pelos participantes após serem imunizados

contra a febre amarela. Entre os sintomas estão: Dor de cabeça 1,8% (4/223), dor no corpo 3,6% (8/223), mal estar 1,3% (3/223), febre 0,9% (2/223). Dos indivíduos que responderam a pesquisa 83,9% (187/223) não perceberam nenhum sintoma após a imunização e 8,5% (19/223) apresentaram mais de um sintoma (Figura 02).

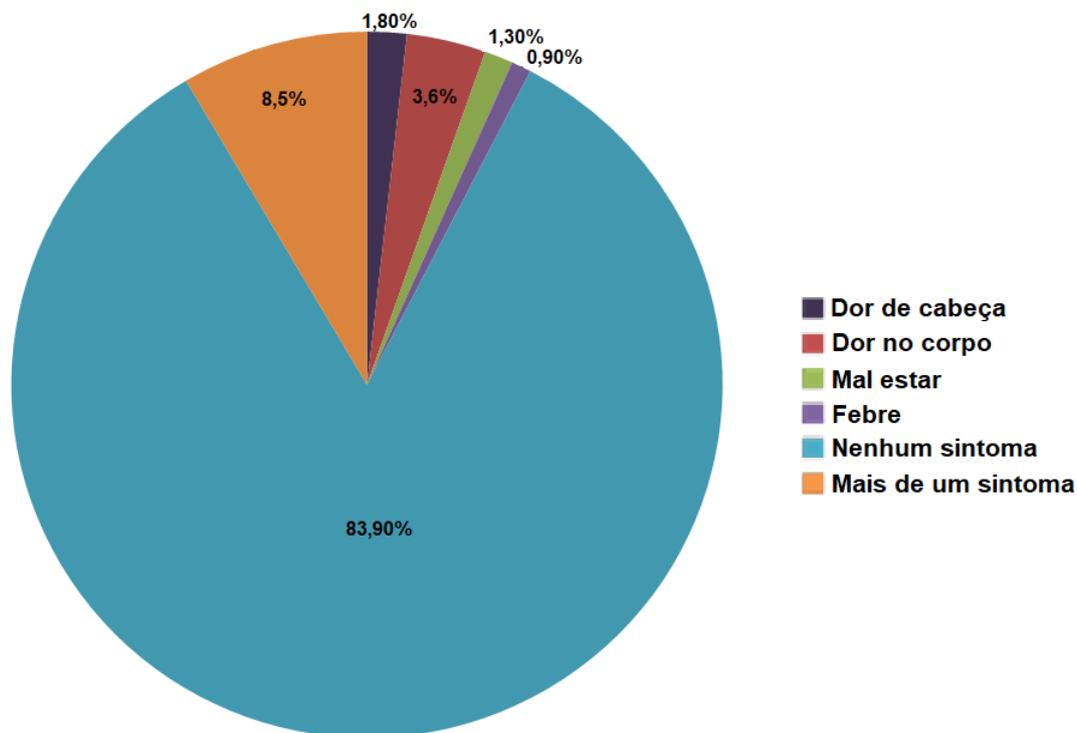


Figura 02. Eventos adversos percebidos após imunização

Outra questão abordada no questionário foi em relação à confiança da população nas vacinas oferecidas pelo governo ao sistema único de saúde e se os indivíduos vacinariam seus filhos. Dos resultados obtidos 70,4% (157/223) indivíduos disseram confiar na vacina da febre amarela, 6,3% (14/223) disseram não confiar na vacina e 23,3% (52/223) disseram não ter certeza em relação à confiança. Dos entrevistados 87% (194/223) disseram vacinar seus filhos com as vacinas oferecidas pelo sistema único de saúde (Figura 03), 5,4% (12/223) disseram não vacinar os filhos contra a febre amarela e 7,6% (17/223) responderam não ter certeza se vacinariam ou não seus filhos contra a febre amarela. Dos indivíduos que responderam confiar na vacina 94,9% (150/158) disseram que vacinariam seus filhos contra a febre amarela. 3,79% (6/158) disseram não vacinar os filhos mesmo confiando nas vacinas e 1,26% (2/158) disseram confiar, mas mostraram incerteza quanto a vacinar os filhos.

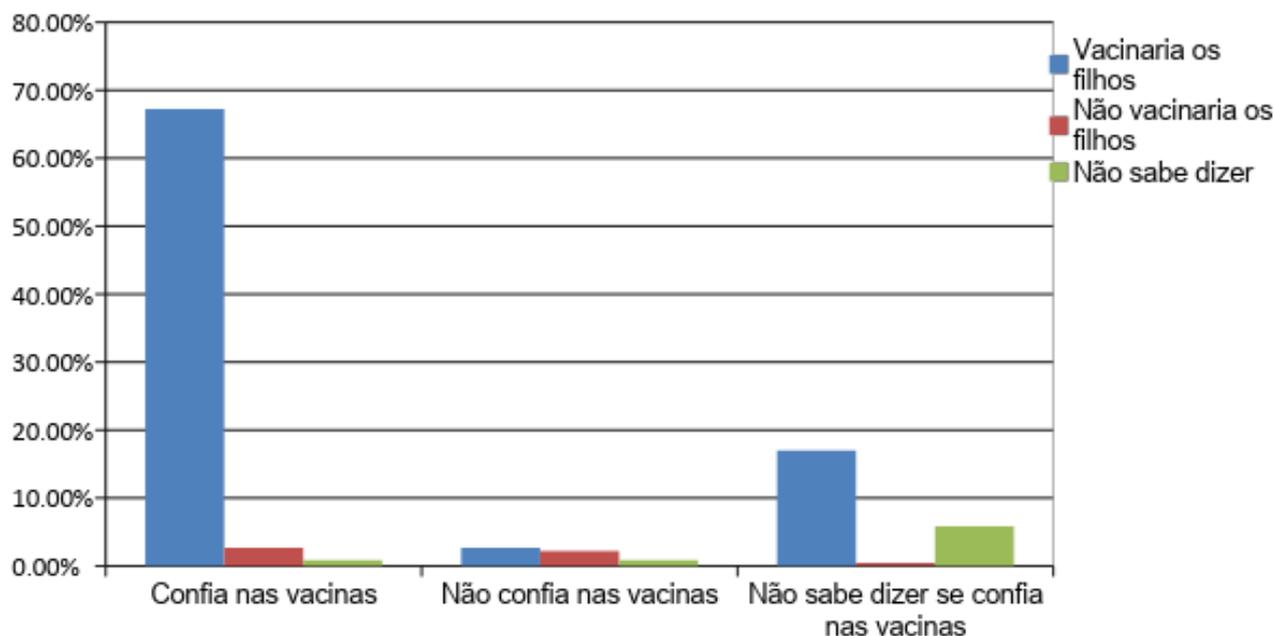


Figura 03. Associação entre a confiança nas vacinas distribuídas ao SUS e se o participante vacinaria seus filhos.

Dos indivíduos entrevistados 82,1% (183/223) disseram apresentar a carteira de vacinação em ordem, 11,7% (26/223) disseram apresentar a carteira de vacinação desatualizada e 6,3% (14/223) disseram não saber se a carteira de vacinação encontra-se em dia ou não (Tabela 02).

	Frequência	Porcentagem
Carteira de vacinação em dia	183	82,1%
Carteira de vacinação desatualizada	26	11,7%
Não sabe dizer	14	6,3%

Tabela 02. Distribuição percentual e absoluta das participantes. A tabela mostra frequência e porcentagem relacionadas à carteira de vacinação atualizada.

Outro objetivo proposto era avaliar os motivos dos 14,8% (33/223) indivíduos não terem se vacinado contra febre amarela e se os mesmos sentiram pressão para se vacinar. 38,6% (86/223) indivíduos, responderam não sentir-se pressionados a se vacinar. 52% (116/223) disseram não sentir-se pressionados e 9,4% (21/223) responderam não ter certeza sobre a pressão imposta para vacinação contra a febre amarela. Em relação ao motivo por não terem se vacinado, 4,5% (10/223) disseram sentir medo, preguiça e falta de confiança na vacina. 1,3% (3/223) disseram apresentar

problemas de saúde e deficiência imunológica. 1,8% (4/223) disseram estar gestantes e lactantes. 3,1% (7/223) disseram não ter tempo para ir até um posto de saúde e 1,8% (4/223) disseram morar fora da área de risco para a febre amarela.

De acordo com o Ministério da Saúde em seu boletim de atualização sobre a febre amarela publicado em 04 de abril de 2018, entre os meses de julho de 2017 e abril de 2018, foram confirmados 1.127 casos de febre amarela e 328 mortes decorrentes da doença. Os dados registrados sobre São Paulo (455 casos de febre amarela e 115 óbitos confirmados) vão de encontro aos dados obtidos no questionário sobre a pressão para se vacinar. Vale ressaltar que desde o último boletim publicado pelo Ministério da Saúde, os casos de febre amarela e óbitos reduziram.

## 9 | DISCUSSÃO

De acordo com o site Governo do Brasil, contendo informações do Ministério da Saúde e Fiocruz, as vacinas são seguras e confiáveis, pois passam por processos rigorosos de controle de qualidade antes de sua liberação. As vacinas são recebidas e uma amostra é enviada ao INCQS (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde) onde são realizados os testes. Schossler e Lohmann (2018) relataram em seu artigo sobre a compreensão dos pais em relação à vacinação infantil. Os resultados obtidos apresentaram um bom nível de conhecimento dos pais em relação à importância das vacinas, demonstrando preocupação para manter o calendário vacinal em ordem. Os dados apresentados tanto no trabalho de Schossler e Lohmann quanto no site do governo do Brasil, vão de encontro aos dados obtidos nesta pesquisa, onde apenas 5,4% (12/223) disseram não vacinar seus filhos, enquanto 70,4% (157/223) responderam vacinar seus filhos<sup>26</sup>.

A Fiocruz publicou uma nota em janeiro de 2018 informando sobre o fracionamento das doses que ocorreria entre fevereiro e março de 2018. O objetivo do fracionamento era imunizar um maior número de pessoas a fim de evitar a circulação e expansão da doença nos Estados. A dose inteira continha 0,5ml, enquanto a dose fracionada contém 0,1ml e protege por oito anos, ou seja, com a mesma quantidade de doses pode-se vacinar um número maior de pessoas. O presente trabalho apresenta dados relacionados à dose aplicada nos entrevistados. 57,8% (129/223) foram imunizados com a dose inteira, enquanto 20,2% (45/223) foram imunizados com a dose fracionada. Os outros 7,2% (16/223) não sabiam o tipo de dose aplicada e 14,8% (33/223) não foram imunizados. Dos indivíduos que apresentaram algum sintoma após a imunização, 24,2% (8/33) tomaram a dose fracionada, 69,9% (23/33) foram imunizados com a dose inteira e 6,06% (2/33) não sabiam responder sobre a dose. Os dados obtidos podem sugerir correlação entre maior número de sintomas percebidos após a imunização com a maior dose aplicada.

De acordo com o Ministério da Saúde em seu boletim de atualização sobre a febre amarela publicado em 04 de abril de 2018, entre os meses de julho de 2017 e abril

de 2018, foram confirmados 1.127 casos de febre amarela e 328 mortes decorrentes da doença. Os dados registrados sobre São Paulo (455 casos de febre amarela e 115 óbitos confirmados) vão de encontro aos dados obtidos no questionário sobre a pressão para se vacinar. Apesar da campanha de vacinação 52% dos entrevistados disseram não sentir-se pressionados a se vacinar contra a febre amarela enquanto 38,60% sentiu a pressão imposta pelas campanhas. Vale ressaltar que desde o último boletim publicado pelo Ministério da Saúde, os casos de febre amarela e óbitos reduziram.

Apesar dos sintomas descritos pelos indivíduos entrevistados, somente um evento adverso foi notificado a ANVISA entre 2016 e 2017 (Tabela 03). Os dados podem sugerir falta de informação da população em relação à importância das notificações. Os dados foram obtidos através da plataforma E-sic de acesso a informação (Protocolo: 25820006630201711).

Ano Notificação	Co Uf Notificação	Contagem de linhas
2016	GO	1
	RJ	1
	<b>Total</b>	<b>2</b>
2017	BA	3
	ES	22
	MG	9
	MT	1
	PB	2
	RJ	71
	RS	1
	SP	1
	<b>Total</b>	<b>110</b>
<b>Total</b>	<b>112</b>	

Tabela 03. Notificações de eventos adversos entre 2016 e 2017 no Brasil. A tabela mostra notificações de eventos adversos notificados a ANVISA entre os anos 2016 e 2017.

Fonte: Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária de acordo com Estados do Brasil (Co Uf).

## 10 | CONCLUSÃO

Os dados coletados mostraram que a maioria dos indivíduos confia nas vacinas oferecidas pelo sistema único de saúde e mesmo quem tem incerteza sobre as vacinas, apresentam uma chance alta de vacinar seus filhos.

Apesar de representarem apenas 14,8% dos indivíduos entrevistados, 33 eventos adversos foram descritos no questionário por indivíduos que apresentaram dor de cabeça, dor no corpo, febre, mal estar, enjoo, entre outros sintomas.

Tanto os indivíduos que tomaram a vacina, quanto os que não foram imunizados, 52% (116/223) dos entrevistados disseram não sentir-se pressionados para tomar a

vacina contra febre amarela, mesmo com o surto em São Paulo entre 2017 e 2018.

Os dados foram graficamente organizados e apresentaram o conhecimento popular em relação ao conhecimento sobre eventos adversos separados por nível de escolaridade. Dos indivíduos que participaram da pesquisa (n=223), 63,7% (142/223) disseram saber o que era um evento adverso. Destes, 59 (41,26%) representavam o ensino superior incompleto.

Através da análise desses dados, foi possível observar que os eventos adversos são percebidos, porém o conhecimento sobre notificações de eventos adversos é restrito e não existe uma divulgação maior sobre o assunto.

## REFERÊNCIAS

ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI SHIV. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 4 ed.; Elsevier; Rio de Janeiro; 2013.

BISETTO LHL, CIOSAK SI. **Análise da ocorrência de evento adverso pós-vacinação decorrente de erro de imunização**. Rev. Bras. De enferm. – REBEn. V.70; n.1; p.81-89; São Paulo; 2017.

BOUSADA GM, PEREIRA EL. **Produção de vacinas virais parte 1: Engenharia de Bioprocessos**. Universidade federal de Viçosa. Viçosa, 2017.

CVE.><http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologicaprof.-alexandre-vranjac/homepage/downloads/eventos-adversos-pos-vacinacaoficha-notificacao-e-investigacao>< acesso em: 04/Novembro/2018

FERNANDES MSJ, FERNANDÉZ HL, MOREIRA VC, MACINEIRA IMG, ALFONSO MHA. **Incidência de reações adversas a medicamentos nos serviços de medicina e terapia do hospital central Josina Machel, em 2014**. Rev. Port. Farmacoter. V.8; p.105-111; 2016.

Febres amarela: **sintomas, transmissão e prevenção**. FIOCRUZ. <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/febre-amarela-sintomas-transmissao-e-prevencao> acesso em: 11/Dezembro/2017

FIGUEIREDO LA. **Vacinas, novas perspectivas**. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de ciências da saúde, Porto, 2014.

HOMMA A, POSSAS CA, MARTINS RM. **Panorama do desenvolvimento tecnológico em vacinas no Brasil**. ComCiência. Rio de Janeiro, 2014.

LIMA AA, PINTO ES. **O contexto histórico da implantação do programa nacional de imunização (PNI) e sua importância para o sistema único de saúde (SUS)**. ScireSalutis; v.7; n.1; 2017.

MAGALHAES RCS. **A erradicação do Aedes aegypti: Febre amarela, Fred Soper e saúde pública nas Américas (1918-1968)**. Editora FIOCRUZ, p.420, Rio de Janeiro, 2016.

NÓBREGA LAL. **Avaliação da implantação dos centros de referência para imunobiológicos especiais (CRIEs) no Brasil**. São Paulo, 2015.

NORONHA TG, CAMACHO LA. **Controvérsias sobre a expansão das áreas com vacinação de rotina contra a febre amarela no Brasil**. Cad. Saúde Pública. V.33; n.10; 2017.

OLIVEIRA WA, MASUDA ET, MAGALHAES PB, DIMECH GS, JUNIOR VLP. **Conceitos utilizados**

**e eventos monitorados pelo centro de informações estratégicas e resposta em vigilância em saúde entre os anos de 2006 e 2010.** Rev. Med. Saúde Brasília. V.4; n.2; p.166-177; Brasília; 2015.

Plataformae-sic. **Serviço de informação ao cidadão.** Gerencia de farmacovigilância – GFARM. Protocolo: 25820006630201711; Resposta em 18/12/2017

PORTARIA Nº 1.660, DE 22 DE JULHO DE 2009. Ministério da saúde.>[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt1660\\_22\\_07\\_2009.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt1660_22_07_2009.html)<acesso em: 13/março/2018

REINHARDT G, WALFLOR HSM, TRIGO JHB, RIBAS JLC. **Desenvolvimento e aplicações de vacinas gênicas no tratamento e prevenção de doenças.** Revista saúde e desenvolvimento. V. 11; n.7; 2017.

ROCHA RG, GONÇALVES SDM, SILVA PLN, VELOSO MAA. **Avaliação da aplicabilidade de ferramentas de gestão em uma unidade básica de saúde.** Revista de gestão em sistemas de saúde – RGSS. V.4; n.2; Minas Gerais, 2015.

SCHOSSLER CD, LOHMANN PM. **Análise das dúvidas dos pais na sala de vacinação.** UNIVates. Lajeado, RS; 2018.

SOUZA SDF, CARVALHO GD. **Vacinação e Homeopatia.** Anais III SIMPAC. V.3; n.1; p.432-437; Viçosa, 2011.

TODA CM, ANDRE JN. **Análise descritiva dos principais produtos notificados no sistema nacional de notificações para vigilância sanitária (NOTIVISA).** Revista EaD& tecnologias digitais na educação. V.4; n.5; Dourados, MS; 2016

VITÓRIA MD, ROCHA BS, MACHADO FR, LOCATELLI DL, MARTINBIANCHO JK. **Reações adversas a medicamentos: Perfil de acompanhamento e notificação em uma unidade de internação clínica.** Clin. Biomed. Res.; Hospital das clínicas de Porto Alegre – HCPA. p.35; Porto Alegre; 2015.

VOGLER M, GRATIERI T, GELFUSO GM, CUNHA-FILHO MSS. **As boas práticas de fabricação de medicamentos e suas determinantes.** Revista Visa em debate. Vigil. Sanit. Debate. V.5; n.2; p.34-41; 2017.

## FATORES ASSOCIADOS AO ABANDONO DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS-BA NOS ANOS DE 2014 A 2016

### **Victor Laranjeira Martins**

Faculdade Madre Thais, Programa Municipal de Combate à Tuberculose e Hanseníase.

Ilhéus, Bahia.

### **Laís Guedes Rodrigues**

Faculdade Madre Thais.

Ilhéus, Bahia.

### **Flamélia Carla Silva Oliveira**

Faculdade Madre Thais, Programa Municipal de Combate à Tuberculose e Hanseníase.

Ilhéus, Bahia.

### **Jane Francisca Benjamim Moraes**

Programa Municipal de Combate à Tuberculose e Hanseníase.

Ilhéus, Bahia.

### **Eliana Neres Mello**

Programa Municipal de Combate à Tuberculose e Hanseníase.

Ilhéus, Bahia.

**RESUMO:** A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, transmitida pelo *Mycobacterium tuberculosis*, uma bactéria que é transmitida pelas vias aéreas, por meio de inalação de partículas contaminadas provenientes de portadores da doença. No contexto atual, o controle da tuberculose tornou-se algo desafiador pois a doença encontra-se, associada a fatores que acabam dificultando o diagnóstico precoce e o tratamento completo.

Indivíduos doentes sem acompanhamento terapêutico podem abandonar o tratamento perpetuando o aumento da cadeia de transmissão da doença. O presente trabalho objetivou-se a avaliar a incidência e os fatores de risco associados ao abandono do tratamento da tuberculose no município de Ilhéus-BA entre os anos de 2014 e 2016. Foram analisados dados de pacientes portadores da tuberculose que abandonaram o tratamento no período de 2014 a 2016. Os dados analisados nesse período apresentaram o total de 46 casos de indivíduos que abandonaram o tratamento. A TB é difusa podendo-se manifestar de forma pulmonar ou extrapulmonar, sendo que o agente etiológico, tem predileção pela área pulmonar. A terapêutica empregada é de uso prolongado, a fim de que se obtenha total eficácia nos resultados, podendo-se assim concluir que, apesar dessa infecção ser grave, ela é totalmente curável, utilizando-se os fármacos antimicrobianos com duração de seis meses para a cura da doença. Dessa forma esse estudo, evidencia-se demonstrar que tais fatores podem contribuir para a disseminação da doença pela interrupção do tratamento.

**PALAVRAS CHAVES:** Abandono. Fatores de risco. Tuberculose.

**ABSTRACT:** Tuberculosis (TB) is an infectious disease transmitted by *Mycobacterium*

tuberculosis, a bacterium that is transmitted through the airways by inhalation of contaminated particles from people with the disease. In the current context, tuberculosis control has become challenging because the disease is associated with factors that make it difficult to diagnose early and complete treatment. Patients who are ill without therapeutic follow-up may abandon treatment by perpetuating an increase in the disease transmission chain. The present study aimed to evaluate the incidence and risk factors associated with the abandonment of tuberculosis treatment in the municipality of Ilhéus-BA between 2014 and 2016. We analyzed data from patients with tuberculosis who abandoned treatment in the period from 2014 to 2016. The data analyzed in this period presented the total of 46 cases of individuals who abandoned treatment. TB is diffuse and can manifest in pulmonary or extrapulmonary form, and the etiological agent has a predilection for the lung area. The therapy used is of prolonged use, in order to obtain total effectiveness in the results, and it can be concluded that, although this infection is serious, it is totally curable, using the antimicrobial drugs with duration of six months for the cure of the disease. Thus, this study demonstrates that such factors may contribute to the spread of the disease through discontinuation of treatment.

**KEYWORDS:** Abandonment. Risk factors. Tuberculosis.

## 1 | INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, transmitida pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, também conhecido como bacilo de Koch (BK), que possui disseminação por inalação pelas vias aéreas (LOPES et al., 2013).

No Brasil, a disseminação da doença ocorreu durante a colonização e perpetuou-se até os dias atuais tornando-se assim, um grave problema de saúde pública. Dados epidemiológicos apresentados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) aponta o Brasil no 16º lugar entre os 22 países que mais tem registros de tuberculose no mundo, correspondendo a 80% dos casos mundiais (BRASIL, 2014).

Em 2009, o número de notificação chegou a 72.000 novos casos, correspondendo o índice de 38/100 mil habitantes, isso levando em consideração que anualmente 4,5 infectados vem a óbito e a taxa de abandono ao tratamento atinge os 17% (SILVA; MOURA; CALDAS, 2014). Já em 2012, foram diagnosticados 8,6 milhões de casos sendo que desses, 1,3 milhões foram levados a óbito. Ao analisar o índice nos anos de 2003 a 2013, houve uma redução significativa de registros, passando de 44, 4/ 100 mil habitantes para 35,4 casos durante esse período (BRASIL, 2014).

A terapêutica empregada para o tratamento é realizada através de fármacos antimicrobianos de uso prolongado, com duração de seis meses. Apesar de ser uma doença grave, a TB é totalmente curável, desde que sejam realizados o tratamento recomendável (SILVA; ANDRADE; CARDOSO, 2013). A intervenção medicamentosa é realizada com antimicrobianos do esquema básico, grupo de primeira escolha que incluem a isoniazida, a rifampicina, o etambutol e a pirazinamida e o esquema

alternativo, grupo de segunda escolha, que é prescrito quando há resistência aos fármacos anteriores, sendo eles, a amicacina, capreomicina, ciprofloxacino, cicloserina, etionamida, canamicina, ofloxacino, ácido paminosalicílico e protionamida. (KAISER et al., 2007).

A adesão ao tratamento é primordial para o controle da TB, reduzindo a disseminação do bacilo de pessoas portadores da doença para uma população não contaminada. A interrupção do uso do medicamento pode proporcionar um aumento do número de casos da TB por não ocorrer a quebra da cadeia da infecção, sendo assim pacientes não curados por não cumprimento do tratamento, permanecem como fonte ativa de contágio e contribuem para a resistência bacteriana aos fármacos, o que pode aumentar o tempo do tratamento e também o custo do medicamento (SILVA; MOURA; CALDAS, 2014).

É considerado abandono da terapêutica quando o indivíduo ausenta-se da unidade básica de saúde por em média 30 dias após a data da primeira administração do medicamento, deixando de fazer o uso dos fármacos dentro das datas aprazadas necessárias com duração de seis meses para obtenção da cura (BRASIL, 2011). De acordo com estimativas da OMS, consideram que a taxa de abandono do tratamento da TB, seja inferior a 5%. No entanto, no Brasil, essa média apresentou variações de 6,4 a 12% nos últimos anos (MONTEIRO et al., 2015).

Vários fatores estão associados e já foram descritos por contribuírem para o abandono do tratamento da tuberculose como: o uso de álcool, drogas, co-infecção HIV/TB, portadores de doenças crônicas, melhora clínica aparente, rejeição ao serviço de saúde, aspectos sócio-demográfico, efeitos colaterais ao medicamento, tempo de duração da terapia medicamentosa, uso irregular dos medicamentos, fatores socioeconômico e administração de dose insuficiente do medicamento (SILVA; ANDRADE; CARDOSO, 2013).

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar os fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose no município de Ilhéus-BA, determinando a taxa de abandono e os fatores de risco para o abandono ao tratamento como: faixa etária, gênero, alcoolismo, tabagismo, uso de drogas e também a presença de co-infecção pelo vírus HIV entre os anos de 2014 à 2016.

## **2 | METODOLOGIA**

Tratou-se de uma pesquisa descritiva quali-quantitativa, onde foram analisados prontuários de pacientes que apresentaram-se como abandono do tratamento da tuberculose no período de 2014 a 2016 no município de Ilhéus-Bahia.

### **2.1 Caracterização do município**

O município de Ilhéus está situado na região sul da Bahia, é conhecido como “Princesinha do Sul” e possui 1.584,693km<sup>2</sup> de área geográfica e a população estimada

de 176.341 habitantes para o ano de 2017 (IBGE, 2017).

## 2.2 Objeto de estudo

Foram relacionados os dados de pacientes diagnosticados com tuberculose, os quais iniciaram o tratamento para a doença e abandonaram antes da data aprazada para a cura no município de Ilhéus- BA no período de 2014 à 2016.

## 2.3 Coleta de dados

Realizou-se um levantamento de dados secundários dos casos de abandono ao tratamento da Tuberculose fornecido pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), obtidos pelo Sistema de Vigilância Epidemiológica e do Programa Municipal de Controle da tuberculose do município, localizado do Centro de Assistência Especializado (CAE III), no município de Ilhéus-BA. Foram analisados as variáveis associadas ao abandono do tratamento da tuberculose: faixa etária, sexo, alcoolismo, tabagismo, uso de drogas ilícitas e também a presença de infecção pelo vírus HIV.

## 2.4 Análise De Dados

Os dados foram analisados e tabulados através do programa Excel, preservando a identidade dos pacientes envolvidos. A interpretação dos dados ocorreu de forma lógica para a construção e compreensão central do estudo.

# 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Total de casos de abandono do tratamento da tb por ano

No Centro de Assistência Especializada (CAE III), no município de Ilhéus-BA, foram registrados um total de 447 casos de tuberculose, com início de tratamento no período de 2014 à 2016. Desse total, 46 (10,3%) foram casos de abandono do tratamento contra a tuberculose. Desses, em 2014, foram 14 casos (11,6%) em 2015 foram 16 casos (8,4%) e 2016 com 16 casos (9,1%) (Figura 1).

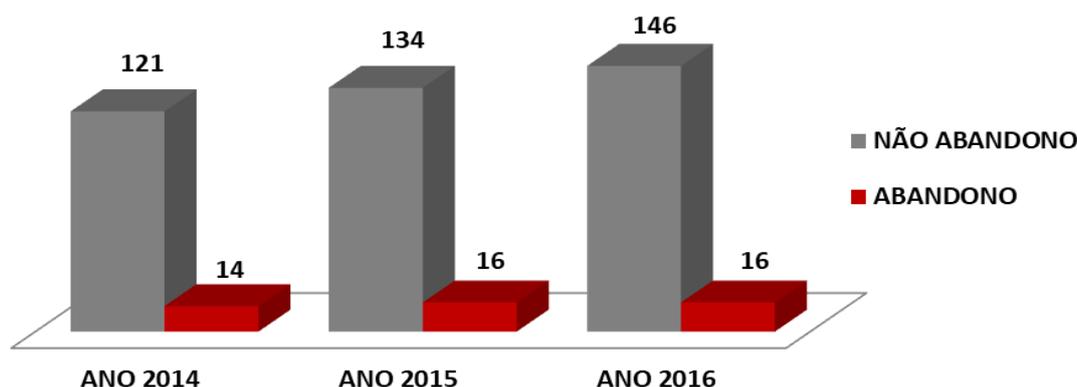


Figura 2. Casos de abandono do tratamento da tuberculose com não abandono e abandono

no município de Ilhéus-BA entre os anos de 2014 à 2016.

Fonte: SINAN (2017).

O presente estudo, mostrou uma diminuição no ano de 2014 em relação ao ano de 2015 com uma discreta elevação no ano de 2016 entre os casos de abandono, porém esse valor encontra-se acima da meta estabelecida pelo Ministério da Saúde para o Brasil, que preconiza que as taxas de abandono sejam inferiores a 5% ao ano (SILVA; MOURA; CALDAS, 2014). De acordo com Paz et al. (2012), em seu estudo referente a adesão do tratamento da tuberculose realizado na cidade do Belém do Pará (PA) o índice de abandono do tratamento, podem atingir até 25% entre os pacientes que abandonam o tratamento, níveis bem superiores ao do município em estudo.

### 3.2 Sexo

Em relação ao sexo, os indivíduos do sexo feminino foram predominantes com 28 casos (61%) enquanto os indivíduos do sexo masculino apresentaram 18 casos (39%) (Figura2).

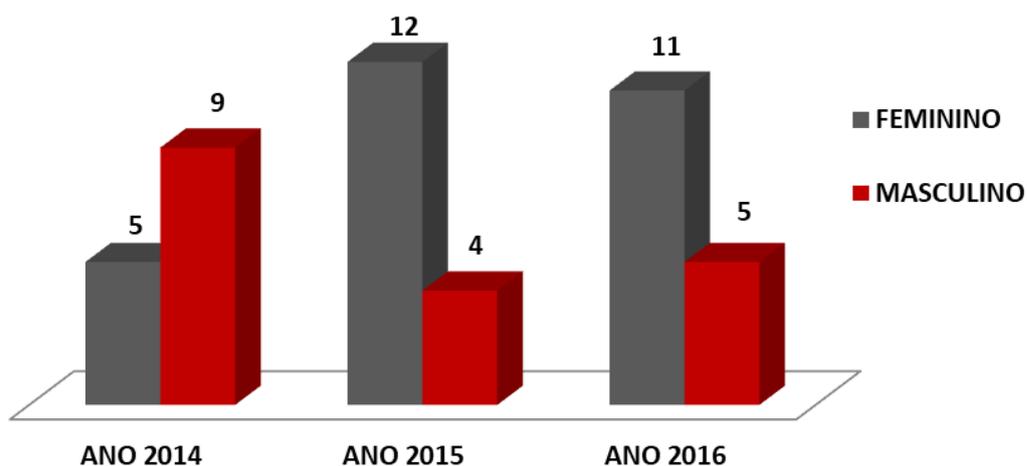


Figura 2. Casos de abandono do tratamento da tuberculose por sexo no município de Ilhéus-BA entre os anos de 2014 a 2016.

Fonte: SINAN (2017).

No que concerne ao sexo, Campani; Moreira e Tietbohel (2011), relataram em seu estudo sobre os fatores preditores para o abandono do tratamento em Porto Alegre (RS) e Heck; Costa; Nunes (2011) intitulado estudo da prevalência de abandono na cidade de Sapucaia do Sul (RS) em 2008, os casos ocorrem com frequência em pacientes do sexo masculino, de acordo com a literatura, visto que os homens tem menos atenção a saúde, sendo as mulheres mais assíduas nesse aspecto.

O presente estudo apresenta discordância nesse aspecto, prevalecendo o abandono em pacientes do sexo feminino com 28 casos (61%), corroborando com o estudo de Queiroz e Nogueira (2010) em um estudo realizado na cidade da Freguesia

do Ó/ Brasilândia (SP), onde as mulheres encontraram-se com (60,17%) entre os casos de abandono do tratamento.

A literatura relata que a não adesão do tratamento está mais associado ao estilo de vida do indivíduo do que o sexo, visto que as mulheres estão frequentemente assemelhando-se aos mesmos hábitos de vida dos homens o que afirma essa diferença.

Em relação a prevalência da infecção da doença nas mulheres implicando no abandono e resistência aos fármacos dificultando a cura e implicando na disseminação da bactéria (MENDES; FENSTERSEIFER, 2004).

### 3.3 Faixa etária

Notou-se a prevalência em pacientes com idade entre 15 à 25 anos com 15 casos (33%) seguido da faixa etária de 26 à 36 anos com 13 casos (28%) (Tabela 1).

FAIXA ETÁRIA	Nº CASOS	%
< 15 anos	0	0
15 a 25 anos	15	33
26 a 36 anos	13	28
37 a 47	6	13
48 a 58	8	17
>59 anos	4	9
<b>TOTAL</b>	<b>46</b>	<b>100</b>

Tabela 1: Casos de abandono do tratamento da tuberculose em Ilhéus - BA por faixa etária.

Fonte: SINAN (2017)

O presente estudo aproximou-se dos dados em um estudo realizado sobre os fatores associados ao tratamento da TB, apresentando maior percentual entre a faixa de idade entre 15 a 49 anos. ( OLIVEIRA, 2013)

Segundo Silva; Andrade e Cardoso, 2013 em um estudo realizado no estado de Pernambuco entre 2005 e 2010, nos países em desenvolvimento como o Brasil, a maior parte da população infectada pela doença, encontram-se com idade entre 15 e 59 anos, por ser um período onde as pessoas estão em maior produtividade social. Giroti et al. (2010), explica que esse fato ocorre devido ao estilo de vida deste público, o qual a utilização de bebidas alcoólicas e a alimentação em horários irregulares é notado frequentemente, fatores que tornam os indivíduos suscetíveis ao abandono do tratamento.

### 3.4 Etilismo

O etilismo apresentou-se com 26 casos (57%) dos 46 pacientes envolvidos nesse estudo (Figura 3).

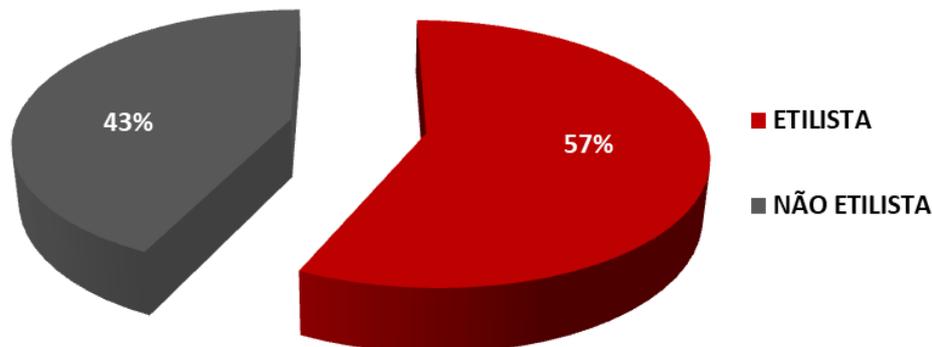


Figura 3: Casos de abandono do tratamento da tuberculose em Ilhéus - BA, por serem etilistas.

Fonte: SINAN (2017)

O resultado observado nesse estudo condiz com a literatura já que, de acordo com o estudo de Nata et al. (1999) sobre a predição para o abandono do tratamento da TB pulmonar na cidade do Rio de Janeiro, 66,7% dos pacientes com não adesão do tratamento, faziam uso de álcool, enquanto que na pesquisa de Braga et al. (2012) em sua pesquisa na atenção básica em Manaus e Fortaleza, foi observado uma frequência de 54,4%, entre os casos.

O etilismo é visto como fator predisponente para o mal prognóstico e conseqüentemente, término desfavorável do tratamento da tuberculose, pois as chances de desenvolvimento de efeitos colaterais progridem, assim como a possibilidade de desencadear intoxicação hepática além de aumentar as chances do paciente não continuar o tratamento, tornando-se resistente aos fármacos, afirma o estudo realizado por (ANDRADE; VILLA; PILLON (2005) e (BRAGA et al., 2012).

### 3.5 Tabagismo

O tabagismo apresentou maior prevalência entre os casos de abandono do tratamento, com total de 28 casos (61%) dos pacientes tabagistas (Figura 4).

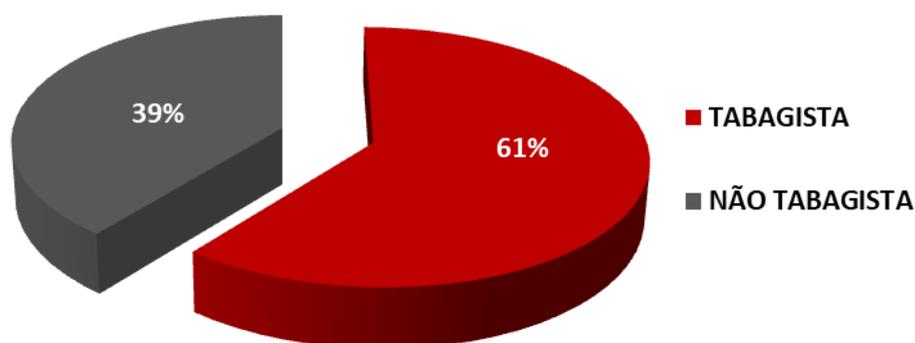


Figura 4: Casos de abandono do tratamento da tuberculose em Ilhéus - BA de pacientes fumantes.

Fonte: SINAN (2017)

Brasil (2010) afirma que, o tabaco atua modificando os mecanismos de defesa da árvore respiratória e diminuindo a quantidade de oxigênio sanguíneo, colaborando assim com o nível de gravidade das lesões necrotizantes, além de prejudicar e tornar mais lenta a cicatrização, o que pode gerar sequelas mais extensas.

De acordo com Brioschi (2012), a finalização do hábito de fumar regride em mais da metade o risco de desenvolvimento da tuberculose. Enquanto Rabahi (2012) faz uma comparação entre os não fumantes e os fumantes, onde os usuários de fumo se mostram com uma possibilidade superior de mortalidade por TB. De acordo com o estudo de Braga et al. (2012) na cidade de Fortaleza, relata que o índice entre os pacientes fumantes, encontram-se elevados, aproximando-se do percentual do presente estudo com 56,5% dos casos.

O estudo em questão, concorda com o estudo de Ribeiro e colaboradores (2000) numa pesquisa de caso controle de indicadores de abandono em doentes com tuberculose, demonstrando o percentual de 53,95% dentre dos pacientes tabagistas envolvidos no estudo.

### 3.6 Uso de drogas

No que se refere ao uso de drogas, os pacientes que abandonaram o tratamento da tuberculose, houve 17 casos (37%) um dos fatores de bastante predominância para a não adesão ao tratamento (Figura: 5).

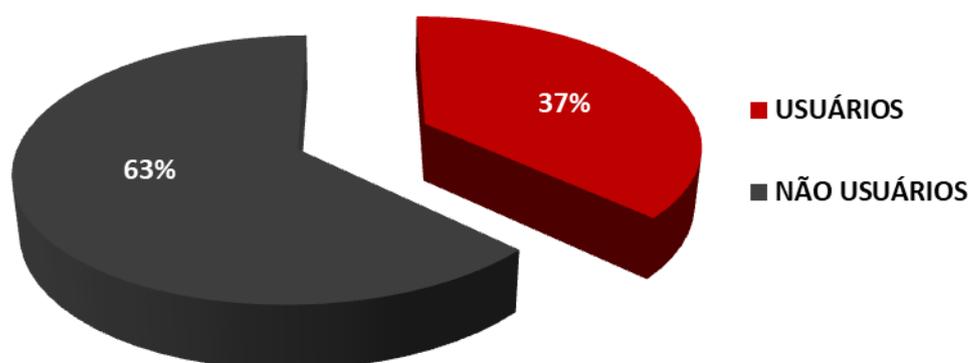


Figura 5: Número de casos de abandono do tratamento da tuberculose em Ilhéus - BA, por uso de drogas.

Fonte: SINAN (2017)

Os resultados obtidos no presente estudo, aproximam-se dos dados encontrados por Braga et al. (2012) com 27,2%, um valor discretamente baixo em relação aos outros valores das variáveis predisponentes para o abandono do tratamento nesse estudo. Visto que esses índices apresentam-se nos estudos de Chirinos; Meireles (2011), com 15% dentre os usuários, relatado em seu estudo referente aos fatores relacionados ao tratamento da tuberculose e a pesquisa de Campani; Moreira e Tietbohel (2011), na cidade do Rio Grande do Sul, apresentando um percentual baixo referente aos

pacientes usuários de algum tipo de drogas com 18,8% dos casos.

Observa-se que o paciente que faz uso de substâncias ilícitas, progride para a baixa adesão, visto que não comparecer na unidade para obtenção dos fármacos nas datas estabelecidas, dificultando o apoio da equipe de saúde em oferecer os medicamentos, por não assiduidade do paciente no programa, visto que a unidade oferece todo o suporte para o tratamento contínuo do paciente até a obtenção da cura (FILHO et al., 2012).

O uso de drogas é considerado uma variável sobreposta ao alcoolismo em pacientes que não permanece com o tratamento, ou seja, normalmente pacientes dependentes de drogas, sem discriminação sobre o tipo, também fazem uso do álcool, contribuindo ainda mais para o abandono (MENDES; FENSTERSEIFER, 2004).

### 3.7 Co-Infecção HIV/TB

Dos resultados analisados constatou-se que o vírus da imunodeficiência humana (HIV), apresentou-se positivo em 8 casos (17%) dos 46 casos de abandono, sendo 14 casos (31%) negativos e 24 casos (52%) não realizados (Figura 6).

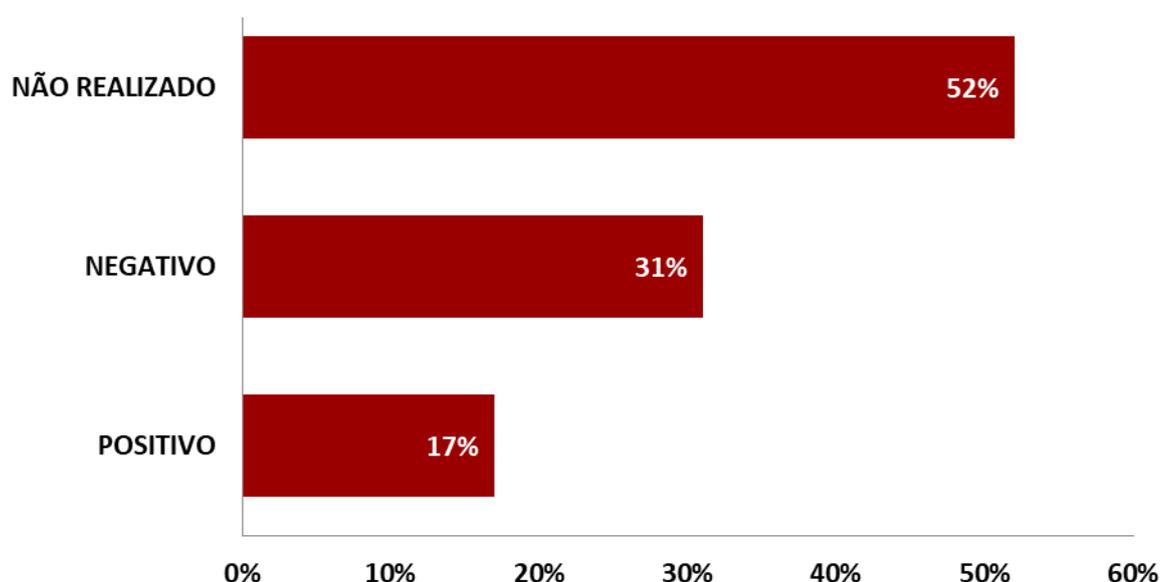


Figura 6: Casos de abandono do tratamento da tuberculose em Ilhéus - BA, com infecção pelo vírus HIV.

Fonte: SINAN (2017)

A relação entre a tuberculose e o HIV estabelece um sério agravo de saúde pública devido ao fato de levar a progressão da morbimortalidade em muitas nações, já que um indivíduo infectado pelo vírus possui 45% a mais de chance de adquirir o *Mycobacterium tuberculosis*, devido a imunossupressão, principal consequência do contágio pelo HIV, relatado no estudo de GIROTI et al. (2010) no Município de Londrina, Paraná.

De acordo com um estudo realizado no estado de Pernambuco, tendo como

autor Silva; Andrade; Cardoso (2013), a comorbidade HIV-TB é um importante fator relacionado ao abandono da terapêutica empregada para a cura da doença.

As interações medicamentosas e as reações adversas como efeitos colaterais em pacientes soropositivos são mais intensas em relação aos pacientes soronegativos pelo fato da ingestão de uma maior quantidade de medicamentos associadas para o tratamento de ambas as doenças.

#### 4 | CONCLUSÃO

Contudo, faz-se necessário a implementação de novas estratégias de incentivo como campanhas de conscientização, palestras, grupos educativos e assiduidade da equipe médica envolvida e a implementação do Tratamento Diretamente Observado (DOTS) um esquema de supervisão o qual reduziria significativamente os casos de abandono, porém a implementação deste, possui alto custo principalmente pelo fato do suporte domiciliar, uma importante contribuição para a adesão, visto que os pacientes se sentiriam mais acolhidos e orientados sobre a importância da adesão e a ingestão regular dos medicamentos.

#### REFERÊNCIAS

ANDRADE, R.L.P.; VILLA, T.C.S.; PILLON, S. **A influência do alcoolismo no prognóstico e tratamento da tuberculose**. Revista Eletrônica saúde mental álcool e drogas (SMAD), Ribeirão Preto/SP, 2005.

BRAGA, J.U., PINHEIRO, J.S., MATSUDA, J.S., BARRETO, J.A.P., FEIJÃO, A.M.M. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose nos serviços de atenção básica em dois municípios brasileiros, Manaus e Fortaleza, 2006 a 2008**. Caderno de Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Panorama da tuberculose no Brasil: indicadores epidemiológicos e operacionais** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Biblioteca virtual de Saúde. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil**. Cap 7. 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Recomendações para Controle da Tuberculose no Brasil**. 2011.

BRIOSCHI, A. P. **Tuberculose Pulmonar associada ao Tabagismo**. Tese mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, 2011.

CAMPANI, S. T. A.; MOREIRA, J. S.; TIETBOHEL, C. N. **Fatores preditores para o abandono do tratamento da tuberculose pulmonar preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil na cidade de Porto Alegre (RS)**. Jornal Brasileiro de Pneumologia, 2011.

CHIRINOS, N.E.C., MEIRELES, B.H.S. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose: Uma revisão integrativa**. Revista Texto Contexto de Enfermagem, Florianópolis, 2011.

FILHO, M.P.S., LUNA, I.T., SILVA, K.L., PINHEIRO, P.N.C. **Pacientes vivendo com HIV/AIDS e coinfeção tuberculose: dificuldades associadas à adesão ou ao abandono do tratamento.** Revista Gaúcha de Enfermagem, Porto Alegre (RS), 2012.

GIROTI, S. K. O., BELEI, R.A., MORENO, F.N., SILVA, F.S. **Perfil dos pacientes com tuberculose e os fatores associados ao abandono do tratamento.** Cogitare enfermagem, 2010.

IBGE. Bahia-Ilhéus. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2017.** Disponível em:< <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=291360&search=bahialilheus> >. Acesso em: 11 de set. 2017.

KAISER, C. R., CUNICO W. P. A. C., OLIVEIRA A. G., PERALTA M. A., SOUZA, M. V. **N. Oxazolidinonas: uma nova classe de compostos no combate à tuberculose.** Rev. Bras. Farm, 2007.

LOPES, R.H., MENEZES, R.N.P., COSTA, T.D., QUEIROZ, A.A.R., CIRINO, I.R., GARCIA, M.C.C. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose pulmonar: uma revisão integrativa.** Revista Baiana de saúde Pública, 2013.

MENDES, A. M.; FENSTERSEIFER, L. M. **Tuberculose: porque os pacientes abandonam o tratamento?.** Boletim de Pneumologia Sanitária, 2004.

NATAL, S.; VALENTE, J.; GERHARDT, G.; PENNA, M. L. **Modelo de predição para o abandono do tratamento da tuberculose pulmonar.** Boletim de Pneumologia Sanitária, 1999.

OLIVEIRA, P. B. **Fatores associados ao abandono de tratamento da tuberculose nos municípios considerados prioritários para o desenvolvimento das ações do Programa Nacional de Controle da Tuberculose no Brasil.** Tese Pós Graduação. Universidade de Brasília, 2013.

PAZ, L.N.F., OHNISHI, M.D.O., BARBAGELATA, C.M., BASTOS, A.F., OLIVEIRA, J.A.F., PARENTE, I.C. **Efetividade do tratamento da tuberculose .** J Bras Pneumol, 2012.

RABAHI M. F. **Tuberculose e Tabagismo.** Pulmão, Rio de Janeiro, 2012.

RIBEIRO, S. A., AMADO, V. M., CAMELIER, A. A., FERNANDES, M. M., & SCHENKMAN, S. . **Estudo caso-controle de indicadores de abandono em doentes com tuberculose.** Jornal de Pneumologia. São Paulo, 2000.

SILVA, C.C.A.V., ANDRADE, M.S., CARDOSO, M.D. **Fatores associados ao abandono do tratamento de tuberculose em indivíduos acompanhados em unidades de saúde de referência na cidade do Recife, Estado de Pernambuco, Brasil, entre 2005 e 2010.** Epidemiologia Serviço de Saúde, Brasília, 2013

SILVA, P.F., MOURA, G.S., CALDAS, A.J.M. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose pulmonar no Maranhão, Brasil, no período de 2001 a 2010.** Caderno Saúde Pública, 2014.

## FREQUÊNCIA DOS CRISTAIS DE CHARCOT-LEYDEN NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO ANO DE 2017

**Jéssica Araújo Menezes**  
**Flávia Karen Carvalho Garcia**  
**Larissa Lisboa Rêgo Brito**  
**Marcos Emmanuel Vilanova da Costa**  
**Leonan Oliveira de Souza**  
**Vanessa Christine Gusmão Santos**  
**José Hugo Romão Barbosa**

**RESUMO:** Os cristais de Charcot-Leyden são estruturas as quais conduzem a buscar enfermidades que derivam de eosinófilos e dos basófilos. A presença de cristais de Charcot-Leyden, juntamente com infiltrado eosinofílico, seria uma evidência direta de infestação parasitária. Além da associação parasitária, esses cristais podem estar presentes em casos de alergias, doenças neoplásicas, doenças inflamatórias e em pacientes com leucemia mielóide aguda. O estudo foi desenvolvido em um laboratório escola, no qual foram analisados dados dos pacientes durante o ano de 2017, no qual foram relatados em 317 amostras a presença dos cristais de Charcot-Leyden. No exame parasitológico foram detectadas cargas parasitárias de leve a moderada, onde houve a presença de cristais, sendo principalmente achados cistos de *Endolimax nana* e *Entamoeba coli*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cristal de Charcot-Leyden; Carga parasitária; Profilaxia

**ABSTRACT:** Charcot-Leyden crystals are structures that lead to diseases derived from eosinophils and basophils. The presence of Charcot-Leyden crystals, together with eosinophilic infiltrate, would be direct evidence of parasitic infestation. In addition to the parasite association, these crystals may be present in cases of allergies, neoplastic diseases, inflammatory diseases and in patients with acute myeloid leukemia. The study was developed in a school laboratory, in which data from the patients were analyzed during the year 2017, in which the presence of Charcot-Leyden crystals was reported in 317 samples. In the parasitological examination parasite loads of mild to moderate were detected, where crystals were present, being mainly cysts of *Endolimax nana* and *Entamoeba coli*.

**KEYWORDS:** Charcot-Leyden crystal; Parasitic burden; Prophylaxis

### INTRODUÇÃO

As parasitoses ainda geram grandes percalços na sociedade, principalmente em regiões subdesenvolvidas onde há uma forte presença de instalações sanitárias deficientes, culminando em uma alta prevalência de infecções. Nos casos de parasitose há um significativo quadro de eosinofilia junto ao

aumento de vários mediadores da inflamação como resposta ao hospedeiro. Dentre esta resposta há a presença dos Cristais de Charcot-Leyden (CCL), evidenciados em 1853, pelo médico francês Jean Martin Charcot e por Charles-Philippe Robin durante relatório patológico de um paciente. Os cristais de Charcot-Leyden possuem estrutura hexazonal, bipiramidal e são incolores. Esses cristais são constituídos de lisofosfolipase presentes nos grânulos de eosinófilos e basófilos. A presença destes cristais associado ao infiltrado eosinofílico mostra uma direta relação com a infecção parasitária.

Os cristais de Charcot-Leyden foram descritos primeiramente em 1853, pelo médico francês Jean Martin Charcot (1825-1893) e por Charles-Philippe Robin (1821-1885). Durante relatório patológico, ele observou a presença de cristais em um caso de leucemia, bem como em uma análise da expectoração de uma mulher com bronquite. Em 1871 O médico alemão Ernst Victor von Leyden (1832-1910) publicou em seu relatório a observação de cristais em um paciente asmático. Leyden defendeu seu pedido de prioridade da descoberta da associação de cristais com a asma, mesmo sabendo que os cristais tinham sido previamente descritos por Charcot.

## **OBJETIVO**

O presente trabalho teve como objetivo notificar a frequência dos cristais de Charcot-Leyden no exame parasitológico no Laboratório Escola de Análises Clínicas, localizado em Aracaju/SE afim de auxiliar no diagnóstico parasitário e contribuição a literatura.

## **METODOLOGIA**

Utilizou-se a técnica de Lutz/Hoffman para analisar as amostras recebidas no laboratório, no período de janeiro a dezembro de 2017, através da visualização em lâminas por meio da microscopia convencional posterior à técnica. Do total de amostras analisadas durante todo o período da pesquisa, 317 amostras foram positivas para a presença dos cristais de Charcot-Leyden. Não foram coletados dados pessoais de nenhum dos indivíduos.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Em 2017 foram identificados 317 casos, distribuídos conforme tabela abaixo entre os meses de janeiro à dezembro.

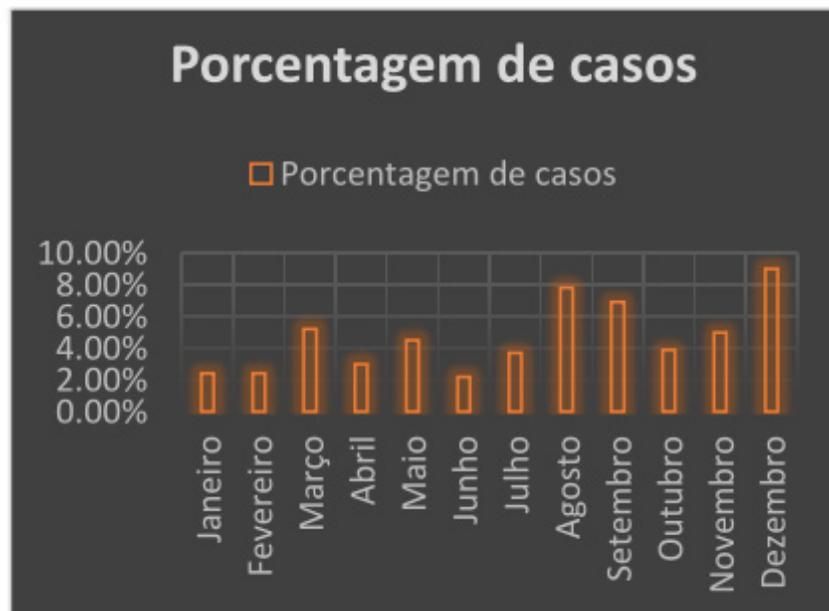


Figura 1: Porcentagem por mês de casos identificados em 2017.

Em janeiro, foi notificado uma frequência de 2,4% do total de amostras positivas para os cristais (15 casos); fevereiro, 2,4% (17 casos); março, 5,2% (24 casos); abril, 3% (18 casos); maio, 4,5% (25 casos); junho, 2,2% (13 casos); julho, 3,7% (20 casos); agosto, 7,8% (55 casos); setembro, 6,9% (46 casos); outubro, 3,9% (19 casos); novembro, 5% (30 casos) e por fim, em dezembro, 9% (35 casos). Pode-se notar um alto índice de amostras positivas para os cristais, que em análise, foi notificado uma carga parasitária de leve à moderada, principalmente para protozoários, em especial *Endolimax nana* e *Entamoeba coli* confirmando assim, a estreita relação deste achado clínico para a condição do paciente.

## CONCLUSÃO

Mediante a frequência deste achado nas amostras analisadas, há uma certa urgência em medidas de profilaxia para controle da transmissão das parasitoses intestinais em geral, além de reforçar a importância do mesmo em auxílio no diagnóstico médico e laboratorial.

## REFERÊNCIAS

1. RODRIGUEZ, René A.; SARMIENTO, Ladys; RODRIGUEZ, Gerzaín. **Los cristales de Charcot-Leyden**. Revista Biomédica 1998;18(1):89-92
2. SANTOS, Daniela dos; BRAGA, Lais de Souza; PAVANELLI, Mariana Felgueira. **ANÁLISE LABORATORIAL DOS CRISTAIS DE CHARCOT-LEYDEN COMO MÉTODO AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS**. Revista Iniziare, Campo Mourão, v. 2, n. 1, p. 45-56, jan./jun., 2017.

## FUNGOS MACROSCÓPICOS DO SUDOESTE DO PARANÁ: PRIMEIROS REGISTROS

### Ligia Thix de Oliveira

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-  
UTFPR

Dois Vizinhos- Paraná

### Fernanda Ferrari

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-  
UTFPR

Dois Vizinhos- Paraná

### Daniela Aparecida Estevan

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-  
UTFPR

Dois Vizinhos- Paraná

**RESUMO:** Os fungos são encontrados nos mais variados habitats, inclusive no ar, pelo qual seus esporos são disseminados e ao atingirem um substrato adequado, germinam formando novos micélios. Podem viver de maneira saprófita decompondo matéria orgânica ou parasiticamente. Os fungos macroscópicos possuem estrutura reprodutiva visível a olho desarmado, são conhecidos popularmente por cogumelos, boletos, orelhas-de-pau, gelatinosos, entre outros, e representam apenas uma pequena porcentagem dos fungos existentes. Eles são distribuídos em duas divisões, Basidiomycota e Ascomycota, sendo esta última considerada o maior grupo de fungos. No Brasil e no mundo pouco se conhece sobre os fungos macroscópicos,

sendo que há uma estimativa de 1,5 milhões de espécies existentes (incluindo também os microscópicos), o que demonstra a falta de estudos nesta área. O presente trabalho objetivou colaborar com o aumento do conhecimento da micobiota da região sudoeste do Paraná. Para isso, foram examinados exemplares de fungos macroscópicos da região depositados no herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (DVPR). Foram identificados 12 táxons, dentre os quais cinco são Ascomycota, sendo um do gênero *Xylaria*, um do gênero *Phylacia* (*Phylacia turbinata*), e outro do gênero *Cookeina* (*Cookeina tricholoma*). Os demais pertencem aos Basidiomycota, sendo um do gênero *Geastrum*; três da família Polyporaceae (*Poria cinerascens*, *Corioloopsis polyzona* e *Pycnoporus sanguineus*), um da família Ganodermataceae (*Ganoderma lucidum*) e outro da família Phallaceae (*Dictyophora indusiata*). O levantamento dos fungos macroscópicos do sudoeste paranaense é ainda incipiente. Iniciativas contínuas são necessárias para aumentar o conhecimento da micobiota desta região do Estado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Macrofungos. Basidiomycota. Ascomycota.

**ABSTRACT:** The fungi are found in more varied habitats, including in the air, by which its spores

are disseminated and reaching a proper substratum, they germinate forming new mycelium. Can live way saprófita decomposing organic matter or parasiticamente. The macroscopic fungi have a structure reproductive visible to eye, unarmed, are popularly known for mushrooms, fetlocks, ears-of-cock, gelatinous, among others, and represent only a small percentage of fungi that exist. They are distributed into two divisions, Basidiomycota and Ascomycota, with the latter being considered the largest group of fungi. In Brazil and in the world, little is known about the macroscopic fungi, being that there are an estimated 1.5 million existing species (including microscopic), which demonstrates the lack of studies in this area. The present study aimed to collaborate with the increase of the knowledge of the micobiota of the southwest region of Paraná. For this, they were all examined specimens of macroscopic fungi of the region deposited in the herbarium of the Federal Technological University of Paraná, Campus dois vizinhos (DVPR). Have been identified 12 taxa, among which five are Ascomycota, one being of the genus *Xylaria*, a genus *Phylacia* (*Phylacia turbinata*), and another of the genus *Cookeina* (*Cookeina tricholoma*). The others belong to the Basidiomycota, one being of the genus *Geastrum*; three of the family *Polyporaceae* (*Poria cinerascens*, *Corioloopsis polyzona* and *Pycnoporus sanguineus*), a family *Ganodermataceae* (*Ganoderma lucidum*) and another of the family *Phallaceae* (*Dictyophora indusiata*). A survey of macroscopic fungi from the southwest of paraná is still incipient. Ongoing are needed to increase the knowledge of the micobiota in this region of the State.

**KEYWORDS:** Macrofungos. Basidiomycota. Ascomycota

## 1 | INTRODUÇÃO

O reino Fungi está hoje representado por mais de 100.000 espécies, tendo uma diversidade estimada em mais de 5 milhões de espécies, o que classifica o grupo dos fungos como o segundo mais diverso do planeta, ficando atrás apenas dos insetos. Estes organismos são eucarióticos, heterotróficos que possuem nutrição absorptiva, e ainda possuem reserva energética de glicogênio (DRECHSLER-SANTOS; HORTA JUNIOR, 2015, p. 3).

Os fungos apresentam sua fase somática de duas maneiras, sendo a filamentosa (hifal, micélio) e/ou leveduriforme (leveduras). Os macrofungos, objeto de estudo do trabalho, apresentam fase somática filamentosa, na qual células multinucleares se conectam através de poros formando uma massa contínua de protoplasma (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010, p.16).

Os macrofungos possuem sua estrutura reprodutiva formada por hifas compactadas, as quais podem sair ou não do substrato, constituindo uma parte muito importante na identificação taxonômica. Nos fungos do filo Ascomycota, a estrutura reprodutiva recebe o nome de ascoma, no qual são produzidos os esporos, que são denominados de ascósporos, e a dispersão dos mesmos irá depender da morfologia deste ascoma, o qual pode ser peritécio, apotécio ou cleistotécio. Já os fungos do filo

Basidiomycota tem seus esporos chamados de basidiósporos, que são produzidos no basidioma (WEBSTER; WEBER, 2007, p 21- 22, tradução nossa).

Os fungos desempenham um papel fundamental na biodiversidade global podendo controlar as taxas dos principais processos ecossistêmicos. São importantes decompositores encontrados na natureza, além de poderem viver de maneira parasita em animais, plantas, algas e até mesmo em outros fungos, podendo também realizar associações mutualísticas com os mesmos (PEAY et al., 2008, p. 799-800).

Muito já se sabe sobre a grande importância econômica que os fungos apresentam. Um dos mais conhecidos e discutidos tipos de fungo são as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* (Desm.) Meyen 1838), as quais são pertencentes ao filo Ascomycota, sendo utilizadas em estudos como organismo modelo em processos na área da genética, fisiologia, biologia molecular e bioquímica. Para fabricação e aromatização de alguns queijos (Camembert, Roquefort e Gorgonzola) é utilizado o fungo *Penicillium roqueforti* Thom (DRECHSLER-SANTOS; HORTA JUNIOR, 2015, p. 8).

De acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica para Algas, Fungos e Plantas (BICUDO; PRADO, 2013), os fungos estão agrupados em sete níveis da hierarquia taxonômica, sendo eles: Filo (Mycota); Subdivisão (Mycotina); Classe (Mycetes); Subclasse (Mycetidae); Ordem (Ales), Gênero e Espécie.

O objetivo deste trabalho foi realizar um inventário dos fungos macroscópicos pertencentes aos filios Basidiomycota e Ascomycota, depositados no herbário DVPR, localizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, no município de Dois Vizinhos, que fica na região Sudoeste do Estado do Paraná.

Para o enquadramento taxonômico, foi utilizada a classificação usada por Hibbett et al. (2007) em que os Basidiomycota foram divididos em três subfilos sendo eles: Pucciniomycotina, Agaricomycotina e Ustilaginomycotina. Enquanto os Ascomycota são divididos também em três subfilos, sendo: Taphrinomycotina, Pezizomycotina e Saccharomycotina. A taxonomia a ser realizada durante este trabalho, irá se basear nas divisões apresentadas acima.

## 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ciência que estuda os fungos é a micologia, palavra que vem do grego (mykes = cogumelos + logos = estudo), sendo um estudo ainda recente, datando de cerca de 250 anos atrás (ALEXOPOULOS; MIMS, 1980, tradução nossa). Contudo sabe-se que muito antes disso, várias civilizações já faziam uso dos fungos, seja em rituais religiosos, para o próprio consumo, ou como parte da cultura de muitos lugares, um exemplo é o fungo *Amanita muscaria* (L.) Lam. que na mitologia grega seria a ambrosia, fruto dos Deuses (KEISER, 2005, p 9).

Os fungos são organismos que podem viver nos mais diversos ambientes, existindo desde organismos aquáticos, terrestres, e os que sobrevivem em condições

de extrema ou baixíssimas temperaturas. Os solos são seus principais habitats, os quais são considerados um grande reservatório de células fúngicas, já que neles pode ser observado um grande número de esporos (provenientes de outros ambientes, ou até mesmo de fungos parasitas que podem sobreviver mesmo sem a presença de um hospedeiro) (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010, p 452).

Devido ao seu modo de vida ser heterotrófico, os fungos utilizam como fonte de energia para o seu crescimento, compostos orgânicos que já foram pré-formados. Desta maneira, encontramos na natureza fungos que podem viver de maneira saprófita, alimentando-se de matéria orgânica morta (restos de animais no chão das florestas, frutas podres), ou vivendo como simbiotes, onde ocorre uma interação entre eles e os seres vivos. Assim, podemos encontrar os fungos simbiotes com interações diversas, como a mutualística na qual tanto o fungo quanto o organismo envolvido estão sendo beneficiados; parasítica na qual o organismo é diretamente afetado pela sua interação com o fungo; comensalística na qual o organismo não sofre nenhum efeito, sendo uma associação neutra (ESPOSITO; AZEVEDO, 2010, p 451).

As últimas classificações feitas por Hibbett et al (2007) aceitam um reino (Fungi), um sub-reino (Dikaria) e sete filos (Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Microsporidia, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota). Os filos Ascomycota e Basidiomycota estão incluídos dentro do sub-reino Dikaria, e são os grupos onde estão os macrofungos.

Os macrofungos estão distribuídos dentro dos filos do sub-reino Dikaria, sendo Basidiomycota e Ascomycota, apresentando maior abundância nos Basidiomycota. A classificação feita por Hibbett et al. (2007) traz o filo Basidiomycota distribuído em 3 subfilos, 13 classes, 2 subclasses e 48 ordens, de acordo com o quadro 1.

<b>Subfilos</b>	Pucciniomycotina	Agaricomycotina	Ustilaginomycotina
<b>Classes</b>			
	Pucciniomycetes	Tremellomycetes	Ustilaginomycetes
	Cystobasidiomycetes	Dacrymycetes	
	Agaricostilbomycetes	Agaricomycetes	
	Microbotryomycetes	Wallemiomycetes	
	Altractiellomycetes	Entorrhizomycetes	
	Classiculomycetes		
	Mixiomycetes		
	Cryptomycocolamycetes		

Quadro 1 - Nome dos Subfilos e Classes do filo Basidiomycota

Fonte: Quadro adaptado de Hibbett et. al (2007).

Ainda segundo Hibbett et al. (2007) o filo Ascomycota está dividido em 3 subfilos, 15 classes, 11 subclasses e 58 ordens, de acordo com o quadro 2.

Subfilo	Pezizomycotina	Taphrinomycotina	Saccharomycotina
<b>Classes</b>			
	Arthomiomycetes	Taphrinomycetes	Saccharomycetes
	Dothideomycetes	Neoelectomycetes	
	Eurotiomycetes	Pneumocystidomycetes	
	Laboulbeniomycetes	Shizoccharomycetes	
	Lecanoromycetes		
	Leotiomycetes		
	Lichiomycetes		
	Orbiliomycetes		
	Pezizomycetes		
	Sordariomycetes		

Quadro 2 - Nome dos Subfilos e Classes do filo Ascomycota

Fonte: Quadro adaptado de Hibbett et. al (2007).

Os macrofungos estão incluídos no subfilo Agaricomycotina (filo Basidiomycota), dentro da classe Agaricomycetes, a qual contém cerca de 21.000 espécies descritas, formando um quinto de todos os fungos conhecidos (KIRK et. al, 2008). Dentro desta classe estão incluídas 17 ordens, nas quais estão distribuídos os fungos decompositores, ectomicorrízicos e parasíticos (HIBBETT et. al, 2007). Esta classe contém a maior diversidade morfológica de estrutura reprodutiva. Os macrofungos também se encontram dentro do subfilo Pezizomycotina (filo Ascomycota), sendo este um filo muito grande de fungos, que ainda podem incluir até 291 famílias, de modo que a sua identificação detalhada é mais difícil.

Dentro do Estado do Paraná tem-se os estudos realizados pelo naturalista André de Meijer que há três décadas vem estudando os macrofungos das regiões Central e Leste do estado. Ele traz como grande contribuição para taxonomia, listas de revisão das espécies do estado do Paraná, entre elas o livro *Macrofungos Notáveis das Florestas de Pinheiro-do-Paraná* (2008), que traz uma listagem das espécies encontradas nas florestas de pinheiros do Paraná, com figuras ilustrativas e descrições sobre o macrofungo, seu habitat e distribuição, na qual foi totalizado 665 espécies de Basidiomycota, 61 espécies de Ascomycota e 4 espécies de fungos anamórficos parasitas de artrópodes.

Luiz et al. (2014) fizeram a identificação dos macrofungos das principais áreas de preservação da cidade de Maringá - PR, porém esta classificação foi feita apenas em nível de filo, devido à falta de equipamentos para uma melhor identificação em nível de gênero e espécie.

Diante dos poucos trabalhos para o Estado do Paraná, comparando-se com a alta diversidade que o mesmo deve apresentar devido ao seu clima favorável para o crescimento de macrofungos, fica evidente a necessidade de mais trabalhos sobre a diversidade destes organismos.

Todos os macrofungos analisados estão depositados no herbário DVPR, sendo

que estes têm grande importância para a ciência, pois neles estão depositados uma grande quantidade de material biológico, juntamente com informações dos indivíduos e suas populações. Este material é de grande importância para que se consiga fazer estimativas da diversidade local, contribuindo também para levantamento da diversidade a um nível global. As coleções depositadas em herbários representam grande parte do aporte para pesquisas em várias áreas do conhecimento, e relatam a história científica do país (MAIA; DRECHSLER-SANTOS; CÁCERES, 2007, p. 2-4).

No Estado do Paraná, atualmente tem-se o número de 1.229 exemplares de fungos registrados no INCT, dos quais 1.254 exemplares estão identificados dentro do filo Ascomycota, 57 para o filo Basidiomycota, 120 classificados como Fungi Incertae Sedis (com posição incerta), 16 identificados apenas ao nível de reino e 482 exemplares que estão sem identificação. De todos os exemplares 578 estão identificados ao nível de espécie.

### 3 | OBJETIVOS

O trabalho teve como objetivo realizar um levantamento e revisar a coleção de macrofungos do Herbário DVPR, da UTFPR-DV, contabilizando o número de espécies de macrofungos depositados no herbário, através de estudos macroscópicos dos espécimes. O estudo visou apresentar atualizações nas determinações, deste modo corroborando com os trabalhos sobre a micobiota Paranaense.

### 4 | METODOLOGIA

O presente trabalho apresenta como foco de estudo os fungos macroscópicos, que são aqueles que possuem sua estrutura reprodutiva visível a olho desarmado e pertencentes aos filios Basidiomycota e Ascomycota. O estudo foi conduzido no herbário DVPR que está localizado na Universidade Federal Tecnológica do Paraná - UTFPR, no município de Dois Vizinhos, Sudoeste do Paraná. O herbário conta com um acervo atual de 30 exemplares registrados no INCT.

O Estado do Paraná está localizado nas coordenadas entre 22°30'58" e 26°43'00" de latitude Sul e 48°05'37" e 54°37'08" de longitude Oeste, se enquadrando no Bioma Mata Atlântica, e possui três tipos principais de vegetação florestal, sendo estas: Floresta Ombrófila Densa (predominantemente no leste do Estado); Floresta Ombrófila Mista (porção à Oeste da Serra do Mar); Floresta Estacional Semidecidual (Norte e Oeste do Estado) (RODERJAN et al. 2002, p. 2).

O clima do Estado é subtropical úmido, com apenas uma pequena região com clima tropical, sendo estes dois climas, favoráveis ao aparecimento de macrofungos. A temperatura do estado varia entre 14°C e 22°C e os índices de pluviosidade varia entre 1.500 mm a 2.500 mm anuais (SANTO-JR; SILVEIRA 2007).

Todos os exemplares estão acondicionados em sacos de papel pardo, sendo que estes foram previamente secados em estufa antes da sua armazenagem. Cada exemplar traz uma pequena ficha com as descrições sobre as características observadas no momento da coleta, e que foram anotadas pelo seu coletor.

Para a análise das características macroscópicas foi utilizada uma lupa estereoscópica, na qual foram analisadas algumas das características descritas no quadro 3.

Para realização deste estudo foram utilizados como base de apoio os livros: Hongos Guia de la Región Pampeana: II. Hongos sin lamillas; Hongos Atlas Pictórico del Parque Nacional Iguazu (WRIGHT; ALBERTÓ, 2006); La Enciclopedia de las Setas (KEISER, 2005) e demais referências clássicas e modernas sobre o assunto. A nomenclatura será revista de acordo com o site Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org>).

## 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 12 táxons, dentre os quais cinco são Ascomycota, sendo um do gênero *Xylaria* Hill ex Schrank, um do gênero *Phylacia* (*Phylacia turbinata* (Berk.) Dennis), e outro do gênero *Cookeina* (*Cookeina tricholoma* (Mont.) Kuntze). Os demais pertencem aos Basidiomycota, sendo um do gênero *Geastrum* (Pers), três da família Polyporaceae (*Poria cinerascens* (Bresadola ex Strassburger) Saccardo & Sydow, *Coriolopsis polyzona* (Persoon) Ryvarden e *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill), um da família Ganodermataceae (*Ganoderma lucidum* (Cutis: Fries) P. Karsten) e outro da família Phallaceae (*Dictyophora indusiata*).

### Táxons analisados

#### Ascomycota

- ***Xylaria* Hill ex Schrank**, Baierische Flora 1: 200 (1789).

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Foz do Iguaçu, 2013, D.F. Corrêa. (DVPR 2180 sem qualquer tipo de identificação).

**Breve descrição:** Ascoma pertitécio e ereto com até 10 cm de altura; cilíndrico, clavado ou delgado, podendo ser simples ou ramificado; exterior escuro muitas vezes coberto de pelos castanhos escuros; ápice frequentemente esbranquiçado; interior branco as vezes acastanhado, composto de hifas hialinas, centro oco em algumas espécies.

**Habitat:** Frequentemente encontrado em madeira morta, tendo algumas espécies patogênicas.

**Comentários:** A espécie com maior semelhança é *Xylaria polymorpha* (Pers.: Fr.) Gray. O material examinado era pequeno, e para confirmação da espécie seriam necessários mais espécimes frescos.

- ***Phylacia turbinata* (Berk.) Dennis**, Kew Bulletin 12 (2): 323 (1957).

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Dois Vizinhos, 2014, J. L. A. Daniel s.n.; J. M. M. Moreira. (DVPR 2243 sem qualquer identificação).

**Breve descrição:** ascostromata densa a frouxamente gregários, turbinados, 7-15 mm de largura e 7-11 mm de altura, 4-5 mm de largura na base; margem aguda com ápice aplanado; coloração marrom-violeta uniformes, passando a ser pretos; glabros, brilhantes, quebrando-se no ápice ao amadurecer, e quando velhos ficando totalmente ocos; *contexto* preto;

**Habitat:** Macrofungo muito comum no estado do Paraná, encontrado sobre galhos e troncos de madeira morta.

**Comentários:** No Estado do Paraná foi encontrado apenas esta espécie de *Phylacia*, tendo mais três espécies que são conhecidas na Amazônia.

- ***Cookeina tricholoma* (Mont.) Kuntze**, Revisio generum plantarum 2: 849 (1891).

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Dois vizinhos, 2015, S. Sturmer et. al (DVPR 1965 como Physciaceae).

**Breve descrição:** Ascoma apotécio, em formato de taça, solitário ou agrupado, com tamanho mediano 10-50 mm de diâmetro, 10-80 mm de altura, estipitado. Estipe delgado, 2-4 mm de grossura, e 10-50 mm de long., himênio alaranjado pálido a avermelhado ou salmão, parte externa piloso, porém pálido; pelos rígidos, branco brilhantes a negros.

**Habitat:** Encontrado sobre quase todos os tipos de madeira.

**Comentários:** Muito comum em climas tropicais.

Outros dois macrofungos foram classificados apenas em nível de filo (Ascomycota), devido ao seu estado de conservação ser ruim demais, exigindo novas coletas, para com exemplares frescos conseguir realizar uma identificação mais precisa.

### **Basidiomycota**

- ***Geastrum Pers.***, Synopsis methodica fungorum: 131 (1801).

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Dois Vizinhos, 2014, C. B. Nardin (DVPR 2181 como Basidiomycetes).

**Breve descrição:** Basidioma estriliforme; exoperídio podendo ser escamoso ou espinhoso, na maioria das vezes efêmero deixando o endoperídio exposto, o qual na maturidade se rompe expondo então a gleba; uniostiolado.

**Habitat:** Ocorre em uma gama de diferentes habitats.

**Comentários:** O exemplar era único e se encontrava em um estado de conservação ruim.

- ***Ganoderma lucidum* (Cutis: Fries) P. Karsten**, Revue Mycologique 3: 16-18. 1881.

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Salto do Lontra, 2014, G. Devens (DVPR 2178 como Basidiomycetes).

**Breve descrição:** Basidioma excêntrico, centralmente ou lateralmente estipitado, até 20 mm de diâmetro; superfície do píleo radialmente rugosa, concentricamente sulcado, com lacado brilhante, as vezes semi-fosco, castanho avermelhado; margem geralmente grossa; contexto quase da mesma grossura da camada de tubos, 15-20 mm no centro tornando-se mais grosso até a base do estipe, ocráceo castanho na porção superior e quase branco na camada dos tubos quando fresco; tubos com 10 mm long., poros 4-6 por mm, circulares, com coloração creme; estipe castanho enegrecido, com até 100 mm de largura, podendo ser lateral, central ou pleurovertical.

**Habitat:** Raramente encontrado sobre o solo e raízes, e com mais frequência sobre quase todos os tipos de madeira.

**Comentários:** Espécie frequentemente confundida com outras com píleo lacado brilhante.

#### Família Polyporaceae

- *Poria cinerascens* (Bresadola ex Strassburger) Saccardo & Sydow, Sylloge Fungorum 16: 161. 1902.

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Dois vizinhos, 2015, A. J. Bachi (DVPR 2182 como Polyporaceae).

**Breve descrição:** Basidioma anual, lignícola e efuso; pode chegar a 100X 50mm; margem regular as vezes pouco definida; sempre em coloração creme com até 1 mm de largura; *contexto* delgado, até 0,8 mm de grossura, coloração creme a castanho claro; himenóforo tubular, com tubos de até 3 mm de long.,

**Habitat:** Encontrado sob troncos de madeira em decomposição.

**Comentários:** Foi registrado por Rajchenberg (1984) e sua posição genérica é discutível.

- *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill, Bulletin of the Torrey Botanical Club 31 (8): 421 (1904).

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Quedas do Iguaçu, 2014, A. J. Bachi (DVPR 2185 como Polyporaceae).

**Breve descrição:** Basidiocarpo anual, solitário ou em pequenos grupos; flabeliforme, estreitamente ligado ao substrato, ou subestipitado lateralmente; consistência coriácea quando fresco e dura quando seco; píleo com 1,5-10 cm de diâmetro e com 1-4 mm de espessura; possui zonas do píleo mais claras e escuras, variando entre laranja em um primeiro momento, depois sendo vermelho-alaranjado; *contexto* branco a pálido com vermelho alaranjado; estipe quando presente com 1,5 cm de comprimento e 4mm de espessura;

**Habitat:** Encontrado em quase todos os tipos de madeira, interior e borda da

mata, com distribuição pantropical.

**Comentários:** Espécie que se diferencia das demais devido sua coloração vermelho-alaranjada. Encontrado em várias regiões do país, incluindo lugares com pouca umidade ou com temperaturas elevadas, o que sugere que este possa sobreviver a ambientes mais secos.

• ***Corioloopsis polyzona* (Persoon) Ryvarden**, J. Bot. 19(3-4): 230. 1972.

**Material examinado:** BRASIL: PARANÁ: Dois Vizinhos, 2014, A. J. Bachi. (DVPR 2188 como Polyporaceae).

**Breve descrição:** Basidioma anual a perene, flabelado a reniforme, imbricado ou fusionado lateralmente; píleo solitário 100 x 150 x 2-7 mm, coriáceos a flexíveis; coloração amarelo ocráceo a grisáceo castanho, em exemplares mais velhos possui coloração esverdeada devido ao acúmulo de algas verdes; tomentoso; margem delgada, as vezes ondulada; superfície dos poros de coloração creme a bege quando fresco, escurecendo a um castanho dourado; poros angulares a circulares, 2-3 por mm, tubos até 4 mm long., *contexto* com a parte inferior fibrosa e brilhante, ocrácea a castanho-dourado com até 3mm de grossura, parte superior mais solta e descolorida tornando-se castanho escuro em exemplares mais velhos.

**Habitat:** Encontrado sobre praticamente todo tipo de madeira.

**Comentários:** Macrofungo mais comum em zonas tropicais.

O restante dos fungos que se encontram depositados no herbário, não foram examinados, devido ao seu mau estado de conservação, e/ou por exigirem técnicas microscópicas para sua identificação.

Através da identificação dos exemplares, foi possível constatar maior riqueza do filo Basidiomycota, da ordem Polyporales, que são as comumente chamadas “orelhas de pau”. Todos foram encontrados aderidos em madeiras (troncos de árvores caídas) devido ao seu papel na decomposição da madeira, os quais são considerados os mais eficazes decompositores deste material da biosfera (FLOUDAS et al., 2012).

Diante do exposto acima fica evidente a necessidade de realização de mais estudos envolvendo exemplares de fungos depositados em herbários, para assim aumentar o número de identificações ao nível de espécie, bem como corrigir identificações incertas, contribuindo assim para um melhor conhecimento da micota do estado do Paraná.

## REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C.J; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4º Ed. New York: John Wiley and Sons, 1996.

ESPOSITO, E; AZEVEDO, J. L. **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. 2º Ed. revisada e ampliada. Caxias do Sul: Educs, 2010.

- BICUDO, C; PRADO, J. **Código Internacional de Nomenclatura Botânica para Algas, Fungos e Plantas**. ResearchGate, Melbourne, 2013. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/321315678\\_Bicudo\\_Prado\\_2013\\_Traducao\\_Oficial\\_Codigo\\_Internacional\\_de\\_Nomenclatura\\_Botanica\\_para\\_Algas\\_Fungos\\_e\\_Plantas\\_Melbourne\\_Code\\_2012](https://www.researchgate.net/publication/321315678_Bicudo_Prado_2013_Traducao_Oficial_Codigo_Internacional_de_Nomenclatura_Botanica_para_Algas_Fungos_e_Plantas_Melbourne_Code_2012)>. Acesso em: 03 abr, 2018.
- DRECHSLER-SANTOS, E. R; HORTA JUNIOR, P. A. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos**. Florianópolis, 2015.
- FLOUDAS, D. The Paleozoic Origin of Enzymatic Lignin Decomposition Reconstructed from 31 Fungal Genomes. **Science**, New York, v. 336, n. 6089, p. 1715-1719, jun, 2012.
- HERBÁRIO DVPR- Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2010. Disponível em: <<http://portal.utfpr.edu.br/noticias/dois-vizinhos/herbario-dvpr>>. Acesso em: 14 de Abr, 2018.
- HIBBET et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research** III, p. 509–547, mar. 2007. Disponível em: <<https://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=13226&content=PDF>>. Acesso em: 03 abr, 2018.
- KEISER, G. J. **La enciclopédia de las Setas**. Madri: LIBSA, 2005.
- KIRK P; CANON P. F; MINTER D. W, STALPERS J. A. **Dictionary of the Fungi**. 10th edn CAB International, Wallingford, UK, 2008.
- LUIZ, A. S. et al. **Classificação de fungos das principais áreas de preservação de Maringá e fixação de fungos de fundo de Vales**. VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. 21 a 24 de outubro de 2014.
- MAIA, L. C. **Coleções de fungos nos herbários brasileiros: estudo preliminar**. In: Peixoto, Ariane L. (org.). Coleções biológicas de apoio ao inventário, uso sustentável e conservação da biodiversidade. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2003.
- MEIJER, A. A. R. **Macrofungos Notáveis das Florestas do Pinheiro-do-Paraná**. Colombo: Embrapa, 2008.
- PEAY, K. G.; KENNEDY, P. G.; BRUNS, T. D. Fungal Community Ecology: A Hybrid Beast with a Molecular Master. **BioScience**, v.58 n.9, p. 799- 810, 2008.
- RODERJAN, C. V. et al. As unidades fitogeográficas do estado do Paraná, Brasil. **Ciência e Ambiente**. v. 24, n.1, p. 75-42, 2002.
- SANTO-JR, C. do E; SILVEIRA, M. A. T. **Atlas Geográfico do Paraná: O uso de novas tecnologias**. Dia a dia educação, 2007. Disponível em: <<http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/11274.pdf>>. Acesso em: 01 de jun de 2018.
- WEBESTER, J; WEBER, R. **Introduction to Fungi**. 3º Ed, EUA, Cambridge University Press, 2007.
- WRIGHT, J. E; ALBERTÓ, E. **Hongos de la región pampeana: Volumen 2: Hongos sin lamillas**. 1º Ed, Buenos Aires: L.O.L.A, 2006.
- WRIGHT, J. E; LECHNER, B. E; POPOFF, O. **Atlas pictórico de los hongos del Parque Nacional do Iguazú**. 1º Ed, Buenos Aires: L.O.L.A, 2008.

## IMPACTOS DA HISTOPLASMOSE EM PORTADORES DA SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

### **Cicero Pinheiro Inácio**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Rejane Pereira Neves**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Maria Daniela Silva Buonafina**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Melyna Chaves Leite de Andrade**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Medicina Tropical, Recife-PE

### **Madi Veiga Diniz**

Universidade Federal de Pernambuco, Hospital  
das Clínicas-HC, Recife-PE

### **Armando Marsden Lacerda Filho**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Marcos Andre Cavalcanti Bezerra**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Genética, Recife-PE

### **Igor de Farias Domingos**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Genética, Recife-PE

### **Oliane Maria Correia Magalhães**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

geográfica. A infecção é adquirida pela inalação de conídios, os quais são depositados nos alvéolos pulmonares. Nos pacientes imunocompetentes a resposta imunológica mediada por células leva à cura da infecção primária, contudo, em imunocomprometidos, especialmente HIV/SIDA, este é considerado um patógeno oportunista. O agente da infecção é um fungo filamentosos presente no solo na fase saprofítica. Nichos ecológicos com condições ótimas de temperatura, pluviometria, umidade relativa do ar e ambiente escuro favorece o crescimento do fungo. Em pacientes com grave comprometimento da imunidade celular, especialmente aqueles convivendo com HIV/SIDA, clinicamente predominam lesões graves, caracterizando a histoplasmose disseminada aguda. O diagnóstico laboratorial da histoplasmose pode ser realizado através da utilização de diferentes métodos como cultura, exame microscópico direto, histopatologia, sorologia e ferramentas moleculares. Amostras biológicas como o sangue periférico, medula óssea vermelha, exsudato de lesões cutâneas e/ou de mucosas, liquor, fragmento de tecido (e.g. pele, pulmão, fígado, linfonodos), e menos comumente o escarro e lavado broncoalveolar são processadas adequadamente a depender da ferramenta diagnóstica a ser utilizada. A obtenção do agente etiológico da histoplasmose em cultura é considerada o padrão ouro para

**RESUMO:** A histoplasmose é uma micose endêmica causada por *Histoplasma capsulatum*, fungo com ampla distribuição

o diagnóstico, sendo fundamental a visualização de macroconídios tuberculados denominados de estalagmosporos. O tratamento de escolha para pacientes é à base de Anfotericina B, porém outras opções terapêuticas também são recomendadas, como itraconazol e cetoconazol.

## INTRODUÇÃO

A histoplasmose, infecção causada pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, foi relatada pela primeira vez em 1905 pelo patologista Samuel Darling, no Panamá (DARLING, 1906; DE MONBREUN, 1934). O fungo tem distribuição mundial, e a histoplasmose é considerada classicamente uma micose endêmica (KASUGA et al., 2003; DEEPE JR, 2010) podendo apresentar um comportamento oportunista em pacientes imunocomprometidos (MCKINSEY et al., 1997). Para adquirir a infecção é necessário a inalação dos conídios desse fungo. Normalmente, a infecção ocorre durante o manuseio do solo contendo fezes de galinhas e morcegos, liberando os esporos que serão inalados e depositados nos alvéolos pulmonares (WHEAT, 2003).

Em pacientes imunocompetentes, a maioria das infecções é leve ou subclínica (KNOX; HAGE, 2010). Geralmente a resposta imunológica mediada por células leva à cura da infecção primária e torna os indivíduos resistentes às reinfecções (HORWATH; FECHER; DEEPE, 2015; KNOX; HAGE, 2010). Entretanto, em indivíduos imunocomprometidos, *H. capsulatum* é considerado um dos patógenos oportunistas mais importantes (FERREIRA; BORGES, 2009). Em pacientes com linfomas, transplantados renais, cardíacos e hepáticos, uso de corticosteróides e, particularmente, doentes com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), podem desenvolver quadros graves de infecção pulmonar aguda, e que pode evoluir para histoplasmose disseminada, resultantes da recrudescência de infecções latentes e, menos frequentemente, de reexposições ao fungo (ADENIS; AZNAR; COUPPIÉ, 2014; FERREIRA; BORGES, 2009).

Nas décadas de 80 e 90, com o aparecimento da SIDA centenas de casos de Histoplasmose Progressiva Disseminada (PDH) surgiram entre os portadores desta síndrome. Essa associação tem sido descrita em cinco continentes, sendo que nas Américas é mais frequente. Na África, a PDH tem atingido 25% dos pacientes infectados pelo vírus HIV. A incidência começou a decair com a terapia antirretroviral combinada (cART). Apesar disso, a Histoplasmose perdura como problema de saúde pública em alguns países, principalmente onde a terapia cART ainda não é disponível.

O diagnóstico conclusivo da histoplasmose baseia-se na obtenção do fungo por meio da cultura, evidenciação de estruturas fúngicas em tecidos, por análise histopatológica e exame microscópico, além de métodos sorológicos e moleculares (BRILHANTE et al., 2016; WHEAT et al., 2016). Em relação ao tratamento, os pacientes soropositivos para o HIV/SIDA, com ou sem infiltrados bilaterais difusos em exames

de imagem torácicos devem ser tratados com anfotericina B lipossomal (WHEAT et al., 2007).

## EPIDEMIOLOGIA

A Histoplasmose doença é causada por dois agentes etiológicos distintos, o *H. capsulatum*, agente da histoplasmose clássica, e o *H. duboisii* (agente da histoplasmose africana). Em se tratando da histoplasmose clássica, o *H. capsulatum* apresenta distribuição mundial e casos de doença tem sido relatados em todos os continentes, exceto a Antártica (DEEPE, 2010). Inicialmente descrito como um protozoário encapsulado, o *H. capsulatum* foi caracterizado como um fungo em 1912 e, apenas em 1934, o microrganismo foi corretamente identificado como um fungo com dimorfismo térmico (DARLING, 1906; DE MONBREUN, 1934). De acordo com análises filogenéticas, a dispersão do *H. capsulatum* no mundo começou entre 3 milhões a 13 milhões de anos atrás a partir da América Latina (KASUGA et al., 2003).

Os fatores que influenciam na distribuição geográfica da histoplasmose são pouco conhecidos, mas incluem temperatura moderada e solo contendo alto teor de nitrogênio, que é ácido e úmido, e enriquecido com fezes de aves ou morcegos (COLOMBO et al., 2011). Desse modo, a exposição a galinheiros ou cavernas, ou algumas atividades, como agricultura e remodelação ou demolição de prédios antigos têm sido mais comumente identificadas como fontes de exposição ao *H. capsulatum* (COTTLE et al., 2013).

Um mapa epidemiológico com a distribuição mundial da histoplasmose pode ser observado na Figura 1.

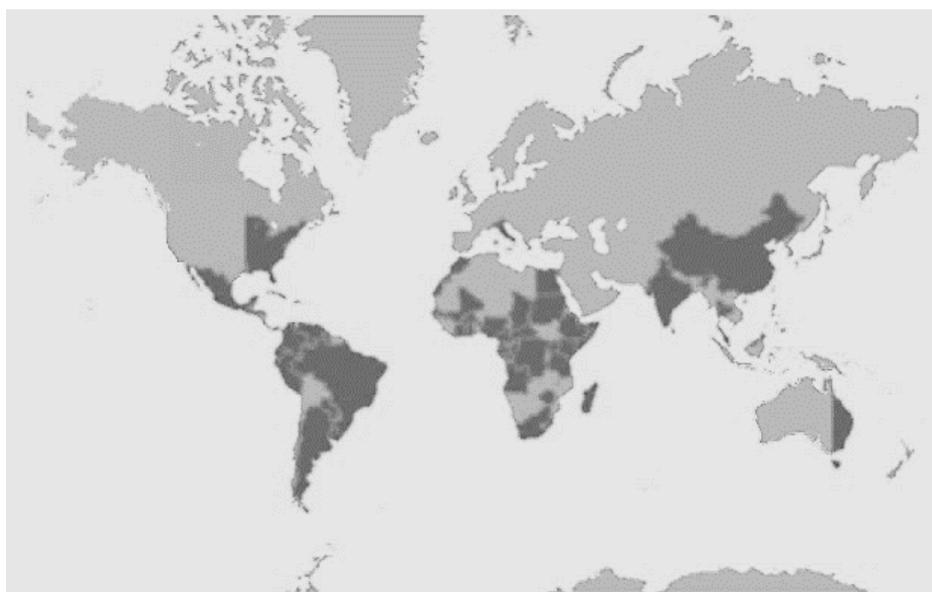


Figura 1. Distribuição global do *Histoplasma capsulatum*. (Fonte: Adaptado de WHEAT et al., 2016)

Antes do advento do HIV/SIDA, as áreas endêmicas com maior quantidade conhecida de casos, ainda estão localizados na metade leste dos Estados Unidos (ao longo dos vales dos rios Mississipi e Ohio), México e na maior parte dos países da América Central (Panamá, Honduras, Guatemala e Nicarágua), Caribe (Jamaica, Porto Rico, Cuba e Martinica) e América do Sul (Venezuela, Guiana Francesa, Colômbia, Peru, Brasil e Argentina) (COLOMBO et al., 2011). Em menor quantidade, há relatos de histoplasmose no Sudeste Asiático, em particular na Tailândia, Malásia, Índia, China e Taiwan (JUNG et al., 2015; LOULERGUE et al., 2007; NORKAEW et al., 2013; PAN et al., 2013), e na África. Apesar das duas espécies do *Histoplasma* coexistirem no continente africano, cerca de 80% dos casos de histoplasmose diagnosticados nos países situados na parte central da África, como Nigéria, Congo e Uganda, são causados por *H. duboisii*, enquanto nos países localizados no sul do continente, como Zimbábue e África do Sul, mais de 80% dos casos foram causados por *H. capsulatum* (COTTLE et al., 2013). Na Europa, a histoplasmose raramente tem sido diagnosticada, com exceção da Itália, onde poucos casos foram observados e os relatos existentes no continente europeu envolvem imigrantes africanos (INOJOSA et al., 2011; LOULERGUE et al., 2007).

Nos Estados Unidos, dentre as micoses endêmicas, a histoplasmose é a causa mais comum de hospitalização e morte (CHU et al., 2006). Entretanto, na América do Sul e Central, a maior parte da incidência é impulsionada pela SIDA. Desde o início da epidemia do HIV, vários relatos sugerem que a histoplasmose disseminada é uma das principais infecções que ocorrem na SIDA, e uma das principais causas de morte de pacientes infectados pelo HIV (NACHER et al., 2011). A incidência de histoplasmose disseminada em pacientes infectados por HIV pode chegar até 25%, principalmente aqueles com contagem de células CD4 <150 células/mm<sup>3</sup> (MCKINSEY et al., 1997). Na Guiana Francesa, 51% dos pacientes hospitalizados com HIV e contagem de linfócitos T CD4 < 50 apresentavam quadro de histoplasmose disseminada (VANTILCKE et al., 2014). De modo similar, mais de 70% dos pacientes com histoplasmose provenientes da Colômbia tinham HIV/SIDA (ARANGO et al., 2011). No Brasil, centenas de casos de histoplasmose, principalmente na forma disseminada, já foram observados entre os portadores de HIV/SIDA em várias regiões do país (PONTES et al., 2010).

Fora do continente americano, a histoplasmose tem sido associada ao HIV na China, onde 75 % dos casos ocorrem ao longo do rio Yangtzé (PAN et al., 2013), na Tailândia, onde foram relatados mais de 1200 episódios de histoplasmose disseminada progressiva (NORKAEW et al., 2013), além de casos recentes na Coreia do Sul (JUNG et al., 2015). A doença tem acometido 2-25% dos pacientes com HIV/SIDA. Na Guatemala e México, por exemplo, as taxas de PDH estão entre 5% a 20% dos pacientes infectados pelo HIV. Na África, apesar de 61% dos casos de histoplasmose notificados terem sido em indivíduos HIV-negativos, 80% dos pacientes oriundos da região sul da África infectados pelo *H. capsulatum* apresentavam HIV/SIDA, reforçando a forte correlação entre a coinfeção pelo HIV e *H. capsulatum* (OLADELE et al., 2018).

Somando-se a isso, esta patologia não possui notificação obrigatória prejudicando, assim, a obtenção de dados precisos sobre sua incidência e prevalência. Na tentativa de elucidar este quadro, a OMS (Organização Mundial de Saúde), recentemente, incluiu a Histoplasmose na lista das doenças tropicais negligenciadas (NTDs). Conseqüentemente, é de fundamental importância a conscientização e conhecimento da doença devido ao crescente fluxo migratório de países endêmicos e ao elevado risco de mortalidade associado ao diagnóstico e tratamento tardios.

## FONTES DE INFECÇÃO

*Histoplasma capsulatum* é um fungo filamentosos encontrado no solo na fase saprofítica, em nichos ecológicos com condições ótimas de temperatura do solo e ar atmosférico entre 18°C a 28°C, pluviometria entre 890 e 1.270 mm, umidade relativa do ar maior do que 60% e ambientes escuros, os quais favorecem o crescimento e sua esporulação (TAYLOR et al., 1999; TAYLOR; REYES-MONTES; CHÁVEZ-TAPIA et al., 2000; FERREIRA; BORGES, 2009; ARANGO et al., 2011).

O fungo possui preferência por solos ricos em substâncias orgânicas, principalmente com altas concentrações de nitrogênio e fósforo, pH ácido, e especialmente, onde há dejetos de aves de criação, morcegos ou pássaros agregados. O alto teor de ácido úrico e outros componentes nitrogenados, encontrados nos excretas desses animais, inibem o crescimento de outros microrganismos competidores. Estes fatores favorecem o crescimento e proliferação do fungo, que utiliza esses componentes como fonte de nitrogênio para seu desenvolvimento (TAYLOR et al., 1999; TAYLOR; REYES-MONTES; CHÁVEZ-TAPIA et al., 2000; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Devido a estes fatores, as áreas com grande densidade de *H. capsulatum* são encontradas em microambientes como criadouros de galinhas, grutas, cavernas e cúpulas de prédios habitadas por morcegos, sendo denominados de “pontos epidêmicos” (CHICK et al., 1981; DEEPE, 1995; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011). Assim, casos de histoplasmose pulmonar aguda (HPA), são observados, principalmente, em indivíduos que realizaram atividades ocupacionais, como limpeza de locais abandonados, ou recreativos, visita de grutas ou cavernas habitadas por morcegos (CDC, 2014; ROCHA-SILVA et al., 2014).

Os morcegos estão entre os poucos mamíferos silvestres que desempenham papel importante na manutenção do ciclo de vida de *H. capsulatum* na natureza (TAYLOR; REYES-MONTES; CHÁVEZ-TAPIA et al., 2000; DIAS et al., 2011). Além do solo com excretas de morcegos, *H. capsulatum* pode ser encontrado também em suas vísceras e sangue. Esses animais por terem hábito de agregação, geralmente transmitem a infecção à colônia quando excretam fungos nas fezes, uma vez que, também são dispersores do fungo na natureza, e seu deslocamento pode ensejar aparição de novos focos (ZANCOPE-OLIVEIRA; MUNIZ; WANKE, 2013).

Estudo realizado no Município do Rio de Janeiro em 1987, na localidade de Rio da Prata, identificou a presença de *H. capsulatum* em 7,2% das amostras de solo coletadas de galinheiros da localidade (ZANCOPÉ-OLIVEIRA; WANKE, 1987). Quando há revolvimento de solos, estes microambientes, gera dispersão dos propágulos infectantes em grande quantidade, os quais são capazes de atingir e infectar pessoas num raio de até 32 km (CHICK et al., 1981).

A distribuição dos casos de histoplasmose disseminada em indivíduos HIV positivo, residentes em Fortaleza/Ceará revelou que a maior frequência dos casos desta coinfeção ocorreu em indivíduos que residiam em área com baixos índices de saneamento básico, e naqueles que habitavam uma região próxima a um parque ambiental (CORREIA et al., 2016). Contudo, a maioria dos casos relatados de HPA ocorre geralmente em indivíduos que realizam atividades em grutas ou cavernas habitadas por morcegos ou aves, ou durante atividades de limpeza de locais abandonados, onde há micronichos de *H. capsulatum* (KAUFFMAN, 2007).

Assim, fatores como a presença de excrementos de morcegos, juntamente com correntes de ar dispersando os conídios a distâncias significativas, aumentam a exposição das populações distantes aos propágulos fúngicos (WHEAT et al., 2007). Somado a isso, a migração frequente, o turismo e as atividades laborais, contribuem para que esta doença seja a micose respiratória mais comum no mundo, sobretudo em imunocomprometidos (ARENAS, 2011), isto justifica a ampla distribuição geográfica da histoplasmose (ADENIS; AZNAR; COUPPIÉ, 2014).

## MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Em pacientes imunossuprimidos, sobremaneira HIV/SIDA, a histoplasmose representa muito provavelmente, uma reativação de focos latentes de uma infecção pregressa ou, mais raramente, aquisição exógena por ocasião da imunodepressão (ROCHA et al. 1994). As manifestações clínicas da histoplasmose dependem principalmente da carga fúngica inalada, do estado imunológico do paciente e da virulência da cepa infectante (FRANCINI et al. 2018).

Em pacientes com grave comprometimento da imunidade celular, especialmente aqueles convivendo com HIV/SIDA, clinicamente predominam as manifestações gerais de um processo infeccioso grave, caracterizando a histoplasmose disseminada aguda. A progressão da doença ocorre geralmente com febre alta, anorexia grave, mal-estar, náuseas ou vômitos, dispnéia, linfadenopatia generalizada, hepatoesplenomegalia, adenomegalias generalizadas e lesões cutâneas localizadas e/ou generalizadas (BRASIL, 2017). Ainda, cerca de 10 a 20% dos pacientes evoluem para formas mais graves, caracterizadas por choque séptico, com coagulação intravascular disseminada, rabdomiólise e falência múltiplos de órgãos (rins, fígado e pulmões). Nesses casos, a mortalidade é muito alta e pode chegar a 50 a 70%, em um período de dois a seis

meses, mesmo quando há tratamento adequado (ADENIS et al, 2014).

O comprometimento da medula óssea é comum, manifestado por pancitopenia periférica. Já o comprometimento pulmonar sistêmico é raro; no entanto, em casos graves da doença, lesão miliar ou intersticial pode ser observada em tomografia computadorizada de tórax (POSWAR et. al., 2013; ADENIS et al, 2014).

A disseminação para o sistema nervoso central (SNC) ocorre em cerca de 20% dos casos e se dá exclusivamente nas meninges, medula espinhal e cérebro. Os pacientes podem desenvolver meningite subaguda ou crônica, lesões cerebrais ou espinhais focais, derrames e encefalite (FERREIRA; BORGES, 2009).

Nos casos de meningite, os sintomas incluem dor de cabeça, mudanças no estado mental e paralisias de nervos cranianos (KAUFFMAN, 2007). Lesões cutâneas disseminadas também são manifestações comuns em pacientes com SIDA e lesões de pele localizadas com envolvimento da mucosa também podem ocorrer. As manifestações cutâneas podem variar desde pápulas acneiformes, placas infiltradas, úlceras e lesões vegetantes, como observado na Figura 2. Frequentemente ocorrem, em grande número, devido à disseminação do fungo por via hematogênica (POSWAR et. al., 2013). No entanto, as lesões cutâneas nos pacientes imunocomprometidos não caracterizam o diagnóstico clínico da histoplasmose, devido muitas outras doenças com apresentação de sinais e sintomas semelhante (MARQUES et al., 2013).



Figura 2: Paciente exibindo lesões cutaneomucosas na face em decorrência da histoplasmose.

## RESPOSTA IMUNE

Após a inalação dos conídios nos alvéolos pulmonares, o fungo multiplica-se no interior de células mononucleares e macrófagos, estimulando o sistema imune do hospedeiro a produzir uma resposta celular do tipo Th1 cerca de duas a três semanas após a infecção (KNOX; HAGE, 2010). Em consequência dessa resposta, ocorre a indução do fator de necrose tumoral  $\alpha$  e interferon  $\gamma$ , ativando macrófagos com capacidade de lisar células leveduriformes intracelulares do *H. capsulatum* (HORWATH; FECHER; DEEPE, 2015; KNOX; HAGE, 2010).

As estruturas fúngicas podem persistir no hospedeiro em granulomas na maioria dos indivíduos saudáveis, sendo que os patógenos geralmente não são viáveis. Dessa forma, a histoplasmose infecção pode adquirir forma semelhante ao observado na tuberculose em hospedeiro imunocompetente (HORWATH; FECHER; DEEPE, 2015). Ao contrário dos indivíduos imunocompetentes, em que ocorre a resposta imune Th1, os portadores imunocomprometidos apresentam a resposta Th2, que produz citocinas como a interleucina-4, interleucina-5 e interleucina-10, responsáveis por inibir a resposta Th1. Desse modo, essa troca de resposta imune faz com que a formação dos granulomas seja ausente ou defeituosa, permitindo assim que o patógeno invada a corrente sanguínea e infecte outros órgãos (FERREIRA; BORGES, 2009; HORWATH; FECHER; DEEPE, 2015). Desse modo, por não ocorrer o desenvolvimento efetiva da imunidade celular, essa infecção adquire a forma de histoplasmose-doença, que se não for prontamente diagnóstica e tratada adequadamente, geralmente conduz o paciente ao óbito (HORWATH; FECHER; DEEPE, 2015; LOULERGUE et al., 2007).

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial da histoplasmose pode ser realizado através da utilização de diferentes métodos, tais como a cultura, exame microscópico direto, histopatologia, sorologia e ferramentas moleculares. A escolha do método de diagnóstico depende do aparato de equipamentos do laboratório, condições clínicas do paciente, formas clínicas da doença e profissionais especializados para o diagnóstico.

Neste livro, destacamos o diagnóstico da histoplasmose associada a pacientes com HIV/SIDA, por apresentarem a forma clínica disseminada a mais comumente observada nesse grupo de pacientes.

A obtenção do agente etiológico da histoplasmose em cultura é considerada o padrão ouro para o diagnóstico. Constituem amostra relevantes para o diagnóstico da doença a obtenção de amostras biológicas como o sangue periférico, medula óssea vermelha, exsudato de lesões cutâneas e/ou de mucosas, liquor, fragmento de tecido (e.g. pele, pulmão, fígado, linfonodos), e menos comumente o escarro e lavado broncoalveolar. Estes espécimes clínicos são semeadas e/ou inoculados em meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, adicionado de antibióticos de amplo espectro, para o isolamento de *H. capsulatum*. Esse fungo apresenta crescimento variável, sendo necessário a manutenção da cultura por até 6 semanas. O agente apresenta aspecto macroscópico do verso da colônia de textura cotonosa e tonalidade branca e reverso ocre (Figura 3A). As principais características micromorfológicas do fungo constituem a presença de hifas que podem formar dois tipos de conídios, os macroconídios e microconídios. Os macroconídios, conhecidos como estalagmosporos, são tuberculados medindo de 8 a 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro com projeções espiculadas em sua superfície (Figura 3B); os microconídios são lisos e pequenos, podendo medir de 2 a 4

$\mu\text{m}$ . A identificação de macroconídios tuberculados permite um diagnóstico presuntivo de histoplasmose; portanto, deve-se proceder o diagnóstico diferencial com o gênero *Sepedonium*, que apresenta macroconídios tuberculosos semelhantes, contudo este não é um fungo dimórfico a  $37^\circ\text{C}$  (FERREIRA; BORGES, 2009, WHEAT et al., 2016).

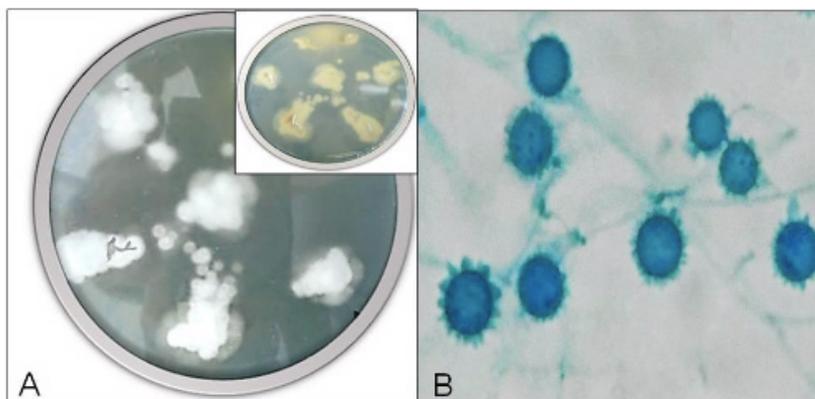


Figura 3: Colônia com verso de textura cotonosa e tonalidade branca e reverso ocre (A) e macroconídios esféricos espiculados (estalagmosporos) de *Histoplasma capsulatum* a  $25^\circ\text{C}$  (B). Aumento de 400X.

Rotineiramente, os laboratórios de Micologia médica preferem incubar os espécimes a temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , obtendo o fungo na fase miceliana ou filamentosa, tendo sua confirmação após termoconversão para a fase leveduriforme a  $37^\circ\text{C}$  (FERREIRA; BORGES, 2009). Nos pacientes com AIDS, hemoculturas frequentemente isolam o agente etiológico. Nossa experiência com o isolamento do *Histoplasma*, observamos que a termoconversão do fungo não ocorre na primeira geração, sendo necessários vários repiques a temperatura de  $37^\circ\text{C}$ .

O procedimento histopatológico representa outra ferramenta para o diagnóstico da histoplasmose. A biópsia de tecido deve ser realizado o mais rapidamente possível e indicado para pacientes gravemente doentes. Este procedimento descreve a reação histológica e a visualização de estruturas fúngicas (WHEAT, 1989, KAUFFMAN, 2007).

Os espécimes biológicos obtidos por biópsia são processados adequadamente por técnica histológica, e corados com Gomori-Grocott, ácido periódico Schiff (PAS) e hematoxilina e eosina (BRASIL, 2017). Os esfregaços rotineiros de sangue periférico, às vezes, mostram células leveduriformes no interior de neutrófilos (Figura 4) em pacientes gravemente doentes com histoplasmose disseminada.

A reação histológica demonstra a presença de granulomas epitelióides, de aspecto sarcóide com estruturas leveduriformes isoladas e brotantes medindo de 2 a  $4 \mu\text{m}$ , ovais e de base estreita no interior das células fagocíticas (Figura 4), podendo também ser visualizadas fora do tecido (PAYA et al., 1987). Estas constatações permitem a realização de um diagnóstico presuntivo da histoplasmose. Conseqüentemente, deve-se proceder diagnóstico diferencial com organismos que mimitizam a aparência de *H. capsulatum* nos tecidos. Porém, o quadro clínico geralmente separa a histoplasmose

dos outros organismos com vida parasitária intracelular, como *Leishmania* e leveduras que causam sintomas semelhantes aos da histoplasmose tem diferentes achados no exame histopatológico.

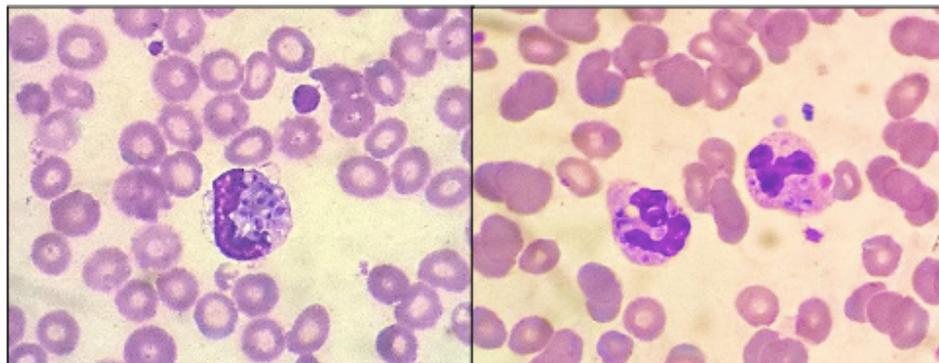


Figura 4: Microscopia ótica de sangue periférico exibindo neutrófilos parasitados com células leveduriformes de *Histoplasma capsulatum*. Lâmina corada com hematoxilina-eosina e aumento de 1000X.

Várias provas sorológicas, detectando anticorpos e antígenos circulantes, podem ser utilizadas para o diagnóstico da histoplasmose. Estas técnicas variam em especificidade e sensibilidade e permitem diagnóstico, prognóstico e acompanhamento terapêutico. A escolha da prova sorológica depende de equipamentos disponíveis no laboratório e das condições de imunossupressão do paciente.

Dentre as provas sorológicas a imunodifusão, fixação de complemento e técnicas imunoenzimáticas (ELISA) podem ser utilizadas para o diagnóstico de histoplasmose. Reações falso-negativas podem ocorrer em pacientes imunodeprimidos com doença disseminada. Assim, em pacientes com SIDA recomenda-se a detecção de antígeno para o diagnóstico da histoplasmose disseminada (WHEAT; KOHLER; TEWARI, 1986).

Na urina resultados falso-positivos para o antígeno de Histoplasma é comum entre pacientes que têm outras micoses como paracoccidiodomicose, blastomicose e menos frequente com peniciliose. Contudo, não parece haver testes falso-positivos em pacientes com coccidiodomicose.

## TRATAMENTO

Devido a severidade da histoplasmose, em especial os portadores de HIV/SIDA, é estritamente recomendado o tratamento à base de Anfotericina B (LACAZ et al., 2000). Essa situação também é recomendada para os casos suspeitos de histoplasmose, devido o mau prognóstico e a demora no diagnóstico definitivo (MESSINA et al., 2018). Outras opções terapêuticas também são recomendadas, a exemplo do tratamento a base de itraconazol por até 8 meses como dosagem de 200 mg uma vez ao dia (LACAZ et al., 2000). O cetoconazol sugere como outra alternativa, sendo recomendado

uma dose diária de até 400mg e o período de tratamento pode ser de 6 meses ou até cura da infecção (LACAZ et al., 2000).

## REFERÊNCIAS

- ADENIS, A. A., AZNAR, C., COUPPIÉ, P. Histoplasmosis in HIV-Infected Patients: A Review of New Developments and Remaining Gaps. **Current Tropical Medicine Reports**. v. 1, n. 2, p. 119–128, 2014.
- ANTINORI, S. et al. Histoplasmosis among human immunodeficiency virus-infected people in Europe: report of 4 cases and review of the literature. **Medicine**. v. 85, n. 1, p. 22–36, jan, 2006.
- ARANGO, M. et al. Histoplasmosis: results of the Colombian National Survey, 1992 – 2008. **Biomedica**. v. 31, p. 344-56, 2011.
- ARENAS, R. **Micología Médica ilustrada**. 4ta ed. McGraw-Hill. Sección IV: 193-201, 2011.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos, Brasília, DF, 2017.
- BRILHANTE, R. S. N. et al. RYP1 gene as a target for molecular diagnosis of histoplasmosis. **Journal of Microbiological Methods**. v. 130, p. 112–114, 2016.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Histoplasmosis outbreak associated with the renovation of an old house - Quebec, Canada, 2013. **Morbidity and Mortality Weekly Report** v. 62, n. 51-52, p. 1041-1044, 2014.
- CHICK, E. W. et al. Hitchcock's birds, or the increased rate of exposure to *Histoplasma* from blackbird roost sites. **Chest**. v. 80, n. 4, p. 434-438, 1981.
- CHU, J. H. et al. Hospitalizations for endemic mycoses: a population-based national study. **Clinical infectious diseases**. v. 42, n. 6, p. 822–825, mar, 2006.
- COLOMBO, A. L. et al. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. **Medical mycology**. v. 49, n. 8, p. 785–798, nov, 2011.
- CORREIA, F.G.S. et al. Spatial distribution of disseminated histoplasmosis and AIDS co-infection in an endemic area of Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 49, n. 2, p. 227-231, 2016.
- COTTLE, L. E. et al. A multinational outbreak of histoplasmosis following a biology field trip in the Ugandan rainforest. **Journal of travel medicine**. v. 20, n. 2, p. 83–87, 2013.
- DARLING, S. T. A protozoan general infection producing pseudotubercies in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymphnodes. **JAMA**. v. 46, n. 1, p. 1283–1285, 1906.
- DE MONBREUN, W. A. The cultivation and cultural characteristics of Darling's *Histoplasma capsulatum*. **American Journal of Tropical Medicine**. v. 14, n. 2, p. 93–125, 1934.
- DEEPE JR, G. S., DUROSE, G. G. Immunobiological activity of recombinant H antigen from *Histoplasma capsulatum*. **Infection and Immunity**. v. 63, n. 8, p. 3151-3157, 1995.
- DEEPE JR, G. S. *Histoplasma capsulatum*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dollin R, editors. **Mandell,**

**Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases.** 7th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, p. 3305–3318, 2010.

DIAS, M. A. et al. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from bats in the urban area of Sao Paulo State, Brazil. **Epidemiology and Infection.** v. 139, n. 10, p. 1642-1644, 2011.

FERREIRA, M. S., BORGES, A. S. Histoplasmose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v. 42, n. 2, p. 192–198, 2009.

FRANCINI, B. et al. Histoplasmosis diseminada. Una infección oportunista en pacientes con infección por VIH. Experiencia en el Hospital Nacional Prof. A. Posadas, 2011-2017. **Revista chilena de infectología.** v. 35, n. 6, p. 671-679, 2018.

HORWATH, M. C., FECHER, R. A., DEEPE, G. S. *Histoplasma capsulatum*, lung infection and immunity. **Future microbiology.** v. 10, n. 6, p. 967–975, 2015.

INOJOSA, W. et al. Progressive disseminated histoplasmosis among human immunodeficiency virus-infected patients from West-Africa: report of four imported cases in Italy. **Le infezioni in medicina.** v. 19, n. 1, p. 49–55, mar, 2011.

JUNG, E. J. et al. Chronic cavitary pulmonary histoplasmosis in a non-HIV and immunocompromised patient without overseas travel history. **Yonsei medical journal.** v. 56, n. 3, p. 871–874, mai, 2015.

KASUGA, T. et al. Phylogeography of the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. **Molecular ecology.** v. 12, n. 12, p. 3383–3401, dez, 2003.

KAUFFMAN, C. A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. **Clinical microbiology reviews.** v. 20, n. 1, p.115-132, 2007.

KNOX, K. S., HAGE, C. A. Histoplasmosis. **Proceedings of the American Thoracic Society.** v. 7, n. 3, p.169–72, maio, 2010.

LOFGREN, S. M. et al. Histoplasmosis among hospitalized febrile patients in northern Tanzania. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene,** v. 106, n. 8, p. 504–507, ago, 2012.

LOULERGUE, P. et al. Literature review and case histories of *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* infections in HIV-infected patients. **Emerging infectious diseases.** v. 13, n. 11, p. 1647–1652, nov, 2007.

MARQUES, S. A. et al. Histoplasmose cutânea reveladora de infecção pelo HIV. **Anais Brasileiros de Dermatologia.** v. 88, n. 3, p. 426-429, 2013.

MESSINA, F. A. et al. Histoplasmosis en pacientes con SIDA sin manifestaciones cutáneo-mucosas. **Revista chilena de infectología.** v. 35, n. 5, p. 560-565, 2018.

MCKINSEY, D. S. et al. Prospective study of histoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus: incidence, risk factors, and pathophysiology. **Clinical infectious diseasesn.** v. 24, n. 6, p. 1195–203, jun, 1997.

NACHER, M. et al. What is AIDS in the Amazon and the Guianas? Establishing the burden of disseminated histoplasmosis. **The American journal of tropical medicine and hygiene.** v. 84, n. 2, p. 239–240, fev, 2011.

NORKAEW, T. et al. Detection of environmental sources of *Histoplasma capsulatum* in Chiang Mai, Thailand, by nested PCR. **Mycopathologia.** v. 176, n. 5–6, p. 395–402, dez, 2013.

OLADELE, R. O. et al. Histoplasmosis in Africa: An emerging or a neglected disease? **PLoS Neglected Tropical Diseases**. v. 12, n. 1, p. 1–17, 2018.

PAN, B. et al. Histoplasmosis: a new endemic fungal infection in China? Review and analysis of cases. **Mycoses**. v. 56, n. 3, p. 212–221, maio, 2013.

PAYA, C. V., ROBERTS, G. D., COCKERILL III F. R. Laboratory methods for the diagnosis of disseminated histoplasmosis: clinical importance of the lysis-centrifugation blood culture technique. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 62, p. 480–485, 1987.

PONTES, L. B. et al. Clinical and evolutionary characteristics of 134 patients with disseminated histoplasmosis associated with AIDS in the State of Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 43, n. 1, p. 27–31, 2010.

POSWAR, F. O. et al. Septic shock in patient with disseminated histoplasmosis associated with AIDS: a case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 4, p. 283-286, 2013.

ROCHA, M. M., SEVERO, L. C. Histoplasmoze disseminada em pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 36, p. 167-170, 1994.

ROCHA-SILVA, F. et al. Histoplasmosis outbreak in Tamboril cave-Minas Gerais state, Brazil. **Medical Mycology Case Reports**. v. 4, p. 1-4, 2014.

TAYLOR, M. L. et al. Environmental conditions favoring bat infection with *Histoplasma capsulatum* in Mexican shelters. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 61, n. 6, p. 914-919, 1999.

TAYLOR, M. L., CHÁVEZ-TAPIA, C. B., REYES-MONTES, M. R. Molecular typing of *Histoplasma capsulatum* isolated from infected bats, captured in Mexico. **Fungal Genetics and Biology**. v. 30, n. 3, p. 207-212, 2000.

VANTILCKE, V. et al. Fever in hospitalized HIV-infected patients in Western French Guiana: first think histoplasmosis. **International journal of STD & AIDS**. v. 25, n. 9, p. 656–661, ago, 2014.

WHEAT J, L. Current diagnosis of histoplasmosis. **Trends in microbiology**. v. 11, n. 10, p. 488–494, out, 2003.

WHEAT, L.J. et al. Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**. v. 45, p. 807-825, 2007.

WHEAT, L. J. et al. Histoplasmosis. **Infectious Disease Clinics of North America**. v. 30, n. 1, p. 207–227, 2016.

WHEAT, L. J., KOHLER, R. B., TEWARI, R. P. Diagnosis of disseminated histoplasmosis by detection of *Histoplasma capsulatum* antigen in serum and urine specimens. **The New England Journal of Medicine**. v. 314, p. 83-88, 1986.

WHEAT, L. J. Diagnosis and management of histoplasmosis. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. v. 8, p. 480-490, 1989.

ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. et al. Histoplasmosis. In: LIU, D. (Ed.). **Molecular Detection of Human Fungal Pathogens**. Flórida: CRC Press, p. 263-274, 2011.

ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M., WANKE, B. Distribuição das fontes de infecção do *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* em Rio da Prata – município do Rio de Janeiro (RJ). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 29, n. 4, p. 243-250, 1987.

ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M., MUNIZ, M. M., WANKE, B. Histoplasmose. In: COURA, J. R. (Ed.). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.1238-1249, 2013.

## INCIDÊNCIA DE PROTOZOÁRIOS E HELMINTOS NO EXAME PARASITOLÓGICO REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO SEMESTRE DE 2018

**Luana Tenorio Olímpio**  
**Flávia Karen Carvalho Garcia**  
**Janaína Fontes Ribeiro**  
**Larissa Lisboa Rêgo Brito**  
**Marcos Emanuel Vilanova da Costa**  
**Leonan Oliveira de Souza**  
**José Hugo Romão Barbosa**

**RESUMO:** As enteroparasitoses, podem dar-se como assintomáticas em alguns casos ou até mesmo manifestar danos como obstrução intestinal, dores abdominais, febre, náuseas e até episódios de anemia. A sua forma de transmissão é variada, indo da ingestão de água e alimentos contaminados, contato direto, à fatores socioeconômicos. O presente trabalho teve como objetivo notificar o índice de positividade de protozoários e helmintos em amostras a fim de chamar atenção para uma política mais eficaz na profilaxia das parasitoses intestinais. Utilizou-se a metodologia de Lutz/Hoffman para analisar as amostras recebidas no laboratório, no período de janeiro a junho de 2018. Os dados foram tabulados pelo programa microsoft excel 2010 durante o primeiro semestre de 2018. Dentre as 3.603 amostras, 517 (14,3%) foram positivas e 3.089 (85,7%), negativas. Dentre as amostras positivas, 500 casos (96,7%) foram positivos para protozoários e apenas 17 (3,3%) para helmintos. O grupo

dos protozoários que obtiveram uma maior incidência respectivamente foram: *E. coli* (145 casos), *E. nana* (288 casos), *G. lamblia* (36 casos) e *E. histolytica/dispar* (31 casos). Já no grupo dos helmintos, *S. mansoni* (7 casos), *E. vermicularis* (7 casos), *A. lumbricoides* (2 casos) e por fim, *T. trichiuria* (1 caso). É perceptível o alto índice de protozoários na totalidade de amostras positivas se comparado aos helmintos. Há evidentemente um grande leque de opções que configuram esses altos índices. Desde a susceptibilidade da população, seja por falta de assistência médica e promoção de saúde, a fatores educacionais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Enteroparasitoses; Profilaxia; Incidência; Prevenção;

**ABSTRACT:** The intestinal parasites, can be given as asymptomatic in some cases or even show damage such as intestinal obstruction, abdominal pain, fever, nausea and even episodes of anemia. Its mode of transmission is varied, ranging from ingestion of contaminated food and water, direct contact, to socioeconomic factors. This study aimed to notify the positivity rate of protozoa and helminths in samples in order to draw attention to a more effective policy on prevention of intestinal parasites. We used the Lutz / Hoffman methodology to analyze the samples received at the laboratory, in the period from January to June 2018. The data

were tabulated by microsoft excel 2010 program during the first half of 2018. Among the 3,603 samples, 517 (14 , 3%) and 3089 were positive (85.7%) negative. Among the positive samples, 500 cases (96.7%) were positive for protozoa and only 17 (3.3%) to helminths. The group of protozoa which had a higher incidence were respectively: E. coli (145 cases), E. nana (288 cases), G. lamblia (36 cases) and E. histolytica / dispar (31 cases). In the group of helminth, Schistosoma mansoni (7 cases), E. vermicularis (7 cases), Ascaris lumbricoides (2 cases) and finally, T. trichiuria (1 case). It is noticeable the high rate of protozoa in all positive samples compared to helminths. There are of course a wide range of options that set these high rates. Since susceptividade of the population, either for lack of medical care and health promotion, educational factors. The group of protozoa which had a higher incidence were respectively: E. coli (145 cases), E. nana (288 cases), G. lamblia (36 cases) and E. histolytica / dispar (31 cases). In the group of helminth, Schistosoma mansoni (7 cases), E. vermicularis (7 cases), Ascaris lumbricoides (2 cases) and finally, T. trichiuria (1 case). It is noticeable the high rate of protozoa in all positive samples compared to helminths. There are of course a wide range of options that set these high rates. Since susceptividade of the population, either for lack of medical care and health promotion, educational factors. The group of protozoa which had a higher incidence were respectively: E. coli (145 cases), E. nana (288 cases), G. lamblia (36 cases) and E. histolytica / dispar (31 cases). In the group of helminth, Schistosoma mansoni (7 cases), E. vermicularis (7 cases), Ascaris lumbricoides (2 cases) and finally, T. trichiuria (1 case). It is noticeable the high rate of protozoa in all positive samples compared to helminths. There are of course a wide range of options that set these high rates. Since susceptividade of the population, either for lack of medical care and health promotion, educational factors. vermicularis (7 cases), Ascaris lumbricoides (2 cases) and finally, T. trichiuria (1 case). It is noticeable the high rate of protozoa in all positive samples compared to helminths. There are of course a wide range of options that set these high rates. Since susceptividade of the population, either for lack of medical care and health promotion, educational factors. vermicularis (7 cases), Ascaris lumbricoides (2 cases) and finally, T. trichiuria (1 case). It is noticeable the high rate of protozoa in all positive samples compared to helminths. There are of course a wide range of options that set these high rates. Since susceptividade of the population, either for lack of medical care and health promotion, educational factors.

**KEYWORDS:** intestinal parasites; Prophylaxis; Incidence; Prevention;

## INTRODUÇÃO

Entende-se por parasitoses doenças causadas por microorganismos sejam eles vermes, bactérias, vírus ou protozoários que ao entrarem no organismo humano ou de outro animal, encontram situações favoráveis para a sua sobrevivência, reprodução e nutrição. Estes têm ação espoliativa que se oferecerem risco a integridade fisiológica do hospedeiro, é considerado assim, patogênicos.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as parasitoses estão entre as doenças mais comuns do mundo que afetam tanto a região rural quanto a urbana. A sua variação depende de muitos fatores que vão da espécie do parasita às condições imunológicas do hospedeiro.

As disfunções causadas por protozoários ou helmintos, também conhecidas por enteroparasitoses que são causadas mais fortemente por helmintos e protozoários e se localizam no aparelho digestivo do hospedeiro, podem dar-se como assintomáticas em alguns casos ou até mesmo manifestar danos peculiares como alterações no equilíbrio nutricional, sangramento e obstrução intestinal, dores abdominais acompanhadas de vômito, febre, prolapso retal, náuseas e até episódios de anemia.

A sua forma de transmissão é variada, indo da ingestão de água e alimentos contaminados, contato direto, à fatores socioeconômicos como falta de saneamento básico em áreas principalmente carentes. A imunidade do hospedeiro, carga parasitária e características biológicas do parasito são fatores importantes que interferem na sintomatologia e até mesmo na forma de tratamento.

Essas disfunções causadas pelas enteroparasitoses atingem ainda hoje variadas faixas etárias, no entanto, o grupo que ainda contém maior vulnerabilidade ainda é a população infantil. Seja por falta de instrução e conhecimento acerca dos princípios básicos de higiene, constante contato direto com o solo ou até mesmo por apresentarem um sistema imunológico menos apto e resistente.

A maioria dos casos notificados é decorrente da aglomeração populacional em ambientes impróprios e com escassez de higiene, êxodo rural e falta de conhecimento da população sobre quais medidas preventivas e até mesmo profiláticas tomar diante do ocorrido. Estudos apontam que os parasitas mais comuns que acometem essa população vulnerável são os *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba histolytica*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura* e *Giardia lamblia*.

O presente trabalho teve como objetivo notificar o índice de positividade de protozoários e helmintos em amostras para a realização do exame parasitológico no laboratório central de Biomedicina, localizado em Aracaju/SE, a fim de chamar atenção para uma política mais eficaz e acessível.

## **METODOLOGIA**

Tratou-se de uma pesquisa exploratória de caráter longitudinal a partir de informações obtidas no Laboratório Central de Biomedicina localizado em Aracaju/SE. Utilizou-se a metodologia de Lutz/Hoffman para analisar as amostras recebidas no laboratório, no período de janeiro a junho de 2018, respeitando a metodologia para melhor seguridade do resultado final, através da visualização em lâminas por meio da microscopia convencional posterior à técnica. Todos os dados após repetidos e confirmados foram tabulados pelo programa Microsoft Excel 2010 durante o primeiro

semestre de 2018.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dentre as 3.603 amostras recebidas no primeiro semestre de 2018, 517 (14,3%) foram positivas e 3.089 (85,7%), negativas. Quanto às amostras positivas, 500 casos (96,7%) foram totalizados para protozoários e apenas 17 (3,3%) para helmintos.



Figura 1: Percentual de amostras positivas e negativas

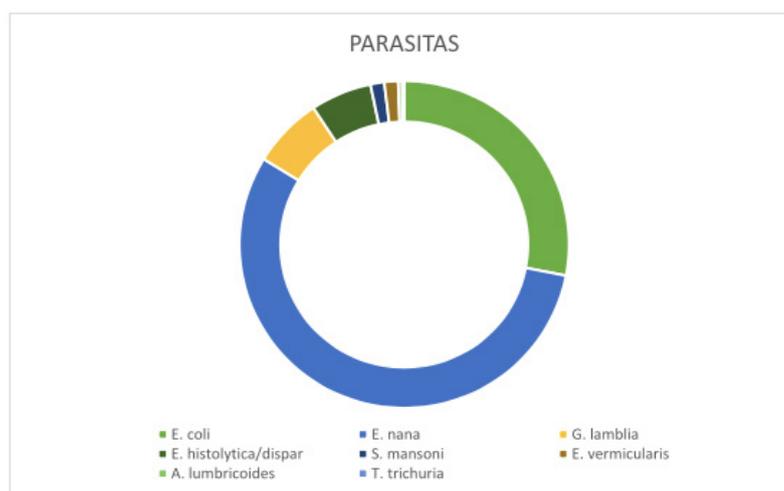


Figura 2: Número de casos de cada parasita encontrado no primeiro semestre de 2018.

O grupo dos protozoários que obtiveram uma maior incidência respectivamente foram: *E. coli* (145 casos), *E. nana* (288 casos), *G. lamblia* (36 casos) e *E. histolytica/dispar* (31 casos). No grupo dos helmintos, *S. mansoni* (7 casos), *E. vermicularis* (7 casos), *A. lumbricoides* (2 casos) e por fim, *T. trichiuria* (1 caso).

É perceptível o alto índice de protozoários na totalidade de amostras positivas se comparado aos helmintos. Este é um fator que chama a atenção devido à alta probabilidade de desenvolvimento de sintomatologias características ou até mesmo

similares em um grupo considerado de risco, já que até o mecanismo de transmissão é similar, comprometendo assim toda a terapêutica do paciente e aumentando as chances de complicações e avanço da patologia se realizado um diagnóstico errôneo.

Como demonstrado nos resultados acima, há uma grande diversidade de parasitas que são capazes de infectar o humano, por isso a maior necessidade em uma avaliação correta sobre a possível etiologia da parasitose, assim como a espécie encontrada, clima do ambiente para melhor direcionamento para descarte da possibilidade de serem geohelmintos ou não, hábitos de higiene, presença ou ausência de serviços de esgoto, abastecimento de água e até mesmo a condição econômica da comunidade já que as formas de contaminação apresentam fortes relações sociodemográficas e ambientais.

As medidas cabíveis de tratamento e profilaxia vão além do agente patogênico em si, mas sim de todo o contexto pelo qual o paciente se encontra, pois este que vai determinar toda a sua terapêutica para que a mesma seja mais otimizada e eficaz.

## CONCLUSÕES

Há evidentemente um grande leque de opções que configuram esses altos índices identificados ao longo do trabalho que vai da susceptibilidade da população, seja por falta de assistência médica e promoção de saúde, a fatores educacionais. Nota-se assim, que a prevenção ainda é o melhor caminho a seguir para evitar as parasitoses intestinais. As práticas de educação em saúde podem ser melhor inseridas e de forma acessível às populações mais carentes com o objetivo de melhor conscientizá-los sobre os fatores de risco e suas consequências.

## REFERÊNCIAS

Barra M, Bustos L, Ossa X. **Desigualdad en la prevalência de parasitosis intestinal en escolares de una escuela urbana y dos rurales de la comuna de Puerto Montt.** Rev. Méd. Chile. 2016; 144(7): 886-93.

BIANCHINI, R. A. et al. **Enteroparasitoses: Prevalência em centro de educação infantil na cidade de Maringá, Paraná, Brasil.** Revista Uningá Review, v. 24, n. 3, 2018.

BRAGAGNOLLO, G. R. et al. **Intervenção educacional sobre enteroparasitoses: um estudo quase experimental.** Revista Cuidarte, v. 9, n. 1, p. 2030-2044, 2018.

COLLI, C. M. et al. **Prevalence and risk factors for intestinal parasites in food handlers, southern Brazil.** Int. J. environ. health res., Abingdon, v. 24, n. 5, p. 450-458, 2014.

DE LIMA OLIVEIRA, C. et al. **Enteroparasitoses e aspectos socioeconômicos em pacientes alcoolistas.** Revista de Ciências Médicas e Biológicas, v. 17, n. 3, p. 345-349, 2018.

FREIRE, M. B. B. et al. **A extensão como estratégia no combate das enteroparasitoses em comunidade pré-escolar.** Interfaces-Revista de Extensão da UFMG, v. 6, n. 2, p. 373-394, 2018.

## INCIDÊNCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE EM UM LABORATÓRIO PARTICULAR DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM-PA

### Raimundo Gladson Corrêa Carvalho

Licenciatura plena em Biologia; Especialista em Análises Clínicas; Citopatologista e Mestrando em Análises Clínicas.

### Elianne da Silva Vieira

Bacharel em Biomedicina – Esamaz  
eliannesilvavieira@gmail.com

### Carolina Beatriz Freitas Nunes

Bacharel em Biomedicina – Esamaz  
carolinanunes47@gmail.com

### Larissa de Souza Mendes

Bacharel em Biomedicina – Esamaz

**RESUMO:** O *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) é um microrganismo de alta importância clínica, logo o objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de MRSA em amostras clínicas advindas de um laboratório privado em Belém-PA. Neste estudo foram analisados bancos de dados obtidos de um Laboratório particular, coletados entre os anos de 2010 a 2018 sendo estes tabulados e analisados estatisticamente, as amostras foram submetidas aos testes de coloração de Gram, catalase, coagulase em seguida inseridas no equipamento VITEK, testes manuais de resistência induzida a clidamicina e teste de Screening para cefoxitina. Nos resultados foram obtidos 1848 amostras positivas para o gênero *Staphylococcus*, sendo 1096 (59,31%)

positivas para espécie *Staphylococcus aureus*, 317 (32%) cepas foram positivas para o teste de Screening de cefoxitina caracterizando o perfil MRSA, em seguida o teste de resistência induzida a clidamicina (teste D) revelou ser positivo para 278 (27,74%), das amostras e negativo para 739 (72,66%), amostras. Por fim para identificação dos tipos de MRSA foram aplicados discos de trimetropim/sulfametoxazol no meio, evidenciando 221 (69,72%) cepas sensíveis, indicativo para CA-MRSA e 78 (24,61%) cepas resistentes, indicativo para HA-MRSA. Diante dos dados, observamos que os sítios de infecção mais prevalentes são corrente sanguínea, fragmento ósseo e partes moles, é visível a prevalência de cepas CA-MRSA, sugerindo que o paciente já está vindo infectado da comunidade, logo é necessário um controle na disseminação desta cepa para que a mesma não se instale no âmbito hospitalar, eliminando o risco de cepas CA-MRSA multirresistentes, além do controle no uso de antimicrobianos.

**PALAVRAS-CHAVES:** Resistência bacteriana, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. aureus* intermediário a vancomicina, *S. aureus* resistente à vancomicina.

**ABSTRACT:** *Staphylococcus aureus*-methicillin resistant (MRSA) is a microorganism that has high resistance and dissemination capacity, based on its clinical importance, the objective

of this study was to evaluate the incidence of MRSA in clinical samples from a private laboratory in Belém-PA. In this study we analyzed databases obtained from a private laboratory, collected between the years of 2010 and 2018. These tabulations were statistically analyzed and the samples were submitted to Gram staining, catalase and coagulase tests, inserted in the VITEK equipment, besides manual tests of resistance induced to clidamycin and Screening test for cefoxitine. In the results, 1848 samples were positive for the genus *Staphylococcus*, 1096 (59.31%) positive for *Staphylococcus aureus* species, 317 (32%) strains were positive for the cefoxitin Screening test characterizing the MRSA profile, then the test of resistance induced to clidamycin (test D) was found to be positive for 278 (27.74%) of the samples and negative for 739 (72.66%) samples. Finally, for identification of MRSA types, trimethoprim / sulfamethoxazole discs were applied in the medium, showing 221 (69.72%) sensitive strains, indicative for CA-MRSA and 78 (24.61%) resistant strains indicative of HA-MRSA. Of the data presented, we observed that the most prevalent sites of infection are bloodstream, bone fragment and soft tissues, is visible to the prevalence of CA-MRSA strains, suggesting that the patient is already infected with the community, therefore a control is necessary in the dissemination of this strain so that it does not settle in the hospital setting, eliminating the risk of emerging multiresistant CA-MRSA strains, in addition to controlling the use of antimicrobials.

**KEYWORDS:** Bacterial resistance, Methicillin-resistant *S. aureus*, *S. aureus* intermediate vancomycin, Vancomycin-resistant *S. aureus*.

## 1 | INTRODUÇÃO

### 1.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), é uma bactéria encontrada na microbiota humana, pertencente ao gênero *Staphylococcus*, este na atualidade é composto por 33 espécies, 17 das quais podem ser isoladas de amostras biológicas humanas, entre elas o *S. aureus*. Esta espécie possui uma alta capacidade de resistência, pois sobrevive a muitas condições ambientais adversas, incluindo calor, dessecação e frio relativo, e toleram altas concentrações de sal. Podendo ocasionar desde simples até as mais graves infecções, podendo levar ao óbito (LIMA et al., 2015).

Entre as características do *S. aureus* destacam-se as seguintes: são cocos Gram positivos agrupados em cachos devido a sua divisão celular, que ocorre em vários planos perpendiculares, catalase e coagulase positivos,  $\beta$ -hemolíticos, maltose e manitol positivo e formador de colônias pigmentadas. Para o isolamento deste microrganismo são utilizados meios de cultura não seletivos, os quais são incubados de 18 a 24 horas em condições aeróbias ou anaeróbias (GRÍNDI, 2013). Estes podem permanecer viáveis por vários meses no meio ambiente ou até mesmo em secreções orgânicas ressecadas (MARTINS et al., 2009).

## 2 | RESISTÊNCIA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Á METICILINA

A presença de plasmídeo é o principal fator de resistência do *Staphylococcus aureus*, pois através dele que a espécie faz transferência de seu gene de resistência para outras bactérias. O *S. aureus* possui maneiras distintas de resistência á metilina, são essas: Hiperprodução de betalactamases, presença de proteína ligadora de penicilina PBP (*protein-binding penicilin*) alterada, modificações na capacidade de ligação das PBPs (DEURENBERG et al., 2007).

As PBPs são enzimas que vão catalisar o final da síntese da parede bacteriana, estando localizado na membrana celular, o *S. aureus* possui cinco PBPs. As PBPs 1, 2 e 3 são essenciais e possuem grande afinidade com antibióticos  $\beta$ -lactâmicos ligando-se por ligações covalentes; os *Staphylococcus aureus* adquiriram resistência á metilina devido a produção de uma PBP extra, denominado PBP 2a, essa proteína é responsável pela resistência intrínica aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, sendo *mecA* o gene que expressa essa proteína(CHAMBERS, 1997). Este gene é carregado por um componente genético móvel chamado cassete cromossômico estafilocócico (*SSCmec*); a presença do *SCCmec* pode ser associado a outros genes de resistências adicionais, elementos como transposons e plasmídeos, tendo como resultado a resistência a outras classes de antibióticos, este cassete cromossômico contém genes regulatórios (*mecI* –repressor do gene *mecA* e *mecR1* (proteína transmembrana sinalizadora sensível a  $\beta$ -lactâmicos) – indutor do gene *mecA*), ambas proteínas são transcritas de forma divergentes, logo a transcrição não acontecerá por um mesmo objetivo, por exemplo, quando não há presença de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos o gene *mecI* vai inibir a transcrição do gene *mecA* e do par de genes *mecR1-mecI*,isto ocorre para que se tenha economia de energia da bactéria, logo o gene *mecA* não será transcrito para a proteína PBP2a nem seus reguladores. No entanto, quando o antibiótico  $\beta$ -lactâmico está presente o gene *mecR1* sofre auto clivagem catalítica e a região metaloprotease localizada na proteína se torna ativa; a metaloprotease vai clivar a proteína *mecI* permitindo a transcrição do gene *mecA* em sequência a produção da proteína PBP2a (DEURENBERG et al., 2007).

## 3 | *S. AUREUS* METICILINO RESISTENTE DE ORIGEM HOSPITALAR (HA-MRSA) E COMUNITÁRIA (CA-MRSA)

As incidências anuais de infecções causadas por MRSA praticamente triplicaram nas ultimas décadas comparada às infecções por não-MRSA. Grande parte das infecções causadas por MRSA adquirido em hospital (HA-MRSA) está associada a um número pequeno de clone epidêmicos espalhados no mundo (REITER, 2009). Determinar o tipo de *SCCmec* se tornou necessário para entender a epidemiologia da MRSA; Ito e Cols (1999) determinaram em seus estudos os três cassetes encontrados nessas cepas, são eles: *SCCmec* tipo I, II e III.

As infecções causadas por MRSA eram comumente relatadas em hospitais, porém por volta da década de 80, foi observado o aparecimento de casos de infecções em pacientes que não apresentavam os fatores predisponentes reconhecidos, como ter sido internado recentemente, a nova cepa foi difundida rapidamente, e junto com ela um aumento no número de doenças ocasionadas por este microrganismo (RAZERA et al., 2009).

As CA-MRSAs foram distinguidas de seus homólogos de origem hospitalar através de testes moleculares, as primeiras possuem três elementos genéticos móveis que são eles: SCCmec IV, V e VII, dentro deles está presente somente o gene *mecA* responsável pela produção da PBP2a (REITER, 2009). Estes cassetes são responsáveis pela resistência das CA-MRSAs aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, sendo, no entanto susceptíveis a outras classes de antimicrobianos.

#### **4 | STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À VANCOMICINA (VRSA)**

Em junho de 2002 o primeiro *S. aureus* com resistência plena à vancomicina foi identificado em Michigan-EUA (CHANG et al., 2003). Foi o primeiro caso conhecido de *S. aureus* resistente à vancomicina que possuía o gene *vanA*. O mecanismo pelo qual esta cepa adquiriu o gene *vanA* foi esclarecido logo depois. Envolveu a transferência de um plasmídeo contendo o transposon do gene *vanA*, Tn1546, de um *Enterococcus faecalis* resistente à vancomicina para um *S. aureus* resistente à oxacilina (MRSA), que já possuía um plasmídeo codificando resistência à gentamicina e produção de betalactamase. O transposon foi incluído no plasmídeo estafilocócico e o restante do plasmídeo enterocócico perdeu-se (WEIGEL et al., 2003). Este novo plasmídeo manteve a capacidade de ser transmitido para outros estafilococos e de expressar de forma plena a resistência à vancomicina, decorrente da substituição do peptídeo final do terminal D-alanil-D-alinina, que passa a D-alanil-D-lactato, ocasionado através da catalisação pela enzima ligase (SEVERIN et al., 2004).

### **5 | METODOLOGIA**

#### **5.1 Tipo de estudo**

Estudo retrospectivo desenvolvido a partir de levantamento de dados, que foi realizado em um laboratório particular localizado na região de Belém-PA.

#### **5.2 Amostragem**

O presente estudo realizou a triagem de dados positivos para *Staphylococcus aureus* metilino resistente (MRSA), entre os anos de 2010 a 2018, obtidos do sistema do laboratório, os quais foram tabulados e analisados estatisticamente no programa Excel 2010, em seguida expressos em gráficos e tabelas.

Os resultados foram obtidos a partir do semeio de amostras clínicas (Ágar Sangue, Ágar Chocolate e Ágar Macconkey), em seguida encubadas na estufa bacteriológica entre 35°C e 37°C por 24 horas. As colônias formadas são submetidas a coloração de Gram, teste de catalase e coagulase, em seguida inseridos no equipamento VITEK 2 com cartão GP e cartão 585 para identificação e teste de susceptibilidade respectivamente, além disso foram realizados testes manuais de resistência induzida à clidamicina e teste de Screening para cefoxitina, em uma placa foram colocados os discos de eritromicina (15µg), clidamicina (2 µg), vancomicina (30 µg), oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), trimetropim/sulfametoxazol (1,25/23,75 µg), linezolida (30 µg), rifampicina (30 µg), norfloxacin (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), moxifloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), ácido fusídico (10 µg), tigeciclina (15 µg), teicoplanina (30 µg).

### 5.3 Análise de dados

A análise dos dados foi realizada de acordo com o resultado do antibiograma, possibilitando a classificação do seu perfil de susceptibilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *S. aureus* é um dos microrganismos mais encontrados em espécimes clínicas sendo o mais virulento do seu gênero (RAZERA et al., 2010), é uma das causas mais relevantes de infecções hospitalares e na comunidade (COSGROVE et al., 2003). Sendo assim, muitos autores procuram relatar a incidência desta bactéria, tendo em vista a rápida disseminação global dessas cepas.

A partir dessas informações foi realizada a análise do banco de dados entre os anos de 2010 a 2018 com amostras advindas de um laboratório particular, foi obtido um total de 1848 amostras positivas para o gênero *Staphylococcus*, dentro deste número 1096 cepas eram pertencentes à espécie *Staphylococcus aureus*. Em uma pesquisa semelhante realizada por Almeida et al., (2012) em Hospital Estadual de Bauru entre os anos de 2006 a 2009, foram isolados 1078 amostras positivas para espécie citada. Após análise desses estudos é perceptível que a incidência do *S. aureus* permanece elevada, mesmo com o passar dos anos não houve redução de casos e sim um pequeno aumento como observado. Na tabela 1 são apresentados os números referentes às espécies encontradas do gênero *Staphylococcus*.

Espécies bacterianas	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	59,31
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23,00
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,73
<i>Staphylococcus hominis</i>	0,87
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0,43
<i>Staphylococcus warneri</i>	0,16

Staphylococcus capitis	0,16
Staphylococcus cohnii	0,16
Staphylococcus lentus	0,11
Staphylococcus auriculares	0,05
Staphylococcus caprae	0,05
Staphylococcus hylcus	0,05
Staphylococcus lugdunensis	0,05
Staphylococcus sciuri	0,05
Staphylococcus vitulinus	0,05
Staphylococcus xylosus	0,05
TOTAL	100,00

Tabela 1: Total de espécies do gênero *Staphylococcus* encontradas causando patologias.

Para analisar o perfil de resistência da cepa em estudo foram realizados testes automatizados e manuais, após a análise desses, constataram-se os seguintes resultados: benzilpenicilina (81,92%), eritromicina (68,38%), clidamicina (43,45%), oxacilina (29,74%), tripetropim/sulfametoxazol (18,43%), comparado ao trabalho realizado por Moura et al.,(2011) que demonstra 100% de resistência á oxacilina, 46,1% a eritromicina, 73,1 % a clidamicina, 96,15% a penicilina, 15,4% a trimetropim e sulfametoxazol. Apesar da diferença de cepas com resistência a oxacilinaentre os dois trabalhos, vale ressaltar que este último utilizou um N amostral bem reduzido, sendo 186 pertencentes à espécie em estudo. Baseando se no achado verificou-se que o tratamento de infecções estafilocóccicas esta se tornando mais restrito, dificultando assim, a escolha terapêutica pelos profissionais de saúde. A tabela 2 apresenta a lista de antibióticos usadas nos testes de susceptibilidade e seus respectivos resultados.

Antibióticos	%		
	R	I	S
Benzilpenicilina	81,92	0,10	17,98
Eritromicina	68,38	1,68	29,93
Clindamicina	43,45	0,47	56,09
Oxacilina	29,74	0,00	70,26
Trimetropim/ Sulfametoxazol	18,43	0,10	81,47
Norfloxacina	16,21	2,34	81,45
Ciprofloxacina	12,36	1,78	85,86
Moxifloxacina	9,67	5,17	85,17
Rifampicina	6,12	6,79	87,08
Gentamicina	5,08	0,78	94,14
Ácido fusídico	0,80	1,30	97,90
Linezolida	0,29	0,10	99,61
Vancomicina	0,28	0,19	99,53
Tigeciclina	0,20	0,10	99,70
Teicoplanina	0,20	0,00	99,80

Tabela 2: Percentual de susceptibilidade das amostras usadas no estudo. R: Resistente; I:

A maneira alarmante como esses medicamentos vêm sendo utilizados em âmbitos hospitalares, ambulatoriais, e domésticos no tratamento ou profilaxia de infecções (MEIRELES. 2008), torna necessário o isolamento e identificação dessas cepas em laboratório e, a análise in vitro da sensibilidade antimicrobiana se faz necessário nas amostras isoladas. Pois, atualmente a predição de resistência, por certas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria para produzir novos fármacos (GUTIERREZ et al., 1990).

Para a avaliação do perfil de susceptibilidade, 1017 estirpes foram submetidas ao teste de resistência induzida a clindamicina (teste D), 27,34% expressaram perfil de resistência MLSB, no estudo realizado por Uzun et al.,(2014) foram encontrados resultados aproximados de 20% para o perfil MLSB. A frequência encontrada por este estudo pode justificar as precauções no controle do uso de antimicrobianos pela equipe de saúde, visto que foram obtidos percentuais relevantes de resistência a eritromicina de 68, 38% e clindamicina 43, 45%. Logo, o teste passou a ser utilizado na tentativa de evitar falhas terapêuticas, dado que a Clidamicina passou a ser o antimicrobiano de escolha no tratamento de infecções ocasionadas por MRSA (AMORIN et al., 2009). O gráfico 1 apresenta o resultado das amostras positivas e negativas para o teste D, referentes ao perfil MLSB

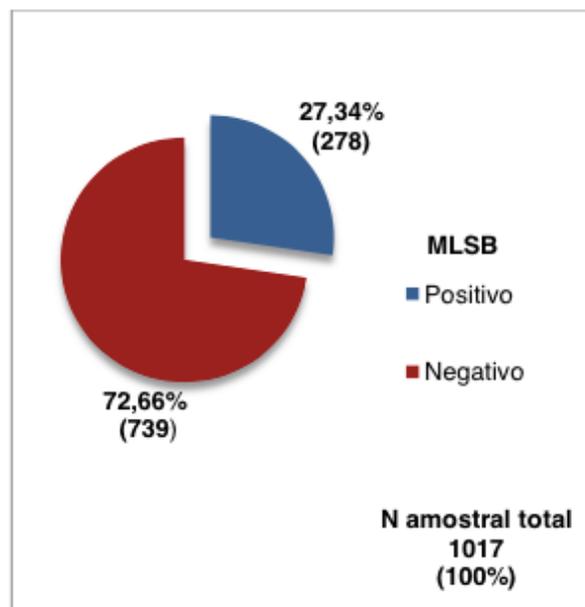


Gráfico 1: resultado de espécies que apresentaram perfil MLSB.

Após a avaliação do teste de screening de cefoxitina, foi obtido um total de 317 (32%) amostras positivas para o perfil meticilino resistente. O trabalho de Ferreira et al.,(2011), corrobora com estas informações apresentadas, o qual obteve um percentual de 60% de resistência MRSA em uma pesquisa realizada em um ambiente hospitalar.

Apesar do grande conhecimento sobre a disseminação clonal de MRSA pouco se sabe sobre a incidência dessas cepas em relação a certas localidades. Logo, nota-se que mais estudos devem ser realizados, na tentativa de esclarecer a incidência deste patógeno, afim de que medidas sejam tomadas para evitar o aumento no percentual de disseminação do mesmo.

Em comparação ao trabalho de Atique et al., (2012) no qual foram utilizados 96 amostras de swab nasal dos alunos do Curso de Farmácia do Centro Universitário do Rio Preto, foram obtidos um total de 36 amostras positivas para espécie de *S. aureus*. O perfil de susceptibilidade para metilicina foi realizado através do teste disco-difusão com a utilização de 1µg de oxacilina. Após avaliação do antibiograma constatou-se 100% de sensibilidade ao medicamento em questão.

Essa divergência nos resultados pode ter sido ocasionada em questão dos trabalhos terem sido realizados em localidades diferentes, pois os dois primeiros estudos obtiveram amostras extraídas do ambiente hospitalar, no qual a maioria dos pacientes estão expostos a dosagens excessivas de antimicrobiano, já este último teve dados coletados de uma universidade, nesta 76% dos alunos relataram, não estarem fazendo uso de antibióticos. Além de disso os trabalhos utilizaram diferentes metodologias na avaliação do perfil de resistência a metilicina, os primeiros estudos citados realizaram o teste de screening de cefoxitina, fazendo uso concomitante dos discos de oxacilina (1 µg) e cefoxitina (30 µg), já o trabalho de Atique et al., (2012) utilizou somente o disco de oxacilina.

Desde o aparecimento das cepas MRSA, a vancomicina também tem sido usada como medicamento de escolha para infecções estafilocócicas, no entanto apesar dos vários testes feitos a maioria das cepas ainda mostram ser susceptíveis a este medicamento, como demonstrado no trabalho, no qual foi observado 100% de sensibilidade ao antimicrobiano em questão, em uma pesquisa realizada por Manfredini et al.,(2011), foram obtidos dados semelhantes, com 100% das cepas sensíveis a vancomicina.

No entanto, devido ao uso massivo desse antimicrobiano, é esperado que cepas com perfil de resistência aumentado viessem a ser encontradas, justificando seu monitoramento constante por meio de técnicas laboratoriais adequadas. Pois, segundo Chang et al.,(2003), em junho de 2002 o primeiro caso de *S. aureus* com resistência plena à vancomicina foi identificado em Michigan-EUA, alarmando assim, a comunidade científica para maiores cuidados em relação à ingestão de antimicrobianos.

Foram obtidos um total de 78 (24,61%) cepas de perfil HA-MRSA indicando uma redução destas em relação às estirpes de origem comunitária, fato que pode ser sustentado pelos dados descritos no trabalho realizado por Meija et al., (2010), no qual localidades regionais do Brasil apresentaram uma redução de infecções por HA-MRSA, entre os anos de 1993 e 2003 as infecções caíram de 93% para 64%, o estudo de Naimi et al., (2003) também relata redução de cepas com perfil HA-MRSA

no âmbito hospitalar em comparação a CA-MRSA.

Tradicionalmente, as infecções causadas por HA-MRSA estavam limitadas aos hospitais, mas, nos últimos anos, as infecções associadas ou adquiridas na comunidade (CA-MRSA) estão sendo documentadas de forma crescente em todo o mundo (Nazareth et al., 2012; Oliveira; Paula, 2012) Como observado no trabalho 69,72% das cepas MRSA eram oriundas da comunidade e 24,61% de origem hospitalar. Esses resultados podem ser reforçados por Gelatti et al.,(2009), que relata e um estudo realizado na Argentina, 447 amostras analisadas entre os anos de 2006 e 2007, no qual 281 tinha como causa infecção ocasionada por S. aureus de origem comunitária.

Ainda segundo Gelatti et al.,(2009), as infecções ocasionadas por CA-MRSA mostra-se mais frequentes na pele e tecido subcutâneo com prevalência em 75% dos casos, este estudo também apresentou prevalência de infecções nesses sítios. As primeiras ocorrências de infecções por essas cepas foram em Porto Alegre, em 2004, desde então sua incidência só vem aumentando. Isso pôde ser observado no estudo em questão, pois a maioria das amostras utilizadas nesta pesquisa eram de pacientes hospitalizados, no momento da verificação da resistência de oxacilina juntamente com o teste de trimetropim/sulfametoxazol, verificou se que de 317 cepas com perfil MRSA, 221, ou seja, 69,72% apresentavam sensibilidade aos últimos antimicrobianos citados, revelando assim, o perfil CA-MRSA. O gráfico 2 apresenta o resultado sugestivo para amostras positivas e negativas para o perfil HA-MRSA e CA-MRSA com a utilização de Trimetropim/Sulfametoxazol.

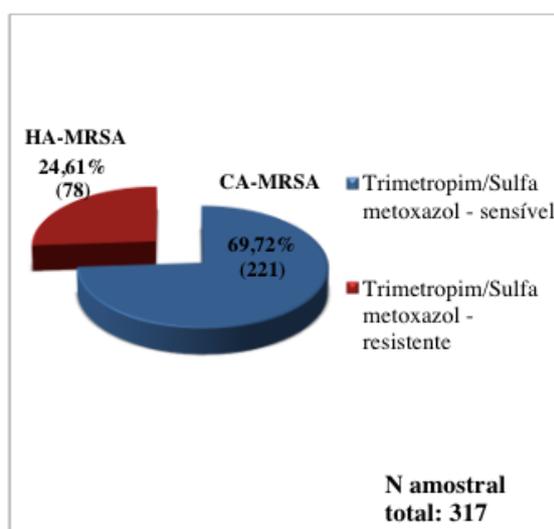


Gráfico 2: Resultados de amostras sugestivas para CA-MRSA e HA-MRSA através do teste com Trimetropim/Sulfametoxazol.

Resultado este que chamou atenção, pois como já foi mencionado, a maioria das amostras eram advindas de pacientes hospitalizados. Sugerindo que esses pacientes já estavam vindo infectados da comunidade. É importante estar atento a

tal possibilidade, uma vez que há risco de progressão para infecções mais graves e colonização no âmbito hospitalar. Pois, Naimi et al., (2003) é possível que os pacientes colonizados ou infectados por CA-MRSA SCCmec IV permaneçam sem as medidas adotadas para controle da disseminação, visto o tamanho de seu cassete, que possibilita a propagação intra-hospitalar dessa estirpe.

Os sítios com maior índice de infecção encontrados neste estudo foram 396 (36,1%) amostras de sangue, 133(12.1%) partes moles, 128 (11.6%) urina, 123 (11,5%) secreção e 33 (5,4) fragmento ósseo, no trabalho de Moura et al., (2010) foram analisados 44 sítios com infecção por MRSA, sendo 81,1% oriundos do sangue, 9,2% de secreções e 6,8 da urina, apesar da diferença na porcentagem dos sítios de infecções é notável que a corrente sanguínea continua sendo o principal sítio a ser acometido. Pacientes em estado crítico necessitam de um maior cuidado e de um rápido diagnóstico, na tentativa de evitar piores complicações, como choque séptico podendo levar a óbito. A tabela 3 apresenta o total de sítios infectados pela espécie *Staphylococcus aureus*.

Amostras	Quantidade
<b>Abscesso cervical</b>	2
<b>Cordão umbilical</b>	1
<b>Couro cabeludo</b>	1
<b>Fragmento de osso</b>	32
<b>Lesão</b>	33
<b>Líquido do joelho direito</b>	1
<b>Líquido abdominal</b>	1
<b>Líquido ascítico</b>	1
<b>Líquido sinovial</b>	21
<b>Muco nasal</b>	1
<b>Osteomielite</b>	3
<b>Partes moles</b>	137
<b>Ponta de cateter</b>	14
<b>Ponta de intracath</b>	8
<b>Ponta de cdl</b>	2
<b>Ponta de intracateter</b>	1
<b>Prótese</b>	1
<b>Sangue</b>	396
<b>Secreção</b>	373
<b>Swab de axila</b>	6
<b>Swab inguinal</b>	2
<b>Swab de traqueostomia</b>	1
<b>Swab de nasal</b>	29
<b>Urina</b>	128
<b>Total</b>	1,195

Tabela 3: Sítios encontrados colonizado.

## CONCLUSÃO

Após a análise dos dados pode se verificar a alta incidência das cepas CA-MRSA em relação às hospitalares, com uma porcentagem de 69, 72% e 24, 61%, respectivamente. Demonstrando que essas estirpes estão se disseminando de forma progressiva, este resultado mostra se preocupante, pois na comunidade há um maior contato entre pessoas, facilitando sua rápida transmissão. Além disso, ocorre a utilização de forma indiscriminada de medicamentos, podendo ocasionar o aumento no número de estirpes resistentes a outras classes de antimicrobianos. Apesar da incidência de HA-MRSA, deve se ter um cuidado para que as cepas comunitárias não se instalem no ambiente hospitalar, evitando sua disseminação principalmente entre os pacientes mais críticos.

Com a avaliação do perfil de susceptibilidade dos antimicrobianos, observou se que os medicamentos com maior índice de resistência foram a benzilpenicilina, eritromicina, clindamicina, oxacilina e triptetromim/sulfametoxazol, consecultivamente, sendo estas as principais drogas utilizadas no tratamento de infecções estafilocócicas, demonstrando uma limitação na terapêutica do paciente, logo se observa a importância nos testes de resistência aos antimicrobianos. Além disso, apesar do uso contínuo da vancomicina no tratamento dessas infecções, as estirpes de *S. aureus* continuam apresentando alta sensibilidade a este medicamento.

Nos resultados foram obtidos diversos sítios infectados, sendo os de maior prevalência a corrente sanguínea, partes moles, fragmento de osso, urina e secreções. Contudo, os fatores de risco associados às infecções por MRSA comunitário não estão completamente estabelecidos, porém é de suma importância criar estratégias que vão intensificar as medidas preventivas no ambiente comunitário, evitando o surgimento infecções mais graves.

Sendo assim, sugere-se a necessidade de novas pesquisas para complementarem este tipo de estudo, pois a escassez de estudos de prevalência é um fator limitante do conhecimento da epidemiologia local relacionada à MRSA no estado do Pará, para assim facilitar o conhecimento da existência dessas cepas circulantes, sendo fundamental o cultivo laboratorial de infecções, identificação do microrganismo e a realização do teste de susceptibilidade, colaborando para o tratamento apropriado e direcionando as medidas de controle para essa bactéria.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. C.; PIMENTA-RODRIGUES, M. V.; MORIS, D. V.; MAGNO CASTELO BRANCO FORTALEZA, C.; DA CUNHA, R. D. S.; DE LOURDES, M. **Avaliação fenotípica e genotípica do perfil de resistência de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de culturas clínicas e de vigilância de um hospital de ensino brasileiro.** 2012. In *Colloquium Vitae* (Vol. 4, No. 2). Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Marcus\\_Vinicius\\_Rodrigues2/publication/307664944\\_AVALIACAO\\_FENOTIPICA\\_E\\_GENOTIPICA\\_DO\\_PERFIL\\_DE\\_RESISTENCIA\\_DE\\_AMOSTRAS\\_DE\\_Staphylococcus\\_aureus\\_ISOLADAS\\_DE\\_CULTURAS\\_CLINICAS\\_E\\_DE\\_VIGILANCIA\\_DE\\_UM\\_HOSPITAL\\_DE\\_ENSINO\\_BRASILEIRO/links/57e1972b08ae427e2957e2a6/](https://www.researchgate.net/profile/Marcus_Vinicius_Rodrigues2/publication/307664944_AVALIACAO_FENOTIPICA_E_GENOTIPICA_DO_PERFIL_DE_RESISTENCIA_DE_AMOSTRAS_DE_Staphylococcus_aureus_ISOLADAS_DE_CULTURAS_CLINICAS_E_DE_VIGILANCIA_DE_UM_HOSPITAL_DE_ENSINO_BRASILEIRO/links/57e1972b08ae427e2957e2a6/)

AVALIACAO-FENOTIPICA-E-GENOTIPICA-DO-PERFIL-DE-RESISTENCIA-DE-AMOSTRAS-DE-Staphylococcus-aureus-ISOLADAS-DE-CULTURAS-CLINICAS-E-DE-VIGILANCIA-DE-UM-HOSPITAL-DE-ENSINO-BRASILEIRO.pdf. Acesso em: 1 de novembro de 2018.

AMORIM, D. M. R.; PERSON, O. C.; AMARAL, P. J. D.; & TANAKA, I. I. **Resistência induzível à clindamicina entre isolados clínicos de Staphylococcus aureus**. 2009. *O Mundo da Saúde*, 33(4), 401-5. Disponível em: [http://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo\\_saude/70/401a405.pdf](http://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/70/401a405.pdf). Acessado em: 1 de novembro de 2018.

ATIQUE, T. S. LIMA, T. A. M.; SOUZA, V. A.; PACHECO, P. F. C.; FURINI, A. A. da C. **Sensibilidade à metilina/oxacilina de Staphylococcus aureus isolados da mucosa nasal de alunos do Centro Universitário de Rio Preto**. 2012. Disponível em: <http://rbfarma.org.br/files/rbf-2012-93-3-14>. Acessado em 5 de fevereiro de 2018.

CHAMBERS, H. F. **Methicillin resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basics and clinical implications**. *ClinMicrobiol Rev*. 1997. Disponível em: <http://cmr.asm.org/content/10/4/781.short>. Acessado em: 12 de novembro de 2017.

CHANG, S.; SIEVERT, D. M.; HAGEMAN, J. C.; BOULTON, M. L.; TENOVER, F. C.; DOWNES, F. P.; CARDO, D. **Infection with vancomycin-resistant Staphylococcus aureus containing the vanA resistance gene**. 2003. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1342-1347. Disponível em: Chang, S., Sievert, D. M., Hageman, J. C., Boulton, M. L., Tenover, F. C., Downes, F. P., ... & Cardo, D. (2003). Infection with vancomycin-resistant Staphylococcus aureus containing the vanA resistance gene. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1342-1347. Acessado em 29 de outubro de 2018.

COSGROVE, S. E.; SAKOULAS, G.; PERENCEVICH, E. N.; SCHWABER, M. J.; KARCHMER, A. W.; & CARMELI, Y. **Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus bacteremia: a meta-analysis**. 2003. *Clinical infectious diseases*, 36(1), 53-59. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/36/1/53/283567>. Acessado em 27 de outubro de 2018.

DE RIO PRETO, Universitário. **Sensibilidade à metilina/oxacilina de Staphylococcus aureus isolados da mucosa nasal de alunos do Centro Universitário de Rio Preto**. *Rev. Bras. Farm*, v. 93, n. 3, p. 347-352, 2012. Disponível em: <http://rbfarma.org.br/files/rbf-2012-93-3-14>. Acessado em 5 de fevereiro de 2018.

DEURENBERG, R. H.; VINK, C.; KALENIC, S.; FRIENDRICH, A. W.; BRUGGEMAN, C. A.; STOBBERINGH, E. E. **The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus**. *ClinMicrobiolInfect*. 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x>. Acessado em: 12 de novembro de 2017.

FERREIRA, A. M.; DE ANDRADE, D.; RIGOTTI, M. A.; GOTTARDO DE ALMEIDA, M. T. **Staphylococcus aureus resistente à metilina em superfícies de uma unidade de terapia intensiva**. 2011 *Acta Paulista de Enfermagem*, 24(4). Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/3070/307023874002/>. Acessado em: 23 de outubro de 2018.

GELLATI, L. C.; BECKER, A. P.; BONAMINGO, R. R.; AZEVEDO, P. A. **Staphylococcus aureus resistente a metilina: disseminação emergente na comunidade**. 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Renan\\_Bonamigo/publication/41124234\\_Methicillinresistant\\_Staphylococcus\\_aureus\\_emerging\\_community\\_dissemination/links/09e415080a2eb11851000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Renan_Bonamigo/publication/41124234_Methicillinresistant_Staphylococcus_aureus_emerging_community_dissemination/links/09e415080a2eb11851000000.pdf). Acessado em 19 de novembro de 2017. Acessado em 23 de outubro.

GRINDI, L. **Comparação de metodologias para detecção da resistência à metilina em Staphylococcus aureus**. 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufms.br/handle/1/6005>. Acessado em: 29 de novembro de 2017.

GUTIÉRREZ, L. M.; GARCIA, L.; OTERO, A.; GARCIA, F.; MORENO, B. **Incidence of staphylococci in ovine mastitic milk and antibiotic susceptibility of the strains**. 1990. *Milchwissenschaft*, 45(12), 778-781. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/>

abstract/19910444474. Acessado em: 23 de outubro.

LIMA, M. F. P.; BORGES, M. A.; PARENTE, R. S.; JÚNIOR, R. C. V.; DE OLIVEIRA, M. E. **Staphylococcus aureus e as infecções hospitalares–Revisão de Literatura.** *Revista UningáReview*, 21(1). 2015. Disponível em: [https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150101\\_115618](https://www.mastereditora.com.br/periodico/20150101_115618). Acessado em 11 de janeiro de 2018.

MANFREDINI, C.; PICOLI, S. U.; BECKER, A. P. **Comparação de métodos na determinação de sensibilidade à vancomicina em Staphylococcus aureus resistente à meticilina.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 47, n. 2, p. 141-145, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442011000200008>. Acessado em 11 de janeiro de 2019.

MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; FONTENELES, T. V.; REGO, S. L.; FAHEINA JUNIOR, G. S. **Perfil de resistência de cepas de staphylococcuscoagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos.** *Digital libraryofjournals*. 2009. Disponível em: <file:///C:/Users/user/Downloads/Perfilresistencia.pdf>. Acessado em: 5 de dezembro de 2017.

MEJÍA, C.; ZURITA, J.; GUZMÁN-BLANCO, M. **Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Latin America.** 2010. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 14, 79-86. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141386702010000800003&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141386702010000800003&script=sci_arttext&lng=pt). Acessado em: 20 de novembro de 2018.

MEIRELES, L. A.; VIEIRA, A. A.; COSTA, C. R. **Evaluation of the neonatal sepsis diagnosis: use of clinical and laboratory parameters as diagnosis factors.** *Revista da Escola de Enfermagem da USP*. 2011. v. 45, n. 1, p. 33-39. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0080-62342011000100005&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0080-62342011000100005&script=sci_arttext&lng=pt). Acessado em: 20 de novembro de 2018.

MOURA, J. P. D.; PIMENTA, F. C.; HAYASHIDA, M.; CRUZ, E. D. D. A.; CANINI, S. R. M. D. S.; GIR, E. **Colonization of nursing professionals by Staphylococcus aureus.** 2011. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 19(2), 325-331. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010411692011000200014&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010411692011000200014&script=sci_arttext&lng=pt).

MOURA, J. P. D.; GIR, E.; ROSA, J. D. O.; BELÍSSIMO-RODRIGUES, F.; CRUZ, E. D. D. A.; OLIVEIRA, A. C. A. D.; PIMENTA, F. C. **Resistência à mupirocina entre isolados de Staphylococcus aureus de profissionais de enfermagem.** 2010. *Acta Paulista de Enfermagem*, 23(3), 399-403. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/ape/v23n3/v23n3a14>. Acessado em : 20 de outubro de 2018.

NAIMI, T. S.; LEDELL, K. H.; COMO-SABETTI, K.; BORCHARDT, S. M.; BOXRUD, D. J.; ETIENNE, J.; DANILA, R. N. **Comparison of community-and health care-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection.** 2003. *Jama*, 290(22), 2976-2984. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/197805>. Acessado em: 13 de novembro de 2018.

NAZARETH, R.; GONÇALVES-PEREIRA, J.; TAVARES, A.; MIRAGAIA, M.; DE LENCASTRE, H.; SILVESTRE, J.; TAPADINHAS, C. **Infeção por staphylococcus aureus meticilina-resistente da comunidade em Portugal.** 2012. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 18(1), 34-38. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0873215911000717>. Acesso em: 21 de novembro de 2018.

RAZERA, F.; STEFANI, S.; BONAMIGO, R. R., OLM, G. S., DIAS, C. A. G., NARVAEZ, G. A. **CA-MRSA em furunculose: relato de caso do sul do Brasil.** *AnBrasDermatol*, 84 (5), 515-8. 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Cicero\\_Dias4/publication/245832742\\_CA-MRSA\\_em\\_furunculose\\_relato\\_de\\_caso\\_do\\_sul\\_do\\_Brasil/links/5468e5970cf2397f782d6b9b](https://www.researchgate.net/profile/Cicero_Dias4/publication/245832742_CA-MRSA_em_furunculose_relato_de_caso_do_sul_do_Brasil/links/5468e5970cf2397f782d6b9b). acessado em 11 de janeiro de 2018.

OLIVEIRA, A. C.; OLIVEIRA DE PAULA, A. **Descolonização de portadores de staphylococcus aureus: indicações, vantagens e limitações.** 2012. *Texto & contexto enfermagem*, 21(2). Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/714/71422962025/>. Acessado em 10 de outubro de 2018.

REITER, K. C. **Distribuição dos SCCmec tipos I, II, III e IV em *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente isolados de pacientes do hospital das clínicas de Porto Alegre.** 2009. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/18200>. Acessado em 3 de dezembro de 2017.

SEVERIN, A.; TABELI, K.; TENOVER, F.; CHUNG, M.; CLARKE, N.; TOMASZ, A. **High level oxacillin and vancomycin resistance and altered cell wall composition in *Staphylococcus aureus* carrying the staphylococcal mecA and the enterococcal vanA gene complex.** Journal of Biological Chemistry. 2004, Disponível em: <http://www.jbc.org/content/279/5/3398.short>. Acessado em: 20 de novembro de 2017.

UZUN, B.; GÜNGÖR, S.; PEKTAŞ, B.; AKSOY, A. G.; YULA, E.; KOCAL, F.; KAYA, S. **Macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLSB) resistance phenotypes in clinical *Staphylococcus* isolates and investigation of telithromycin activity.** 2014. *Mikrobiyoloji bulteni*, 48(3), 469-476. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/25052113>. Acessado em: 12 de outubro de 2018.

## ISOPULEGOL APRESENTA ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS PROMISSORAS: REVISÃO DE LITERATURA

### **Deyna Francélia Andrade Próspero**

Docente no Departamento de Enfermagem na Universidade Estadual do Piauí- UESPI -Teresina, PI.

### **Manoel Pinheiro Lúcio Neto**

Docente no Departamento de Farmácia, Centro Universitário Santo Agostinho– UNIFSA - Teresina, PI.

### **Kidner Angelino Próspero**

Docente no Departamento de Engenharia da AESPI - Ensino Superior do Piauí - Teresina, PI.

### **Emanuel Osvaldo de Sousa**

Faculdade Facid Wyden - Teresina, PI.

### **Aline Raquel de Sousa Ibiapina**

Docente no Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí – UFPI - Teresina, PI.

### **Antonio Alberto Ibiapina Costa Filho**

Universidade Federal do Piauí- UFPI - Teresina, PI.

### **Daniele Martins de Sousa Oliveira**

Docente no Departamento de enfermagem do Centro Universitário UNINOVAFAPI – Teresina, PI.

### **Girzia Sammya Tajra Rocha**

Docente do Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí – UFPI- Teresina, PI.

### **Janainna Maria Maia**

Universidade Federal do Piauí- UFPI - Teresina, PI.

### **Larissa Vanessa Ferreira Memória**

Universidade Estadual do Ceará- UECE –

Teresina, PI.

### **Nayana Santos Arêa Soares**

Universidade Federal do Piauí - UFPI - Teresina, PI.

### **Camila Leyelle Sousa Neves Rocha**

Faculdade Santo Agostinho – FSA -Teresina, PI.

### **Matheus Evelyn Martins**

Acadêmico de Medicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI - Teresina, PI.

### **Litamara dos Santos Miranda**

Acadêmica de Medicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI - Teresina, PI.

### **Emília do Rosário Vale de Carvalho Silva**

Docente na Secretaria Municipal de Barras – Barras – PI.

### **Emones Santos Souza Rodrigues**

Centro Universitário UNINOVAFAPI - Teresina, PI.

### **Juliana Nádia Figueiredo Piauiense**

Centro Universitário UNINOVAFAPI - Teresina, PI.

**RESUMO:** Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias (principalmente monoterpenos), extraídos de plantas que muitas vezes apresentam efeitos farmacológicos e resultados terapêuticos. Os monoterpenos já mostraram atividades antifúngica, anti-inflamatória, antioxidantes, analgésicas, entre outras. O isopulegol (ISO) é um monoterpeno álcool, presente em óleos essenciais de plantas, como *Corymbia citriodora* H.; *Zanthoxylum*

*schinifolium* L. e *Melissa officinalis* L., essas são utilizadas na medicina popular como antiespasmódica, curativo cirúrgico para feridas, e sedativo/hipnótico, fortalecimento da memória e alívio da dor de cabeça induzida por estresse. O presente trabalho objetiva descrever as ações farmacológicas do monoterpene ISO apresentadas na literatura. Desse modo, realizou-se utilizou-se como fonte de busca a base de dados eletrônico Science Direct, SciELO e PubMed, nos idiomas português, espanhol e inglês, com base em artigos publicados entre 2000 a 2017. As palavras-chave usadas na pesquisa foram: Isopulegol. Monoterpene. Atividade Farmacológica. Estudos demonstraram que o óleo essencial de *Z. schinifolium* L., que contém ISO como composto majoritário, mostra-se capaz de induzir apoptose de células de hepatoma humano HepG2, além de apresenta-se capaz de interromper o ciclo celular de células cancerosas nas fases G0/G1. Pesquisas também mostraram que o ISO apresentou efeito antioxidante, ansiolítico, antinociceptivo, anti-hiperalgésico, anticonvulsivante e atividade sedativa em roedores, atividade antifúngica, gastroprotetora e propriedades antioxidantes. O ISO também melhora características farmacocinéticas de outras substâncias, além de diversas propriedades farmacológicas com boas perspectivas de aplicabilidade clínica por ser uma substância com baixo risco de toxicidade e já utilizada por humanos com outras finalidades.

**PALAVRAS-CHAVE:** Isopulegol. Atividade Farmacológica. Monoterpene.

**ABSTRACT:** Essential oils are complex mixtures of substances (mainly monoterpenes) extracted from plants that often have pharmacological effects and therapeutic results. Monoterpenes have already shown antifungal, anti-inflammatory, antioxidant, analgesic and other activities. Isopulegol (ISO) is a monoterpene alcohol, present in essential plant oils, such as *Corymbia citriodora* H.; *Zanthoxylum schinifolium* L. and *Melissa officinalis* L., these are used in folk medicine as antispasmodic, surgical dressing for wounds, and sedative / hypnotic, memory enhancement and stress-induced headache relief. The present work aims to describe the pharmacological actions of the monoterpene ISO presented in the literature. In this way, the electronic database Science Direct, SciELO and PubMed, in the Portuguese, Spanish and English languages, was used as source of search, based on articles published between 2000 and 2017. The keywords used in the research were: Isopulegol. Monoterpene. Pharmacological Activity. Studies have shown that the essential oil of *Z. schinifolium* L., which contains ISO as a major compound, is capable of inducing apoptosis of HepG2 human hepatoma cells, besides being able to interrupt the cell cycle of cancer cells in the phases G0 / G1. Research also showed that the ISO presented antioxidant, anxiolytic, antinociceptive, antihyperalgesic, anticonvulsive and sedative activity in rodents, antifungal, gastroprotective and antioxidant properties. ISO also improves pharmacokinetic characteristics of other substances, as well as several pharmacological properties with good perspectives of clinical applicability because it is a substance with a low risk of toxicity and already used by humans for other purposes.

**KEYWORDS:** Isopulegol. Pharmacological Activity. Monoterpene.

## INTRODUÇÃO

Os produtos naturais proporcionam uma fonte significativa de potenciais fármacos a partir da qual a humanidade tem identificado não apenas fitoterápicos e remédios de ervas, mas também, a maioria dos nossos antibióticos atuais e medicamentos anticânceres (NERIO, et al., 2010). Estudos etnofarmacológicos comprovam isso, mostrando que as pessoas nos até em países mais desenvolvidos ainda dependem dos conhecimentos tradicionais sobre o uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças (MENENDEZ-BACETA et al., 2014).

Muitas substâncias farmacologicamente ativas são encontradas nas plantas aromáticas, tornando-as importantes pela grande multiplicidade de espécies e principalmente pela produção de uma variedade de metabólitos secundários de natureza química diversa (PATRA et al., 2013; TULP; BOHLIN, 2004). Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias de baixo peso molecular extraídos de plantas aromáticas por destilação a vapor, arraste a vapor de água entre outros métodos (NGUEFACK et al., 2009). Interações complexas entre vários os componentes de óleos essenciais muitas vezes contribuem para o efeito farmacológico e os resultados terapêuticos (GUIMARÃES et al., 2010; GONÇALVES, 2012; PATRA et al., 2013).

Os monoterpenos são os principais constituintes químicos dos óleos essenciais de plantas e estes encontram-se na forma de misturas de componentes odoríferos que podem ser obtidos por destilação com vapor ou por extração por solvente em uma grande variedade de plantas (MARTINO et al., 2015). Trabalhos recentes demonstraram que os monoterpenos podem apresentar propriedades farmacológicas e biológicas importantes, incluindo atividades antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, antimutagênica, antidiabética, antiviral, anti-inflamatória, antioxidantes, e analgésicas (MARTINO et al., 2015; RAUT; KARUPPAYIL, 2014; NERIO, et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2015).

O isopulegol (ISO) (p-Menth-8-en-3-ol) é um monoterpeno álcool, presente em óleos essenciais de várias plantas aromáticas, como *Corymbia citriodora* H. (VERNIN et al. 2004); *Zanthoxylum schinifolium* L. e *Melissa officinalis* L. (PAIK et al., 2005), essas plantas são utilizadas na medicina popular como antiespasmódica, curativo cirúrgico para feridas, sedativo/hipnótico, fortalecimento da memória e alívio da dor de cabeça induzida por estresse (VANE e BOTTING, 1995; SREELEKSHMI et al., 2007; BLUMENTHAL et al., 2000). O presente trabalho objetiva descrever as ações farmacológicas do monoterpeno ISO apresentadas na literatura.

## METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado através de uma revisão integrativa de literatura feita através de base de dados científicos como *Scientific Eletronic Library OnLine* (SciELO), *Science Direct*, e *PubMed*.

Adotaram-se como descritores os termos em português “isopulegol”, “atividade farmacológica”, “monoterpeno” e “monoterpene”, “Pharmacological activity” em inglês. Foram adotados como critérios de inclusão os artigos diretamente relacionados ao tema, publicados entre os anos de 2000 à 2017, na língua portuguesa, inglesa.

Na primeira etapa de análise dos artigos procedeu-se com a leitura dos mesmos e exclusão dos artigos que repetiam-se. Na segunda etapa excluiu-se aqueles que não foram disponibilizados na íntegra e que não apresentavam características farmacológicas específicas para o isopulegol.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como relatado anteriormente, o isopulegol-(ISO) **Figura 1**, é um monoterpene álcool monocíclico presente nos óleos essenciais de várias plantas, tais como *Corymbia citriodora* H. (eucalipto-cidrô, eucalipto-limão ou eucalipto-cheiroso), da família Myrtaceae, é uma espécie caracterizada por produzir árvores de médio e grande porte, com distribuição natural nas regiões de clima temperado e subtropical do nordeste da Austrália. O epíteto específico *citriodora* deriva do latim *citriodorus*, que significa odor de limão (VERNIN et al. 2004), encontrado na *Zanthoxylum schinifolium* L., da família Rutaceae formada por cerca de 250 espécies de árvores e arbustos, nativas de zonas temperadas e subtropicais de todo o planeta (PAIK et al., 2005). A *Melissa officinalis* L. pertence à família Lamiaceae, também apresenta ISO em sua composição, é utilizada na medicina popular como antiespasmódica, curativo cirúrgico para feridas, sedativo/hipnótico, fortalecimento da memória e alívio da dor de cabeça induzida por estresse (VANE e BOTTING, 1995; SREELEKSHMI et al., 2007; BLUMENTHAL et al., 2000).

O ISO intermediário na preparação de (-) – mentol, tem sido usado na fabricação de composições de fragrâncias com flores, como condimento alimentar desde muito tempo sendo aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para uso alimentar (21 CFR 121,1164), e incluído pelo Conselho da Europa (1974) na lista de substâncias aromatizantes artificiais que podem ser adicionados temporariamente aos géneros alimentícios sem perigo para a saúde pública, além disso o Food Chemicals Codex (1972) tem uma monografia sobre isopulegol, **Figura 01** (OPDYKE, 2013; LYNCH, 1971). Estudos descritos por Paik et al., (2005), demonstraram que o óleo essencial de *Z. schinifolium* L., que contém isopulegol como composto majoritário, mostra-se capaz de induzir apoptose de células de hepatoma humano HepG2, o que sugere uma utilização plausível deste óleo como um agente anti-tumor na terapia do carcinoma hepatocelular. Além disso, o ISO apresenta-se capaz de interromper o ciclo celular de células cancerosas nas fases G0/G1, reforçando sua ação anti-tumor (JAAFARI et al., 2012).

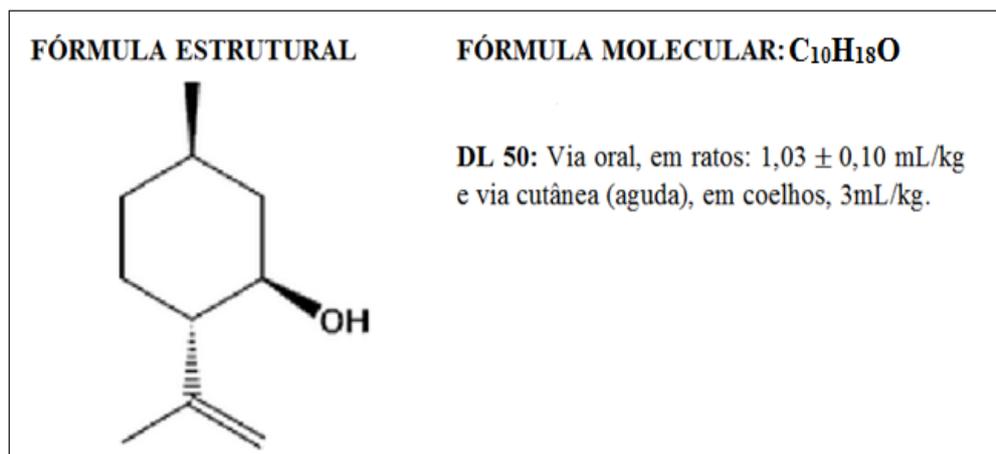


FIGURA 01: Estrutura molecular do monoterpene Isopulegol (ISO) e dose letal média para 50% dos animais (DL 50).

Fonte: Adaptado de OPDYKE, 2013 e LYNCH, 1971.

Pesquisas também mostraram que o ISO apresentou efeito antioxidante e ansiolítico (SILVA et al.; 2007, **a**), anticonvulsivo e atividade sedativa em camundongos (SILVA et al., 2007, **b**), e atividade gastroprotetora (SILVA et al., 2009), que o autor sugere ser mediadas, pelo menos em parte, por prostaglandinas endógenas, envolvimento de canais K<sup>+</sup><sub>ATP</sub>, e propriedades antioxidantes.

Sabe-se que o citronelal é convertido por tratamento com ácido em isopulegol, a partir do qual uma mistura de mentol estereoisomérica é produzida por hidrogenação catalítica (CHUAH et al., 2001). The process is used commercially to supplement the natural sources of menthol (oil of peppermint), widely used as a flavouring and in medicinal preparations. O processo é utilizado comercialmente para complementar as fontes naturais de mentol (óleo de hortelã-pimenta), amplamente utilizado como um condimento e em preparações medicinais (EASTMAN, KLUGER, 2015). Ensaios farmacológicos mostraram que o citronelal apresenta atividades anti-inflamatória e antinociceptiva (MELO et al, 2010; QUINTANS-JÚNIOR, L. et al., 2010), sendo um indício de que o ISO também possa apresentar tais atividades.

O ISO também melhora características farmacocinéticas de outras substâncias, a sua associação com o flurbiprofeno potencializa a absorção em patches transdérmicos, e quando associado à um benzaldeído pode produzir o monoterpene dioxina que apresenta ação analgésica (CHAROO et al, 2005).

PRÓSPERO e colaboradores (2018), demonstraram que o isopulegol apresenta atividade antinociceptiva utilizando o teste de formalina. A nocicepção induzida por formalina é comumente empregada como um modelo de dor aguda, caracterizada pela presença de respostas nociceptivas bifásicas distintas. A primeira fase ocorre durante os primeiros 5 minutos e corresponde à dor neurogênica, nesta fase há liberação de bradicinina e substância P (SP) que promovem a ativação direta de receptores transientes, localizados potencialmente nos canais cátions A1 nas fibras sensoriais C, refletindo uma dor mediada centralmente (MCNAMARA et al., 2007).

A segunda fase ocorre entre 15 e 30 minutos após o estímulo, também conhecida como fase inflamatória, é mediada por uma combinação de mediadores inflamatórios periféricos liberados de tecidos lesionados, como histamina, 5-HT, PGs, bradicinina e aminoácidos excitatórios, causando a sensibilização de neurônios nociceptivos centrais (ROSLAND et al., 1990; TJOLSEN et al., 1992; PARADA et al., 2001; TANNINO, et al. 2001; LARSEN et al, 2009).

O ISO mostrou-se efetivo contra nocicepção induzida por formalina nas duas fases do teste. Estudos anteriores mostraram que drogas que atuam principalmente no SNC inibem ambas as fases igualmente, enquanto drogas de ação periférica inibem a segunda fase (TJOLSEN et al., 1992). Com isso podemos sugerir que o ISO possa agir pela inibição de mediadores inflamatórios diretos e indiretos e possivelmente através das vias de transmissão no nível do SNC (tais como SP e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina- CGRP), podendo ser comparado com outros monoterpenos estruturalmente semelhantes, como o  $\gamma$ -TPN e o carvacrol, que apresentam efeitos antinociceptivos semelhantes (PASSOS, et al., 2015; MELO et al., 2012).

Além disso, o ISO apresenta efeito anti-hiperalgésico (PRÓSPERO, et al., 2018), sua ação está relacionada com a inibição de vários mediadores inflamatórios endógenos, como os metabólitos do ácido araquidônico, como a PGE<sub>2</sub>, produtos originados de mastócitos, histamina, SP, BK, neuropeptídeos, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , além de fatores de transcrição como o fator de transcrição nuclear (NF- $\kappa$ B) (CUNHA et al., 2008).

## CONCLUSÃO

De acordo com o estudo realizado, o óleo essencial contendo isopulegol como composto marjoritário é capaz de induzir apoptose de células de hepatoma humano HepG2, mostrando atividade anti-tumor na terapia do carcinoma hepatocelular. O ISO apresenta-se capaz de interromper o ciclo celular de células cancerosas nas fases G0/G1, reforçando sua ação anti-tumor. Apresentou efeito antioxidante, ansiolítico, antinociceptivo, anti-hiperalgésico, anticonvulsivo e atividade sedativa em camundongos e atividade gastroprotetora, além de propriedades antioxidantes. O isopulegol também melhora características farmacocinéticas de outras substâncias com o flurbiprofeno, aumentando sua eficácia. Dessa maneira concluímos que o isopulegol é um monoterpeno com atividades farmacológicas promissoras para uso na clínica médica por ser uma substância com baixo risco de toxicidade e já utilizada por humanos com outras finalidades.

## REFERÊNCIAS

BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMANN, J. *Herbal Medicine-Expanded Commission E Monographs, Integrative Medicine Communications*, Newton, Mass, USA, 2000.

CHAROO NA<sup>1</sup>, ANWER A, KOHLI K, PILLAI KK, RAHMAN Z. **Transdermal delivery of flurbiprofen: permeation enhancement, design, pharmacokinetic, and pharmacodynamic studies in albino rats.** Pharm Dev Technol. V.10 (3):343-51, 2005.

CHUAH, G.K., LIU, S.H.; JAENICKE, S.; HARRISON L.J. Isomerization of Citronellal to Isopulegol Using Eclectically Engineered Sulfated Zirconia–Carbon Molecular Sieve Composite Catalysts, UDCaT-2. J.of Catal., 200: 352-359, 2001.

CUNHA, T.M.; ROMAN-CAMPOS, D.; LOTUFO, et al. **Morphine peripheral analgesia depends on activation of the PI3Kgamma/AKT/nNOS/NO/KATP signaling pathway.** Proceedings of the National Academy of Science, v. 107, n. 9, p. 4442-7, 2010.

EASTMAN, Richard H., KLUGER, Ronald H. **Isopulegol: composto químico.** Encyclopédia Britânica, 2015. Disponível em: <http://global.britannica.com/science/isopulegol>, acesso em: 15/02/2016.

GONÇALVES, M. J.; CRUZ, M. T.; TAVARES, Ana C.; CAVALEIRO C.; LOPES, M.C.; CANHOTO, J.; SALGUEIRO, L. **Composition and biological activity of the essential oil from Thapsia minor, a new source of geranyl acetate.** Industrial Crops and Products 35, 166– 171, 2012.

GUIMARÃES, A. G. et al. **Encapsulation of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano, with  $\beta$ -cyclodextrin, improves the pharmacological response on cancer pain experimental protocols.** Chemico-Biological Interactions, v. 227, p. 69–76, 2015.

GUIMARÃES, A.G.; OLIVEIRA, G.F.; MELO, M.S.; et al. **Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol.** Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, v. 107, p. 949-957, 2010.

JAAFARI, A.; TILAOUI, M.; MOUSE, H. A., et al. **Comparative study of the antitumor effect of natural monoterpenes: relationship to cell cycle analysis.** Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 22(3): 534-540, May/Jun. 2012.

LARSEN, J. M., BONEFELD C. M., POULSEN S. S., GEISLER C., SKOV L. **IL-23 and TH17-mediated inflammation in human allergic contact dermatitis.** Journal of Allergy and Clinical Immunology, v. 123, n. 2, 2009.

LYNCH, T. A. (1971). **Report to RIFM**, 21 June. 1971.

MARTINO, L. **Essential Oils from Mediterranean Aromatic Plants in.** The Mediterranean Diet, p. 649–661, 2015.

McNAMARA, C.R.; MANDEL-BREHM, J.; BAUTISTA, D.M.; et al. **TRPA1 mediates formalin-induced pain.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 104, p. 13525-13530, 2007.

MELO, F.H.C.; RIOS, E.R.; ROCHA, N.F.; et al. **Antinociceptive activity of carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice.** Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 64, p. 1722-1729, 2012.

MENENDEZ-BACETA, G. et al. **Medicinal plants traditionally used in the northwest of the Basque Country (Biscay and Alava), Iberian Peninsula.** Journal of Ethnopharmacology, v. 152, p. 113–134, 2014.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL J.; STASHENKO, E. **“Repellent activity of essential oils: a review,”** Bioresource Technology, v. 101, p. 372–378, 2010.

NGUEFACK, J.; DONGMO, J. B. L.; DAKOLE, C. D. et al., **“Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris***

against mycotoxigenic fungi”, International Journal of Food Microbiology, v. 131, p. 151–156, 2009.

OPDYKE, D. L. J. **Monographs on Fragrance Raw Materials: A Collection of Monographs Originally Appearing in Food and Cosmetics Toxicology**, v. 1979, p. 750, 2013.

PAIK, S.Y.; KOK, K. H.; BICO, S.M. **Os óleos essenciais de *Zanthoxylum schinifolium* pericarpo induzem a apoptose de células de hepatoma humano HepG2 através do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio**. Biol Pharm Touro, v. 28, p. 802-807, 2005.

PARADA, C.A; TAMBELI, C.H.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. **Major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception**. Neuroscience, v. 102, p. 937-944, 2001.

PASSOS, F. F. de B.; LOPES, E. M.; ARAÚJO, J. M. de, et al. **Involvement of Cholinergic and Opioid System in  $\gamma$ -Terpinene-Mediated Antinociception. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2015, p. 1-9, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/829414>, 28/04/16.

PATRA, B. SCHLUTTENHOFER, C., WU, Y., PATTANAİK, S., YUAN, L. **Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants**. Biochimica et biophysica acta, v. 1829, p. 1236–47, 2013.

PRÓSPERO D. F. A, REIS FILHO A.C., PIAULINO C.A., et al. Effects of isopulegol in acute nociception in mice: Possible involvement of muscarinic receptors, opioid system and l-arginine/NO/cGMP pathway. Chem Biol Interact. doi: 10.1016/j.cbi.2018.07.019, 2018.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; GUIMARÃES, A. G.; ARAÚJO, B. E. S. et al. **“Carvacrol, (–)-borneol and citral reduce convulsant activity in rodents”** African Journal of Biotechnology, vol. 9, n. 39, p. 6566–6572, 2010.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. **A status review on the medicinal properties of essential oils**. Industrial Crops & Products, v. 62, p. 250–264, 2014.

ROSLAND, J. H., TJOLSEN, J. H., MÆHLE, B., HOLE, K. **The formalin test in mice: effects of formalin concentration**. Pain, v. 42, p. 235–242, 1990

SILVA F.V., GUIMARÃES A. G., SILVA E. R., et al. **Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano**. J Med Food, v.15, n. 11, p. 984-91, 2012.

SILVA, M. I. G.; AQUINO NETO, M. R. de; TEIXEIRA NETO, P. F. et al. **A atividade do sistema nervoso central da administração aguda do isopulegol em camundongos**. Pharmacologi Biochem Behav 88 (2):141-147, 2007. (a)

SILVA, M. I. G.; MOURA, B. A.; AQUINO NETO, M. R.; et al. **Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action**. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol, v. 380, p. 233–245, 2009.

SILVA, M. I. G.; SILVA, M. A. G.; AQUINO NETO, M. R. de; et. al. **Efeitos do isopulegol sobre as convulsões induzidas por pentilenotetrazol em ratos: possível envolvimento do sistema GABAérgico e atividade antioxidante**. Fitoterapia, v. 80, p. 506-513, 2007. (b)

SILVA, R. O., DAMASCENO, S. R., SILVA, I. S., et al. **Riparin A, a compound from *Aniba riparia*, attenuate the inflammatory response by modulation of neutrophil migration**. Chemico-Biological Interactions, v. 229, n. February, p. 55–63, 2015.

SREELEKSHMI, R.; LATHA, P. G.; ARAFAT, M. M. et al. **“Antiinflammatory, analgesic and anti-lipid**

**peroxidation studies on stem bark of *Ficus religiosa* Linn, ”** Natural Product Radiance, v.6, no. 5, p. 377–381, 2007.

TAN-NO, K.; OHSHIMA, K.; TAIRA, A.; et al. **Antinociceptive effect produced by intracerebroventricularly administered dynorphin A is potentiated by p-hydroxymercuribenzoate or phosphoramidon in the mouse formalin test**, Brain Res. v.89, p.274–280, 2001.

TJOLSEN, A.; BERGE, O.G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. **The formalin test: an evaluation of the method**. Pain, v.51, p. 5-17, 1992.

TULP, M.; BOHLIN, L. **Unconventional natural sources for future drug discovery**. Drug Discovery Today, v. 9, p. 450–458, 2004.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. **“A better understanding of anti-inflammatory drugs based on isoforms of cyclooxygenase (COX-1 and COX-2),”** Advances in Prostaglandin, Thromboxane, and Leukotriene. Research, v. 23, p. 41–48, 1995.

VERNIN G. A.; PARKANYI, C.; COZZOLINO, F. et al. **GC / MS analysis of volatile constituents of *Corymbia citriodora* Hook on Réunion**. J Essential oil Res, v.16, p. 560-565, 2004.

## LEUCEMIA ASSOCIADA A CANDIDEMIA

### **Cicero Pinheiro Inácio**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Rejane Pereira Neves**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Ciências Farmacêuticas, Recife-  
PE

### **Carolina Maria da Silva**

Faculdade Boa Viagem, Recife-PE

### **Franz de Assis Graciano dos Santos**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Maria Eduarda Ferro de Mello**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Maria da Conceição Alexandre Castro**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Medicina Tropical, Recife-PE

### **Madi Veiga Diniz**

Universidade Federal de Pernambuco, Hospital  
das Clínicas, Recife-PE

### **Oliane Maria Correia Magalhães**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Luiz Nascimento Araújo Neto**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Melyna Chaves Leite de Andrade**

Universidade Federal de Pernambuco,

Departamento de Medicina Tropical, Recife-PE

**RESUMO:** Neoplasias malignas constituem um grave problema de saúde pública responsáveis por mais de sete milhões de óbito no mundo. Dentre estas desordens, leucemia ocorre em células precursoras do sangue, tem relevância de ocorrência e responsável em 2015, no Brasil, por 6.837 óbitos. No curso clínico da leucemia, as condições a que são expostos os portadores como o tratamento invasivo com dispositivos médicos, quimioterapia, uso de antibióticos de amplo espectro e corticosteroides, bem como neutropenia aguda grave, tem propiciado infecções de etiologia fúngica, com destaque as leveduras do gênero *Candida*. As manifestações clínicas da candidemia nesses pacientes são inespecíficas e variáveis, podendo ser leves e oligossintomáticas, sendo a febre o sinal mais comum, podendo evoluir para sepse grave ou choque séptico. Dentre as espécies mais comuns como agentes de candidemia em pacientes com leucemia, estão *C. albicans* e *C. parapsilosis*, mais frequentes no Brasil acometendo indivíduos com transplante de medula, seguidas por *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. famata*. Estas espécies apresentam diversos fatores de virulência associados à patogenicidade e altas taxas de morbimortalidade, como morfogênese,

capacidade de aderência, formação de biofilme e secreção de enzimas. O diagnóstico laboratorial destas infecções permanece um grande desafio, uma vez que a hemocultura, metodologia mais utilizada, tem uma sensibilidade de apenas 50% dos casos. Para o tratamento da candidemia em pacientes com malignidades hematológicas, as equinocandinas devem ser consideradas como primeira escolha para infecções invasivas, sendo ainda a anfotericina B lipossomal, fluconazol e o voriconazol boas alternativas para o tratamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Neutropenia, Neoplasia hematológica, Câncer, *Candida*

## INTRODUÇÃO

O câncer, desordem proliferativa de células clonais, constitui um grave problema de saúde pública. Nessa perspectiva, são estimados mais 7 milhões de óbito no mundo. Particularmente, a leucemia, a qual ocorre em células precursoras do sangue comumente formada na medula óssea, teve em 2012 uma mortalidade mundial atribuível de 265.471 mil casos, correspondendo a uma incidência de 3,8 casos a cada 100.000 pacientes. Em 2015, apenas no Brasil, a ocorrência de óbitos por leucemia foi de 6.837 casos (INCA, 2017; CRISCUOLO et al., 2019).

No curso clínico da leucemia, as condições a que são expostos os portadores como o tratamento invasivo através do uso de dispositivos médicos, quimioterapia, uso de antibióticos de amplo espectro e corticosteroides, bem como neutropenia aguda grave, tem propiciado o surgimento de infecções de etiologia fúngica, destacando-se as leveduras do gênero *Candida* (PAGANO et al., 2017).

As leveduras do gênero *Candida* estão amplamente distribuídas na natureza e nos mais diversos sítios corporais, com potencial de causar infecção grave de ampla distribuição mundial, em especial a candidemia. Essa condição tem geralmente mau prognóstico, sobretudo em pacientes criticamente doentes representando a terceira causa de morte com aproximadamente 1,46% de incidência (CRISCUOLO et al., 2019).

A candidemia, em portadores de leucemia, ocorre principalmente por translocação de leveduras por via endógena e são frequentemente ocasionadas por espécies do gênero *Candida*, condição esta que representa uma importante causa de morte nesse grupo de pacientes. Entretanto, outras espécies como *C. parapsilosis* são diferentemente adquiridas, frequentemente por dispositivos médico-invasivos, bem como pelas mãos colonizadas dos profissionais de saúde (LIMA-NETO et al., 2016; CELKAN et al., 2019; INÁCIO et al., 2019).

A incidência mundial da candidemia associada ao câncer indica que o Brasil tem mais casos quando comparado aos EUA e na Europa, sendo *C. albicans* a espécie mais prevalente, seguida de *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, com menor ocorrência para *C. glabrata* e *C. krusei* (LE et al., 2016; PAGANO et al., 2017).

O diagnóstico laboratorial da candidemia permanece um grande desafio, pois o “padrão ouro” do exame ainda é a hemocultura. A sensibilidade do método é de aproximadamente 50%, conduzindo a uma taxa de mortalidade alta, estimada entre 40% e 60%. Ademais, os pacientes leucêmicos sem profilaxia com antifúngicos, têm uma maior susceptibilidade aos riscos para desenvolverem episódios de candidemia, com desfecho muitas vezes desfavorável (LE et al., 2016; PAGANO et al., 2017).

## MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA CANDIDEMIA EM PACIENTES COM LEUCEMIA

Na candidemia associada a leucemia, as manifestações clínicas são inespecíficas e extremamente variáveis, podendo ser desde assintomáticas a oligossintomáticas, com febre como o sinal mais comum ou evoluir para sepse grave/choque séptico (PAGANO et al., 2017).

A candidemia, por se tratar de uma infecção fúngica invasiva, pode apresentar rápida progressão e atingir diversos órgãos como olhos, rins, coração, cérebro entre outros. Desta forma, a presença de lesão ocular denominada endoftalmite por *Candida*, associada à coriorretinite, tem sido utilizada como marcador importante na avaliação clínica dos pacientes (TISSOT et al., 2017; LIEN et al., 2018)..

A presença de lesões cutâneas e abscessos musculares podem ser indicadores clínicos desta infecção. As lesões cutâneas variam entre aparecimento de pústulas não dolorosas de base eritematosa até lesões que podem evoluir com necrose, em pacientes com clínica sugestiva para candidemia. Nos casos nos quais não houve desenvolvimento de leveduras nas hemoculturas, a biópsia de lesões de pele pode contribuir para o desfecho do diagnóstico microbiológico (TISSOT et al., 2017; LIEN et al., 2018).

Nas condições predisponentes dos pacientes com leucemia, a recuperação e melhora clínica é fortemente dependente da ausência de neutropenia, havendo associação significativa com terapia imunossupressora (incluindo esteroides), com baixas taxas de sobrevivência (ANDES et al., 2012).

## AGENTES ETIOLÓGICOS

A etiologia da candidemia Importantes variações epidemiológicas mundiais têm ocorrido na incidência de infecções fúngicas (NUCCI et al., 2013). Pesquisas tem apontado que as espécies de *Candida* tem emergido como a terceira causa de infecções profundas em indivíduos hospitalizados, com elevadas taxas de incidência (0,25 casos para cada 1000 habitantes) (FAGAN et al., 2013).

A causa de candidemia, embora tenha *C. albicans* como a principal responsável outras espécies de *Candida* podem também estar envolvida, como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, complexo *C. parapsilosis* e *C. krusei* (LIMA-NETO et al., 2016; FORTÚN;

GIOIA, 2017).

No Brasil, espécies de *C. albicans* e *C. parapsilosis* são citadas como as mais frequentes acometendo indivíduos submetidos a transplante de medula, seguidas por *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. famata*. Particularmente, as crianças portadoras de desordens hematológicas, sobretudo leucemia, são frequentemente acometidas por leveduras, sendo *C. parapsilosis* a espécie mais prevalente (33.3%) (NUCCI et al., 2013; BARTLLET et al., 2018).

## FATORES DE VIRULÊNCIA DO PARASITA

As espécies de *Candida* apresentam fatores de virulência diferenciados, sendo associadas aos vários tipos de patogenicidade e altas taxas de morbimortalidade. Os fatores de virulência são determinados geneticamente e inclui a capacidade de aderência, formação de biofilme, secreção de enzimas, morfogênese entre outros. Em se tratando de aderência, a capacidade da levedura em se aderir a célula do hospedeiro está relacionada a várias condições, com destaque para as adesinas de *Candida* (SRIVASTAVA; SINGLA; DUBEY, 2018).

A presença da família gênica *ALS* (Agglutinin-Like Sequence) está relacionada com uma das principais adesinas de *Candida*, sobretudo em *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* e *C. guilliermondii*. Ademais, outras famílias gênicas tem merecido atenção, a exemplo das adesinas *EPA* e *PWP* presentes em *C. glabrata*, as quais desempenham papel como mediadoras da aderência nas células epiteliais e endoteliais do hospedeiro humano e formação de biofilme (GROOT et al., 2013).

A formação de biofilme, também é um fator de virulência importante para o estabelecimento e manutenção de infecções fúngicas, conferindo resistência significativa à terapia antifúngica, controlando a penetração das substâncias das células de defesa do hospedeiro através da matriz, permitindo adesão aos dispositivos no paciente. O biofilme se desenvolve dependendo do tipo e do número de células que aderem ao dispositivo e do tipo de superfície. Esta formação inicia-se com a adesão microbiana seguida da fase de maturação (LEITE-ANDRADE et al., 2017).

Ademais, essa patogenicidade também está relacionada a secreção de enzimas, as quais hidrolisam as proteínas do hospedeiro contribuindo para o rompimento dos tecidos conjuntivos e invasão tecidual. Ainda, a transformação do morfotipo de *Candida*, permite uma rápida adaptação a alterações em seu microambiente facilitando a sobrevivência, a invasão de tecidos e o escape do sistema imunológico (FORNARI et al., 2013).

## MEDIDAS PREVENTIVAS

Na candidemia, enquanto doença oportunista, as medidas preventivas visam controlar a doença de base, mais ainda restringir à exposição do paciente as condições de risco. Dessa forma, constituem como principais medidas preventivas para o controle de infecções práticas de limpeza e desinfecção, em especial a lavagem das mãos, controle de culturas, criação de barreiras de proteção e tratamento profilático. Ademais, a profilaxia antimicrobiana tem sido empregada amplamente nestes pacientes a fim de minimizar índices de infecção em pacientes neutropênicos, convergindo significativamente com a redução das taxas de septicemia (YAPAR, 2014).

Em infecções relacionadas ao uso de cateter é recomendado a retirada do dispositivo médico. Infecções dessa natureza podem ser devido à duração do cateterismo, ao local de inserção e à repetição do cateterismo vinculado com a manipulação frequente do dispositivo (INÁCIO et al., 2019). Além disso, reduzir o uso concomitante e prolongado de múltiplos antibióticos é uma situação preferível, a fim de evitar o aumento da colonização intestinal por *Candida*, caracterizada por translocação da levedura até os capilares mesentéricos, ocasionando desequilíbrio na microbiota e/ou oclusão intestinal (BADIEE; HASHEMIZADEH, 2014).

A profilaxia e terapia empírica antifúngica é controversa. Em algumas situações constitui um recurso benéfico na prevenção de candidemia, principalmente em pacientes leucêmicos com neutropenia e transplantados (CORNELLY et al., 2012). No entanto, a depender de cada caso, a candidemia pode surgir pelo uso profilático de fluconazol, sobretudo quando associado à resistência de cepas aos azóis (TALARMIN, 2009). Por conseguinte, segundo a *Infectious Diseases Society of America (IDSA)* e *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)*, as equinocandinas são preferíveis em situações de resistência ao fluconazol (PAPPAS et al., 2015).

## DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL DAS CANDIDEMIAS NAS LEUCEMIAS

O diagnóstico clínico das candidemias é inespecífico, contudo na maioria das vezes, está associado a um quadro febril com temperatura de 39-40°C e acompanhado de calafrios, mialgia, taquicardia entre outras condições (ANTINORI et al., 2016). Ademais, lesões cutâneas podem marcar o início da manifestação da doença invasiva e o agravamento pode levar à disseminação da infecção a múltiplos órgãos com evolução para o óbito. Apesar disso, não há dados clínicos completamente seguros que confirmem o início da candidemia, tornando importante o diagnóstico laboratorial micológico (EGGIMANN et al, 2011).

No diagnóstico laboratorial, o cultivo da amostra sanguínea, a hemocultura, é mais indicada por ser o padrão-ouro, embora possua baixa sensibilidade (EGGIMANN et al., 2011). Inicialmente, o sangue é dispensado em frascos contendo meio *Brain*

*Heart Infusion-BHI* nos quais permanecem por um período de sete dias a 25°C para diagnóstico micológico. Os isolados obtidos após este período, são cultivados em placas com Sabouraud Dextrose Ágar- SDA (LIU et al., 2017). As colônias crescidas neste meio são retiradas para realização de identificação pelo CHROMagar *Candida* cujo princípio é conferido a produção de cor nas colônias, por reações enzimáticas específicas, com um substrato cromogênico do meio. Ainda, a identificação é realizada através dos aspectos morfofisiológicos, sendo analisados cor e textura das colônias de leveduras, assim como propriedades fisiológicas por assimilação de fontes de carbono e nitrogênio e fermentação de fontes de carbono, além de hidrólise da uréia (Figura 1). (DEWAN et al., 2015; HESSTVEDT et al., 2015).

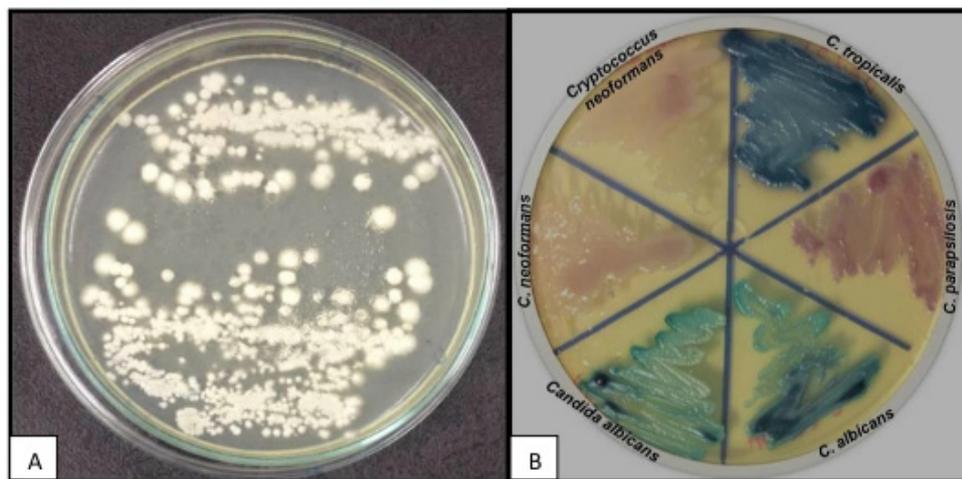


Figura 1: Colônias de *Candida albicans* em placa de Sabouraud Dextrose Agar ao isolamento primário (A) e identificação presuntiva de isolados de *Candida* no meio cromogênico CROMOAgar *Candida* (B).

Os métodos automatizados são ferramentas valiosas na rotina do laboratório. O princípio de fundamento é baseado na sensibilização de sensores capazes de detectar a fluorescência nas amostras acelerando o tempo de detecção e fornecendo alarmes visuais e sonoros, em caso de amostras positivas (DEWAN et al., 2015; LIU et al., 2017). A taxonomia molecular é tido como o “padrão ouro” na identificação de leveduras. Ainda, o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular tem demonstrado sensibilidade e especificidade elevadas, sendo a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizada, também, no diagnóstico precoce de candidemias (HESSTVEDT et al., 2015; ANTINORI et al., 2016). Recentemente, ferramentas proteômica, como o MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight), tem também sido empregadas na identificação de microrganismos (HESSTVEDT et al., 2015; LIN et al., 2017).

## TRATAMENTO DE CANDIDEMIA

O tratamento de candidemia em pacientes com malignidades hematológicas foi preconizado durante a *European Conference on Infections in Leukemia* (ECIL) ocorrida em setembro de 2015, sendo as diretrizes para o tratamento de candidemia atualizadas no documento ECIL-6.

As equinocandinas, as quais são classificadas como anidulafungina, caspofungina e micafungida, devem ser consideradas como primeira escolha (ANDES et al., 2012; TISSOT et al., 2016). Também, a anfotericina B lipossomal é recomendada devido a sua eficácia. No entanto, a toxicidade relacionada a anfotericina B limita o uso como fármaco de primeira escolha (CORNELLY et al., 2011). Os azóis, fluconazol e o voriconazol, são alternativas potenciais para o tratamento, desde que não exista exposição prévia e a infecção não seja grave. Em geral, as equinocandinas continuam sendo a droga de escolha, exceto para *C. parapsilosis* onde o fluconazol é mais adequado (TISSOT et al., 2016).

Após a identificação das espécies, o teste de sensibilidade a antifúngicos direciona o clínico ao tratamento ideal. No entanto, resultados na literatura não apontam nenhuma diferença na mortalidade em candidemia persistente em 72 horas de um esquema baseado em equinocandina comparado a uma terapia baseada em azol para pacientes com candidemia por *C. parapsilosis*. Por isso, o uso contínuo de equinocandinas deve ser considerado em pacientes com resposta clínica e microbiológica positiva. Quando a espécie de *Candida* é suscetível ao azol, o fluconazol pode ser considerado em pacientes estáveis após cinco dias de terapia intravenosa. Em doentes com infecção por *C. krusei*, a mudança para voriconazol oral é uma opção (VAZQUEZ et al., 2014; TISSOT et al., 2016).

Em situações na qual o cateter não é removido, o tratamento deve incluir uma equinocandina ou uma formulação lipídica de anfotericina B, devido à sua melhor atividade nos biofilmes de *Candida* (KUCHARIKOVA et al., 2013).

## REFERÊNCIAS

ALTHAUS, V. A., REGGINATO, A., BOSSETTI, V., SCHMIDT, J. C. Espécies de *Candida* spp. em isolados clínicos e suscetibilidade a antifúngicos de uso hospitalar. **Revista Saúde e Pesquisa**. v. 8, n. 1, p. 7-17, 2015.

ANDES, D. R., SAFDAR, N., BADDLEY, J. W., PLAYFORD, G., REBOLI, A. C., REX, J. H., et al. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. **Clinical Infectious Diseases**. v. 54, n. 8, p. 1110-1122, 2012.

ANTINORI, S., MILAZZO, L., SOLLIMA, S., GALLI, M. E., CORBELLINO, M. Candidemia e candidíase invasiva em adultos: uma revisão narrativa. **Revista Européia de Medicina Interna**. v. 34, p. 21-28, 2016.

BADIEE, P., HASHEMIZADEH, Z. Opportunistic invasive fungal infections: diagnosis & clinical management. **Indian Journal Medical Research**. v. 139, n. 2, p. 195-204, 2014.

- CELKAN, T., KIZILOCAK, H., EVIM, M., GÜNEŞ, A. M., ÖZBEK, N. Y., YARALI, N., et al. Hepatosplenic Fungal Infections in Children With Leukemia - Risk Factors and Outcome: A Multicentric Study. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**. v.0, n. 0, p. 1-5, 2019.
- CORNELY, O. A., BASSETTI, M., CALANDRA, T., GARBINO, J., KULLBERG, B. J., LORTHOLARY, O., et al. ESCMID\* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 18, n. 7, p. 19-37, 2012.
- CORNELY, O. A., MARTY, F. M., STUCKER, F., PAPPAS, P. G., ULLMANN, A. J. Efficacy and safety of micafungin for treatment of serious *Candida* infections in patients with or without malignant disease. **Mycoses**. v. 54, n. 6, p. 838–847, 2011.
- CRISCUOLO, M. et al. Fungemia in hematological malignancies: SEIFEM-2015 survey. **European Journal of Clinical Investigation**. 2019. doi: 10.1111/eci.13083.
- DEWAN, E., BISWAS, D., KAKATI, B., VERMA, S. K., KOTWAL, A., OBEROI, A. Epidemiological and mycological characteristics of candidemia in patients with hematological malignancies attending a tertiary-care center in India. **Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy**. v. 8, n. 3, p. 99–105, 2015.
- EGGIMANN, P., BARBERINI, L., CALANDRA, T., MARCHETTI, O. Invasive *Candida* infections in the ICU. **Mycoses**. v. 55, n.1, p. 65–72, 2011.
- FORNARI, G., HERKET, P. F., REDIVO, D. D. B., BENEDETTI, V. P., GLIENKE, C. Epidemiologia da colonização de leveduras *Candida* da cavidade bucal em pacientes diabéticos. **Saúde e Biologia**. v. 8, n. 2, p. 1-6, 2013.
- FORTÚN J, GIOIA F. Invasive candidiasis in the neutropenic patient. *Rev Esp Quimioter*. 2017; 30 Suppl 1:22-25.
- GROOT, P. W. J., BADER, O., BOER, A. D., WEIG, M., CHAUHANC, N. Adhesins in human fungal pathogens: Glue with plenty of stick. **Eukaryotic Cell**. v. 12, n. 4, p. 470-478, 2013.
- HESSTVEDT, L., GAUSTAD, P., ANDERSEN, C. T., HAARR, E., HANNULA, R., HAUKLAND, H. H., et al. Twenty-two years of candidaemia surveillance: results from a Norwegian national study. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. v. 21, n. 10, p. 938–945, 2015.
- INÁCIO, C.P. et al. Invasive *Candida tropicalis* infection caused by catheter biofilm in a patient with tongue cancer. **Mycopathologia**. 2019. doi: 10.1007/s11046-018-0316-z.
- Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: p. 128. INCA, 2017.
- KUCHARIKOVA, S., SHARMA, N., SPRIET, I., MAERTENS, J., VAN DIJCK, P., LAGROU, K. Activities of systemically administered echinocandins against in vivo mature *Candida albicans* biofilms developed in a rat subcutaneous model. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 57, n. 5, p. 2365–2368, 2013.
- LE, A., KUBIAK, D., KOO, S., FARMAKIOTIS, D. Epidemiology of candidemia in hospitalized patients with acute leukemia in the absence of routine antifungal prophylaxis. **Open Forum Infectious Diseases**. v. 3, n. 1, p. 1597, 2016.
- LEITE DE ANDRADE, M.C. et al. A new approach by optical coherence tomography for elucidating biofilm formation by emergent *Candida* species. **PLoS One**. v. 12, n. 11, 2017.
- LIEN, M. Y., CHOU, C. H., LIN, C. C., BAI, L. Y., CHIU, C. F., YEH, S. P., et al. Epidemiology and risk

factors for invasive fungal infections during induction chemotherapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study. **PLoS ONE**. v. 13, n. 6, p. 0197851, 2018.

LIMA-NETO, R. G. et al. *Candidiasis*. 01. ed. Berlim: Avid Science, 2016. v. 01, p. 29.

LIN, J. F., GE, M. C., LIU, T. P., CHANG, S. C., LU, J. J. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v. 51, p. 659-665, 2017.

LIU, W. L., LAI, C. C., LI, M. C., WU, C. J., KO, W. C., HUNG, Y. L., et al. Clinical manifestations of candidemia caused by uncommon *Candida* species and antifungal susceptibility of the isolates in a regional hospital in Taiwan, 2007–2014. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v. 17, p. 1684-1182, 2017.

NUCCI, M., GARNICA, M., GLORIA, A. B., LEHUGEUR, D. S., DIAS, V. C. H., PALMA, L. C., et al. Invasive fungal diseases in haematopoietic cell transplant recipients and in patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplasia in Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 19, n. 8, p. 745-751, 2013.

PAGANO, L., DRAGONETTI, G., CATTANEO, C., MARCHESI, F., VEGGIA, B., BUSCA, A., et al. Changes in the incidence of candidemia and related mortality in patients with hematologic malignancies in the last ten years. A SEIFEM 2015-B Report. **Haematologica**. v. 102, p. 407-410, 2017.

PAPPAS, P. G., KAUFFMAN, C. A., ANDES, D. R., CLANCY, C. J., MARR, K. A., OSTROSKY-ZEICHNER, L., et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**. v. 62, n. 4, p. 1-50, 2015.

SRIVASTAVA, V., SINGLA, R. K., DUBEY, A. K. Emerging Virulence, Drug Resistance and Future Anti-Fungal Drugs for *Candida* Pathogens. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v. 18, n. 9, p. 1-20, 2018.

TALARMIN, J. P., BOUTOILLE, D., TATTEVIN, P., DARGÈRE, S., WEINBRECK, P., ANSART, S., et al. Epidemiology of candidemia: a one-year prospective observational study in the west of France. **Médecine et Maladies Infectieuses**. v. 39, n. 12, p. 877-85, 2009.

TISSOT, F., AGRAWAL, S., PAGANO, L., PETRIKKOS, G., GROLL, A. H., SKIADA, A., et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. **Haematologica**. v. 102, n. 3, p. 433-444, 2017.

VAZQUEZ, J., REBOLI, A. C., PAPPAS, P. G., PATTERSON, T. F., REINHARDT, J., CHIN-HONG, P., et al. Evaluation of an early step-down strategy from intravenous anidulafungin to oral azole therapy for the treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis: results from an open-label trial. **BMC Infectious Diseases**. 2014, 14: 97.

YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**. v. 10, p. 95-105, 2014.

## LEVEDUROSES: FRONTEIRAS ENTRE A COLONIZAÇÃO E A DOENÇA PARA O DESAFIO DIAGNÓSTICO

### **Rejane Pereira Neves**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Melyna Chaves Leite de Andrade**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Medicina Tropical, Recife-PE

### **Oliane Maria Correia Magalhães**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Armando Marsden Lacerda Filho**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Reginaldo Gonçalves de Lima Neto**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Medicina Tropical, Recife-PE

### **Franz de Assis Graciano dos Santos**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Carolina Maria da Silva**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

### **Cícero Pinheiro Inácio**

Universidade Federal de Pernambuco,  
Departamento de Micologia, Recife-PE

**RESUMO:** Na descoberta das leveduras, estudos notáveis marcaram a evidencia desse grupo de fungos, como a descrição da estomatite por Hipócrates no século V a.c., bem como as observações microscópicas de Antony van Leeuwenhoek, em 1680, e

a de Eichstedt, em 1846. Desde então, as leveduras tiveram maior notoriedade, com importante constatação de Gordon em 1951 em pele saudável e com lesão. Assim, algumas leveduras são consideradas como integrante da microbiota autóctone, neste caso um comensal que coloniza o extrato córneo e algumas ainda colonizam mucosa e trato gastrintestinal. Ainda, as leveduras são reconhecidas com potencial de causar variadas condições clínicas, podendo ser de origem endógena ou exógena. Em condições especiais, pode haver uma ruptura do binômio parasita-hospedeiro em que a levedura passa do estado de colonização/comensal a parasítica/patogênica, sobretudo em pacientes críticos com condições clínicas importantes. As leveduroses, comumente ocorrem por espécies de *Candida*, destacando-se *C. albicans*, mas outras como *Malassezia* em condições superficiais e espécies de *Trichosporon*, *Cryptococcus* e *Rhodotorula* podem, ainda, causar leveduroses oportunistas. O diagnóstico deve ser clínico e laboratorial para diferenciação entre colonização e doença, bem como no direcionamento da necessidade do tratamento. Por conseguinte, deve ser tratada a levedurose e não a colonização por levedura. A conduta baseada em uma análise criteriosa permite o diagnóstico de excelência necessárias para o melhor tratamento e redução da resistência terapêutica e o alto perfil

de morbimortalidade ocasionado por leveduroses graves, principalmente as causadas por leveduras com alta expressão de patogenicidade componentes da microbiota, assim como as emergentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leveduras, microbiota autóctone, relação parasito-hospedeiro, patogenicidade, controle de cura

## INTRODUÇÃO

A microbiota humana é constituída por uma grande variedade de microrganismos, desde bactérias e vírus até protozoários e fungos. Anteriormente, os fungos eram considerados como comensais e seu papel patogênico era negligenciada. O avanço de condições que propiciaram maior evidência nos casos das leveduroses sistêmicas, sobretudo as fatais contribuiu para o despertar diferenciado dessas micoses como importante problema de saúde pública (IANIRO et al., 2014).

As leveduras que estão presentes na microbiota autóctone de indivíduos saudáveis, é inquestionável que incluem *Candida albicans* e espécies de *Malassezia*. Na colonização da pele (corpo e couro cabeludo) estão presentes estas leveduras, e mucosa do trato genito-urinário e gastrointestinal, ocorre *C. albicans*. No entanto, alguns indivíduos podem possuir mais de um isolado geneticamente diferente ou espécies ao mesmo tempo, sendo este cenário mais observado durante prolongado período de hospitalização (JUNQUEIRA et al., 2012; Lourenço et al., 2019). Ainda, ocasionalmente leveduras como espécies de *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, entre outras, podem ser encontradas na microbiota transitória de humanos no trato respiratório (TGR) e gastrointestinal (TGI), pele e vagina (NUNES et al., 2013; CASTANO; NEJAT et al., 2018; MADA, 2019). É importante destacar que espécies de leveduras também podem fazer parte da microbiota transitória das mãos, sobretudo de profissionais de saúde.

Os organismos da microbiota autóctone se encontram nas camadas mais profundas da pele, enquanto os da transitória colonizam a camada mais superior da pele sendo de fácil remoção pela lavagem das mãos. As leveduras costumam ser adquiridas pelo contato com pacientes ou com a aquisição dos ambientes. Geralmente, a colonização das mãos durante as mais variadas atividades clínicas é tão grande que a higienização natural não é capaz de eliminar todos os microrganismos adquiridos, e, assim, nos profissionais da saúde podem se tornar permanentemente colonizadas com uma microbiota patogênica adquirida no ambiente de trabalho, se tornando uma importante via de transmissão de infecções aos hospitalizados (GAUER & SILVA, 2017).

No gênero *Candida*, entre as espécies, *C. albicans* é a mais frequentemente associada à colonização em seres humanos. Os estudos mostram que aproximadamente 80% dos indivíduos são colonizados por esta espécie. Então, acredita-se que o homem é o principal reservatório desta espécie de levedura e que a mesma evoluiu com seu

hospedeiro (ANGEBAL, 2013).

Na microbiota normal, apesar de *Candida* ser comensal, em determinadas condições esta possui o potencial de se tornarem patógenas, podendo ocasionar desde lesões mucosas (candidíase oral e vaginite) a infecções sistêmicas com risco de morte em imunocomprometidos (CHILDERS, et al., 2016). Assim, portadores da Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA), com neoplasias malignas, doença pulmonar obstrutiva crônica, desordens metabólicas, pacientes hospitalizados por um longo período de tempo e uso de ventilação mecânica, entre outras condições, é comum se observar a colonização tanto por *C. albicans* quanto por espécies de *Candida* não-*C. albicans*, sendo estes casos muitas vezes associados ao desenvolvimento de candidíases de mau prognóstico (RICARD & ROUX, 2012; LI, et al., 2013).

## CONSEQUÊNCIAS DA PERSISTÊNCIA DA COLONIZAÇÃO

A colonização do organismo humano sadio por determinada espécie de *Candida* é entendida como a presença de uma ou mais espécie sem ocasionar danos no sítio anatômico, com exceção de sítios estéreis como a corrente sanguínea, sistema nervoso central e outros (Pittet et al., 1994; Eggimann; Pittet, 2014). A magnitude da colonização do organismo por leveduras constitui um importante fator associado ao prognóstico de infecções (Pitarch 2018). Assim, para que ocorra o processo de colonização é intrinsecamente necessário a capacidade da levedura de se aderir as células do hospedeiro (King et al., 1980) Para a colonização, sabe-se que uma das razões para a sua manutenção e prevalência está relacionada com a maior disponibilidade de carboidratos (Childers et al., 2016).

As leveduras tem desenvolvido respostas moleculares moduladas por meio do sistema *quorum sensing* para promover o crescimento fúngico. No entanto, precisar a extensão do crescimento do fungo na microbiota considerado normal no hospedeiro é complexo. Assim, na ampla maioria dos casos, a colonização prévia do organismo tem precedido a infecção fúngica. Contudo, para que a levedura seja capaz de tornar-se patogênica é necessário a quebra da relação harmônica parasita-hospedeiro (Gow et al., 2013; Mishra; Koh, 2018).

Em se tratando de *C. albicans*, é possível que a transição da levedura para a fase filamentosa contribui para o reconhecimento da condição patogênica e, assim, diferenciação do episódio de colonização-infecção. Além de *C. albicans*, espécies como *C. tropicalis* e o Complexo *C. parapsilosis* entre outras, que apresentam sistema *quorum sensing* mais desenvolvido e exibem dimorfismo invertido são frequentemente observadas a transição de colonização-doença (Forche et al., 2003; Gow et al., 2013; Mishra; Koh, 2018). Dessa forma, o achado de estruturas filamentosas e numerosas células de levedura em amostras clínicas deve ser entendido como um forte indicador de infecção, uma vez que há um predomínio dessas estruturas durante o estágio de

doença (Gow et al., 2013).

A transição saúde-doença é dependente de fatores predisponentes ao hospedeiro e da levedura. Em determinadas situações de estresse, como condições adversas locais e a resposta imunitária do hospedeiro, a levedura é forçada a desenvolver mecanismos adaptativos de sobrevivência, como resistência a acidez da pele e mucosas, capacidade de alternância da fase de levedura para a filamentosa (Forche et al., 2003), produção de toxinas como a candidalísina, predisposição por sítios corpóreos aniônicos (Horisberger; Clerc, 1988) e evasão da resposta imune (Romani, 2004; Gow et al., 2013; Mishra; Koh, 2018).

A colonização é uma etapa anterior a candidíase sistêmica, sendo que a gravidade da colonização constitui um forte fator de risco ao surgimento da candidemia. Dessa forma, constitui um importante achado da candidíase invasiva a relação existente entre a persistência da colonização e a quantidade e tipos de sítios corpóreos afetados (Magill et al., 2006). Uma das limitações ao tratamento dos pacientes também está relacionada com a dificuldade de distinção entre colonização e doença. Isso se deve, sobretudo, porque os mecanismos fisiopatológicos na transição do estágio de colonização para infecção e descrição do Índice de Colonização (IC) foram determinados apenas para pacientes críticos submetidos a procedimentos cirúrgicos. Isso tem repercutido na ausência de *guidelines* úteis para a utilização de terapia antifúngica baseadas na extensão da colonização em outros grupos de pacientes (PITTET ET AL., 1994; LEÓN ET AL., 2009; EGGIMANN; PITTET, 2014).

Os indivíduos podem apresentar IC baixos ou suficiente para não permitir a observação de estruturas de leveduras em sítios corpóreos frequentemente colonizados, e vir a experimentar essa condição em um ou mais momentos da vida. O IC é relativamente superior (3,4 vezes) em pacientes hospitalizados, sobremaneira após a segunda semana de internação hospitalar (León et al., 2009). Ainda, a utilização de dispositivos médicos de suporte à vida, antibióticos de amplo espectro e esteróides intravenosos constituem forte fator predisponente à colonização fúngica do TGI e TGR. Além disso, condições debilitante do hospedeiro como diabetes e presença de doença fibrocavitária podem aumentar de maneira substancial na extensão e natureza da colonização fúngica (Chakraborti et al., 2018). Ainda, é possível estabelecer uma relação intrínseca entre a colonização prematura por espécies de *Candida* durante o nascimento e ocorrência de sepse fúngica, sobretudo na presença de condições predisponentes no infante (Gondim et al., 2009). Ademais, tem sido observado que a colonização de múltiplos locais do organismo por *Candida* é um agravante substancial para falhas na terapia de manutenção com fluconazol (DONDERS et al., 2018).

## RELAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO

A expressão da relação parasita/hospedeiro depende do equilíbrio entre a

virulência do microrganismo e as defesas/condições imunológicas do indivíduo. Assim, a invasão tecidual por leveduras e a intensa multiplicação no organismo do hospedeiro, depende de uma série de condições predisponentes (HALL; NOVERR, 2017).

As leveduras, a exemplo da *C. albicans* e *Malassezia*, estão muito bem adaptadas ao corpo humano e podem colonizá-lo sem ocasionar sinais de doença. A manutenção da integridade das barreiras teciduais da mucosa, a relação harmônica da microbiota autóctone e o funcionamento adequado do sistema imunológico, entre outras condições, preservam o organismo, evitando que o fungo que coloniza o ambiente desencadeie um processo infeccioso. Em contrapartida, o fungo, particularmente, expressa de forma equilibrada uma série de estratégias específicas para se estabelecer, colonizar, causar doença e superar as defesas de hospedeiros susceptíveis (SANTANA et al., 2013).

Em situações clínicas, caracterizadas por diminuição da resistência do hospedeiro, as leveduras podem tornar-se patogênicas. Deste modo, o aspecto do agravo é amplo, podendo acometer exclusivamente a pele e mucosas, mas também atingir os órgãos internos, causando lesões superficiais ou profundas, agudas ou crônicas. Nos casos de leveduroses sistêmicas, estas são potencialmente letais, principalmente em indivíduos debilitados, podendo levar a casos de endocardite, pielonefrite e até mesmo comprometimento do sistema nervoso, como consequência da disseminação hematogênica do fungo, a exemplo da candidemia (SIQUEIRA et al., 2014). Por conseguinte, a infecção surge como consequência de uma alteração na relação de comensalismo e colonização estabelecida entre o fungo e o hospedeiro, além de fatores de virulência intrínsecos a célula fúngica (ILIEV, LEONARDI, 2017).

## FATORES DE VIRULÊNCIAS

A patogênese das leveduras é facilitada por um número expressivo de fatores de virulência como crescimento a 37°C, capacidade de aderência às células epiteliais, por meio da interação entre mananoproteínas da parede celular e receptores específicos no hospedeiro, produção de tubo germinativo, dimorfismo invertido, variação fenotípica e genotípica, formação de biofilme, produção de toxinas, exoenzimas (proteínase e fosfolipase) e cápsula mucopolissacarídica, rugosidade celular, potencial-zeta e outros. Assim, a caracterização da levedura quanto a esses fatores contribui de maneira significativa para a prevenção, diagnóstico e tratamento (VIEIRA; CARMONA-RIBEIRO, 2008; RODRIGUES et al., 2014; BENNETT et al., 2017; DORIA et al 2016; NETT, 2016 BENNETT, et al. 2018). Dentre os fatores de virulência, podemos destacar a capacidade de aderência e formação de biofilme, como os fatores que estão mais associados aos casos de morbimortalidade em pacientes críticos.

A capacidade de aderir firmemente em diferentes superfícies, incluindo células, matriz extracelular do hospedeiro e superfícies abióticas (cateteres intravascular e

vesical, válvulas cardíacas e próteses dentárias) é uma importante característica detectada em algumas espécies de leveduras (VIEIRA, 2017). Então, o mecanismo de adesão durante o processo de infecção desencadeia uma endocitose e penetração ativa das leveduras nas células do hospedeiro, ocorrendo uma agressão tecidual e maior capacidade de disseminação (GAMALETSSOU, 2018).

Os biofilmes microbianos são definidos como comunidades de microrganismos irreversivelmente aderidos a uma superfície, produzindo uma matriz polimérica extracelular, que exhibe um estado metabólico distinto ao do crescimento planctônico correspondente, especialmente com respeito à transcrição e interações entre as células (CAUCHIE et al., 2017; CAVALHEIRO e TEIXEIRA, 2018).

A formação de biofilme microbianos é um importante fator de proteção para seu desenvolvimento, onde se observa relações simbióticas e uma maior capacidade de viabilidade em ambientes hostis. A associação de células de leveduras formando biofilme é uma das principais contribuições para a virulência, pelo fato de apresentar maior resistência ao tratamento antifúngico, favorecer uma evasão dos mecanismos de defesa do hospedeiro, além da competitividade com outros agentes infecciosos. A importância destas características reflete em um aumento da taxa de morbidade e mortalidade, quando o processo doença está relacionado com a produção de biofilme pelo fungo (PIERCE, et al. 2015; CAVALHEIRO et al, 2016; VIVEK, et al.2015; DORIA et al., 2016; TURAN et al. 2018).

## **ESTRATÉGIAS DE CONTROLE**

O monitoramento da colonização por *Candida* em pacientes hospitalizados, sobretudo em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs), é relevante visto que a colonização é um marcador confiável de uma possível infecção invasiva. Desta forma, a detecção precoce do IC através de culturas de vigilância é de extrema importância para pacientes colonizados não evoluírem para uma infecção (MANZONI, et al., 2012).

Dentro deste contexto, agentes antifúngicos profiláticos têm sido utilizados para prevenir a colonização fúngica e infecções sistêmicas. Estudos tem demonstrado que a profilaxia antifúngica com fluconazol mostra-se eficaz na prevenção da colonização, apesar de apresentar um efeito incerto sobre as taxas de progressão para invasão fúngica (MANZONI, et al., 2012; HADDADI, et al., 2014).

É recomendado que a administração profilática de antifúngicos deva ser utilizada com cautela, tendo em vista que seu uso indiscriminado pode resultar em uso excessivo de agentes antifúngicos e aumento dos custos hospitalares para os pacientes colonizados por leveduras. É notório que o uso extensivo desses antimicrobianos tem promovido uma mudança no perfil de sensibilidade das leveduras. Diretrizes recentes resultantes do consenso de especialistas não forneceram recomendações de alto nível de confiança sobre profilaxia antifúngica (EGGIMAN, et al., 2015).

## FATORES PREDISPOANTES

A severidade da doença de base que comumente acomete os pacientes críticos, os tornam altamente susceptíveis as infecções de etiologia fúngica sobretudo às leveduras, como consequência da diminuição na imunidade humoral e celular, e pela exposição a outras condições predisponentes como idade, gravidez, diabetes mellitus não controlada, internação prolongada, realização de ventilação mecânica, utilização de cateteres de nutrição parenteral, administração de antibióticos de amplo espectro, sobretudo quando aplicada empiricamente; uso de contraceptivos orais, corticoides, tempo prolongado de permanência hospitalar; e imunossupressão (CORDEIRO et al., 2015; GODHA. 2017; CAUCHIE et al 2017; BASSETTI et al., 2017; VIEIRA E NASCIMENTO, 2017; GAMALETSON et al., 2018).

## DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL

O diagnóstico da leveduras é fundamental, sendo a amostra coletada importante na representatividade da lesão e doença fúngica. A localização e aparência das lesões, comumente quando superficiais, é um importante direcionamento clínico (Figura 1). Então, auxilia na clínica, a presença de um ou mais sinal clínico como dor, ardor, rubor, prurido e mudança de aparência nos locais acometidos. As leveduras, portanto, podem ocasionar desde alterações clínicas mais brandas, como nos casos de pitiríase versicolor e piedra, até situações que, embora também superficiais, são bastante incômodas como nos casos de balanopostite e vulvovaginites. Entretanto, nas condições sistêmicas há uma inespecificidade à doença fúngica que dificulta o diagnóstico clínico. Nesses casos, o diagnóstico deve levar em consideração a interpretação dos dados relacionados as condições do paciente e aquelas ao que estão expostos. Certamente, nos casos de leveduras superficiais e sistêmicas, é indispensável o diagnóstico laboratorial micológico, incluindo o controle de “cura”, fortalecendo o diagnóstico clínico e a instituição do tratamento.

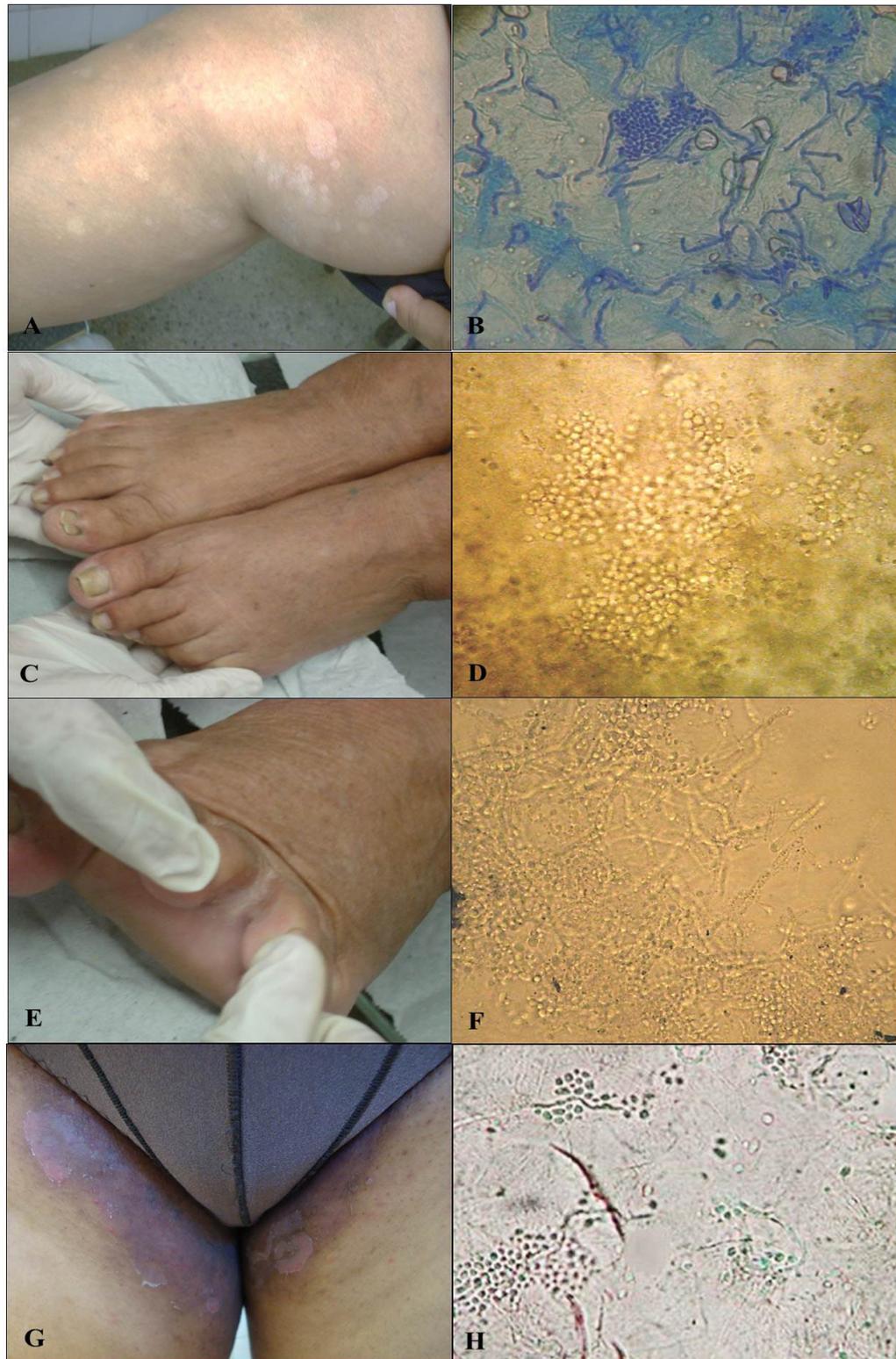


Figura 1: Manifestações clínicas da Pitíriase versicolor (A) apresentando células de leveduras agrupadas em cachos e filamentos micelianos curtos e tortuosos em parasitismo (B), levedurose ungueal (C) e células de leveduras hialinas (D), levedurosas interdigital (E) e células de leveduras e filamentos micelianos hialinos e septados (F), levedurose inguinal (G) e células de leveduras e filamentos micelianos hialinos e septados (H).

O diagnóstico laboratorial requer amostras ideais, isto é de acordo com as manifestações clínicas aparentes e achados por imagem, devendo ser consideradas as condições clínicas. Adicionalmente, tais condições sinalizam o “padrão ouro” do diagnóstico, se será através do exame microscópico direto e/ou cultura. Assim, em

geral é procedido a preparação de lâminas a fresco, a depender da amostra clínica como secreção de mucosa ou de ferida, e/ou utilizados substâncias contrastantes, como hidróxido de potássio-KOH, de 10 a 40% como fragmentos de tecidos obtidos por biópsia e em lesões epidérmicas de dobras (e.g. escamas epidérmicas de interdígitos, axila, inguinal, infra-mamária), lâminas coradas com Giemsa (e.g. sangue, medula óssea vermelha) e contrastadas com tinta Nankin (e.g. Líquido cefalorraquidiano-LCR). Na cultura, as amostras devem ser semeadas, como os fluidos biológicos, e/ou inoculadas, como fragmentos de tecido, em meios de culturas específicos para fungo. No isolamento primário deve ser utilizado o Sabouraud Dextrose Agar e para a identificação os meios requeridos a depender da espécie de levedura (Figura 2).

O valor diagnóstico é dependente dos achados à microscopia direta e amostra clínica analisada. A análise de materiais biológicos de amostras superficiais deve ser cuidadosamente avaliado o quantitativo e tipo de estruturas de leveduras observadas. Por outro lado, espécimes clínicos como sangue e LCR a observação de estruturas de leveduras, independente do quantitativo e tipo, sempre caracterizam doença. Assim, nem sempre a presença de leveduras em amostras clínicas significa doença, podendo ser colonização. Particularmente, no diagnóstico clínico e laboratorial na candidíase. Em casos de candidíase, é indispensável o diagnóstico diferencial a exemplo da candidíase mucocutânea crônica, forma superficial rara de candidíase, caracterizada por manifestações clínicas cutâneas generalizadas em que ocorre simultaneamente lesões epidérmicas, ungueais e em mucosas. A aparência distinta desta candidíase às formas superficiais pode ser explicada pelas condições predisponentes, como disgenesia tímica, agamaglobulinemia e outras.

Na conclusão diagnóstica, a diferença entre colonização e doença é refletido através do parasitismo observado à microscopia direta e o isolamento do agente etiológico/levedura em cultura. A decisão terapêutica depende do diagnóstico clínico e/ou laboratorial, sendo o tratamento instituído apenas nos casos de leveduroses.

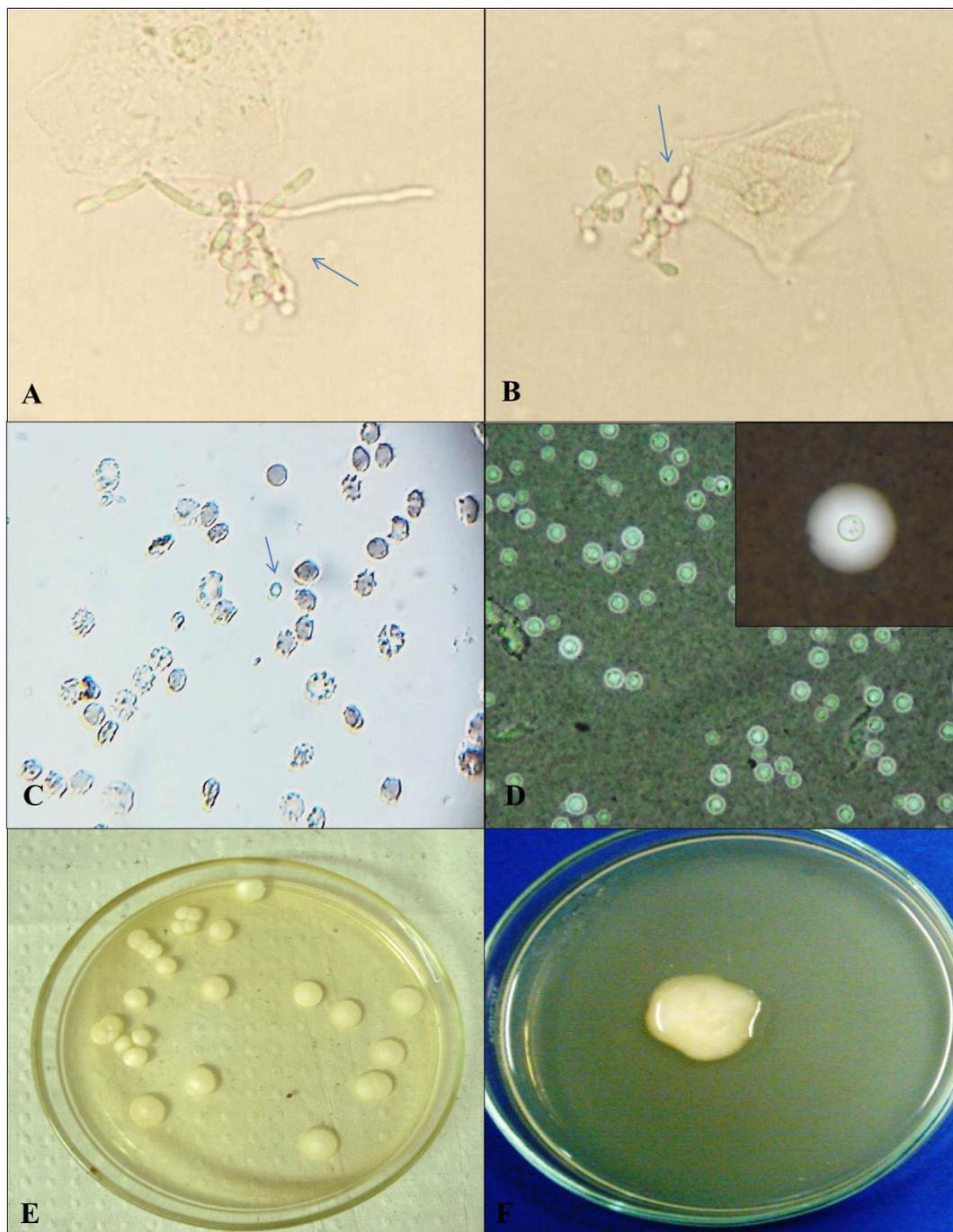


Figura 2: Exame direto evidenciando células de leveduras e pseudo-micélio hialinos em amostra de urina (A), células de leveduras e pseudo-micélio em esputo (B), célula de levedura hialina em sangue (C), levedura encapsulada em líquido céfalo-raquidiano (D) (Aumento 400x) e macroscopia de *Candida* (E) e *Cryptococcus* (F).

## REFERÊNCIAS

ANDREIA LOURENÇO, NUNO ALEXANDRE PEDRO, SARA BARBOSA SALAZAR AND NUNO PEREIRA MIRA. Effect of Acetic Acid and Lactic Acid at Low pH in Growth and Azole Resistance of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1-9: 2019.

BASSETTI, M. GARNACHO-MONTERO, J. CALANDRA, T. KULLBERG, B.DIMOPOULOS, B. AZOULAY, E. CHAKRABARTI, A.KETT, D. LEON, C.OSTROSKY-ZEICHNER, L. SANGUINETTI, M. TIMSIT, JF. RICHARDSON, MD.SHORR, A. CORNELLY, O. Intensive care medicine research agenda on invasive fungalinfection in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*. 2017

BENNETT, JOHN, E., MD; POWERS, JOHN, H., M. Candidemia in the ICU: Does Initial Antifungal Matter?. *Critical Care Medicine*: 46 - 3 - p 482–483: 2018.

BRUNA A. GONDIM; DENISE VON DOLINGER DE BRITO; CRISTIANE S. DE BRITO; ELIAS J.O.VON DOLINGER; VÂNIA O.S. ABDALLAH; PAULO P. GONTIJO FILHO. Fatores de risco paracolonização e sepse por *Candida albicans* e *Candida* não *albicans* em neonatos críticos. *Revista Arquivos de Ciências da Saúde*. 16(3):105-9: 2009.

CAUCHIE, M.; DESMET, S.; LAGROU, K. *Candida* and its dual lifestyle as a commensal and a pathogen. *Research in Microbiology*, v. 168, n. 9-10, p.802-810: 2017.

CAVALHEIRO, M.; TEIXEIRA, M. C. *Candida* Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Frontiers in Medicine*, v. 5, p.1-15: 2018.

CHAKRABORTI A, JAISWAL A, VERMA P K, SINGHAL R. A Prospective Study of Fungal Colonization and Invasive Fungal Disease in Long-Term Mechanically Ventilated Patients in a Respiratory Intensive Care Unit. *Indian Journal of Critical Care Medicine* 22(8): 597–601: 2018.

CORDEIRO, R. A.; SERPA, R.; ALEXANDRE, C. F. U.; MARQUES, F. J. F.; MELO, C. V. S.; FRANCO, J. S.; EVANGELISTA, S. J. J.; CAMARGO, Z. P.; BRILHANTE, R. S. N.; ROCHA, M. F. G.; MOREIRA, J. L.B.; BANDEIRA, T. J. P.G.; SIDRIM, J.J. C. Trichosporon inkin biofilms produce extracellular proteases and exhibit resistance to antifungals. *Journal of Medical Microbiology*, v. 64, n. 11, p.1277-1286: 2015.

DONDERS GGG, GRINCEVICIENE S, BELLEN G, RUBAN K. Is multiple-site colonization with *Candida* spp. related to inadequate response to individualized fluconazole maintenance therapy in women with recurrent *Candida* vulvovaginitis? *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 92(3): 226-229: 2018.

DORIA, A. BAESSO SANTOS, T. FIGUEIRA, F. DI PAULA COSTA SORGE, C. CÁSSIA BERNARDES, R. DE CÁSSIA SILVA BATISTA, A. KHOURI, S. Estudo comparativo de hemoculturas e cateteres positivos para leveduras do gênero *Candida* de origem hospitalar. *Revista Univap*, 2016.

GAMALETSOU MN, WALSH, TJ, SIPSAS, NV. Invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: emergence of resistant pathogens and new antifungal therapies. *Turkish Journal of Haematology*. 2018

GODHA, K. Human vaginal pH and microbiota: an update. *Gynecological Endocrinology*, v. 34, n. 6, p.451-455: 2017.

HALL, R. A., M. C. NOVERR. Fungal interactions with the human host: exploring the spectrum of symbiosis. *Current Opinion in Microbiology*, v.40, 58-64: 2017.

ILIEV, I. D., LEONARDI, I. Fungal dysbiosis: immunity and interactions at mucosal barriers. *Nature Reviews Immunology*, v. 17, p. 635–646: 2017.

KING RD, LEE JC, MORRIS AL. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect Immun* 27:667 Horisberger M, Clerc MF (1988) Ultrastructural localization of anionic sites on the surface of yeast, hyphal and germ-tube forming cells of *Candida albicans*. *European Journal of Cell Biology* 46:444: 1980.

MAGILL SS, SWOBODA SM, JOHNSON EA, MERZ WG, PELZ RK, LIPSETT PA. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 55(4):293-301: 2006.

NETT J. The host's reply to *Candida* biofilm. *Pathogens*. 5:1–10: 2016.

- PIERCE, C G. CHATURVEDI, A K. LAZZELL, A L. POWELL, AT. SAVILLE, SP.MCHARDY, SF. AND L LOPEZ-RIBOT, J. A novel small molecule inhibitor of *Candida albicans* biofilm formation, filamentation and virulence with low potential for the development of resistance. **NPJ Biofilms Microbiomes-Nature**. 2015
- PITARCH A, NOMBELA C, GIL C. Diagnosis of Invasive Candidiasis: From Gold Standard Methods to Promising Leading-edge Technologies. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. 18(16): 1375-1392: 2018.
- RODRIGUES, CF.; SILVA, S.; HENRIQUES, M. *Candida glabrata*: a review of its features and resistance. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 33, n. 5, p. 673-688: 2014.
- ROMANI L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews Immunology**.4(1): 1-23: 2004.
- SANTANA, D.P.; RIBEIRO, E.L.; MENEZES, A.C.S.; NAVES, P.L.F. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 2, p. 229-233: 2013.
- SHELLEY S. MAGILL, SANDRA M. SWOBODA, ELIZABETH A. JOHNSON, WILLIAM G. MERZ, ROBERT K. PELZ, PAMELA A. LIPSETT, CRAIG W. HENDRIX. The association between anatomic site of *Candida* colonization, invasive candidiasis, and mortality in critically ill surgical patients. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** 55:293 – 301: 2006.
- SIQUEIRA, J.S.S.; BATISTA, S.A.; SILVA JÚNIOR, A.; FERREIRA, M.F.; AGOSTINI, M.; TORRES, S.R. Candidíase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 176-179: 2014.
- SMITH, R.P.; TUREK, P.J. Coleção Netter de Ilustrações Médicas. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- TURAN, H AND DEMIRBILEK, M. Biofilm-forming capacity of blood-borne *Candida albicans* strains and effects of antifungal agents. **Revista Argentina de Microbiología**. 2018
- VIEIRA, F.; NASCIMENTO, T. Fatores de virulência e mecanismos de adaptação de *Candida* não *albicans* à célula hospedeira. **Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas**. 2017.
- VIEIRA, DÉBORA. B.; CARMONA-RIBEIRO, ANA. M. Cationic nanoparticles for delivery of amphotericin B: preparation, characterization and activity in vitro. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 6, n. 6, p. 1-13, 2008.
- VIVEK, A.RUCHIKA, B. MOLLY, M. Comparison of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species in a tertiary care center, North India. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**. 2015

## MEDICAMENTOS INALATÓRIOS ORAIS: REVISÃO SOBRE ASPECTOS DA FORMULAÇÃO E DOS DISPOSITIVOS PARA LIBERAÇÃO DE DOSE

### **Ana Carolina Guimarães Ribeiro**

Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Belo Horizonte – MG

### **Taízia Dutra Silva**

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Departamento de Farmácia, Diamantina – MG

### **Edilene Rodrigues**

Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Belo Horizonte – MG

### **Márcio de Matos Coelho**

Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Belo Horizonte – MG

### **Cristina Duarte Vianna-Soares**

Universidade Federal de Minas Gearis, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Belo Horizonte – MG

**RESUMO:** As doenças respiratórias crônicas das vias aéreas inferiores que afetam grande parte da população mundial são tratadas, prioritariamente, com medicamentos inalatórios orais, uma vez que atuam diretamente no alvo terapêutico, os pulmões. Há três formas farmacêuticas cujas doses são liberadas por acionamento de dispositivos: aerossol inalatório oral, pó inalatório oral e preparação inalatória por nebulização, em que nesta

última o dispositivo é o nebulizador. Nesta revisão, descreve-se cada uma das formas farmacêuticas com foco naquelas portáteis (aerossol inalatório oral e pó inalatório oral) por apresentar maior complexidade tecnológica, desde os componentes da formulação até o mecanismo de funcionamento dos respectivos dispositivos. Apesar dos medicamentos inalatórios já serem consagrados no mercado, ainda há desafios no desenvolvimento desses produtos, como por exemplo, o aumento da concentração de fármaco que alcançam os pulmões e a utilização da via pulmonar para alcance de efeito sistêmico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Via de administração inalatória, medicamentos inalatórios orais, formulação, dispositivos.

**ABSTRACT:** Chronic respiratory diseases of the lower airways that affect a large part of the world population are treated primarily with orally inhaled drug, because they act directly on the therapeutic target, the lungs. There are three dosage forms whose doses are released by activation of the device: metered-dose inhalation, dry powder inhalation and the inhalation for nebulization, in which the device used is a nebulizer. In this review, each dosage form is a described, focusing on the portables ones (metered-dose inhalation and dry powder inhalation) because they present a greater

technological complexity, from the components of the formulation to the functioning mechanism of the respective devices. Although the inhaled pharmaceutical dosage forms are already on the market, there still are challenges in the development of these products, such as the increase in the concentration rate of drug reaching the lungs, as well as the use of the pulmonary pathway for a systemic effect.

**KEYWORDS:** Pulmonary administration, orally inhaled drug, formulation, devices.

## 1 | INTRODUÇÃO

Uma parcela significativa da população mundial é acometida por doenças respiratórias crônicas em que se destacam a rinite e a rinossinusite nas vias aéreas superiores, a asma, a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e o efisema nas vias aéreas inferiores. Comumente, as doenças do trato respiratório inferior, onde estão os pulmões são mais graves e causam mais complicações na saúde do paciente. Cerca de 65 milhões de pessoas sofrem de DPOC e esta doença é a terceira causa de morte no mundo. Já a asma acomete aproximadamente 334 milhões de pessoas e é mais comum em crianças e idosos. Entre 2008 e 2013 o custo com hospitalização por asma no Brasil foi de US\$ 170 milhões para o sistema público de saúde (BURNEY, 2015; GLOBAL, 2014; WHO, 2007; CARDOSO, 2017).

A farmacoterapia prioritária nos casos das doenças respiratórias crônicas das vias aéreas inferiores é realizada por meio de medicamentos inalatórios orais, uma vez que atuam diretamente no alvo terapêutico, dentre outras vantagens que serão discutidas nessa revisão. Além do efeito pulmonar, local, alguns medicamentos inalatórios inovadores visam efeito sistêmico em que o fármaco é absorvido nos alvéolos por ser uma região rica em capilares sanguíneos.

Nessa revisão foram compiladas informações sobre as formas farmacêuticas inalatórias orais em que são apresentadas suas características peculiares. Trata-se de medicamentos de maior complexidade tecnológica por serem acoplados a dispositivos específicos, quando comparados às formas farmacêuticas sólidas e líquidas de ingestão oral. Diante disso, o conhecimento de forma mais detalhada dos medicamentos inalatórios se faz útil para incetivar sua pesquisa e produção, bem como para contribuir na orientação clínica para sua administração de forma mais embasada.

## 2 | A VIA DE ADMINISTRAÇÃO INALATÓRIA

Por meio da via inalatória, concentrações mais elevadas de fármaco alcançam o tecido alvo, o que maximiza o efeito terapêutico local. Com isso, doses mais baixas do medicamento podem ser administradas, o que reduz o efeito sistêmico diminuindo a toxicidade sem comprometer a eficácia. Além da via inalatória aumentar a seletividade do medicamento para o tecido alvo e oferecer mais segurança terapêutica, há

também uma maior rapidez da resposta em relação à administração oral pelo trato gastrointestinal (FRANCIS, 1980; BELLARY, 2006). A via inalatória sustenta por mais tempo a concentração do fármaco no trato respiratório, além de eliminar o efeito hepático de primeira passagem (HOCHHAUS, 2004).

A via inalatória divide-se em nasal e oral. A via nasal é mais usada para o tratamento de desordens que se restringem à região nasal e aos seios paranasais, como alergias, inflamações e congestões (GRONEBERG, 2006). Por outro lado, a via inalatória oral é escolhida quando se deseja uma ação do fármaco nas vias aéreas entre a orofaringe e os pulmões, ou até mesmo uma ação sistêmica (DEHAAN, 2001; MAC INTYRE, 2002).

### 3 | FORMAS FARMACÊUTICAS DE ADMINISTRAÇÃO POR VIA INALATÓRIA

Os medicamentos inalatórios orais geram aerossóis que são dispersões de partículas sólidas ou líquidas em um gás. Preparações inalatórias que formam aerossol são acondicionadas em dispositivos específicos, que após acionamento, permitem que as doses sejam liberadas, isso caracteriza as seguintes formas farmacêuticas: aerossol inalatório oral, pó inalatório oral e preparação inalatória por nebulização (cujo dispositivo é o nebulizador) (BRITISH, 2017) como mostrado na Figura 1.

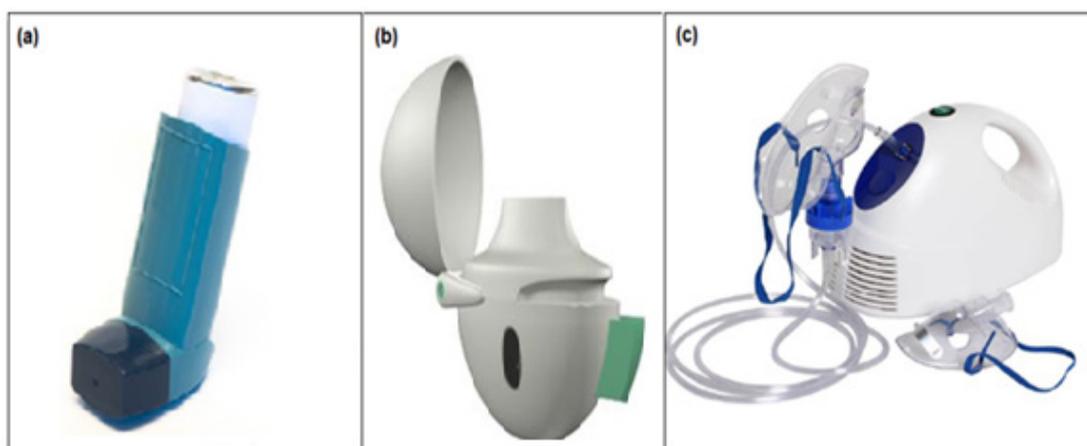


Figura 1 - Dispositivos utilizados em formas farmacêuticas do tipo (a) aerossol inalatório oral, (b) pó inalatório oral e (c) nebulizador.

#### 3.1 Aerossol inalatório oral

O dispositivo da forma farmacêutica aerossol inalatório oral (Figura 1a) apresenta os seguintes componentes, como representado da Figura 2: recipiente de material inerte (normalmente vidro ou alumínio), atuador, válvula dosificadora, propelente e a formulação. (THIEL, 1996; NEWMAN, 2004). Tratam-se de dispositivos que contém o fármaco em soluções ou suspensões cujo veículo gasoso é o próprio propelente que se encontra comprimido sob a forma líquida no interior dos recipientes por estar pressurizado. Após o acionamento do dispositivo inalatório, a fase dispersa é

aspergida como aerossol junto ao propelente. A eficácia do aerossol inalatório oral depende da sincronização entre o movimento inspiratório do paciente e o manuseio/disparo do dispositivo inalatório. O uso inadequado desses dispositivos pode levar ao aparecimento de efeitos adversos em decorrência da deposição orofaríngea (PRISTA, 2003; SMITH, 2003).

Criado na década de 1950 por Charles G. Thiel no Hiker Laboratórios nos Estados Unidos da América (EUA) este tipo de dispositivo inalatório é o mais utilizado no mundo devido às vantagens que apresenta, como o reduzido tamanho, a isenção de uma fonte de energia externa, a contenção de várias doses em um só dispositivo e o rápido efeito no caso de broncodilatadores (THIEL, 1996; NEWMAN, 2004). Os primeiros dispositivos para aerossol inalatório oral continham medicamentos para o tratamento de asma e DPOC, com ação local nas vias aéreas inferiores e nos pulmões. Atualmente, veiculam-se também medicamentos para ação sistêmica, devido à alta absorção na região alveolar dos pulmões (CLARK, 1995; COURRIER, 2002).

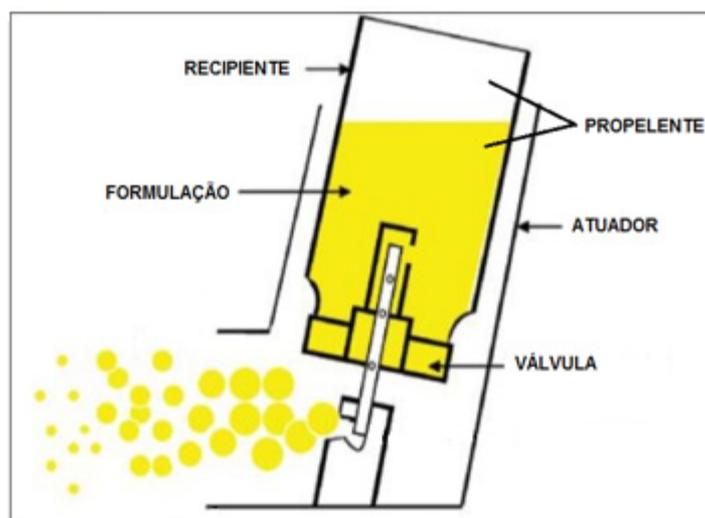


Figura 2 - Ilustração esquemática dos componentes (recipiente, atuador, válvula, propelente e formulação) do dispositivo de aerossol inalatório oral.

No caso de medicamentos aerossóis contendo soluções no interior do dispositivo pode ser necessária a adição de adjuvantes que promovam a solubilização, ou a estabilização no caso de suspensões (LIU, 2012). Os primeiros gases propelentes utilizados foram os clorofluorcarbonos (CFC), mais comumente o diclorodifluorometano (CFC-12) como componente majoritário, e outros que modulavam a pressão de vapor da formulação como o triclorofluorometano (CFC-11) e o diclorotetrafluoroetano (CFC-114). Entretanto, em 1987, um programa internacional, o Protocolo de Montreal, definiu a proibição do uso de gases propelentes a base de CFC na indústria mundial devido à depleção da camada de ozônio. De acordo com o documento, a implementação da medida deveria ocorrer até o ano 2001 para os países desenvolvidos e até 2010 para aqueles em desenvolvimento. A proibição do uso de CFC afetou a indústria

farmacêutica, visto que houve dificuldade em desenvolver formulações para aerossóis inalatórios orais com outros gases, devido às diferentes propriedades físico-químicas, principalmente pressão de vapor. As formulações subsequentes ao Protocolo de Montreal passaram a apresentar hidrofluoroalcanos (HFA) como propelentes, prioritariamente o 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA-134) e o 1,1,1,2,3,3,3- heptafluoropropano (HFA- 227) devido a sua inércia química, pressão de vapor e por não reagirem com o ozônio (BORGSTRÖM, 1999; UNITED NATIONS, 2000; HIRST, 2001; IBIAPINA, 2004)

Uma característica preponderante dos dispositivos de aerossol inalatório oral é a liberação precisa da dose por acionamento, o que se deve ao funcionamento da válvula de medição. A válvula apresenta um reservatório com volume fixo (25  $\mu$ L a 100  $\mu$ L) que é totalmente preenchido pela formulação a cada acionamento do dispositivo. Em seguida, o conteúdo que está contido no reservatório entra em contato com a atmosfera exterior por um orifício e, devido à diferença de pressão entre o ambiente interno da válvula e o meio externo, o propelente evapora carreando a formulação. Quando a formulação passa pelo orifício do atuador forma-se uma nuvem de aerossol que se move em direção axial e com sentido contrário ao do dispositivo. O aerossol formado é composto por gotículas em suspensão no gás. A distância do orifício do atuador à válvula e ao bocal, o seu diâmetro, o design do próprio atuador e a formulação influenciam a velocidade e o tamanho das gotículas do aerossol formado, o que por sua vez, afetam o local onde o fármaco irá se depositar no trato respiratório. (VERVAET; BYRON, 1999; NEWMAN, 2004; LIU, 2012; STEIN, 2014)

Quanto maior as gotículas do aerossol e maior a velocidade de seu deslocamento, maior será a quantidade de medicamento que se depositará na região da orofaringe. Isso é indesejável, uma vez que o local de ação dos fármacos inalados são as vias aéreas inferiores e os pulmões (CLARKE; NEWMAN, 1983; STEIN, 2014). A fim de alterar a aerodinâmica de voo dos medicamentos aerossóis inalatórios orais, recomenda-se a utilização de espaçadores (Figura 3) pelos pacientes. Com diferentes modelos, os espaçadores retêm as gotículas de maior tamanho e reduzem drasticamente a velocidade do aerossol em aproximadamente 35 m/s para 10 m/s (THIEL, 1996), conseqüentemente, diminuindo a proporção de fármaco que ficará retido nas vias aéreas superiores (NEWMAN, 2004). A proporção de fármaco que chega às vias aéreas inferiores na administração de medicamentos inalatórios é baixa, grande parte da dose, rotulada, fica depositada no atuador e na região da orofaringe (RAU, 2005). Newman e colaboradores realizaram um importante estudo em que se avaliou a deposição de fármacos provenientes de dispositivos para aerossol inalatório oral em voluntários com deficiência respiratória. Verificou-se que, em relação à dose rotulada, 80,8% do fármaco deposita-se na orofaringe; 9,8% fica retida no atuador; 1% é exalado e 8,8% chega às vias aéreas inferiores e alvéolos pulmonares (NEWMAN, 1986). A partir desse estudo, os pesquisadores foram desafiados a desenvolver novos modelos de dispositivos a fim de aumentar a proporção de fármaco que chega ao local de ação e conseqüentemente, e de melhorar a eficácia terapêutica de medicamentos

inalatórios (HIRST, 2002).



Figura 3 – Espaçadores, em diferentes modelos, para serem acoplados ao dispositivo de medicamento aerossol inalatório oral. Fonte: NEWMAN (2014).

### 3.2 Pó inalatório oral

O dispositivo do pó inalatório oral (Figura 1b) promove a liberação de partículas micronizadas da formulação em forma de pó seco, em doses precisas, que são inaladas pelo paciente. As principais vantagens desses dispositivos são a maior estabilidade dos fármacos, pelo fato de serem administrados sob a forma de pó seco, a dispensa de uso de propelentes em sua formulação, a possibilidade de veiculação de uma alta variedade de medicamentos inclusive para terapias sistêmicas com peptídeos e proteínas, além de conter uma ampla faixa de doses (menos que 10  $\mu\text{g}$  até mais que 20 mg). Uma desvantagem dos pós inalatórios orais é a sensibilidade à umidade que, quando presente, pode resultar em aglomeração do pó (MALCOLMSON, 1998; SMITH, 2003; TELKO; HICKEY, 2005; ANSEL, 2007; ISLAM, 2008; HICKEY, 2017). Devido às vantagens diversas desse dispositivo de liberação pulmonar, hoje ele se tornou uma alternativa eficaz e com boa aceitabilidade por parte da comunidade médica e dos pacientes. Em um estudo realizado por Morice e colaboradores (2002) com o intuito de investigar a preferência dos pacientes asmáticos (incluindo adultos e crianças) em relação ao uso de dispositivos inalatórios, 67% dos 362 pacientes incluídos no estudo achavam mais fácil e preferiam usar um inalador de pó seco a um aerossol inalatório oral.

A dose recebida pelo paciente depende de cinco fatores principais como propriedades da formulação (propriedades reológicas, interações fármaco-carreador); tamanho, densidade e morfologia das partículas; desempenho do dispositivo inalatório; correta técnica de inalação e fluxo inspiratório. No caso dos pós inalatórios orais, o paciente deve apresentar um fluxo de ar mínimo inspiratório de 30 mL/min para receber uma dose efetiva (MALCOLMSON, 1998; TELKO e HICKEY, 2005; ISLAM,

2008; HICKEY, 2017).

As formulações de medicamentos do tipo pós inalatórios orais normalmente são compostas por uma mistura do fármaco com um carreador. Os carreadores são substâncias com tamanho de partículas maior que o fármaco cuja função é transportá-lo durante o voo pelas vias aéreas. As interações que ocorrem entre fármaco e carreador podem ser físicas pelo processo de adsorção, e químicas por meio de ligações intermoleculares que variam de acordo com a natureza química dos componentes da mistura. A adsorção ocorre quando as partículas do fármaco se aderem às rugosidades do carreador. A interação fármaco-carreador deve ser forte o suficiente para que se estabeleça o voo até à chegada nas vias aéreas, bem como fraca o bastante para que ocorra a separação entre os componentes da mistura, e assim o fármaco alcance as vias aéreas inferiores (alvo terapêutico) e o carreador fique retido na região da orofaringe (TELKO e HICKEY, 2005; HICKEY, 2017). Os carreadores melhoram a fluidez das partículas de fármaco e, conseqüentemente, faz com que as doses liberadas sejam mais precisas, quando comparado ao fármaco sozinho. Além disso, esse aumento de fluidez também facilita o processo de fabricação do medicamento (RAHIMPOUR, 2012). As partículas do carreador devem ser compatíveis com a mucosa das vias aéreas, biodegradáveis, não sofrer reações químicas com outros componentes da formulação. Dentre eles, a lactose é o tipo mais comum de carreador das formulações de pós inalatórios orais por ser estável, não tóxica, compatível com uma grande variedade de substâncias, além de ser viável financeiramente (JONES, 1965; SHUR, 2016). Outras substâncias também empregadas como carreadores são manitol, sorbitol, glicose, sacarose e trealose (PENG, 2016).

Os dispositivos para liberação de pós inalatórios orais são artefatos tecnológicos necessários para disponibilizar a formulação às vias aéreas de forma que o ativo alcance os brônquios, os bronquíolos e até os alvéolos pulmonares. Esses dispositivos devem garantir a exatidão e a reprodutibilidade das doses liberadas. Durante a administração da dose dentro do dispositivo ocorrem os fenômenos de desagregação, aerossolização e liberação das doses unitárias (Figura 4). Na desagregação, aglomerados da formulação são desfeitos durante o processo de aerossolização que consiste na dispersão do pó no ar que será inalado pelo paciente. Quanto mais aglomerados houver no aerossol formado, maior será a quantidade de pó que não chega aos pulmões uma vez que fica retido na orofaringe devido ao maior impacto por inércia nessa região, prejudicando a eficácia do medicamento.

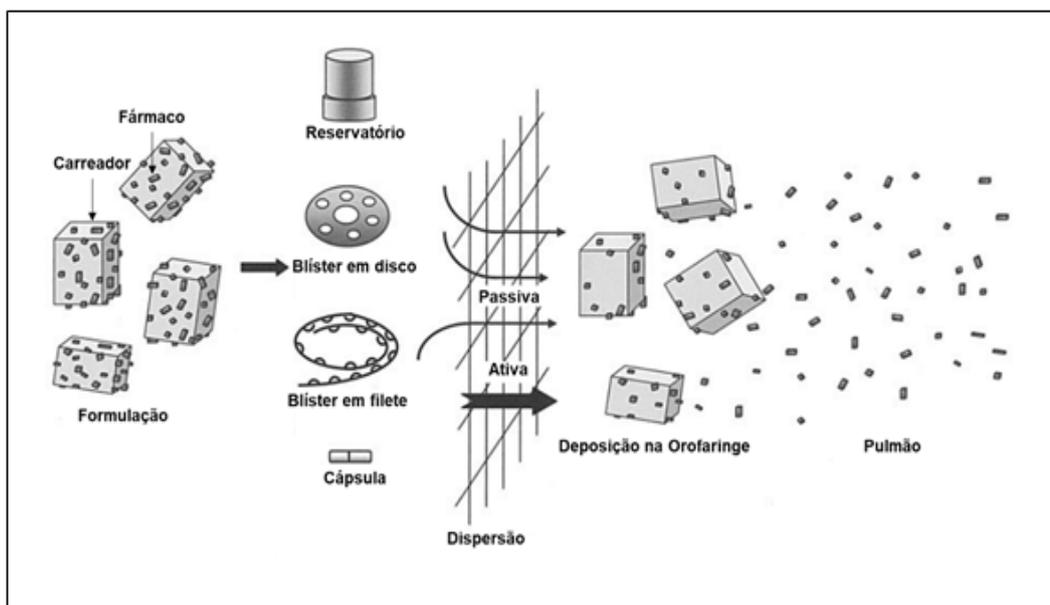


Figura 4 – Etapas esquemáticas de desagregação, aerossolização e liberação do ativo na administração de pós inalatórios orais. Fonte: TELKO e HICKEY (2005), modificado.

Os dispositivos para pós inalatórios orais são classificados da seguinte maneira:

a. Quanto ao número de doses:

- dose unitária (cápsulas individuais são introduzidas, uma de cada vez, manualmente pelo usuário, nos dispositivos para posterior acionamento);
- multidose unitária (o dispositivo contém doses unitárias em blisters em discos ou filetes, não necessitando de recarregamento manual pelo paciente no momento do uso);
- multidose (reservatórios armazenam o pó, que será liberado após acionamento de mecanismo, incorporado no dispositivo, para medir as doses).

b. Quanto ao sistema de veiculação da formulação:

- cápsula dura;
- reservatório;
- blister em disco ou em filete.

c. Quanto ao tipo de aerossolização:

- passiva (a dispersão é dependente do fluxo respiratório, por meio da introdução de ar na câmara que contém a formulação, tornando-a fluida); e
- ativa (a dispersão das partículas é realizada por meio de sistemas auxiliares, sejam eles pneumáticos, de impactação ou vibratórios) (CHRISTYN, 2007; ZHOU, 2014; BERKENFELD, 2015; IBRAHIM, 2015; BOER, 2017).

Os dispositivos mais comuns para pós inalatórios orais disponíveis no mercado do tipo de dose unitária são Spinhaler® (Aventis), Rotahaler® (GlaxoSmithKline-GSK), Aeroliser® (Novartis), Inhalator® (Boehringer), Eclipse® (Aventis) e Handihaler® (Boehringer). Já do tipo multidose unitária são Diskhaler® (GSK), Diskus® (GSK) e

Aerohaler® (Boehringer); enquanto que os multidose são Turbuhaler® (AstraZeneca), Easyhaler® (Orion), Novolizer® (ASTAMedica), Clickhaler® (Innovata Biomed) e Pulvinal® (Chiesi) (NEWMAN, 2002; BOER, 2017).

### 3.3 PREPARAÇÃO INALATÓRIA POR NEBULIZAÇÃO

Os nebulizadores (Figura 1c) são os dispositivos mais antigos utilizados para inalação de medicamentos. Entretanto, apresentam considerável volume e a necessidade de fonte externa de energia elétrica para vaporizar a formulação, que pode ser solução ou suspensão. Comumente, são utilizados por crianças ou idosos devido à facilidade de inalação do medicamento por meio de uma máscara, uma vez que não é necessário sincronizar a inspiração com o acionamento do dispositivo. O nebulizador vem perdendo espaço no mercado para os dispositivos portáteis (MALCOLMSON, 1998; BISGAARD, 2001).

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da aceitação consolidada dos medicamentos inalatórios orais nas suas distintas formas farmacêuticas (aerossol inalatório oral, pó inalatório oral e preparação inalatória por nebulização), há importantes desafios no atual desenvolvimento desses produtos. Diante da alta proporção de fármaco que fica retida na região da orofaringe, muitos pesquisadores realizam estudos que visam aumentar a proporção de ativo que alcança os pulmões, por meio de alterações na formulação, no design do dispositivo, no tamanho e na forma das partículas, em caso de pó inalatório. Pesquisadores também avaliam o desenvolvimento de medicamentos que possam atuar de modo sistêmico através da via inalatória, alternativa de administração não invasiva e de rápida resposta terapêutica, inclusive para fármacos que sofrem degradação no trato gastrointestinal. Para atingir efeito não local, o fármaco deve apresentar aerodinâmica de voo adequada para alcançar os alvéolos pulmonares, o que está relacionado com o tamanho e a forma de suas partículas, bem como com sua velocidade e movimento durante o voo na inalação.

Nesta revisão, evidenciou-se a complexidade tecnológica dos medicamentos inalatórios orais quando comparados aos medicamentos que são absorvidos no trato gastrointestinal. Ainda são necessários muitos estudos visando otimizar a atuação terapêutica dos inalatórios, todavia, de nada adianta tal empenho se não houver uma adequada orientação para a administração desses medicamentos, pois se trata de um modo de uso não habitual a exemplo de uma deglutição de comprimido.

O conhecimento sobre as formas farmacêuticas inalatórias torna-se importante para uma orientação mais objetiva e clara por parte do profissional de saúde.

## 5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio à pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. 8. ed. São Paulo: Artmed Editora, 2007.

BELLARY, S.; BARNETT, A. AH. Inhaled insulin: new technology, new possibilities. **International Journal of Clinical Practice**. v.60, p. 728-734, 2006.

BISGAARD, H; O'CALLAGHAN, C; SMALDONE, G. C. **Drug Delivery to the Lung**. 4.ed. London: Marcel Dekker, 2001.

BOER, A.H., et al. Dry powder inhalation: past, present and future. **Expert Opinion on Drug Delivery**. v. 14 (4), p.499-512, 2017.

BORGSTRÖM, L. The pharmacokinetics of inhaled hydrofluoroalkane formulations. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 104, p. 246-249, 1999.

BERKENFELD, K.; LAMPRECHT, A.; MCCONVILLE, J. T. Devices for dry powder drug delivery to the lung. **AAPS PharmSciTech**. v. 16, n. 3, p. 479-490, 2015.

BRITISH pharmacopoeia. London: British Pharmacopoeia Commission Office, 2017.

BURNEY, P.G., PATEAL, J., NEWSON, R., MINELI, C., NAGHAVI, M. Global and regional trends in COPD mortality, 1990- 2010. **European Respiratory Journal**. v.45. p. 1239–1247, 2015.

CARDOSO, T. A. et al. Impacto da asma no Brasil: análise longitudinal de dados extraídos de um banco de dados governamental brasileiro. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 43, n.3, p. 163-168, 2017.

CLARK, A. R. Medical aerosol inhalers: past, present, and future. **Aerosol Science Technology**. v. 22, p.374-391, 1995.

COURRIER, H. M.; BUTZ, N.; VANDAMME, F. Pulmonary drug delivery systems: recent developments and prospects. **Therapeutic Drug Carrier Systems**. v. 19, p. 425-498, 2002.

CHRYSTYN, H. The Diskus™: a review of its position among dry powder inhaler devices. **The International Journal of Clinical Practice**. v. 61, n. 6, p. 1022-1036, 2007.

DEHAAN, W.H.; FINLAY, W.H. In-vitro monodisperse aerosol deposition in a mouth and throat with six different inhalation devices. **Journal of Aerosol Medicine**. (14), p. 361-367, 2001.

FRANCIS, P. W., et al. Oral and inhaled salbutamol in the prevention of exercise induced bronchospasm. **Pediatrics**. (66), P. 103–108, 1980.

GLOBAL Asthma Report. Auckland, **Global Asthma Network**, 2014. Disponível em: <http://www.globalasthareport.org/>. Acessado em 18 fev 2019.

- GRONEBERG, D. A. et al. Novel strategies of aerosolic pharmacotherapy. **Experimental and Toxicology Pathology**. v.57, p. 49-53, 2006.
- HICKEY, A. J. Complexity in Pharmaceutical Powders for Inhalation: A perspective. **Kona Powder and Particle Journal**. p. 1-11, 2017.
- HIRST, P. H. et al. Deposition and pharmacokinetics of an hfa formulation of triamcinolone acetonide delivered by pressurized metered dose inhaler. **Journal of Aerosol Medicine**. v. 14, p.155-165, 2001.
- HIRST, P. H. et al. *In Vivo* lung deposition of hollow porous particles from a pressurized metered dose inhaler. **Pharmaceutical Research**. v. 19, p. 258-264, 2002.
- HOCHHAUS, G. New developments in corticosteroids. Proceedings of the **American Thoracic Society**. v. 1, p. 269–274, 2004.
- IBIAPINA, C. C., CRUZ, A. A., CAMARGOS, A. M. Hydrofluoroalkane as a propellant for pressurized metered-dose inhalers: history, pulmonary deposition, pharmacokinetics, efficacy and safety. **Jornal de pediatria**. v. 80, p. 441-446, 2004.
- IBRAHIM, M.; VERMA, R.; GARCIA-CONTRERAS, L. Inhalation drug delivery devices: technology update. **Medical devices (Auckland, NZ)**. v. 8, p. 131-139, 2015.
- ISLAM, N.; GLADKI, E. Dry powder inhalers (DPIs) - A review of device reliability and innovation. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 360, p. 1-11, 2008.
- JONES, T.M; PILPEL, N. Some physical properties of lactose and magnesia. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 17, p.440-448, 1965.
- LIU, X.; DOUB, W. H; GUO, C. Evaluation of metered dose inhaler spray velocities using phase doppler anemometry (PDA). **Journal of Pharmaceutics**. v. 423, p.235-239, 2012.
- MACINTYRE, N. R. Aerosol delivery through an artificial airway. **Respiratory Care**. v. 47, p. 1279-1289, 2002.
- MALCOLMSON, R. J.; EMBLETON, J. K. Dry powder formulation for pulmonary delivery. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 1, p. 394-398, 1998.
- NEWMAN, S. P.; CLARKE, S. W. Therapeutic aerosols 1—physical and practical considerations. **Thorax**. v. 38, p. 881-886, 1983.
- NEWMAN, S. P. et al. Effect of InspirEase on the deposition of metered-dose aerosols in the human respiratory tract. **Chest**. v. 89, p. 551-556, 1986.
- NEWMAN, S. P., BUSSE, W. W. Evolution of dry powder inhaler design, formulation, and performance. **Respiratory Medicine**. v. 96, p. 296-304, 2002.
- NEWMAN, S. P. Spacer devices for metered dose inhalers. **Clinical Pharmacokinetics**. v. 43, p.349-360, 2004.
- PENG, T. et al. Influence of physical properties of carrier on the performance of dry powder inhalers. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. v. 6 (4), p. 308-318, 2016.
- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 6ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.
- HAHIMPOUR, Y., HAMISHEHKAR, H. Lactose Engineering for Better Performance in Dry Powder

Inhalers. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**. v. 2, n.2, p. 183-187, 2012.

RAU, J. L. The inhalation of drugs: advantages and problems. **Respiratory Care**. v. 50, p. 367-382, 2005.

SHUR, J. Et al. From single excipients to dual excipient platforms in dry powder inhaler products. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 524, p. 374-383, 2016.

SMITH, I. J.; PARRY-BILLINGS, M. The inhalers of the future? A review of dry powder devices on the market today. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, p. 79-95, 2003.

STEIN, S. W. et al. Advances in metered dose inhaler technology: hardware development. **AAPS PharmSciTech**. v. 15, p.326-338, 2014.

TELKO, M. J.; HICKEY, A. J. Dry powder inhaler formulation. **Respiratory Care**, v. 50, n. 9, p. 1209-1227, 2005.

THIEL, C. G. From Susie's question to CFC free: an inventor's perspective. **Respiratory drug delivery**. v. 1, p. 115-123, 1996.

United Nations Environment Programme. **The Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer**, 2000. 47 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases. A comprehensive approach**. Geneva, WHO, 2007. Disponível em: [http://www.who.int/gard/publications/GARD\\_Manual/en/](http://www.who.int/gard/publications/GARD_Manual/en/). Acessado em: 18 fev 2019.

VERVAET, C. V.; BYRON, P. R. Drug–surfactant–propellant interactions in HFA-formulations. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 186, p.13-30, 1999.

ZHOU, Q. T. *et al.* Emerging inhalation aerosol devices and strategies: Where are we headed?. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 75, p. 3-17, 2014.

## MORTALIDADE INFANTIL NAS POPULAÇÕES INDÍGENAS DE RORAIMA

### **Bianca Jorge Sequeira**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina e Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde  
Boa Vista – Roraima

### **Ana Iara Costa Ferreira**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina  
Boa Vista – Roraima

### **Fabiana Nakashima**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina  
Boa Vista – Roraima

### **Leila Braga Ribeiro**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina  
Boa Vista – Roraima

### **José Geraldo Ticianeli**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina  
Boa Vista – Roraima

### **Fernanda Zambonin**

Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde  
Boa Vista – Roraima

### **Wagner do Carmo Costa**

Governo do Estado de Roraima, Vice-governadoria  
Boa Vista – Roraima

**RESUMO:** O estado de Roraima compõe a Amazônia brasileira possuindo uma área de 224.298,98 Km. É constituído por 15 municípios, apresentando uma população de 522.636 habitantes. Proporcionalmente é o estado brasileiro com maior população indígena do país, sendo ela organizada em 08 etnias. Este estudo objetivou analisar a taxa de mortalidade infantil e suas causas na população indígena de Roraima, além de comparar esta taxa com os resultados da população não indígena. Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo, de caráter quantitativo, que utilizou como principal ferramenta o sistema DATASUS, traçando uma série histórica sobre a mortalidade infantil em Roraima dos anos 2010 a 2015. Os resultados obtidos apontam que entre 2010 e 2015 houve 405 óbitos de crianças indígenas e 517 de crianças não indígenas. 3% das crianças indígenas foi a óbito, enquanto o percentual de óbitos de não indígenas foi de 1%. A Taxa de Mortalidade Infantil (TMI) indígena foi de 29,84 e a não indígena 10,28. O Risco Relativo para o óbito indígena foi três vezes maior que o de crianças não indígenas. A totalidade dos casos de óbito foi por causas evitáveis. Residir no município de Alto Alegre, aumenta em 1,85 vezes a chance de o indígena morrer antes de completar um ano de idade. Conclui-se que ser índio em Roraima é vivenciar uma situação de vulnerabilidade, gerando uma evidente

desigualdade entre a TMI de indígenas e não indígenas, sendo assim essencial o investimento em atenção primária e educação em saúde para esse segmento populacional.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mortalidade infantil; Indígena; Roraima

**ABSTRACT:** The state of Roraima comprises the Brazilian Amazon with an area of 224,298.98 Km. It is constituted by 15 municipalities, with a population of 522,636 inhabitants. Proportionally it is the Brazilian state with the largest indigenous population of the country, being organized in 08 ethnic groups. This study aimed to analyze the infant mortality rate and its causes in the indigenous population of Roraima, in addition to comparing this rate with the results of the non - indigenous population. This is a retrospective, descriptive, quantitative study that used the DATASUS system as the main tool, drawing a historical series on infant mortality in Roraima from the years 2010 to 2015. The results obtained indicate that between 2010 and 2015 there were 405 deaths of indigenous children and 517 of non-indigenous children. 3% of indigenous children died, while the percentage of non-indigenous deaths was 1%. The Indigenous Infant Mortality Rate (IMR) was 29.84 and the non-indigenous 10.28. The relative risk for the indigenous death was three times higher than that of non-indigenous children. The totality of the cases of death was due to avoidable causes. Residing in the municipality of Alto Alegre, increases by 1.85 times the chance of an indigenous child dying before reaching one year of age. The article shows that indigenous people in Roraima are experiencing a situation of vulnerability, generating a clear inequality between the IMR of indigenous and non - indigenous people. Thus, is essential to invest in primary health care and health education for this population segment.

**KEYWORDS:** Child mortality; Indigenous; Roraima

## 1 | INTRODUÇÃO

O estado de Roraima, situado no extremo norte do Brasil, compõe a Amazônia brasileira, possuindo uma área de 224.298,98 Km<sup>2</sup>, o que equivale a 2,6% da superfície do Brasil e a 5,9% da região Norte. É constituído por 15 municípios, apresentando uma população de 522.636 habitantes (IBGE, 2018).

Proporcionalmente Roraima é o estado brasileiro com maior população indígena do país, haja visto que 49.637 das pessoas se declaram indígenas, sendo elas organizadas em 08 etnias, ocupando 32 terras indígenas regularizadas (IBGE, 2016). Os indígenas que habitam Terras Indígenas são assistidos pelos Distritos Sanitários Especiais Indígena (DSEI) Leste e Yanomami, sendo que o último além de assistir às populações do Estado atende também indígenas oriundos do Amazonas (BRASIL, 2016).

Das 32 Terras Indígenas (TI) presentes no estado, quatro encontram-se em região de floresta, as TI Yamomami, Waimiri-Atroari, Wai Wai e um pequeno contingente de Ye'kuana, cuja área alcança 7,15 milhões de hectares de Roraima, restando um

total de 3,28 milhões de hectares para as demais. Por outro lado, um total de 28 TI estão em região de savana ou em faixa de transição entre floresta e savana. Os povos indígenas que habitam o estado fazem parte de 08 etnias, sendo elas: Wai-Wai, Macuxi, Wapixana, Taurepang, Ingarikó, Patamona, Yekuana, e Yanomami (FRANK; CIRINO, 2010). As seis primeiras sob responsabilidade do DSEI Leste e as duas últimas do DSEI Yanomami. Infelizmente pouco se conhece acerca das morbidades que afligem os indígenas de Roraima (BRASIL, 2016).

Devido a uma interação, nem sempre harmoniosa, entre indígenas e não indígenas que constituem a população do estado e principalmente devido a uma assistência em saúde muitas vezes inadequada, este estudo objetivou analisar a taxa de mortalidade infantil e suas causas nas populações indígenas de Roraima, além de promover uma comparação desta taxa com os resultados apresentados pela população não indígena do estado.

A mortalidade infantil caracteriza-se como o risco de um nascido vivo morrer antes de completar o primeiro ano de vida, sendo considerada um importante indicador de saúde da população (UNICEF, 2008). Sua ocorrência decorre de uma combinação de fatores biológicos, culturais, sociais e de falhas do sistema de saúde, desta forma, as ações direcionadas à sua redução dependem tanto de mudanças estruturais relacionadas às condições de vida da população, quanto de intervenções diretas definidas através de políticas públicas de saúde, podendo ainda ser influenciada por fatores genéticos, pela qualidade da assistência no pré-natal e no parto e pela acessibilidade aos serviços de saúde (FRANÇA; LANSKY, 2008).

Conforme o Grupo de Interagências para a Estimativa da Mortalidade Infantil das Nações Unidas, em 2011, morreram quase três milhões de recém-nascidos durante o primeiro mês de vida, sendo 39 mil deles somente no Brasil. Convém ressaltar que mortes infantis representam uma ocorrência indesejável em saúde pública, já que em sua maioria são evitáveis, expressando assim não só o nível de saúde de uma população, como também o seu padrão socioeconômico e de qualidade de vida, ou seja, o nível de desenvolvimento da sociedade (FRANÇA; LANSKY, 2008; GRUPO DE INTERAGÊNCIAS PARA A ESTIMAÇÃO DA MORTALIDADE INFANTIL, 2012).

Se a mortalidade infantil da população brasileira em geral é algo preocupante, no âmbito das comunidades indígenas isto se torna mais grave ainda, já que as condições desfavoráveis de saúde dos indígenas no Brasil ocasionam uma considerável desigualdade nas taxas de mortalidade entre esses povos e a população em geral (FERREIRA; MATSUO; SOUZA, 2012).

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo, de caráter quantitativo, que utilizou como principal ferramenta o sistema de dados DATASUS do Ministério da

Saúde, traçando uma série histórica sobre a mortalidade infantil (até um ano de idade) em Roraima dos anos 2010 a 2015. Por tratar-se de uma pesquisa envolvendo dados secundários, disponibilizados em um sistema de acesso público, não houve necessidade de submissão à um Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos.

A análise estatística foi realizada através do programa estatístico EpiInfo 7® (CDC, Atlanta, USA), fixando-se o nível de 5% para a rejeição da hipótese de nulidade. Para a comparação entre proporções foi utilizado o teste qui-quadrado. A estimativa de quantificação de risco foi realizada através do cálculo do Risco Relativo.

### 3 | RESULTADOS

O número total de nascidos-vivos em Roraima entre os anos de 2010 e 2015, distribuídos entre os 15 municípios que compõem o estado foi 63.630 (Tabela 1).

Observa-se que a cidade de Boa Vista, capital do estado, por conter cerca de 60% de toda a população de Roraima, apresentou o maior número de nascidos-vivos, 38.474 ocorrências, seguida pelo município de Alto Alegre (3.231) e do Uiramutã (2.492), município este cuja população é predominantemente indígena, representando 88% do total populacional. Já o município de São João da Baliza, apresentou no mesmo período 730 nascidos-vivos, sendo assim considerado o município de Roraima com o menor número de ocorrências para este evento. Para a realização de uma análise comparativa, convém ressaltar que dos 63.630 nascidos vivos, 13.123 foram indígenas enquanto 50.350 foram não indígenas.

MUNICÍPIO	2010	2011	2012	2013	2014	2015	TOTAL
Alto Alegre	576	341	600	601	563	550	3231
Amajari	262	259	308	307	298	339	1773
Boa Vista	6039	6253	6358	6350	6755	6719	38474
Bonfim	241	286	312	327	325	355	1846
Cantá	278	306	315	335	362	327	1923
Caracarái	366	349	425	424	393	414	2371
Caroebe	168	145	138	151	154	139	895
Iracema	154	100	173	147	156	169	899
Mucajá	311	309	270	351	299	341	1881
Normandia	241	341	319	381	376	442	2100
Pacaraima	265	286	327	351	340	361	1930
Rorainópolis	366	388	422	422	442	527	2567
São João da Baliza	137	123	116	120	117	117	730
São Luiz	84	89	84	80	67	91	495
Uiramutã	250	367	432	459	466	518	2492
Município ignorado	00	03	02	08	07	03	23
<b>TOTAL</b>	<b>9738</b>	<b>9945</b>	<b>10601</b>	<b>10814</b>	<b>11120</b>	<b>11412</b>	<b>63.630</b>

Tabela 1. Total de nascidos vivos do estado de Roraima no período de 2010 a 2015.

Com relação ao número de óbitos infantis em Roraima, o DATASUS aponta que no período estudado ocorreram 1.052 óbitos, independente de raça (DATASUS, 2016), sendo os mesmos visualizados na Tabela 2, onde se observa a distribuição dos óbitos por cada um dos quinze municípios que compõem o estado de Roraima.

Verifica-se que Boa Vista foi o município com a maior ocorrência de óbitos infantis, totalizando 473, em segundo lugar ficou o município de Alto Alegre com 128 óbitos e Caracaraí totalizando 82 casos. Os municípios que apresentaram o menor número de óbitos infantis foram São João da Baliza e São Luiz do Anauá, ambos com 15 óbitos.

MUNICÍPIO	2010	2011	2012	2013	2014	2015	TOTAL
<b>Alto Alegre</b>	04	09	19	43	28	25	<b>128</b>
<b>Amajari</b>	06	01	09	17	16	10	<b>59</b>
<b>Boa Vista</b>	72	64	90	76	93	78	<b>473</b>
<b>Bonfim</b>	06	03	01	06	05	08	<b>29</b>
<b>Cantá</b>	03	03	06	04	09	09	<b>34</b>
<b>Caracaraí</b>	02	04	23	20	16	17	<b>82</b>
<b>Caroebe</b>	02	02	01	02	02	04	<b>13</b>
<b>Iracema</b>	02	01	02	04	05	02	<b>16</b>
<b>Mucajá</b>	04	03	02	07	05	09	<b>30</b>
<b>Normandia</b>	08	03	03	07	07	04	<b>32</b>
<b>Pacaraima</b>	03	10	02	08	05	06	<b>34</b>
<b>Rorainópolis</b>	03	09	06	04	10	01	<b>33</b>
<b>São João da Baliza</b>	03	00	02	03	02	05	<b>15</b>
<b>São Luiz</b>	08	01	00	00	05	01	<b>15</b>
<b>Uiramutã</b>	00	12	09	08	17	12	<b>58</b>
<b>Município ignorado</b>	00	01	00	00	00	00	<b>01</b>
<b>TOTAL</b>	<b>126</b>	<b>126</b>	<b>175</b>	<b>209</b>	<b>225</b>	<b>191</b>	<b>1052</b>

Tabela 2. Mortalidade infantil no estado de Roraima no período de 2010 a 2015.

Fonte: DATASUS (2018)

Restringindo este resultado apenas às crianças indígenas (405 casos) há uma mudança considerável no cenário de ocorrência de óbitos quanto ao local de residência, de forma que o município de Alto Alegre passa a ser o detentor do maior número de óbitos, 116 casos, seguido de Caracaraí com 63 casos e do Uiramutã com 59 óbitos. Os municípios de São João da Baliza e de Rorainópolis apresentaram o menor número de óbitos em crianças indígenas totalizando 02 casos e 01 caso, respectivamente.

No município de Alto Alegre o percentual de óbitos infantis na população indígena foi de 4,9%, levando em consideração que o número de nascimentos indígenas para este município foi 2.736, enquanto os outros 14 municípios do estado apresentaram

juntos um percentual de óbito infantil de 2,6% para 10.747 nascimentos.

Quando se estabelece uma comparação entre indígenas e não indígenas com relação ao número de óbitos infantis, tem-se que no período de 2010 a 2015 houve 405 óbitos de crianças indígenas, 517 de crianças não indígenas e 130 óbitos de crianças com raça ignorada no sistema (Tabela 3).

RAÇA	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
INDÍGENA	31	35	67	110	88	74	405
NÃO INDÍGENA	84	81	89	70	112	81	517
IGNORADA	11	10	19	29	25	36	130
<b>TOTAL</b>	<b>126</b>	<b>126</b>	<b>175</b>	<b>209</b>	<b>225</b>	<b>191</b>	<b>1052</b>

Tabela 3. Mortalidade infantil entre indígenas e não indígenas do Estado de Roraima no período de 2010 a 2015.

Fonte: DATASUS (2018)

Quando o número de nascidos vivos é levado em consideração, no caso o de indígenas 13.123 e o de não indígenas 50.350, tem-se que 3% das crianças indígenas foi a óbito em Roraima, enquanto o percentual de óbitos de crianças não indígenas foi de 1%. Resultado que merece ser discutido em um estado em que aproximadamente 9,5% da população é indígena. Apesar disto, ao estabelecer uma comparação entre o percentual de óbitos infantis em Roraima (3%) e os outros cinco estados da região norte agrupados (3,59%), percebe-se que em Roraima o resultado foi discretamente menor.

Um fator relevante que merece ser ressaltado é a causa da morte das crianças menores de um ano em Roraima. De um total de 1.052 óbitos notificados no período do estudo, todos foram classificados no sistema DATASUS como ocasionados por causas que poderiam ser evitadas através de ações de assistência à saúde como: imunização, atenção à mulher no parto, adequada atenção à mulher no parto, adequada atenção ao recém-nascido, diagnóstico e tratamento adequado e ações de promoção à saúde.

Levando em consideração o critério raça (Tabela 4), percebe-se que dentre as mortes infantis que ocorreram em Roraima no período entre 2010 e 2015, a totalidade delas é claramente evitável através de ações muitas vezes simples, como a vacinação, a atenção ao parto e o controle nutricional. Convém ressaltar que este valor foi obtido pela somatória dos casos de mortalidade infantil entre indígenas (405), não indígenas (517) e aqueles que constam como raça ignorada (130).

CAUSAS DO ÓBTO	INDÍGENAS	NÃO INDÍGENAS
Reduzível por Imunização	03	02
Reduzível por Atenção à Mulher no Parto	23	138

Reduzível por Adequada Atenção à Mulher no Parto	11	39
Reduzível por Adequada Atenção ao Recém-nascido	36	76
Reduzível por Ações de Diagnóstico e Tratamento Adequado	85	29
Reduzível por Ações de Promoção à Saúde	167	33
Causas Mal Definidas	06	13
Causas Não Claramente Evitáveis	74	187
<b>TOTAL</b>	<b>405</b>	<b>517</b>

Tabela 4. Principais causas de óbito infantil em Roraima, por causas evitáveis, entre indígenas e não indígenas no período de 2010 a 2015.

Fonte: DATASUS (2018).

Dentre os 405 casos de mortes evitáveis entre as crianças indígenas de Roraima, tem-se como principais causas: Pneumonia (68 casos), configurando assim casos que poderiam ser evitados através de ações de diagnóstico e tratamento adequado, 107 casos de agressão, 23 de doenças infecciosas intestinais, 19 de desnutrição e 03 casos de síndrome de morte súbita na infância, estando estas quatro últimas causas relacionadas com a deficiência de ações de promoção à saúde.

De acordo com o IBGE, a Taxa de Mortalidade Infantil (TMI) em Roraima é de 18,1 óbitos para cada 1.000 nascidos vivos (IBGE, 2015). Todavia, quando faz-se uma análise comparativa desta taxa entre indígenas e não indígenas os resultados apontam uma significativa elevação dentre a população indígena (Tabela 5).

RAÇA	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<b>INDÍGENA</b>	19,60	18,36	27,92	43,51	40,45	29,21
<b>NÃO INDÍGENA</b>	9,50	9,10	10,7	8,50	13,96	9,94

Tabela 5. Taxa de mortalidade infantil entre crianças indígenas e não indígenas do estado de Roraima no período de 2010 a 2014.

Fonte: DATASUS (2018).

A média da TMI no período de 2010 a 2015 entre os não indígenas em Roraima foi de 10,28 óbitos/1.000 nascidos vivos, enquanto entre os indígenas o resultado foi aproximadamente o triplo, perfazendo um total de 29,84 óbitos por cada 1.000 nascidos vivos.

Por fim, ao realizar o teste qui-quadrado (nível de significância  $p < 0,05$ ) observou-se que houve associação estatisticamente significativa entre o desfecho mortalidade infantil indígena e o local de residência, no caso o município de Alto Alegre ( $p < 0,001$ ). E quando se avalia a relação existente entre ser indígena e ter mais chances de vir a óbito antes de completar um ano de idade comparando com crianças não indígenas, esta associação também se mostrou estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ). Fortalecendo estes resultados, o cálculo do Risco Relativo aponta que os indígenas que residem em Alto Alegre, município com maior percentual de óbitos infantis no

período estudado (116), têm 1,85 mais chances de morrer antes de completar um ano de idade quando comparado aos outros 14 municípios do estado e ainda que ser indígena em Roraima aumenta em 3,0 vezes esta possibilidade, corroborando assim o resultado da TMI.

#### 4 | DISCUSSÃO

Com intuito de fortalecer a produção de dados sobre a mortalidade infantil, padronizou-se internacionalmente a Taxa de Mortalidade Infantil, sendo essa o número de óbitos de crianças menores de um ano sobre o número de nascidos vivos (multiplicado por mil), indicando assim o risco de um recém-nascido evoluir para o óbito (UNITED NATIONS, 2000). A TMI é dividida em dois períodos distintos: o neonatal, que estima o risco de morte durante os primeiros 27 dias de vida e o pós-natal, o qual corresponde ao óbito ocorrente entre 28 dias até o final do primeiro ano de vida.

Com relação a TMI dos estados que compõem a Amazônia brasileira tem-se o seguinte *score*: Maranhão (36,5), Acre (28,9), Tocantins (25,6), Amazonas (25,1), Pará (23,0), Amapá (22,5), Rondônia (22,4) e Roraima (18,1) a cada mil nascidos vivos (IBGE, 2015). Observa-se desta forma que Roraima é o estado com a menor TMI da Amazônia e da região norte do país, contudo o contexto torna-se preocupante, haja visto que os resultados evidenciam que os óbitos infantis em Roraima entre 2010 e 2015 foram ocasionados por causas evitáveis.

Com o intuito de reduzir a TMI no Brasil, nas últimas décadas vários programas foram desenvolvidos pelo Ministério da Saúde entre eles destacam-se: o Programa de Imunização (1975); o Programa de Incentivo ao Aleitamento Materno (1981); o Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher e da Criança (1984); o Programa de Redução da Mortalidade Infantil (1995) e ainda o Programa de Agentes Comunitários de Saúde (1991) e o Programa Saúde da Família (1994). Além dos programas já citados, foram ainda implementados o Pacto Nacional pela Redução da Mortalidade Infantil e o Projeto Rede Cegonha (FRIAS; SZWARCWA; LIRA, 2011). Todavia, muitas vezes essas estratégias de saúde não conseguem alcançar as comunidades consideradas distantes dos grandes centros urbanos.

Sabe-se que desde de 1980, a TMI no Brasil vem decrescendo, contudo, os níveis atuais, ainda muito elevados, tornam a situação do país preocupante a nível mundial. Entre os anos de 1990 e 2007 a redução média foi de 4,8% ao ano (BRASIL, 2009). No ano de 2005, a média de mortalidade infantil no Brasil estava em torno de 25 mortes para cada mil nascidos vivos, ou seja, morriam anualmente mais de 76.000 crianças antes de completarem um ano de vida (DATASUS, 2016). Todavia, com o avanço dos programas, no ano de 2013 evidenciou-se a redução da TMI no Brasil para 17 mortes por mil nascidos vivos (IBGE, 2013).

Conforme citado anteriormente, a principal preocupação acerca da TMI de

Roraima não é seu resultado em si, mas seus fatores geradores, na maioria evitáveis, além da grande disparidade existente entre as populações indígenas e não indígenas, haja visto que a TMI para não indígenas foi de 10,28, enquanto para os indígenas foi de 29,84, aproximadamente o triplo, resultado reiterado ainda através do cálculo do Risco Relativo que apontou que um indígena tem três vezes mais chances de ir a óbito antes de completar um ano de idade do que um não índio.

A maior vulnerabilidade da população indígena roraimense evidenciada no presente trabalho é corroborada por outros autores que realizaram trabalhos em estados distintos como Ferreira, Matsuo e Souza, em pesquisa realizada com indígenas do Mato Grosso do Sul, quando afirmam que se a mortalidade infantil da população brasileira em geral é algo preocupante, e que no âmbito das comunidades indígenas isto se torna mais grave ainda, já que as condições desfavoráveis de saúde dos indígenas no Brasil são claramente observadas pela desigualdade nas taxas de mortalidade entre esses povos e a população em geral (FERREIRA; MATSUO; SOUZA, 2012). Outros pesquisadores complementam ainda ressaltando que existem muitas disparidades entre as taxas de mortalidade infantil ao se levar em consideração os diferentes espaços geográficos do Brasil, decorrentes possivelmente de distorções na estrutura econômica, educacional e social, como a concentração de renda (RODRIGUES; COSTA; SILVA et al., 2013).

As populações indígenas do Brasil apresentam um complexo perfil de saúde, diretamente relacionado a processos históricos, sociais, econômicos e ambientais atrelados à expansão territorial e econômica da sociedade em diversas regiões do país. Ao longo dos tempos, tais processos exerceram importante influência sobre os determinantes e indicadores dos perfis de saúde, quer seja através da introdução de novos agentes infecciosos, ocasionando graves epidemias ou da usurpação de suas terras, dificultando e muitas vezes inviabilizando a subsistência (SANTOS; COIMBRA, 2006).

Com relação as causas do óbito infantil indígena em Roraima, dos 1052 óbitos ocorridos no período estudado, todos foram classificados pelo DATASUS como relacionados a causas evitáveis, concordando assim com a pesquisa realizada por Sousa e Nations, no Ceará, onde os gestores de saúde apontam a pobreza, a falta de água tratada e a desnutrição como fatores determinantes para o aumento das taxas de mortalidade infantil, reconhecendo então, que este é um problema social associado ao processo educativo (SOUZA; NATIONS, 2011). Ou seja, problema que poderia ser evitado a partir da adoção de políticas públicas de saúde eficientes que levassem em consideração as características sociais, regionais, históricas e culturais da população.

Dentre as principais causas de óbito infantil indígena em Roraima, configuram os casos de Pneumonia (68 casos), corroborando os resultados produzidos a partir de estudo realizado com populações indígenas do Mato Grosso do Sul, onde as principais causas de óbitos em crianças menores de um ano foram as doenças do aparelho respiratório (27,8%), seguidas pelas doenças infecciosas e parasitárias (13,3%)

(FERREIRA; MATSUO; SOUZA, 2012). Um outro estudo, realizado com índios Guaranis, também apontou que a maioria das mortes de crianças com menos de cinco anos de idade estava relacionada com a ocorrência de Infecções Respiratórias Agudas e que o tratamento adequado da pneumonia, bem como a vacinação reduziram em 70% os óbitos (CARDOSO; COIMBRA; BARRETO et al., 2011).

O baixo poder aquisitivo, bem como a falta de saneamento básico e condições de higiene da população estão diretamente relacionados ao risco de morte para as crianças menores de um ano (UNITED NATIONS, 2000). Neste contexto, as infecções diarreicas e a desnutrição configuram como importantes causas de mortalidade infantil (CARDOSO; COIMBRA JR; BARRETO et al., 2011; TEIXEIRA, 2011).

A desnutrição em crianças menores de cinco anos é considerada um grave problema de saúde pública em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, devido a sua elevada prevalência e impacto sobre a morbimortalidade infantil, com prevalências que variam de 43 a 59% (UNICEF, 2013). Afeta de maneira direta o desenvolvimento cognitivo, aumenta o risco de infecção, de ocorrência de doenças crônicas, sendo considerada fator subjacente em cerca de 45% das mortes em menores de um ano de idade (SOUZA; BENÍCIO; CASTRO, 2012).

Tais afirmativas reforçam os resultados obtidos nesta pesquisa, onde 42 casos de óbitos infantis em Roraima entre 2010 e 2015 estavam associados a doenças infecciosas intestinais e/ou desnutrição. Tal situação torna-se ainda mais grave pela deficiência de informações acerca da real situação nutricional dos povos indígenas, uma vez que, devido as transformações socioeconômicas que atravessam, relacionadas inclusive à garantia da posse da terra e segurança alimentar, há uma conjuntura de fatores preditores para a instalação de quadros de má-nutrição (DATASUS, 2016).

No tocante à desnutrição, vários estudos defendem sua ocorrência como uma das mais relevantes causas de morte de crianças indígenas antes de completarem um ano de idade, processo este que se inicia desde a desnutrição da mãe durante a gestação, gerando assim um recém-nascido de baixo peso. Um estudo realizado com índios amazônicos observou a alta prevalência de desnutrição crônica, afetando mais de um quarto da população de crianças menores de cinco anos (LEITE; SANTOS; COIMBRA JR, 2007). Um outro trabalho, realizado em uma comunidade de índios Xavantes apontou que a frequência de casos de desnutrição em crianças era substancialmente alta quando comparada à população brasileira não indígena, demonstrando assim uma grande disparidade existente entre o perfil de saúde de indígenas e não indígenas (FERREIRA; WELCH; SANTOS et al., 2012).

Ainda neste contexto, um estudo realizado com índios sateré-mawé aponta que a precariedade da situação nutricional é um dos principais fatores relacionados à mortalidade infantil, uma vez que a disponibilidade de peixes diminui a cada ano e a comunidade não dispõe de um substituto com o mesmo valor proteico, afetando assim o estado nutricional das mães, o que influencia na saúde dos filhos desde a concepção, acarretando possivelmente uma redução de seu peso ao nascimento e

podendo continuar a afetar sua saúde posteriormente, caso sejam alimentados com leite pobre em proteínas nos primeiros meses de vida (TEIXEIRA, 2011).

Outra pesquisa realizada com populações da Amazônia ocidental verificou uma alta prevalência de déficit de estatura entre crianças, principalmente entre aquelas residentes na área rural e que possuíam ascendência indígena. Esses achados ressaltam a relação entre o isolamento geográfico, as desigualdades sociais, a vulnerabilidade e a desnutrição infantil (ARAÚJO; OLIVEIRA; MUNIZ et al., 2016).

Percebe-se desta forma que a situação de Roraima em relação à desnutrição de crianças indígenas é bastante semelhante a encontrada em outros estados do Brasil, reforçando assim, a comprovação da existência de um quadro de negligência dos direitos humanos básicos e a vulnerabilidade das populações indígenas.

Além das infecções e da desnutrição, um outro fator que deve ser considerado como relevante causa de mortalidade infantil entre os indígenas é a violência, haja visto que este estudo aponta que entre 2010 e 2015 um total de 107 crianças foram a óbito por esta causa. Convém ressaltar que entre algumas etnias indígenas é comum a prática do infanticídio, dentre elas a Yanomami, uma das etnias que compõe este estudo. Neste caso, este alto índice de mortes por violência antes do primeiro ano de vida pode estar associado a esta prática. Em algumas tribos indígenas o infanticídio é comum, aumentando assim a TMI. As vítimas costumam ser crianças com algum tipo de deficiência física e/ou mental, gemelares, crianças nascidas sem o sexo desejado, filhas de mãe solteira ou vistas como portadoras de azar para a comunidade. As razões para a prática do infanticídio são diversas, podendo ser agrupadas em torno de três critérios “a incapacidade da mãe em dedicar atenção e os cuidados necessários a mais de um filho; o fato do recém-nascido estar apto ou não a sobreviver naquele ambiente físico e sociocultural onde nasceu; e a preferência por um sexo (FEITOSA; GARRAFA; CORNELLI, 2010; ROSA, 2014).

Da perspectiva indígena amazônica, a humanidade não é garantida pelo fato de se nascer de uma mãe humana. As mulheres podem ser fecundadas por animais, espíritos e outras entidades não humanas que visam avançar os interesses da sua espécie dominando seus competidores. Para algumas tribos, gêmeos são gerados quando um espírito engravida uma mulher, não sendo desta maneira considerados humanos (GRANERO; HAKANI, 2011). De acordo com os Kaxinaw, as mulheres podem ser fecundadas por espíritos ao caminharem sozinhas na floresta ou à beira do rio, ou ainda através da visita de espíritos durante o sono. Crianças que nascem de tais uniões são suscetíveis a anomalias e deformidades, podendo ser classificadas uma “criança-espírito”, não devendo assim permanecerem vivas (LAGROU, 2007).

Outro resultado que merece ser discutido é a alta prevalência de óbitos infantis no município de Alto Alegre, com um total de 116 óbitos no período estudado. Alto Alegre é um município próximo à Boa Vista, situado a apenas 87 km de distância da capital do estado e possui aproximadamente 14.000 habitantes (IBGE, 2018). Este resultado suscita alguns importantes questionamentos que merecem ser levantados:

será que as comunidades indígenas estão tendo acesso aos serviços de saúde? Será que a rede de saúde está realmente cumprindo seu papel neste município? Ou ainda, será que a comunicação entre os profissionais de saúde e os indígenas ocorre de maneira adequada? Infelizmente, não é possível afirmar, a partir deste estudo, o porquê deste cenário, nem tampouco apontar alguma causa específica, todavia estudos epidemiológicos analíticos devem ser realizados para fornecer mais resultados que expliquem este quadro.

É sabido, no entanto, que essa realidade pode estar sendo construída a partir das limitações dos Distritos em atender as demandas de saúde da população indígena, já que como a maioria das instituições de saúde no país, o DSEI Leste e o Yanomami enfrentam dificuldades para atender os indígenas de maneira integral, principalmente no que diz respeito a insuficiência de profissionais para as atividades de assistência, atividades de supervisão e educação em serviço. São relatadas ainda a insuficiência no fornecimento de medicamentos e insumos básicos, falta de uma infraestrutura de transportes, comunicação e equipamentos para as unidades de saúde (BRASIL, 2012; BRASIL, 2016). Um outro fator que pode contribuir para a alta TMI é a estruturação deficiente do trabalho na área indígena, onde a organização dos serviços, de modo geral, é alicerçada principalmente no trabalho do agente indígena de saúde, o qual tem pouca capacidade para resolver os agravos (TEIXEIRA, 2011).

Além da ocorrência de doenças, da desnutrição e da violência, outros fatores também são apontados como relacionados ao aumento da TMI. Segundo o IBGE a educação materna pode atuar também como um fator preditor para o risco de mortalidade infantil (IBGE, 2016), sendo este fato consideravelmente aplicável a realidade indígena, onde a maioria da população tem baixa escolaridade.

Algumas pesquisas apontam ainda como um fator contribuinte para a mortalidade infantil, uma grande falha no processo de comunicação entre os profissionais de saúde e a comunidade, já que muitos profissionais utilizam práticas impositivas e unidirecionais que não contribuem para um processo de conscientização e educação em saúde, não se estabelecendo desta forma, um vínculo terapêutico entre o profissional de saúde e o usuário do sistema, ou seja as informações muitas vezes fundamentais para a manutenção da saúde e qualidade de vida não chegam às comunidades, ou quando chegam não são consideradas importantes (SOUSA, NATIONS, 2011).

Convém ressaltar que a principal limitação do presente estudo e provavelmente da maioria das pesquisas envolvendo indígenas é a precariedade e a fidedignidade das informações disponíveis, já que embora os sistemas de saúde ofereçam estimativas aceitáveis de indicadores de mortalidade para a população em geral (indígenas e não-indígenas), esses resultados podem ter a qualidade duvidosa ou serem subestimados no caso das populações indígenas isoladamente. Todavia, apesar das limitações, este estudo é uma importante contribuição para a produção de conhecimento e divulgação de dados acerca das condições de saúde e de vida das populações indígenas residentes em Roraima, haja visto a evidente escassez de informações sobre essas

comunidades costumeiramente tão negligenciadas.

## 5 | CONCLUSÃO

A Taxa de Mortalidade Infantil Indígena foi de 29,84, enquanto a da população não indígena foi três vezes menor (10,28). Logo, o Risco Relativo para o óbito infantil indígena foi três vezes maior que o relacionado às crianças não indígenas. A totalidade dos casos de óbito foi por causas evitáveis.

Houve associação estatisticamente significativa entre o desfecho mortalidade infantil indígena e o local de residência, no caso o município de Alto Alegre, apontando que os indígenas que residem em Alto Alegre têm 1,85 mais chances de morrer antes de completar um ano de idade quando comparado aos outros 14 municípios do estado.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, T.S.; OLIVEIRA, C.S.M.; MUNIZ, P.T.; SILVA-NUNES, M.; CARDOSO, M.A. Desnutrição infantil em um dos municípios de maior risco nutricional do Brasil: estudo de base populacional na Amazônia Ocidental Brasileira, **Rev Bras Epidemiol**, v. 19, n. 03, p. 554-566. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Manual de Vigilância do Óbito Infantil e Fetal e do Comitê de Prevenção do Óbito Infantil e Fetal**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI). Distrito Sanitário Especial Indígena Yanomami. **Plano Distrital de Saúde Indígena, 2012-2015**. Boa Vista: SISVAN, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena (SESAI). Distrito Sanitário Especial Indígena Leste de Roraima. **Relatório Técnico Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional**. Boa Vista: SISVAN, 2016.

CARDOSO, M.A.; COIMBRA JR, E.A.; BARRETO, C.T.G.; WERNECK, G.L.; SANTOS, R.V. Mortality among Guarani Indians in Southeastern and Southern Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 27, Sup 2, p. 222-236. 2011.

DATASUS. **Informações de Saúde**, 2016. Disponível em: <[http:// www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br)>. Acesso em: 18 janeiro 2016.

FEITOSA, S.F.; GARRAFA, V.; CORNELLI, G.; TARDIVO, C.; CARVALHO, S.J. Bioethics, Culture and Infanticide in Brazilian Indigenous Communities: the Zuruahá case. **Cad. Saúde Pública**, v. 26, p. 853-878. 2010.

FERREIRA, A.A.; WELCH, J.R.; SANTOS, R.V.; GUGELMIN, S.A.; COIMBRA JR, C.E.A. Nutritional status and growth of indigenous Xavante children, Central Brazil. *Nutrition Journal*, v.11, p. 3-19. 2012.

FERREIRA, M.E.V.; MATSUO, T.; SOUZA, R.K.T. Aspectos Demográficos e Mortalidade de Populações Indígenas do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 27, p. 2327-2339. 2011.

FRANÇA, E.; LANSKY, S. Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. **Mortalidade Infantil Neonatal no Brasil: situação**,

**tendências e perspectivas.** Belo Horizonte: UFMG, 2008.

FRANK, E.H.; CIRINO, A.C. Desteritorialização e Re-territorialização dos Povos Indígenas de Roraima: Uma Revisão Crítica. In: Barbosa IR, Melo FV (Org.). **Roraima: Homem, Ambiente e Ecologia.** Boa Vista: FEMACT, 2010.

FRIAS, P.G.; SZWARCOWALD, C.L.; LIRA, P.I.C. Estimação da Mortalidade Infantil no Contexto de Descentralização do Sistema Único de Saúde (SUS). **Rev. Bras. Saúde Mater. Infantil**, v. 11, p. 463-470. 2011.

GRANERO, F.S. Hakani e a Campanha Contra o Infanticídio Indígena: percepções contrastantes de humanidade e pessoa na Amazônia brasileira. **Mana**, v. 17. P. 131-159. 2011.

*GRUPO INTERAGÊNCIAS PARA ESTIMATIVAS SOBRE MORTALIDADE INFANTIL (GIEM). Levels and Trends in Child Mortality Report*, 2012. Disponível em: <<http://www.childinfo.org>>. Acesso em: 21 Julho 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Perfil dos Municípios Brasileiros**, 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 25 dezembro 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censos demográficos e contagem populacional. **Para os anos intercensitários, estimativas preliminares dos totais populacionais, estratificados por idade e sexo pelo MS/DE/Datasus.** Brasília: IBGE, 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas Nacional Digital do Brasil. Caderno Temático: populações indígenas.** Brasília: IBGE, 2016.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Portal do IBGE**, 2018. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 08 dezembro 2018.

LAGROU, E.L.S. **A fluidez da forma: arte, alteridade e agência em uma sociedade amazônica (Kaxinawa, Acre).** Rio de Janeiro: Topbooks, 2007.

LEITE, M.S.; SANTOS, R.V.; COIMBRA JR, C.E.A. Sazonalidade e Estado Nutricional de Populações Indígenas o caso Wari', Rondônia, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 23, p. 2631-2642. 2007.

RODRIGUES, B.R.; COSTA, D.A.R.S.; SILVA, R.A.R.; DARVIM, R.M.B.; TORQUATO, J.A.; OLIVEIRA, L.F.M. Mortalidade Neonatal: estudo epidemiológico em uma maternidade pública. **Rev. Enferm. UFPE**, v.7, p. 5958-5975. 2013.

ROSA, M. Nós e os Outros: concepções de pessoa no debate sobre infanticídio indígena no congresso nacional. **Espaço Ameríndio**, v. 8, p. 163-193. 2014.

SANTOS, R.V.; COIMBRA JR, C.E.A. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. Saúde Indígena no Brasil: persiste a carência de dados demográficos epidemiológicos. V Conferência Nacional de Estatística, 2006.

SOUSA, J.R.P.; NATIONS, M. Múltiplos Olhares Sobre a Mortalidade Infantil no Ceará, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 27, p. 260-268. 2011.

SOUZA, O.F.; BENÍCIO, M.H.D.A.; CASTRO, T.G.; MUNIZ, P.T.; CARDOSO, M.A. Desnutrição Em Crianças Menores de 60 Meses em Dois Municípios do Estado do Acre: prevalência e fatores associados. **Rev Bras Epidemiol**, v. 15, p. 211-221. 2012.

TEIXEIRA, P.; BRASIL, M. Demografia de um Povo Indígena da Amazônia Brasileira: os Saterémawé. **Rev. Bras. Est. Pop**, v. 28, p. 429-448. 2011.

UNICEF. **Situação Mundial da Infância**. Nova Iorque: UNICEF, 2008.

UNICEF. **Improving Child Nutrition: the achievable imperative for global progress**, 2013.  
Disponível em: <<http://www.unicef.org>>. Acesso em: 10 janeiro 2019.

UNITED NATIONS. **Millennium Declaration**, 2000. Disponível em: <<http://www2.ohchr.org>>. Acesso em: 15 dezembro 2018.

## O ÁLCOOL E SEUS EFEITOS NO SISTEMA NERVOSO

**Aline Reis Silva**

Universidade de Franca  
Franca – SP

**Amanda Augusto De Arruda**

Universidade de Franca  
Franca - SP

**RESUMO:** Atualmente o uso de álcool ocasiona inúmeros prejuízos ao organismo, em ambos sexos, feminino e masculino, gerando efeitos psicológicos e físicos, perante de efeitos tão agravantes, os órgãos de saúde mundial têm se preocupado cada vez mais com as taxas de alcoolismo no mundo e tentado abranger os efeitos do álcool. O objetivo deste trabalho foi abordar através de revisão de literatura sobre a atuação no organismo o efeito do álcool e suas diferentes reações, principalmente no Sistema Nervoso Central, sendo característica o aumento de sua concentração no sangue, seus efeitos adversos que irão diminuir a consciência, memória e sensibilidade, prejudicando a percepção do indivíduo, devido a ação dessa droga sobre o sistema nervoso central pelo alcoolismo, põe em risco a integridade física e mental do indivíduo.

**PALAVRAS-CHAVE:** álcool, sistema, nervoso, efeitos, metabolismo, crise, abstinência.

**ABSTRACT:** At present, the use of alcohol

causes numerous damages to the body, in both sexes, feminine and masculine, generating psychological and physical effects, in the face of such aggravating effects, the world health agencies have been increasingly concerned with the alcoholism rates in the world and The effects of alcohol. The objective of this study was to review the effect of alcohol and its different reactions, especially in the Central Nervous System, by means of a review of the literature on the action in the organism, being characterized by the increase of its concentration in the blood, its adverse effects that will decrease consciousness, Memory and sensibility, impairing the individual's perception, due to the action of this drug on the central nervous system by alcoholism, endangers the individual's physical and mental integrity

**KEYWORDS:** alcohol, nervous, system, effects, metabolism, abstinence, crisis.

### 1 | INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo de álcool é cada vez maior. Em 1996, a população brasileira consumiu 5,51 litros de álcool puro *per capita*, considerando apenas as pessoas com mais de 15 anos de idade. Entre 1970 e 1996, o consumo do álcool cresceu 74,53%. (1.)

A maioria dos bares em todo mundo

atualmente armazena uma ampla variedade de bebidas alcoólicas com diferentes concentrações de álcool etílico (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). Os tipos principais, seu teor alcoólico e método de produção aparecem no Quadro a seguir: (2.)

<b>Grupo</b>	<b>Exemplo de bebidas específicas</b>	<b>Teor de álcool % v/v</b>	<b>Produção</b>
<b>Cervejas</b>	Lager (leve)	3-6	Mosto de cerveja fermentado por levedura com lúpulo como aromatizante
	Ales (clara)	3-6	
	Stout (preta forte)	4-8	
<b>Vinhos de mesa</b>	Não efervescente: Tinto, branco e rosé	8-14	Fermentação de uvas esmagadas ou de suco de uvas
	Efervescente: Champanha	12	Segunda fermentação com retenção de dióxido de carbono
<b>Vinhos de sobremesa e coquetéis</b>	Xerez, Porto, Madeira, Vermute	15-20	Vinhos comuns a que se acrescentaria conhaque ou alto teor alcoólico e extratos de plantas como aromatizantes
<b>Bebidas Destilados</b>	Conhaque	40	Destilação direta de uvas amassadas fermentadas
	Uísque	37-40	Duplas destilação de cevada ou milho amassados
	Rum	40	Destilação de melaço fermentado
	Gim	37-40	Destilado sem sabor, aromatizado mediante segunda destilação com bagas de morango etc.
	Vodca	37-50	Destilação de cereais
<b>Licores</b>	Benedictine, Chartreine, Quirsche	20-55	Bebidas neutras com aromatizantes

Quadro (1). Produção e conteúdo de bebidas alcoólicas. (2.)

A principal razão do álcool é o seu efeito no sistema nervoso central. Uma dose pequena já pode estimular o organismo, assim seus efeitos causam alterações comportamentais como; os introvertidos se tornam mais extrovertidos, as pessoas podem se tornar mais seguras de si mesmas e até agressivas; assim, o efeito estimulante do álcool é resultado de desinibição e ansiedade. (2.)

Contudo é necessário lembrar que o consumo moderado de álcool (abaixo de 60g por dia para adultos do sexo masculino) não é prejudicial e pode ser benéfico, sendo que, o uso moderado pode está associado a uma menor incidência de doenças coronariana. (3.)

Concentração de álcool no sangue (CAS) (g /100 ml de sangue)	Estágio	Sintomas clínicos
0.01 - 0.05	Subclínico	- Comportamento normal
0.03 - 0.12	Euforia	- Euforia leve, sociabilidade, indivíduo torna-se mais falante - Aumento da autoconfiança desinibição, diminuição da atenção, capacidade de julgamento e controle Início do prejuízo sensorio-motor
0.09 - 0.25	Excitação	- Instabilidade e prejuízo do julgamento e da crítica - Prejuízo da percepção, memória e compreensão - Diminuição da resposta sensitiva e retardo da resposta reativa - Diminuição da acuidade visual e visão periférica - Incoordenação sensitivo-motora, prejuízo do equilíbrio - Sonolência
0.18 - 0.30	Confusão	- Desorientação, confusão mental e adormecimento - Estados emocionais exagerados - Prejuízo da visão e da percepção da cor, forma, mobilidade e dimensões - Aumento da sensação de dor - Incoordenação motora - Piora da incoordenação motora, fala arrastada - Apatia e letargia
0.25 - 0.40	Estupor	- Inércia generalizada - Prejuízo das funções motoras - Diminuição importante da resposta aos estímulos - Importante incoordenação motora - Incapacidade de deambular ou coordenar os movimentos - Vômitos e incontinência prejuízo da consciência, sonolência ou estupor
0.35 - 0.50	Coma	- Inconsciência - Reflexos diminuídos ou abolidos - Temperatura corporal abaixo do normal - Incontinência - Prejuízo da respiração e circulação sanguínea - Possibilidade de morte
0.45 +	Morte	- Morte por bloqueio respiratório central

Tabela (2) - Estágios da intoxicação pelo álcool. (4.)

Os efeitos do álcool podem ser considerados bifásicos, pois ele afeta diferentes sistemas de neurotransmissão do Sistema Nervoso Central (SNC) de maneira dose dependente, como por exemplo, se administrado em altas doses, ou no início de sua administração, ele causa efeitos estimulantes do SNC já em baixas doses ele causa

efeitos depressoress. (3.)

De modo geral, o abuso deste pode gerar a sua dependência, conhecida como alcoolismo. Segunda a Organização Mundial da Saúde (OMS), a síndrome de dependência do álcool pode ser definida como: “Um conjunto de fenômenos fisiológicos, comportamentais e cognitivos, no qual o uso da substância alcança uma prioridade muito maior para um determinado indivíduo que outros comportamentos que antes tinham mais valor. Uma característica descritiva central da síndrome de dependência é o desejo (frequentemente forte, algumas vezes irresistível) de consumir o álcool. Pode haver evidências que o retorno ao uso desta substância após um período de abstinência leva a um reaparecimento mais rápido de outros aspectos da síndrome do que ocorre com indivíduo não dependente.” (5.)

O alcoolismo é a intoxicação, aguda ou crônica, provocada pelo consumo abusivo de bebidas alcoólicas se constitui um problema médico quando modifica ou põe em risco a integridade física e mental do indivíduo. (6.)

As causas do alcoolismo podem ser didaticamente divididas em: (a) Ocasionais: quando o consumo ocorre devido o ambiente externo; (b) Secundárias: quando ocorre por consequência de um transtorno mental; (c) Psicopática- devido às características congênitas, que facilita o vício e (d) conflitos neuróticos- traços da personalidade condicionam a fixação do hábito. (7.)

A Organização Mundial da Saúde (OMS) não vê o consumo do álcool em si como um problema, mas considera que o uso excessivo e a falta de controle em certas situações podem se transformar em ameaça. Um total de 3,3 milhões de pessoas morrem todos os anos pelas consequências da bebida, equivalente a 5,9% de todas as mortes no mundo. No grupo das pessoas entre 20 e 39 anos, 25% das mortes têm uma relação direta com o álcool. O levantamento da OMS também constatou que o álcool pode causar mais de 200 doenças, incluindo mentais. Assim, os governos têm a responsabilidade de formular, implementar, monitorar e avaliar políticas públicas para reduzir o uso excessivo do álcool, sugere-se regular o marketing de bebidas, o acesso à compra e elevar impostos. (8.)

## 2 | OBJETIVO E METODOLOGIA

Para a elaboração deste artigo foi realizada revisão de literatura científica sobre a fisiologia do corpo humano e sobre a influência do álcool no organismo humano, a pesquisa dos artigos foi realizada no período de abril de 2017 a agosto de 2017, no portal de Periódicos Capes, Pub Med, CISA (Centro de Informações sobre saúde e Álcool), Google Acadêmico e Scielo.

Durante a pesquisa optou-se preferencialmente por artigos recentes que foram publicados após 2010, no entanto, foram encontrados artigos com conteúdo relevante publicados anteriormente a essa data e que são mencionados nesse trabalho.

Palavras-chave: álcool, sistema, nervoso, efeitos, metabolismo, crise, abstinência.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 O metabolismo do álcool

O álcool por ser uma molécula simples ela quando entra no organismo logo se espalha facilmente através do transporte pela membrana, como consequência disso ele alastrar-se rapidamente pelo sangue e sistemas. (9.)

Em um estômago vazio, a concentração de álcool no sangue atinge seu pico uma hora após a ingestão e depois declina de forma mais ou menos constante nas próximas quatro horas. O álcool é removido do sangue em uma taxa de 3,3 mmol/hora (15 mg/100 ml/hora), mas tal valor tem variante pessoal, de ocasião e quantidade consumido, em diferentes ocasiões de consumo e com o montante consumido, exigindo um enorme esforço metabólico nesse processo. (9.)

A maior parte do álcool ingerido é metabolizado no fígado pela ação da enzima álcool desidrogenase (ADH). Esta enzima converte o álcool em acetaldeído, que é tóxico para o organismo. A enzima aldeído desidrogenase (ALDH), por sua vez, converte o acetaldeído em acetato. A maior parte do acetato produzido, atinge outras partes do organismo pela corrente sanguínea onde participa de outros ciclos metabólicos. Por meio dessa via, a maior parte do álcool ingerido é metabolizada no fígado, onde o etanol sofre a ação da enzima álcool desidrogenase, mais precisamente da classe 1 de ADH, a mais abundante nas células hepáticas, convertendo-o em acetaldeído, esta substância por sua vez caracteriza-se pelo caráter toxicológico acentuado mesmo quando sintetizada em pequenas quantidades. Quando convertida em acetaldeído, o mesmo sofre a ação de outra enzima denominada aldeído desidrogenase que possui grande afinidade pelo tóxico acetaldeído (responsável por promover ao organismo quadros de náuseas e vômitos) e irá transformá-lo em acetato, este que foi formado no fígado destina-se à corrente sanguínea onde será captado e utilizado em outros tecidos, como por exemplo: coração e músculo esquelético onde será transformado em acetil CoA pela enzima acetil CoA sintase, entrando no Ciclo de Krebs com o objetivo de formar ATP entre outros produtos. (10.)

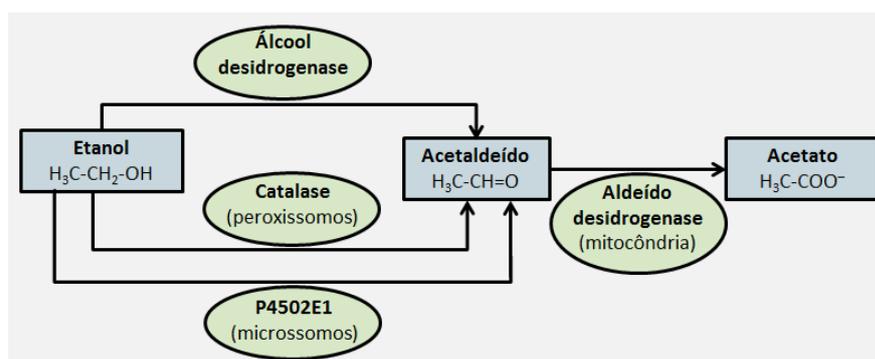
Assim que é ingerido, o álcool inicia seu trajeto dentro do organismo. Desde a ingestão até sua completa absorção estima-se em média 1 hora. O tempo de absorção do álcool dependerá de uma série de fatores, entre eles, temperatura, presença de CO<sub>2</sub>, a presença de alimento no estômago, o tipo de alimento ingerido antes de beber e a velocidade com que a pessoa o consumiu, (essa é uma das razões pelas quais se recomenda estar bem alimentado antes de beber. A presença de alimentos no sistema digestivo torna a absorção do álcool moderadamente mais lenta, já que este não é o único elemento a ser digerido). (10.)

Cerca de 0-5% do etanol é absorvido pela mucosa gástrica o restante é absorvido pela mucosa da boca, esôfago e intestino grosso, sendo a maior parte, 75% do álcool

é absorvido pelo intestino delgado. O álcool é transportado pelo sangue para todos os tecidos que contém água. A maior concentração de álcool encontra-se no cérebro, no fígado, no coração, nos rins e nos músculos. (10.)

Cerca de 90% a 95% do álcool ingerido é metabolizado no fígado por enzimas, sendo o restante da porcentagem os outros 10% se destinarão aos diversos tecidos do corpo humano caso o álcool tenha sido 90% metabolizado no fígado. Caso seu metabolismo no órgão seja menor aproximadamente de 80%, os 10% restantes são destinados aos tecidos enquanto que os outros 10% dele será expelido pela respiração ou excretado na urina. Um fígado saudável é capaz de metabolizar o álcool a uma taxa de 15mg/100ml de sangue a cada uma hora. As enzimas do fígado dividem o álcool em várias substâncias destacando-se como as mais importantes a acetaldeído e o ácido acético. (11.)

As enzimas que auxiliam nesse processo são a álcool-desidrogenase (ADH), que catalisa a oxidação a acetaldeído; a CYP2E1, principal componente do sistema microsomal hepático de oxidação do etanol (MEOS); e a catalase, localizada nos peroxissomas dos hepatócitos, responsável por apenas cerca de 10% da oxidação. Esta via metabólica remete à utilização das enzimas do grupo citocromo P450, mais especialmente a enzima CYP2E1 responsável por uma maior metabolização do etanol quando ingerido de forma exagerada do que moderadamente. O fato de o indivíduo desenvolver um quadro de alcoolismo leva ao aumento da produção de CYP2E1 em até dez vezes, além de criar uma maior resistência fisiológica ao álcool e maior produção de radicais livres, o que pode causar conseqüentemente um alto estresse oxidativo no fígado levando a adquirir lesões e inchaços. (12.)



Fonte: <http://www.cisa.org.br/artigo/5536/metabolismo-alcool.php>

Quando o álcool é consumido, ele entra na corrente sanguínea fazendo com que a hipófise bloqueie a produção da vasopressina - também conhecida como hormônio antidiurético (ADH), responsável pela conservação da água pelos rins. Esse efeito entra em prática através das percepções relativas ao plasma sanguíneo por receptores osmóticos localizados no hipotálamo. Quando há um aumento na concentração do plasma os osmorreguladores estimulam a produção de ADH. Tendo alcançado o sangue, o hormônio atua sobre os túbulos distais e sobre os túbulos

coletores do néfron, tornando as células destes mais permeáveis a água (13.). Através desse mecanismo, ocorre uma absorção maior do H<sub>2</sub>O e a urina, conseqüentemente, torna-se mais concentrada. Quando a concentração do plasma é baixa há inibição da produção do ADH e, por conseguinte, uma menor absorção da água nos túbulos distais e coletores, possibilitando maior excreção de H<sub>2</sub>O, o que torna a urina mais diluída. O álcool aumenta a diurese, suprimindo a produção de ADH. O acetaldéido inibe o hormônio antidiurético, o que faz a pessoa urinar mais e, por isso, perder líquido. (14.)

Imediatamente após a absorção e distribuição do álcool, iniciam-se a sua destruição e eliminação. Os rins eliminam 5% do álcool através da urina, os pulmões exalam 5% do álcool, de forma inalterada, e o restante sofre oxidação, pois o fígado quebra quimicamente o álcool restante em ácido acético. (15.)

### 3.2 Efeitos do álcool no sistema nervoso central

Os efeitos do álcool podem ser decorrentes da potencialização da transmissão GABAérgica, mediada pelos receptores GABA<sub>A</sub> (através de um sítio de ligação para etanol no complexo-receptor GABA<sub>A</sub>); pela inibição da transmissão glutamatérgica mediada pelos receptores NMDA e AMPA; pelo aumento da liberação de dopamina, serotonina e peptídeos opióides na via mesolímbica. Todos esses neurotransmissores parecem ter um papel importante nos efeitos do etanol, uma vez que sua manipulação altera de maneira marcante os efeitos comportamentais induzidos pelo álcool. (16.)

A tolerância e a dependência de etanol estão associadas a alterações na função dos receptores GABA<sub>A</sub>. A administração crônica de etanol atenua a potencialização mediada pelo etanol do influxo de Cl<sup>-</sup> induzido pelo GABA no córtex cerebral e cerebelo. Ocorre tolerância aguda ao etanol sem alteração no número de receptores GABA<sub>A</sub>, entretanto, a exposição crônica ao etanol altera a expressão das subunidades dos receptores GABA<sub>A</sub> no córtex e no cerebelo. As alterações na composição de subunidades dos receptores GABA<sub>A</sub> podem ser responsáveis pelas mudanças da função do receptor associadas ao uso crônico de etanol. Outros mecanismos sugeridos para o desenvolvimento de tolerância ao etanol incluem modificações pós-tradução dos receptores GABA<sub>A</sub> ou alterações nos sistemas de segundos mensageiros. A supra-regulação da expressão dos receptores NMDA que ocorre com o consumo prolongado de etanol pode responder pela hiperexcitabilidade associada à abstinência do etanol. (17.)

Transtorno Amnésico Alcoólico e Síndrome de Wernicke-Korsakoff: O uso de álcool pode produzir danos detectáveis à memória após apenas algumas doses e à medida que o consumo aumenta, também aumentam os danos ao cérebro. Altas quantidades de álcool, especialmente quando consumidas de maneira rápida e com o estômago vazio, podem produzir um “branco” ou um intervalo de tempo no qual o indivíduo intoxicado não consegue recordar detalhes de eventos ou até mesmo eventos inteiros. Sugerem-se que as mulheres são mais susceptíveis do que os homens para vivenciar esses efeitos adversos sob mesmas doses de álcool e essa ação parece

estar relacionada às diferenças orgânicas existentes entre homens e mulheres no metabolismo dessa substância. (18.)

A síndrome de Wernicke-Korsakoff refere-se a uma gama de sinais e sintomas neuropsiquiátricos que resultam de uma deficiência nutricional em tiamina (vitamina B1) que possui um papel central no catabolismo de hidratos de carbono e formação de neurotransmissores (19.). No princípio surge, a encefalopatia de Wernicke; que está relacionado a fase aguda da síndrome, caracterizada pelo estado de perturbação aguda e flutuante da atenção e do correto processamento dos estímulos originados do meio externo; oftalmoparésia (paralisia de um ou mais músculos extraoculares), e perda da coordenação motora. Com a progressão do processo patológico, a encefalopatia pode progredir para um quadro crônico – síndrome de Korsakoff – marcado por uma amnésia anterógrada; que é a incapacidade de formar novas memórias, e confabulação; produtos falsos da memória. Se a identificação e abordagem terapêutica desta síndrome forem tardias poderão surgir estupor, coma e, eventualmente, a morte. (20.)

Nos pacientes dependentes de álcool a deficiência de tiamina (DT) é comum e se deve a diversos fatores como: deficiência na ingestão; diminuição da conversão de tiamina em forma ativa; diminuição da capacidade de estoque hepático; inibição do transporte intestinal na presença de álcool no lúmen intestinal proximal; prejuízo na absorção de tiamina decorrente de alterações nutricionais no dependente de álcool. (21.)

### 3.3 Síndrome de abstinência do álcool

A síndrome de abstinência alcoólica pode-se caracterizar por uma alteração física e comportamental, com prejuízo cognitivo e fisiológico. O indivíduo em abstinência sente necessidade premente de consumir o álcool, com intuito de reduzir os sintomas pela sua falta. Uma das discutidas, por sua condição clínica de gravidade, é a síndrome de abstinência alcoólica (SAA). (22.)

A fisiopatologia não é totalmente conhecida, mas sabe-se que ela é dependente de neurotransmissores ligados ao uso contínuo de álcool. A ingestão aguda de álcool leva inicialmente a uma liberação de opioides endógenos causando euforia e reforço para o uso contínuo. Posteriormente há ativação dos receptores inibitórios GABA tipo A, que causam efeitos sedativos, ansiolíticos e alteradores da coordenação e inibição dos receptores excitatórios glutamato tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), causando mais sedação, intoxicação e distúrbios cognitivos. Em longo prazo, o uso crônico do álcool altera o número e a função dos receptores como uma resposta compensatória aos efeitos depressivos do álcool. Assim, há uma diminuição nos receptores GABA tipo A e um aumento nos receptores glutamato tipo NMDA. Tal adaptação crônica na ausência aguda do álcool leva ao estado de hiper excitação da síndrome de abstinência alcoólica. A síndrome ainda está associada à alteração nos níveis de liberação de noradrenalina e dopamina. A hiper estimulação adrenérgica deve-se a uma redução da atividade de adrenorreceptores inibitórios pré-sinápticos do subtipo, um fenômeno

conhecido como down-regulation (23.).

A hiperatividade de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) também está relacionada ao aumento da liberação noradrenérgica no locus ceruleus, observada após a retirada do álcool. Assim, algumas reações que podem ocorrer incluem taquicardia, hipertensão, náuseas, vômitos, midríase, sudorese, febre, tremores nas mãos e aumento da sensibilidade a estímulos sonoros e visuais, que em casos mais graves, delírios e alucinações. Esses sintomas não ocorrem na maior parte da população que bebe álcool ocasionalmente, pois é necessário manter níveis séricos de álcool aumentados para ocorrer a abstinência com duas semanas após a retirada do álcool. (24.)

**Geralmente ela pode ser dividida em dois níveis: SAA Nivel I e SAA Nivel II, havendo** uma série de fatores que se divergem em relação a SAA sendo que pode ocorrer com a retirada total ou parcial da dose cotidiana; tais como, variabilidade genética, dose de tolerância, estado psíquico e emocional, o gênero, padrões de consumo e fatores socioeconômicos, fazendo com que se diferencie os sinais e sintomas e a gravidade do indivíduo. (23.)

Síndrome	Achados	Tempo de aparecimento
Sintomas menores	Tremores, ansiedade, cefaleia, anorexia, palpitações	6 a 36 horas
Crises convulsivas	Crise generalizadas, em geral únicas ou até 6 episódios	6 a 48 horas
Alucinose	Visuais ou auditivas, mas senso de orientação preservado	12 a 48 horas
Delirium Tremens	Delirium, agitação, taquicardia, febre, diaforese, crise hipertensiva	48 a 96 horas

Quadro3. Manifestações da síndrome de abstinência alcoólica. (23.)

A SSA I, trata-se de uma versão leve da Síndrome de Abstinência do Álcool que se caracteriza por o indivíduo estar orientado no tempo e no espaço, há o juízo crítico da realidade preservado, a ansiedade é leve, presença de agitação psicomotora discreta, os tremores são finos de extremidades com sudorese discreta, náuseas sem vômitos porém sem complicações clínicas ou psiquiátricas. (25.)

Na SSA II, a principal característica é o Delirium Tremens, um estado mais grave e potencialmente letal se comparado a SSA I, pois já há o rebaixamento do nível de consciência, forte desorientação do tempo – espaço, comprometimento do juízo crítico da realidade (concepção delirante), alucinações auditivas, visuais e táteis, a ansiedade é mais intensa com agitação psicomotora grave, tremores grosseiros das extremidades, sudorese profusa, presença de vômitos podendo haver complicações clínicas ou neurológicas. (26.)

Delirium Tremens (DT) é um estado de confusão breve, mas com risco de vida. É geralmente decorrência de uma abstinência absoluta ou relativa de álcool em usuários gravemente dependentes, com uma longa história de uso. O início ocorre após abstinência de álcool porém pode ocorrer durante um episódio de consumo excessivo de bebidas alcoólicas. Os clássicos sintomas abrangem obnubilação de consciência, representando o primeiro grau da confusão mental ou pode constituir a fase inicial da instalação do coma, confusão, alucinações e ilusões vívidas, afetando qualquer modalidade sensorial e é marcado pelos tremores, delírios, agitação, insônia ou inversão do ciclo do sono e hiperatividade autonômica estão também usualmente presentes. (27.)

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo de álcool na sociedade é crescente, e o alcoolismo é um grande problema de saúde pública, onde 5,7% dos brasileiros são dependentes de bebidas alcoólicas ou outras drogas, índice que representa mais de 8 milhões de pessoas. (28.)

Como citado anteriormente os danos do álcool ao cérebro, como: dificuldades em andar, visão borrada, fala arrastada, tempo de resposta retardado e danos à memória. De maneira clara, o álcool afeta o cérebro. Uma série de fatores podem influenciar o como e o quanto o álcool afeta o cérebro, a saber: (a) Quantidade e frequência de consumo de álcool; (b) Idade de início e o tempo de consumo de álcool; (c) Idade do indivíduo, nível de educação, gênero sexual, aspectos genéticos e histórico familiar de alcoolismo; (d) Risco existente de exposição pré-natal ao álcool; e (e) Condições gerais de saúde do indivíduo. (29.)

Recentemente com os avanços dos meios de comunicação, a mídia tem difundido a ideia de que o consumo do álcool oferece riscos mínimos ao organismo, ofertando cada vez mais diferentes tipos de bebidas, e personificando-a como algo que deve estar presente no convívio social das pessoas, nos momentos de lazer, ou até mesmo a ser utilizado para relaxamento do estresse do dia-a-dia. Diante dessa questão, diversas organizações sem fins lucrativos, estabelecimentos acadêmicos, e o governo vem tentando conscientizar a população de diversas faixas etárias, dos malefícios que o uso do álcool pode trazer tanto na parte física como mental, e como ele já se tornou um problema de saúde pública e que deveria ser tratado de forma mais afunda.

#### 5 | CONCLUSÃO

Diante dos dados apresentados nesse trabalho foi possível concluir que o álcool possui um efeito devastador no organismo, causando inúmeros danos à saúde. Quando avaliamos o efeito do álcool no organismo podemos observar que ele causa diversos efeitos no organismo, porém seu principal sítio de ação sendo o sistema

nervoso central, no qual causa danos irreversíveis.

Pela faixa etária de consumo estar cada vez mais diminuindo, sendo antagonista do desenvolvimento adequado do organismo, percebe-se que os jovens adquirem precocemente doenças relacionadas ao consumo, tal como retardo mental, dificuldade de aprendizagem, falta de sensibilidade na coordenação motora, tornando-se algo que não pode ser revertido.

## REFERÊNCIAS

O álcool e seus efeitos no sistema nervoso; Costa, Rita Mara Reis; UNICEUB; Brasília, 2003.

Tóxicos e outros vícios, problemas e soluções; Jaffe, Jerome; Peterson, Robert; Hodgson, Ray; Copyright, 1981; Brasil.

Drogas psicotrópicas e seu modo de ação; Graeff, Frederico Guilherme; 2ed.; São Paulo: EPU, 2005.

Álcool e Sistema Nervoso Central; <http://www.cisa.org.br/artigo/229/alcool-sistema-nervoso-central.php>

Psicofarmacologia: fundamentos práticos; Almeida, Reinaldo Nóbrega de; Guanabara Koogan; Rio de Janeiro, 2006.

Farmacologia; Silva, Penildon; São Paulo: Manole, 1997. Cap.39

Tolerância e dependência celular; Littleton, J.; G, Edwards; M., Lader; Artes Médicas; Porto Alegre, 1994

Consumo de Álcool aumenta 43,5% no Brasil em dez anos, afirma a OMS; <http://saudeglobal.org/2017/06/03/consumo-de-aumenta-435-no-brasil-em-dez-anos-afirma-oms/>.

Exploring alcohol effects on Liver Function. Alcohol Health and Research World. Vol 21, No. (<http://www.niaaa.nih.gov/publications/arh21-1/05.pdf>)

Metabolismo do etanol. (<https://pt.scribd.com/presentation/58107206/Metabolismo-Do-Etanol>).

Diversidade de Enzimas que Participam no Metabolismo do Álcool. <http://bioquimicadoalcool.blogspot.com.br/2012/06/diversidade-de-enzimas-que-participam.html>.

Fígado e o Álcool: Via Oxidativa. <http://bioquimicadoalcool.blogspot.com.br/2012/06/figado-e-o-alcool-via-oxidativa.html>

Ressaca: O dia depois do álcool. <http://bioquimicadoalcool.blogspot.com.br/2012/06/ressaca-o-dia-depois-do-alcool.html>

Concentração e Diluição da Urina. [http://www.digimed.ufc.br/wiki/index.php/Concentra%C3%A7%C3%A3o\\_e\\_Dilui%C3%A7%C3%A3o\\_da\\_Urina](http://www.digimed.ufc.br/wiki/index.php/Concentra%C3%A7%C3%A3o_e_Dilui%C3%A7%C3%A3o_da_Urina)

Como Funciona o Álcool. (FREUDENRICH, 2010) *FREUDENRICH, Craig*.  
Psicofarmacologia Fundamentos Práticos; Almeida, R. N.

Farmacologia da Neurotransmissão GABAérgica e Glutamatérgica; Stuart A. Forman, Janet Chou, Gary R. Strichartz e Eng H. Lo.

Efeitos danosos do álcool no cérebro: <http://www.cisa.org.br/artigo/274/efeitos-danosos-alcool-no-cerebro.php>

Alcoolismo e deficiência de tiamina associada à síndrome de wernicke-korsakoff - Kíssila de Cássia Vieira Thomaz, Marta Lamounier Moura Vargas Corgozinho, Philippe Vieira Saldanha, Andres Marlo Raimundo de Paiva

Síndrome de wernicke-korsakoff -revisão literária da sua base neuroanatômica [http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=s0871-34132013000300004](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0871-34132013000300004)

Alcoolismo e deficiência de tiamina associada à síndrome de wernicke-korsakoff - Kíssila de Cássia Vieira Thomaz, Marta Lamounier Moura Vargas Corgozinho, Philippe Vieira Saldanha, Andres Marlo Raimundo de Paiva

**Psiquiatria para enfermagem; Carvalho, Marissol Bastos, Editora Rideel.**

**Rodrigo Antonio Brandão Neto**; Médico Assistente da Disciplina de Emergências Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP [http://www.medicinanet.com.br/conteudos/casos/5136/sindrome\\_de\\_abstinencia\\_alcoolica](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/casos/5136/sindrome_de_abstinencia_alcoolica).

**Enfermagem psiquiátrica em suas dimensões assistenciais; Stenelli, Meguida Costa; Fukuda, Iza Marlene Kuae; Arantes, Evalda Caçado; Editora Manole.**

**Diretrizes para a abordagem da abstinência alcoólica-** Alexandre de Araújo Pereira

**Rodrigo Antonio Brandão Neto** Médico Assistente da Disciplina de Emergências Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP [http://www.medicinanet.com.br/conteudos/casos/5136/sindrome\\_de\\_abstinencia\\_alcoolica](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/casos/5136/sindrome_de_abstinencia_alcoolica).

Consenso sobre a Síndrome de Abstinência do Álcool (SAA) e o seu tratamento - Ronaldo Laranjeira (SP), Sérgio Nicastri (SP), Claudio Jerônimo (SP), Ana C Marques (SP) e equipe.

Segundo pesquisa, 28 milhões têm algum parente dependente químico. Levantamento feito pela Unifesp mapeou os usuários em reabilitação. 8 milhões de brasileiros são dependentes de maconha, álcool ou cocaína. <http://g1.globo.com/ciencia-e-saude/noticia/2013/12/28-milhoes-tem-algum-familiar-dependente-quimico-diz-pesquisa.html>.

Álcool e o sistema nervoso central. <http://www.cisa.org.br/artigo/229/alcool-sistema-nervoso-central.php>.

## O PERFIL CLÍNICO - EPIDEMIOLÓGICO DA MALÁRIA EM UM MUNICÍPIO DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

### **Raquel Alves Fernandes**

Universidade do Estado do Pará  
Marabá – Pará

### **Joyce dos Santos Brasil**

Universidade do Estado do Pará  
Marabá – Pará

### **Daniela Soares Leite**

Universidade do Estado do Pará - Departamento  
de Morfologia e Ciências Fisiológicas  
Marabá - Pará

**RESUMO:** A malária é uma doença tropical causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. A Amazônia brasileira é a área com o maior risco de transmissão da malária no país, O objetivo desse trabalho foi traçar o perfil epidemiológico dos pacientes com malária no período de 2010 a 2015, no município de Marabá-PA. Foram utilizados dados secundários, do Sivep-malária da SMS do município. As variáveis analisadas foram: incidência, casos autóctones ou importados, gênero, espécie do parasito causador, infecção durante a gravidez e índice parasitário anual. Para análise dos dados utilizou-se o teste do qui-quadrado, no programa Biostat 5.0. O Índice parasitário anual (IPA) de casos de malária em Marabá em 2010 foi de 3,7, seguido pelo ano de 2011 com 2,7, a partir do ano de 2012 o IPA caiu drasticamente para 0,68, seguido pelos anos

2013, 2014 e 2015, que apresentaram um IPA de 0,1, 0,07 e 0,01 respectivamente. A origem da contaminação revelou que 51% dos casos no período estudado foram de origem importada e 49% autóctones, não havendo uma diferença estatística significativa entre os anos. O sexo masculino foi o mais acometido pela doença (67%). A espécie parasitária mais comum foi o *Plasmodium vivax*. Os casos de malária estão sofrendo uma redução ao longo dos anos, e isso se deve a diversos fatores, como um melhor acesso ao diagnóstico e tratamento da doença, ao combate dos vetores, e ao trabalho constante da vigilância epidemiológica, apesar da subnotificação ainda ser um grande problema na mensuração dos numerosos reais de casos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Malária; *Plasmodium*; Epidemiologia

**ABSTRACT:** Malaria is a tropical disease caused by protozoa of the genus *Plasmodium* (Aconoidasida: Haemosporida: Plasmodiidae). The Brazilian Amazon is the area with the highest risk of malaria transmission in the country. The aim of this study was to trace the epidemiological profile of malaria patients between 2010 and 2015, in the Municipality of Marabá, State of Pará, North Brazil. Secondary data were used, of Sivep-malaria of the Municipal Health Department of the municipality. The variables analyzed were the incidence native or imported

cases, genus, species of the causative parasite infection during pregnancy and parasitic annual index. Data analysis used the Chi-Square Test, the Biostat 5.0. The annual parasitic index (IPA) of malaria cases in Marabá in 2010 was 3.7, followed by the year of 2011 with 2.7, from the year 2012 the IPA drops sharply to 0.68, followed by the years 2013, 2014 and 2015, which presented an IPA of 0.1, 0.07 and 0.01 respectively. Data on the contamination site revealed that 51% of the cases in the period studied were of imported origin and 49% were native, and there was no significant statistical difference between the years. Males were the most affected by the disease (67%). The most common parasitic species was *Plasmodium vivax*. Malaria cases are suffering a reduction over the years, and this is due to several factors, such as better access to the diagnosis and treatment of the disease, to the control of the vectors, and to the constant work of epidemiological surveillance, although underreporting is still a great problem in the measurement of the actual numbers of cases.

**KEYWORDS:** Malaria; *Plasmodium*; Epidemiology; Environmental health.

## 1 | INTRODUÇÃO

A malária é relatada como a doença de febres intermitentes desde a antiguidade. No Império Romano, as febres intermitentes eram tão comuns que uma das xingações era “Quartana te teneart” (Que a quartã te pegue). O nome malária vem de ‘mal’aire’, que significa ‘mau ar’, isso se deve ao fato que as pessoas acreditavam que a doença vinha de emanações dos pântanos fétidos, e por isso, ela também é conhecida pelos nomes paludismo e febre palustre. Ela é conhecida mundialmente como uma das mais graves doenças parasitárias no mundo, devido as inúmeras mortes que provoca por causa de sua gravidade (Braz, 2013 et al., Parize et al., 2012). Causada por protozoários, a malária é transmitida para o homem através da picada da fêmea do mosquito infectado. No Brasil, ela é transmitida por três espécies parasitárias: O *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium maláriae*. O *P. Vivax* é responsável pela maioria dos casos de infecções da doença no país (Brasil, 2013). Além da transmissão através da picada da fêmea do mosquito, a doença também pode ser transmitida por outros meios menos comuns, como em acidentes laboratoriais, compartilhamento de agulhas ou seringas contaminadas, transfusões sanguíneas e por via congênita (Ferreira et al., 2012). Nesse contexto de transmissão por meios menos comuns, a malária por via congênita aumenta os riscos da doença para a mãe e para a criança, podendo causar aborto espontâneo, natimortalidade, prematuridade e baixo peso ao nascer. Sendo a doença responsável por uma importante causa de mortalidade infantil. A endemicidade da região onde a mulher grávida reside está diretamente associada ao efeito que a doença exerce sobre a grávida e o feto ou o recém-nascido (Alves et al., 1995; Chagas et al., 2009). A malária tem sua incidência associada a interação de diversos fatores, como o uso da terra, as transformações causadas pela ação do homem, fatores biológicos, ambientais, sociais, políticos, e todos eles devem

ser estudados, para poder criar medidas de prevenção e adesão ao tratamento. Para que seja feito um efetivo controle da malária, é necessário que além da identificação e intervenção dos fatores determinantes, haja também o conhecimento das variações sazonais, cíclicas e históricas da doença em cada local (Braz et al., 2013).

A malária é uma doença presente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, afetando quase 50% da população, presente em mais de 109 países e territórios e, anualmente, resulta na perda de inúmeras vidas (Parise et al., 2012) A África Subsaariana responde por 90% de todos os casos e óbitos por malária no mundo. O número de casos de malária no mundo no ano 2000 foram de 262 milhões de casos (intervalo entre 205 a 316 milhões), e de 839 mil mortes, no ano 2015 foram 214 milhões de casos (intervalo entre 149 a 303 milhões) e 438 mil mortes (Parise et al., 2012; WHO, 2015).

No Brasil, a quantidade de casos registrados de malária ainda é alto, ela concentra-se sobretudo na área da Amazônia Legal, registrando 99% dos casos no país, causado principalmente pelo *P. Vivax* e *P. falciparum* (Brito et al., 2016; Ferreira et al., 2012). Na década de 40, o números de casos de malária no Brasil equivalia a 6 milhões, todas as áreas eram endêmicas, exceto o estado do Rio Grande do Sul, e o que hoje corresponde ao Distrito Federal. Ao longo dos anos, com o combate à malária e o crescimento econômico do Brasil, o número de casos e as áreas atingidas pela malária foram diminuindo (Brasil, 2016). Já na década de 60, os casos de malária na região extra-amazônica superaram os casos de malária da região amazônica, a Campanha de Erradicação da Malária foi implantada e houve uma grande redução dos casos, que se estende até hoje. No período de 1960 a 1976 a região amazônica registrou uma média de 80 mil casos de malária por ano. A partir de 1977, o Brasil iniciou uma fase de implantação de projetos de colonização, mineração, abertura de rodovias e instalação de usinas hidrelétricas nessa região, e em virtude disso houve um intenso fluxo migratório de pessoas para a região amazônica, o que fez com que em 1989, os casos de malária chegassem a quase 560.00 (Brasil, 2016; Loiola et al., 2002). Do ano de 1990, em diante, a malária no Brasil apresentou um “efeito serrrote”, em alguns anos o número de casos diminuíram, e em outros anos, o número de casos aumentaram. Em 1993, 483.367 casos de malária foram notificados, em 1999 foram notificados 637.474 casos, em 2002 houveram 349.896 casos, e em 2005 esse número subiu para 607.751 casos, ocorrendo um aumento de 74% nas notificações comparado a 2002 (Brasil, 2013; Brasil, 2016). Em 2006, com a introdução dos esquemas terapêuticos de primeira linha com derivados de artemisinina para o tratamento do *P. falciparum*, teve início uma queda na incidência de casos nos anos seguintes. Ainda neste ano foram registrados 550.847 casos, em 2008 foram 315.808 casos, o ano de 2010 apresentou um aumento, com 334.709 registros, e a partir de 2011 iniciou-se uma queda no números de casos, que permanece até os dias atuais. Tanto que em 2014, com 144.100 casos, a malária apresentou o menor número de casos dos últimos 35 anos no Brasil. (Brasil, 2013; Brasil, 2016). Em 2014 foram registados 559 casos de

malária na região Extra-Amazônica, 54 casos são autóctones dos estados da Bahia, Santa Catarina, São Paulo, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Piauí, Rio de Janeiro. Destes casos, 273 tiveram a região Amazônica como local provável de infecção, e 232 tiveram outros países como local provável de infecção (Brasil, 2015).

Na Região Amazônica Desde a década de 1870 quando teve início o ciclo de exploração da borracha na Amazônia, a malária se tornou um sério problema de saúde pública. Ela é uma doença de notificação compulsória regular na região amazônica, e possui grande prevalência nos habitantes que ali residem, seus efeitos debilitantes contribuem para que ocorra uma diminuição na qualidade de vida desses habitantes, logo, ela é responsável por perdas sociais e econômicas da população, sobretudo da daquelas que vivem em locais de condições precárias de habitação e saneamento básico (Brasil, 2015; Miguel, 2011; Renault et al., 2007). A Amazônia brasileira é a área com o maior risco de transmissão da malária no país, isso deve-se a diversos fatores, como: o processo migratório, atividades garimpeiras, produção agrícola, pecuária, desmatamento, construção de hidrelétricas, áreas indígenas, ocupação de espaços periurbanos, extrativismo vegetal, aumento da população de mosquitos e resistência aos antimaláricos (Braz et al, 2013; Brito et al., 2016). Esses fatores, juntamente com os programas de controle e prevenção da malária fazem com que ela tenha uma transmissão variável entre os diferentes estados e municípios da região amazônica (Brasil, 2015). Todos os estados que compõem a região amazônica apresentaram uma redução de casos entre os anos 2000 a 2011; O Acre foi a única exceção. O Maranhão apresentou a maior queda do número de casos, com 95,5%, logo após vem Tocantins, com 95,4%, Mato Grosso com 86,1%, Roraima 61,0%, Pará 58,8%, Amapá 46,2%, Rondônia 43,8% e Amazonas com 38,1% (BRASIL, 2013). O Sivep-Malária (2015) registrou 333.429 casos de malária em 2010, em 2011 foram 265.382 casos, 2012 apresentou 241.806 casos, em 2013 foi registrado 177.789 casos, 2014 com 143.552 casos e 2015 com 142.644 casos (Gráfico 2). Houve uma redução no número de casos nos estados da região norte, essa redução abrangeu todos os agrupamentos de áreas analisadas: urbana (-22%), indígena (-22%), garimpo (-43%), assentamento (-17%) e no restante da área rural (-11%) (Brasil, 2015).

No Pará O Sivep-Malária (2015), registrou que o estado do Pará em 2010 apresentou 135.822 casos de malária, em 2011 foram 115.638 casos, esse valor reduziu para aproximadamente 79 mil casos em 2012, já em 2013 foram 24.860 casos, 2014 com 11.251 casos e esse número caiu para 9.421 casos em 2015. Em 2011, o Pará registrou o maior percentual de casos de malária em assentamentos 37% e garimpos 82 % (Brasil, 2013; Brasil, 2015). Os casos autóctones de malária por *P. falciparum* reduziram em 21% no ano de 2014, a redução foi de 28.203 casos para 22.179 casos. Entretanto, o Acre (30%) e o Pará (18%) conservaram-se como os estados com os maiores percentuais de casos de malária por *P. falciparum* (Brasil, 2015).

A malária continua sendo um dos principais problemas de saúde pública do mundo e uma das principais causas de morbidade na região Amazônica, a qual concentra

mais de 99% dos casos de malária no Brasil (Brasil, 2016). O estado do Pará ocupa o segundo lugar no ranking de ocorrência de casos, apesar dos significativos avanços no controle da doença, com grande redução do número de casos. Nos últimos trinta anos, o estado do Pará tem sido assolado por um processo de desmatamento de sua cobertura nativa, com a derrubada descontrolada de suas matas e queimadas. O sul e o sudeste do Estado, onde se concentram grandes projetos madeireiros e agropastoris, são as áreas mais atingidas pelas queimadas e pelo desmatamento de árvores. O município de Marabá, no estado do Pará, constitui um dos maiores e mais importantes polos da região sudeste do Pará, sendo de fundamental importância ter uma constante avaliação da incidência da malária nessa área, com o intuito de contribuir para o planejamento das ações governamentais no combate à transmissão da doença.

Assim, o objetivo desse trabalho foi traçar o perfil epidemiológico dos pacientes com malária no município de Marabá-PA, no período de 2010 a 2015.

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo, transversal, quantitativo, de caráter retrospectivo realizado no município de Marabá-PA. As amostras estudadas foram constituída exclusivamente por dados secundários de malária disponíveis no Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica (SIVEP-Malária), sistema este, que tem como objetivo coletar dados gerados da Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (SVS/MS), por meio das fichas de notificação compulsória da doença disponibilizadas pelo Departamento de Vigilância em Saúde, da Secretaria Municipal de Saúde de Marabá-PA.

Os critérios de inclusão foram as notificações registradas de casos positivos de malária no município no período de janeiro de 2010 à dezembro de 2015. Os critérios de exclusão foram as notificações de casos negativos e casos tratados de malária no período de janeiro de 2010 à dezembro de 2015.

Foram analisadas as seguintes variáveis: número de casos positivos por ano (incidência); índice parasitário anual (IPA); origem da contaminação (casos autóctones ou importados); números de casos por unidade notificante; distribuição dos indivíduos acometidos por sexo; espécie do parasite causador; correlação entre a infecção durante a gravidez e a espécie do parasita causador.

O índice parasitário anual foi calculado usando o número de exames de malária positivos dividido pelo número total da população (foi utilizado os dados do censo demográfico e estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para os anos de estudo) X 1000. É considerada de baixo risco quando o  $IPA < 10/1.000$  hab.; médio risco quando o  $IPA 10-49/1.000$  hab. e alto risco quando  $IPA > 50/1.000$  hab. Os resultados das variáveis investigadas no período do estudo foram expostos de

forma descritiva e quantitativa, baseados na análise retrospectiva de dados referentes a situação epidemiológica da malária em Marabá.

Para a realização da análise estatística, os dados coletados foram representados em forma de tabelas e gráficos no Microsoft Excel 2013, e submetidos à análise descritiva e de comparação de médias por meio da utilização do programa Bioestat 5.0. O teste utilizado foi Qui-Quadrado, que tem como princípio comparar as proporções, ou seja, as possíveis diferenças entre frequência observada e frequência esperada para um determinado valor, e o Exato de Fischer, que é um teste não paramétrico e verifica se duas amostras independentes provieram da mesma população (Ayres et al., 2007). As diferenças foram consideradas significativas quando a probabilidade ( $p$ ) do erro foi inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

A pesquisa foi regida de acordo com as normas éticas para pesquisa envolvendo seres humanos, estabelecidas pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UEPA, via <http://plataformabrasil.saude.gov.br> e aprovado sob parecer 2075556, em maio de 2017.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de 2010 a 2015 foram notificados no Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica (SIVEP-Malária) 1.760 casos de malária no município de Marabá-PA. O ano de 2010 apresentou o maior número de casos, com 878 (49,89%) casos positivos de malária, seguido pelo ano de 2011, com 661 (37,55%) casos positivos de malária. Já no ano de 2012 houveram 168 (9,54%) casos positivos de malária e esse número cai de maneira drástica em 2013, quando 29 (1,64%) casos foram notificados. Os anos de 2014 e 2015 apresentaram os menores índices para a malária, com 19 (1,07%) casos e 5 (0,28%) casos positivos para a malária, respectivamente. Nos anos de 2010 e 2011 o mês de maio apresentou os maiores índices mensais de casos de malária.

A redução na quantidade anual de casos positivos de malária em Marabá – Pará, está de acordo com estudos realizados em Rio Branco – Acre, entre os anos de 2003 a 2010 (Santos e Silva, 2011), em Rio Preto da Eva – Amazonas, durante os anos de 2008 a 2013 (Brito et al., 2016) e Maranhão, entre os anos de 2007 a 2012 (Mesquita et al., 2013), todos esses observaram uma queda progressiva no número total de casos positivos durante o período de estudo. Associa-se essa diminuição de casos às ações e iniciativas de combate à malária no Brasil, no entanto, reitera-se que é necessário aprimoramentos constantes dessas ações, para a manutenção da qualidade e para que se tenha uma melhor cobertura das mesmas.

Ainda nesse contexto, o estado do Pará em 2013, teve uma redução de 69% dos casos de malária em relação ao ano de 2012 (Brasil, 2015). O Brasil também está

apresentando uma redução na quantidade dos casos anuais de malária, no ano de 2014 apresentou o menor número de casos dos últimos 35 anos (Brasil, 2015).

O Índice Parasitário Anual (IPA) de Marabá sofreu um declínio durante todo o período de estudo, em 2010 foi de 3,7, seguido pelo ano de 2011 com 2,7, a partir do ano de 2012 o IPA caiu drasticamente para 0,68, seguido pelos anos 2013, 2014 e 2015, que apresentaram um IPA de 0,1, 0,07 e 0,01 respectivamente (Figura 1). Estando sempre dentro da classificação de baixo risco. Em concordância, Sousa et al., (2015) encontraram resultados de declínio do IPA na maioria dos municípios da região do baixo Amazonas – Pará, no período de 2009 a 2013. Parise et al., (2012) durante o período de 2003 a 2008 encontraram um IPA de baixo risco em todos os municípios que compõem as microrregiões do Tocantins.

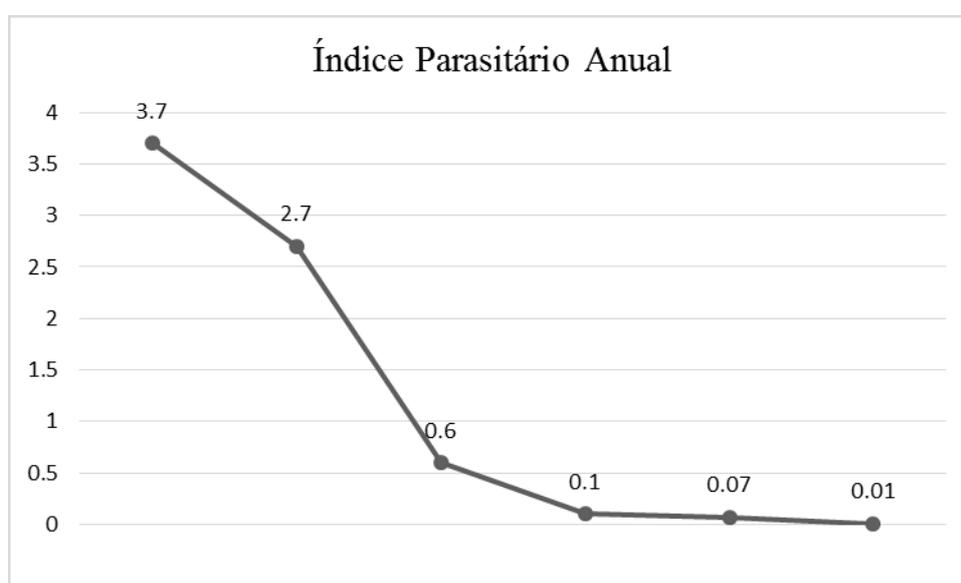


Figura 1. Índice parasitário anual (IPA) do município de Marabá entre os anos de 2010 a 2015.

De acordo com o Plano de Eliminação da Malária no Brasil (Brasil, 2016), os municípios em fase de eliminação da malária são aqueles que tem  $IPA < 10$ , o município de Marabá se enquadra nesse perfil e o próximo passo do plano de eliminação é a prevenção da reintrodução de casos de malária no município.

Entre os anos de 2010 a 2015 os casos de malária importados de outro município, estado ou país representaram 51% dos casos de malária em Marabá, já os casos autóctones representaram 48,87% dos casos de malária em Marabá (Figura 2). Considerando os valores de casos autóctones e importados, entre os anos de 2010 e 2013 não há uma diferença estatística. Em discordância com esse estudo, Renault et al., (2007), durante os anos de 2004 e 2005, em Belém – Pará, relataram os casos importados sempre superiores aos casos autóctones; Mesquita et al., (2013), durante os anos de 2007 a 2009, no Maranhão, observaram predominância de casos autóctones em relação aos casos importados, entretanto, já durante os anos de 2010 a 2012 os casos importados foram maiores que os casos autóctones.

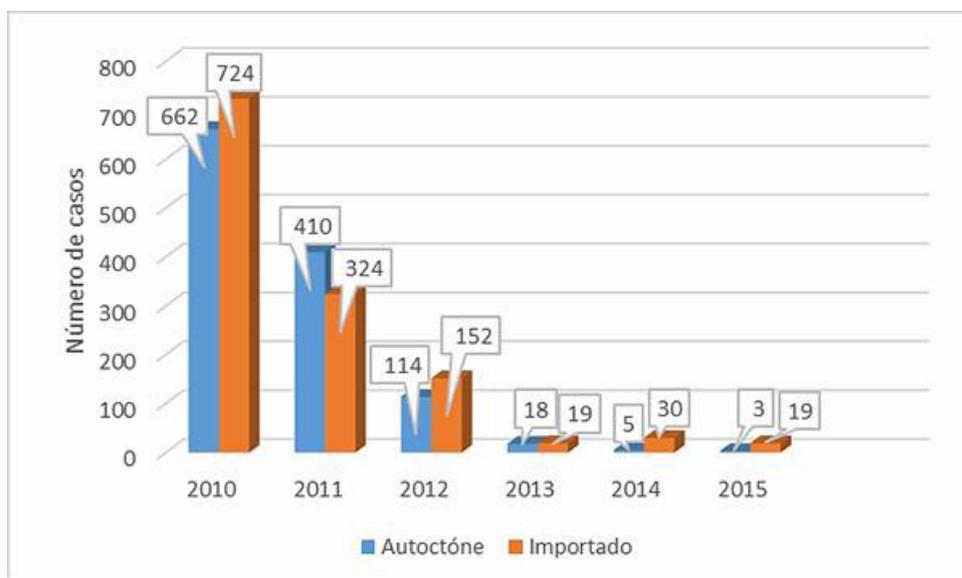


Figura 2. Casos autóctones e importados de malária dos anos de 2010 a 2015 em Marabá. (p:ns)

Parise et al., (2012) também discute sobre os registros de casos autóctones de malária no estado do Tocantins, e sugere que a causa dos casos autóctones pode estar relacionada a quantidade de praias fluviais que se formam as margens dos rios do estado, que são frequentadas por turistas de diversos locais e que podem ter contribuído para o registro de casos autóctones.

Nesse contexto, Marabá também é uma cidade cercada por rios, o Tocantins e o Itacaiúnas, assim como no estado do Tocantins, as praias podem ter contribuído para os casos registrados de malária, sejam eles autóctones ou importados, uma vez que muitas pessoas vem das cidades circunvizinhas para momentos de lazer na praia. E ao contrair a doença podem ser diagnosticadas no referido município.

De acordo com Marques e Gutierrez (1994), a proximidade com os rios, sugere que há muitos locais propícios para a formação de criadouros, por serem áreas baixas e úmidas, onde desagua nas águas do rio favorecendo a concentração de mosquitos.

Os casos positivos de malária por sexo no período de 2010 a 2015 tiveram maior frequência observada no sexo masculino, com 66,78% (1.138/1.704) dos casos, já o sexo feminino apresentou 33,21% (566/1.704). Os anos de 2010 e 2011 foram os anos com a diferença mais significativa entre os gêneros, o que é um achado comum em outros estudos, como no Rio Branco – Acre, de 2003 a 2010 (Santos e Silva, 2011), Belém – Pará, de 2000 a 2011 (Monteiro et al., 2013), Cruzeiro do Sul – Acre, no ano de 2013 (Lima e Scherer, 2015), no Baixo Amazonas – Pará durante os anos de 2009 a 2013 (Sousa et al., 2015). A população de ambos os sexos estão susceptíveis a contrair malária, no entanto, o sexo masculino tem maior uma prevalência de casos devido sua exposição ao vetor durante as atividades laborais, como o trabalho na agricultura, a extração de madeira, construção de rodovias, mineração, a caça e a pesca.

Entre as espécies e formas parasitárias da malária, em 2010 o *P. Vivax* apresentou

92,9% dos casos de malária, o *P. falciparum* apresentou 3% dos casos de malária, e os casos de malária mista entre *P. Vivax* e *P. falciparum* apresentaram 3% dos casos de malária. Em 2011, 81% dos casos foram causados pelo *P. Vivax*, 11% dos casos causado pelo *P. falciparum* e 3% foram causados pelo *P. Vivax* e *P. falciparum*. Em 2012 os casos por *P. Vivax* foram de 82%, os casos por *P. falciparum* foram de 11% e os casos por *P. Vivax* e *P. falciparum* foram de 2%. Em 2013 os casos por *P. Vivax* representaram 86% dos casos, o *P. falciparum* 9% dos casos e *P. Vivax* e *P. falciparum* 4% dos casos de malária. Em 2014, 80% dos casos foram de *P. Vivax*, 10% dos casos de *P. falciparum* e 10% dos casos foram de *P. Vivax* e *P. falciparum*. Já em 2015, o *P. Vivax* representou 100% dos casos. O *P. Vivax* é responsável pelo maior número de casos de malária entre os anos de 2010 a 2015 (Tabela 1).

ANOS	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<i>Plasmodium falciparum</i>	26	61	15	2	1	0
<i>Plasmodium falciparum</i> + Gameta de <i>Plasmodium falciparum</i>	6	12	4	1	0	0
<i>Plasmodium vivax</i> *	800	445	112	19	8	3
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium vivax</i>	27	19	3	0	1	0
<i>Plasmodium vivax</i> + Gameta de <i>Plasmodium falciparum</i>	2	4	1	0	0	0
Gameta de <i>Plasmodium Falciparum</i>	0	5	0	0	0	0
<i>Plasmodium malariae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Plasmodium falciparum</i> + <i>Plasmodium malariae</i>	0	2	0	0	0	0
<i>Plasmodium ovale</i>	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>861</b>	<b>548</b>	<b>135</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>3</b>

Tabela 1. Casos positivos de malária em grávidas e o parasita causador no período de 2010 a 2015 em Marabá.

\*p<0,05

Esses dados corroboram com estudos realizados no município de Ariquemes – Rondônia, durante os anos de 2005 a 2010 (Ferreira et al., 2012), no Baixo Amazonas – Pará, de 2009 a 2013 (Sousa et al., 2015), no Tocantins, de 2003 a 2008 (Parise et al., 2012), no Novo Progresso – Pará, de 2010 a 2013 (Albarado et al., 2015), no Maranhão, de 2007 a 2012 (Mesquita et al., 2013), no Rio Branco – Acre, de 2003 a 2010 (Santos e Silva, 2011), no Sinop – Mato Grosso, de 2003 a 2012 (Granzoto et al., 2015,) e em Belém – Pará, de 2004 a 2005 (Renault et al., 2007), que tiveram o *P. Vivax* como a espécie mais frequente nas infecções por malária.

Nesse contexto, pode-se inferir que a prevalência de casos de malária pelo *P. Vivax* pode estar relacionado com a dificuldade de iniciar o tratamento precocemente, uma vez que o tempo de formação dos gametas é depois de 24 horas do aparecimento

dos primeiros sintomas. Isso também explica o porquê do *P. falciparum* ser menos prevalente que o *P. Vivax*, uma vez que a formação dos gametas demoram de 7 a 12 dias, além disso, houve a mudança no esquema terapêutico do *P. falciparum*, que mudou da quinina e doxíciclina para combinações com derivados da artemisinina (Brasil, 2013). Dessa forma, as infecções por *P. Vivax* ocorrem bem antes das infecções por *P. falciparum*.

No ano de 2010 em Marabá, relatou-se a presença de 11 casos positivos para malária em grávidas, sendo 10 casos *Plasmodium vivax* (90,9%) e 1 caso *Plasmodium falciparum* (9,09%). Em 2011 os números de casos de malária em grávidas reduziu drasticamente, houve uma queda de 90% dos casos, tendo apenas 1 (9,09%) caso de malária por *P. Vivax*. Corroborando com um estudo de coorte realizado entre os anos de 1993 a 2007, em mulheres grávidas na Colômbia, em que 73% dos casos de infecção em grávidas foram causadas pelo *P. Vivax* (Tobón-Castaño et al., 2011), assim como, no estudo de coorte realizado na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas em que 78% dos casos de malária foram causados pelo *P. Vivax* (Chagas et al., 2009). Porém, em um estudo realizado entre os anos de 1996 a 2001 o *P. Vivax* e o *P. falciparum* estiveram em proporções bem próximas, 52,8% e 43,8% respectivamente (Jarude et al., 2003). O *P. Vivax* ser mais o prevalente nas mulheres grávidas com malária em Marabá é explicado pelo fato que ele é a espécie parasitária mais frequente no município. Não houve notificações de casos de malária em Marabá – Pará durante os anos de 2012 a 2015, isso deve-se as campanhas de prevenção da malária realizadas no município, assim como, ao acompanhamento da grávida durante o pré-natal.

#### 4 | CONCLUSÃO

Ao analisar a distribuição da malária ao longo dos anos de 2010 a 2015 em Marabá, foi possível constatar que houve, de modo geral, uma redução na frequência de casos notificados da doença.

O IPA apresentou uma redução ao longos anos e Marabá apresenta-se como um município de baixo risco, o sexo masculino apresentou os maiores índices da doença, os casos importados e autóctones mantiveram frequências semelhantes ao longo dos anos de estudo, a espécie *Plasmodium vivax* foi a mais prevalente durante os 6 anos e durante a gravidez a maioria dos casos de malária foram causados pelo *Plasmodium vivax*.

Faz-se necessário um melhor preenchimento das fichas de notificação, diminuindo as subnotificações, para que os resultados obtidos nos estudos epidemiológicos que utilizam dados secundários tenham resultados mais fidedignos.

Apesar dos avanços no combate a malária, é necessário o fortalecimento da rede de serviços, oportunizando o acesso em tempo hábil e adequado ao diagnóstico e tratamento da malária, que tem influência direta na redução da mortalidade e das complicações causadas pela doença, além do impacto positivo no controle da

transmissão.

## REFERÊNCIAS

- Albarado, K. V. P.; Sousa, J. R.; Magno, L. D.; Santos, A. C. F.; Rocha, J. A. M.; Pimentel, Z. N. S. Enfoque epidemiológico da malária de 2009 a 2013. **Revista de Enfermagem da Universidade Federal Piauí**, v. 4, no. 2, p. 62-68, 2015. <https://doi.org/10.26694/reufpi.v4i2.3159>
- Alves, M. J. C. P.; Lima, V. L. C.; Rangel, O.; Pignatti, M. G. Malária congênita no Município de Leme-SP. **Jornal de Pediatria**, v. 71, no. 3, p. 163-165, 1995.
- Braz, R. M.; Duarte, E. C. D.; Tauil, P. L. Caracterização das epidemias de malária nos municípios da Amazônia Brasileira em 2010. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, no. 5, p. 935-944, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2013000500011>
- Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Resolução No. 466, de 12 Dezembro de 2012. Available from: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/reso466.pdf>>. Accessed on: Jun. 03, 2018.
- Brasil. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2000 a 2011. **Boletim Epidemiológico**, Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, v. 44, 16 p., 2013.
- Brasil. Ministério da Saúde. Malária: Monitoramento dos casos no Brasil em 2014. **Boletim Epidemiológico**, Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde. v. 46, no. 25, 5 p., 2015.
- Silva Santelli, A. C F.; Damasceno, C. P.; Peterka, C. L.; Marchesini, P. B. **Plano de eliminação de malária no Brasil**. Fase 1 - Malária falciparum. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- Brito, D. M.; Vital, W.; Santana, L. K. L. Incidência de malária no Município de Rio Preto da Eva - AM no período de 2003 a 2013. **Scientia Amazonia**, v. 5, no. 1, p. 82-92, 2016.
- Camargo, E. P. Malária, maleita, paludismo. **Ciência & Cultura**, v. 55, no. 1, p. 26-29, 2003
- Chagas, E. C. S.; Nascimento, C. T.; Santana Filho, F. S.; Bôtto-Menezes, C. H.; Martinez-Espinosa, F. E. Malária durante a gravidez: efeito sobre o curso da gestação na Região Amazônica. **Revista Panamericana Salud Publica**, v. 26, no. 3, p. 203-208, 2009.
- Cordeiro, C. E. S. et al. Perfil epidemiológico da malária no Estado do Pará em 1999 com base numa série histórica de dez anos (1989-1999). **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 11, n. 2, p. 69-77, 2002. Available from: <<http://scielo.iec.gov.br/pdf/iesus/v11n2/v11n2a03.pdf>>. Accessed on: Aug 01, 2018.
- Ferreira, G. M.; Zan, R. A.; Ramos, L. J.; Sousa, R. A. A. R.; Meneguetti, D. U. O. Panorama epidemiológico da malária no Município de Ariquemes, Rondônia, Amazônia Ocidental: um inquérito de seis anos (2005 a 2010). **Revista de Epidemiologia, Controle e Infectologia**, v. 2, no. 4, p. 128-132, 2012. <https://doi.org/10.17058/reci.v2i4.2768>
- Granzoto, A. C. G.; Pessoa, A. M.; Silva Junior, N. J. Epidemiologia dos casos de malária em Sinop - MT (2003-2012). **Estudos**, v. 42, no. 4, p. 527-538, 2015. <https://doi.org/10.18224/est.v42i4.4371>
- Jarude, R; Trindade, R; Tavares-Neto, J. Malária em Grávidas de uma Maternidade Pública de Rio Branco (Acre, Brasil). **Revista Brasileira Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, no. 3, p. 149-154, 2003.
- Loiola, C. C. P.; Silva, C. J. M.; Tauil, P. L. Controle da malária no Brasil: 1965 a 2001. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 11, no. 4, p. 235-244, 2002.
- Marques, A. C.; Gutierrez, H. C. Combate à malária no Brasil: evolução, situação atual e perspectivas.

**Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, p. 91-108, 1994.

Mesquita, E. M.; Muniz, T. F.; Sousa, A. L. S.; Brito, C. X. L.; Nunes, S. C. M.; Grisotto, M. A. G. Levantamento epidemiológico da malária no Estado do Maranhão, Brasil nos anos de 2007 a 2012. **Revista de Ciência em Saúde**, v. 15, no. 1, p. 11-18, 2013.

Miguel, R. B. **Estudo da infecção por *Plasmodium* spp no Município de Guapimirim, Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, 2011. (Dissertação de mestrado).

Monteiro, M. R. C. C.; Ribeiro, M. C.; Fernandes, S. C. Aspectos clínicos e epidemiológicos da malária em um hospital universitário de Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, no. 2, p. 33-43, 2013. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232013000200005>

OPAS - Organización Panamericana de la Salud. **Actualización Epidemiológica, Aumento de malaria en las Américas**. Available from: <[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=43437&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=43437&lang=es)>. Accessed in: Aug 01, 2018.

Parente, A. T.; Souza, E. B. de.; Ribeiro, J. B. M. A ocorrência de malária em quatro municípios do estado do Pará, de 1988 a 2005, e sua relação com o desmatamento. **Acta Amazônica**, v. 42, no. 1, p. 41-48, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672012000100005>

Parise, E. V.; Araújo, G. C.; Castro, J. G. D. Situação epidemiológica da malária no Estado do Tocantins, Brasil, a partir da emancipação política e administrativa, 1989 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 21, no. 1, p. 129-140, 2012. <https://doi.org/10.5216/rpt.v41i4.21710>

Renault, C. S.; Bastos, F. A.; Filgueira, J. P. P. S.; Filgueira, J. P. P. S.; Homma, T. K. Epidemiologia da malária no Município de Belém - Pará. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, no. 3, p. 19-23, 2007.

RIPSA - Rede Interagencial de Informações para a Saúde. Indicadores e Dados Básicos para a Saúde no Brasil. **Índice parasitário anual (IPA) de malária**. Available from: <[http://www.ripsa.org.br/fichasIDB/pdf/ficha\\_D.4.pdf](http://www.ripsa.org.br/fichasIDB/pdf/ficha_D.4.pdf)>. Accessed in: Aug 01, 2018.

Sánchez, C. A. C.; Chirino, M. J. G.; Rondón, A. V. H. Malaria congénita: Estudio retrospectivo 2000-2011. Hospital Menca de Leoni. Ciudad Guayana-Estado Bolívar. **Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría**, v. 75, no. 4, p. 96-99, 2012.

Santos, I. G.; Silva, R. S. U. Malária autóctone no Município de Rio Branco. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 2, no. 4, p. 31-37, 2011. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232011000400005>

Sousa, J. R.; Santos, A. C. F.; Almeida, W. S.; Alarado, K. V. P.; Magno, L. D.; Rocha, J. A. M.; Pimentel, Z. N. S. Situação da malária na Região do Baixo Amazonas, Estado do Pará, Brasil, de 2009 a 2013: um enfoque epidemiológico. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, no. 4, p. 39-47, 2015. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232015000400006>

Tobón-Castaño, A.; Solano, M.; Sánchez, L. G. A.; Trujillo, S. B. Retardo no crescimento intrauterino, baixo peso ao nascer e prematuridade em recém-nascidos de grávidas com malária, na Colômbia. **Revista da Sociedade de Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, no. 3, p. 364-370, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000030>

Ujvari, S. C. Meio Ambiente & Epidemias. São Paulo: SENAC. p.192, 2014.

WHO - World Health Organization. **World Malaria Report 2015**. Washington: WHO, 2015. Available from: <<http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/en/>>. Accessed on: may 15, 2018.

## OCORRÊNCIA DE PARASIToses INTESTINAIS EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DO MUNICÍPIO DE ATALAIA, ESTADO DE ALAGOAS, BRASIL

**Mayara de Melo Bezerra**

Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**Polyanne de Melo Ferreira**

Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**Alecio Marcelo Lima Dos Santos**

Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**Evilma Nunes de Araújo**

Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**Paulyanne Karlla Araújo Magalhães**

Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**Thiago José Matos Rocha**

Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, Centro Universitário Cesmac, Maceió-AL

**RESUMO:** Neste trabalho foi avaliada a ocorrência de parasitos intestinais na cidade de Atalaia-AL, através de um estudo documental e descritivo, analisando os exames parasitológicos de fezes. As amostras foram analisadas pelo método diagnóstico de Sedimentação espontânea-Hoffman, Pons e Janer, no período compreendido entre janeiro e setembro de 2015. Das 1336 amostras, apenas em 36 (2,7%) foi possível observar positividade para algum

tipo de parasito, sendo os indivíduos adultos os mais acometidos com 19 casos positivos. Além ser observada a maior frequência no gênero feminino, com um percentual de 52,8%. As infecções causadas por helmintos foram maiores que causadas por protozoário, sendo o helminto mais frequente *Ascaris lumbricoides* (43,6%) e o protozoário predominante a *Entamoeba coli* (5,1%). Já no levantamento do grau de parasitismo, o monoparasitismo apareceu em maior frequência, com 91,6%. Conclui-se que a incidência de parasitoses intestinais encontra-se muito baixa quando comparada à encontrada em outros locais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fatores Socioeconômicos. Helmintos. Infecções por protozoários.

**ABSTRACT:** In this work, it was evaluated the occurrence of intestinal parasites in the town of Atalaia-AL, through a documentary and descriptive study, analyzing the parasitologic feces. The samples were analyzed by the diagnostic method of spontaneous Sedimentation-Hoffman, Pons and Janer, in the period between January and September 2015. Of 1336 in 36 samples (2.7%) was positive for some type of parasite, being the most affected adults with 19 positive cases. Besides being seen as often in the female gender, with a percentage of 52.8%. The infections caused by helminths were larger than caused by protozoa, being

the most common helminth *Ascaris lumbricoides* (43.6%) and protozoa prevalent the *Entamoeba coli* (5.1%). In the survey of the degree of parasitism, the monoparasitismo appeared in more frequently, with 91.6%. It is concluded that the incidence of intestinal parasites is very low when compared to that found in other locations. It is concluded that the incidence of intestinal parasites is very low when compared to that found in other locations.

**KEYWORDS:** Factors socioeconomic. Helminths. Protozoan infections.

## 1 | INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses estão entre os agentes mais frequentemente diagnosticados em seres humanos. Alguns fatores favorecem para que isso ocorra, sendo observada principalmente relação com saneamento ambiental ausente ou deficiente, déficit nas medidas de higiene e as condições de vida nas quais vivem milhões de pessoas nos países em desenvolvimento (LODO et al., 2010). Estima-se que a ocorrência dessas infecções parasitárias estejam associada a mais de um bilhão de indivíduos em todo mundo (FONSECA et al., 2010).

As infecções parasitárias são infecções causadas pelos protozoários *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica/Entamoeba díspar*, e pelos helmintos *Taenia solium*, *Taenia saginata* e *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* (TOSCANI et al., 2007).

Cabe ressaltar que essas doenças podem ser adquiridas através da ingestão de água e alimentos contaminados com cistos e ovos de parasitos e pela penetração de larvas de helmintos, isso é devido às precárias condições de saneamento básico (LODO et al., 2010).

As principais manifestações clínicas no ser humano devido às infecções parasitárias são problemas gastrointestinais, entre os quais náuseas e vômitos, diarreia, perda proteica dos alimentos, obstrução intestinal e colites; a depender da espécie parasitária é comum também ocorrer desnutrição e anemia por deficiência de ferro, esses fatores faz com que ocorra baixo rendimento físico e conseqüente déficit no desenvolvimento crianças e adolescentes (GELATTI et al., 2013).

Sob o ponto de vista sanitário, e considerando a morbidade e mortalidade, nota-se que as infecções parasitárias se apresentam como um grande problema de saúde pública, assim, a solução mais indicada é a conscientização sobre medidas de higiene e educação sanitária (GIL, 2012).

No Brasil, de modo geral, as parasitoses intestinais são de ampla distribuição geográfica, podendo ser encontradas em zonas rurais ou urbanas. Com frequência variável, segundo o ambiente e a espécie parasitária (BENINELO et al., 2011).

Na região Nordeste, estudos realizados em cidade algumas cidades demonstram elevada ocorrência de infecções por helmintos e protozoários, com 63,93% em uma

comunidade carente de um município alagoano (ROCHA et al., 2011), e de 70,15% na Barra de São Miguel (ROCHA et al., 2010).

Os estudos realizados no qual fazem pesquisa de parasitoses intestinais apontam que essas enfermidades em diferentes faixas etárias, sendo que em pré-escolares os percentuais são elevados, isso é justificado, uma vez que nessa faixa etária os corretos hábitos de higiene não estão totalmente consolidados (CLÍMACO, 2011).

Na literatura científica, não existem dados parasitológicos sobre as enteroparasitoses no município de Atalaia-AL. Portanto, ressalta-se a escassez de estudos acerca das parasitoses, além de serem identificados possíveis fatores de riscos associados às condições socioeconômicas da população alvo, que contribuem para distribuição e prevalência dos parasitos intestinais.

Por esse motivo, este trabalho teve como objetivo conhecer a frequência de enteroparasitoses entre pacientes atendidos em um laboratório privado do município de Atalaia-AL, permitindo que as informações geradas subsidiem tanto no diagnóstico quanto nas decisões de planejamento das ações de saúde pública.

## **2 | MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Cesmac, através do CAEE 44015315.7.0000.0039.

Foi realizado um estudo do tipo transversal, descritivo, quali-quantitativo. Os dados secundários, de usuários atendidos no período de janeiro a dezembro de 2014, no laboratório privado de análises clínicas situado em Atalaia-AL. O método de Hoffman, Pons e Janer (HPJ) foi o método utilizado para realização dos exames. Foram analisadas as seguintes variáveis: gênero, idade, casos positivos, protozoários e helmintos diagnosticados e multiparasitismo.

Foram adotados como critério de inclusão, todos os registros de exames realizados no período anterior ao da pesquisa, sem distinção de faixa etária, gênero e local.

Foram obtidos resultados de 1.336 exames cobrindo uma faixa etária entre 1 e 68 anos de idade divididas da seguinte forma: 0 a 11 anos; 12 a 18 anos; 19 a 29; 30 a 39 anos; 40 a 49, 50 a 59 e >60 anos. Os dados obtidos foram organizados utilizando o programa Excel e as frequências de cada dado foram calculadas.

## **3 | RESULTADOS**

No período em estudo constaram nos registros 1.336 Exames Parasitológicos de Fezes. Destes, 36 (2,7%) apresentaram positividade para um ou mais enteroparasitas e 1.300 (97,3%) apresentaram resultado negativo.

O Gráfico 1 representa a distribuição do parasitismo conforme a faixa etária do hospedeiro. A frequência em crianças de 0 a 11 anos, foi expressivamente maior em comparação às outras faixas etárias, com 8 casos positivos (22,2%). Entre indivíduos de 12 a 18 anos, foi observado 6 casos positivos (16,7%). Entre pacientes com 19 a 29 anos, também foi constatado 6 casos positivos (16,7%). Entre as faixas etárias de 30 a 39 anos, 40 a 49, 50 a 59 e >60 anos, foram observados 5 casos positivos (13,9%), 2 (5,5%), 6 (16,7%) e 3 (8,3%) respectivamente.

Faixa etária	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
0 a 11	8	22,2
12 a 18	6	16,7
19 a 29	6	16,7
30 a 39	5	13,9
40 a 49	2	5,5
50 a 59	6	16,7
> 60	3	8,3

Tabela 1. Frequência total de helmintos e protozoários, em relação à faixa etária.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2014.

Analisando os resultados, foi visto que ocorreu maior frequência de parasitismo no gênero feminino com 52,8% (n=19) do que no gênero masculino com 47,2% (n=17).

Com base nos resultados, a predominância de infecções causadas por helmintos, com 91,6% dos casos, apresentou-se superior à de protozoários, equivalente a 8,4% de positividade.

Como apresentado na Tabela 2, houve positividade de 39 parasitas, sendo estes classificados como helmintos e protozoários. Entre os helmintos, estão presentes ovos de *Ascaris lumbricoides* (43,6%), *Strongyloides stercoralis* (18%), *Trichuris trichiura* (2,6%), *Schistosoma mansoni* (10,1%), *Enterobius vermicularis* (7,7%) e *Ancilostomídeos* (7,7%). Dentre os protozoários, foram encontradas as amebas *Entamoeba coli* (5,1%) e *Entamoeba histolytica/ Entamoeba díspar* (2,6%) e cistos de *Giardia lamblia* (2,6%).

Espécies encontradas	Enteroparasitos	Percentual (%)
<b>Helmintos</b>	<b>35</b>	<b>91,6</b>
<i>Ascaris lumbricoides</i>	17	43,6
<i>Strongyloides stercoralis</i>	7	18
<i>Schistosoma mansoni</i>	4	10,1
<i>Ancilostomídeos</i>	3	7,7
<i>Enterobius vermicularis</i>	3	7,7
<i>Trichuris trichiura</i>	1	2,6
<b>Protozoários</b>	<b>4</b>	<b>8,4</b>
<i>Entamoeba coli</i>	2	5,1

<i>Entamoeba histolytica</i>	1	2,6
<i>Giardia lamblia</i>	1	2,6
<b>Total de parasitos</b>	<b>39</b>	<b>100 (%)</b>

Tabela 2. Percentual dos enteroparasitas em casos positivos.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2014.

Em relação ao grau de parasitismo observou-se a presença de multiparasitismo apenas em associações com dois parasitas, *Ascaris lumbricoides* + *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* + *Enterobius vermicularis* e *Entamoeba coli* + *Entamoeba histolytica*, equivalente a 8,4% dos casos, assim sendo, o monoparasitismo o mais predominante, com 91,6% dos resultados analisados.

#### 4 | DISCUSSÃO

Tais resultados corroboram com o estudo de Clímaco (2011). Entretanto, a frequência de indivíduos positivos para os parasitos encontrados foi menor do que a relatada nos resultados obtidos por Menezes et al. (2013) e Seixas et al. (2011), podendo a diferença dos resultados ser justificada pela divergência das populações estudadas.

Resultado semelhante foi encontrado na pesquisa realizada por Melo et al. (2015), visto que este estudo mostra que as parasitoses intestinais são mais frequentes entre crianças, cujos hábitos de higiene e saúde não estão suficientemente consolidados.

Vale ressaltar que de acordo com Araújo (2007), a prevalência de parasitas diminui à medida que aumenta a idade dos indivíduos, corroborando com os resultados obtidos neste estudo. Segundo Nolla e Cantos (2005), esta diminuição está diretamente ligada à imunidade adquirida contra enteroparasitas e às mudanças de hábitos higiênicos. As faixas etárias de 12 a 18, 19 a 29 e 50 a 59 foram as segunda mais frequente, com um percentual de 16,70%, podendo ser justificada pelo grande público das respectivas faixas etárias que realizou o exame no período em estudo.

Tal resultado também pode ser encontrado em outros estudos, como o de Cardoso et al. (2005), onde em um estudo realizado com usuários da rede municipal de saúde de Campinas no estado de São Paulo, numa amostra de 5925 indivíduos, o gênero feminino apresentou a maior frequência com 56,3% (n=707) contra 39,7% (n=498) no gênero masculino. Esta maior frequência de infecções no gênero feminino pode ser justificada pelo fato das mulheres estarem mais expostas a ambientes que propiciam a disseminação das formas infectantes dos parasitas intestinais, além das mesmas procurarem mais os serviços de saúde (FILHO et al., 2012; MENEZES et al., 2013).

Essa frequência também foi observada em estudos realizados por Marinho (2008) e Basso et al. (2008), onde os índices de helmintos se apresentaram elevados.

Em contra partida, Menezes et al (2013) e Belo et al. (2012), obtiveram em seus estudos elevados índices de protozoários. A divergência desses resultados pode estar relacionada a diversos fatores, como área geográfica estudada, nível socioeconômico, estado nutricional, idade e condições higiênicas (MENEZES et al., 2013).

Ao observar os resultados, é possível perceber que os ovos de *A. lumbricoides*, obtiveram maior prevalência em relação aos outros parasitas, seguido pelas espécies *S. stercoralis*, *S. mansoni*, *E. vermicularis* e ancilostomídeos.

Vale dizer que estes resultados são semelhantes aos obtidos por Araújo<sup>13</sup> e Santos et al<sup>21</sup>, onde houve prevalência pelos mesmos parasitas.

De acordo com Bittencourt et al. (2011), *A. lumbricoides* é uma das mais comuns doenças parasitárias, devido à capacidade da fêmea de por mais de 200 mil ovos por dia. Sua forma de transmissão é através da ingestão dos ovos que podem ser encontrados na terra, nos alimentos ou na água contaminada.

Santos et al. (2007), relata que a elevação da prevalência de *S. stercoralis* nos últimos 20 anos reflete o surgimento de infecções que alteram o sistema imune dos indivíduos, assim como a mudança no estilo de vida, um dos fatores que facilitam a infecção por este parasita.

Ainda na Tabela 1, relata-se que apenas três laudos estava positivo para *E. vermicularis*, essa informação assemelha-se com o estudo de Seixas et al <sup>11</sup>, pois observaram seis casos de enterobíase. Essa menor predominância pode ser justificada por não ter sido realizada a metodologia específica, técnica da fita gomada, em nenhum dos dois estudos.

Com relação à presença de laudos positivos para *T. trichiura*, verificou-se apenas a presença de um caso, sendo este resultado semelhante ao estudo realizado por Melo et al. (2015).

Em relação à frequência de protozoários, nota-se maior numero de casos positivos para a ameba comensal, *E. coli* (5,1%), porém segundo Gelatti et al. (2013) e Seixas et al. (2011) embora não represente um agravo à saúde, a mesma serve como indicadores de condições socio sanitárias e hábitos de higiene deficientes, sendo importante destacar que esta espécie possui os mesmos mecanismos de transmissão de outros protozoários patogênicos como *E. histolytica/Entamoeba dispar* e *Giardia lamblia*.

## 5 | CONCLUSÃO

Conclui-se que do total de laudos obtidos no presente estudo, é possível observar que a incidência de parasitas intestinais na população estudada mostra-se relativamente baixa quando comparada à encontrada em outros locais. No qual a frequência de helmintos foi expressivamente maior que a de protozoários, sendo o parasita *A. lumbricoides* o helminto prevalente; seguido pela espécie *S. stercoralis*,

enquanto o protozoário mais frequente foi o comensal *E. coli*. Com relação à faixa etária mais acometida, constata-se que houve uma maior prevalência, em indivíduos com idade entre 0 a 11 anos, assim sendo o gênero feminino o mais infectado.

É necessário realizar mais estudos no município de Atalaia-AL com o intuito de atender as particularidades do município, tendo como objetivo não somente a mensuração das taxas de morbidades associadas a essas parasitoses, mas também para que os mesmos sejam utilizados como ferramentas para o planejamento de ações governamentais que visem à redução de doenças parasitárias, visto que a associação comunidade científica, poder público e população em geral são peças fundamentais para solucionar esse problema de saúde pública.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, V. A. D. Levantamento e aspectos epidemiológicos de helmintos em humanos no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 5, n. 5, p. 1-12, 2007.

BASSO, R. M. C. et al. Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p. 263-268, 2008.

BELO, V. S. et al. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 30, n. 2, p. 195-201, 2012.

BENINELO, V. G. et al. Intestinal parasites in students 10 to 15 years of school of São Matheus's periphery, ES, Brazil. **European Journal of Medical Research**, v. 53, n. 2, p. 171-178, 2011.

BITTENCOURT, M. A. et al. **Frequência de parasitoses intestinais em unidade de saúde de diagnóstico laboratorial no ano de 2010 e 2011 no município de Trindade. 2011.** 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade União de Goyazes, Estado de Goiás, Trindade, 2011.

CARDOSO, F. M. et al. Enteroparasitoses em usuários da rede municipal de saúde de Campinas, São Paulo. **Revista de Ciências Médicas**, v. 14, n. 4, p. 337-343, 2005.

CLÍMACO, M. S. **Ocorrência de enteroparasitoses em pacientes atendidos no laboratório municipal da cidade de Brejo da Madre de Deus - PE. 2011.** 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade do Estado da Paraíba, Campina Grande, 2011.

FILHO, A. A. O. et al. Perfil enteroparasitológico dos habitantes de uma cidade do Nordeste do Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, n. 3, p. 179-182, 2012.

FONSECA, E. O. L. et al. Prevalência e fatores associados às geo-helminthiases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. **Caderno de Saúde Pública**, v. 26, n. 1, p. 143-152, 2010.

GELATTI, L. C. et al. Ocorrência de parasitos e comensais intestinais numa população de escolares do município de Uruaçu, Goiás. **Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 55-65, 2013.

GIL, F. F. **Prevalência de enteroparasitoses em comunidades da periferia de Belo Horizonte: prevalência nos laboratórios das comunidades vs comunidades. 2012.** 117 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

LODO M. et al. Prevalência de enteroparasitas em município do interior Paulista. **Revista Brasileira de Crescimento e Desenvolvimento Humano**, v. 20, n. 3, p. 769-777, 2010.

MARINHO, J. A. **Prevalência das parasitoses intestinais e esquistossomose no município de Piau – Minas Gerais. 2008.** 49 f. Monografia (Título de Farmacêutico) – Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2008.

MELO, A. R. et al. Ocorrência de parasitas intestinais em laudos parasitológicos de fezes de um laboratório privado do município de Bacabal-MA. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico conhecer**, v. 11, n. 21, p. 3420-3430, 2015.

MENEZES, R. A. O. et al. Enteroparasitoses em pacientes atendidos no laboratório de uma unidade de saúde de Macapá, Amapá, 2011 – 2012. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 3, n. 1, p. 191-198, 2013.

MENEZES, R. A. O. **Caracterização epidemiológica das enteroparasitoses evidenciadas na população atendida na unidade básica de saúde Congós no município de Macapá – Amapá. 2013.** 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2013.

NOLLA, A. C.; CANTOS, G. A. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 21, n. 2, p. 641-645, 2005.

ROCHA, T. J. M. et al. Relação entre aspectos socioeconômicos e a ocorrência de ectoparasitoses e enteroparasitoses em uma comunidade do litoral norte alagoano. **Rev. Brasileira de Análises Clínicas**, v. 43, n. 4, 271-276, 2011.

ROCHA, T. J. M.; BRAZ, J. C.; CALHEIROS, C. M. S. Parasitismo Intestinal em uma comunidade carente do município de Barra de Santo Antônio, Estado de Alagoas. **Rev. Eletrônica de Farmácia**, v. 7, n. 3, p. 28-33, 2010.

SANTOS, L. P.; SANTOS, F. L. N.; SOARES, N. M. Prevalência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos no Hospital Universitário Professor Edgar Santos, Salvador – Bahia. **Revista de Patologia Tropical**, v. 26, n. 3, p. 237-246, 2007.

SEIXAS, M. T. L. et al. Avaliação da frequência de parasitos intestinais e do estado nutricional em escolares de uma área periurbana de Salvador, Bahia, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 4, p. 304-14, 2011.

TOSCANI, N. V. et al. Desenvolvimento e análise de jogo educativo para crianças visando à prevenção de doenças parasitológicas. **Interface**, v. 11, n. 22, p. 281-294, 2007.

## PERCEPÇÃO DA DOR NO PACIENTE DE PAQUIONÍQUIA CONGÊNITA (PC)

### **Dhara Leite Lopes**

Faculdade de Tecnologia e Ciências, Colegiado de Biomedicina, Feira de Santana - Bahia

### **Luanna Waléria Oliveira Santos**

Faculdade de Tecnologia e Ciências, Colegiado de Biomedicina, Feira de Santana - Bahia

### **Vinicius Mendes Souza Carneiro**

Faculdade de Tecnologia e Ciências, Colegiado de Biomedicina, Universidade Salvador, Colegiado de Biomedicina, Feira de Santana - Bahia

### **Marcus Vinicius Cardoso Matos Silva**

Universidade Salvador, Colegiado de Biomedicina, Feira de Santana - Bahia

### **Carlos Danilo Cardoso Matos Silva**

Universidade Salvador, Colegiado de Biomedicina, Feira de Santana - Bahia

**RESUMO:** Paquioníquia congênita (PC) é uma atípica desordem genética da pele suscitada por uma mutação em um dos quatro genes conhecidos como responsáveis pela formação da queratina: K6a, K6b, K16 ou K17. São mutações do tipo heterozigotas, de sentido insensato de exclusão que atrapalham a função de citoesqueleto via interferência dominante-negativa e leva a célula fragilidade epitelial, deixando assim os calos frágeis e doloridos, aumentando o risco de entrada de patógenos por trauma. Objetivando analisar as causas e níveis de dor da PC, através de uma revisão

sistemática por meio das bases de dados PubMed, SciELO, AEP e Revista Brasileira de Ciência e Saúde. Foram relatados os dados dos 22 artigos, sendo que 4 trabalhos apresentam como metodologia a imunohistoquímica, 1 a coloração de rotina hematoxilina e eosina em tecido epitelial, 3 amostras de DNA genômico, 1 classificação molecular para subtipos de PC, 3 histopatológico, 2 biópsia, 1 exame físico multidisciplinar, 1 mecanismo de ação sobre a liberação da acetilcolina, 1 método psicofísico, 3 revisões de artigos científicos, 1 estudo de bases neurológicas e 1 registro de pesquisa internacional de PC. O indício primordial de PC é o oncodistrofia, ela relaciona-se a fragilidade e, é possível que outros fatores, tanto genéticos como ambientais, estejam envolvidos na determinação do fenótipo clínico geral. Um obstáculo encontrado nesse trabalho foi verificar a inclusão do nível/causa da dor nos pacientes com PC, enquanto, um ponto positivo é proporcionar informações suficientes para tal percepção da dor.

**PALAVRAS-CHAVE:** PC; Mutação; Revisão; Queratina; Proteína.

**ABSTRACT:** Pachyonychia Congenita (PC) is an atypical genetic disorder of the skin aroused by a mutation in one of the four genes known as responsible for the formation of keratin: K6a, K6b, K16 or K17. These are heterozygous

mutations of the unwise sense of exclusion that hinder the function of cytoskeleton via dominant-negative interference and leads to epithelial fragility cell, thus leaving the callus fragile and sore, increasing the risk of entry of pathogens due to trauma. Aiming to analyze the causes and levels of pain of PC, through a systematic review through the databases PubMed, SciELO, AEP and Brazilian Journal of Science and Health. The data from the 22 articles were reported, with 4 studies presenting as Immunohistochemistry methodology, 1 the routine hematoxylin and eosin staining in epithelial tissue, 3 genomic DNA samples, 1 molecular classification for PC subtypes, 3 Histopathology, 2 biopsy, 1 multidisciplinary physical examination, 1 mechanism of action on the release of acetylcholine, 1 psychophysical method, 3 reviews of scientific articles, 1 study of neurological bases and 1 record of international PC research. The primary indication of PC is onychodystrophy, it relates to fragility and, it is possible that other factors, both genetic and environmental, are involved in the determination of the general clinical phenotype. One obstacle found in this study was to verify the inclusion of the level/cause of pain in patients with PC, while a positive point is to provide sufficient information for this perception of pain.

**KEYWORDS:** PC; Mutation; Review; Keratin; Protein.

## 1 | INTRODUÇÃO

Paquioníquia congênita (PC) é uma atípica desordem genética da pele suscitada por uma mutação em um dos quatro genes conhecidos como responsáveis pela formação da queratina: K6a, K6b, K16 ou K17. Grupo autossômico de displasias ectodérmicas onde a característica mais relevante é a distrofia hipertrófica das unhas<sup>22</sup>, pode vir de uma herança autossômica dominante ou mutação espontânea<sup>11</sup>.

Quase todas as mutações acontecem no início ou no fim do domínio central da haste de queratina, regiões cruciais para a ligação de subunidades de proteínas na montagem de filamentos de queratina<sup>11</sup>. São mutações do tipo heterozigotas, de sentido insensato ou pequena inserção/mutação de exclusão que atrapalham a função de citoesqueleto via interferência dominante-negativa e leva a célula fragilidade epitelial<sup>14</sup>, deixando assim os calos frágeis e aumentando o risco de entrada de patógenos por trauma<sup>11</sup>, por isso é comum ocorrer infecção, principalmente nos pés.

O citoesqueleto é originado de citoqueratinas (CQ), onde PC está envolvida nas CQ 6a, 6b, 16 e 17, que tem localização tecidual na bainha radicular externa, mucosa oral, anexos, leito ungueal e anexos. Os pacientes que apresentam hiperqueratose palmoplantar, tem uma mutação na CQ1<sup>2</sup>.

Em uma pele comum, “normal”, a descamação e cornificação dos queratinócitos tem como função garantir uma corpulência apropriada ao epitélio, porém, na PC, existe uma desarmonia, isto está relacionado a níveis elevados de proteínas estruturais e de adesão. Essa desarmonia possivelmente causa a ceratoderma apresentada. Além do mais, o estresse mecânico que intervém na barreira cutânea modificada pode

estimular a dor, intensificada pela ativação da via mTOR<sup>3</sup>, a qual exerce um papel crucial de sinalização sendo responsável pela determinação do crescimento celular e síntese de proteínas.

A caracterização da dor é algo genérico, pois ela pode originar-se no sistema nervoso central (SNC) ou em qualquer parte do corpo. A sua percepção é oscilante, já que está diretamente relacionada às características afetivo-motivacionais, se tornando uma experiência multidimensional tanto em qualidade quanto em intensidade e genuinamente uma questão psicofísica<sup>20</sup>.

Há uma possibilidade da existência de um elemento neuropático na dor relacionada a PC. Apresenta-se como justificativa para a dor crônica, a ocorrência de uma sensibilização central, evocando uma resposta acentuada da dor. Além do mais, agressões mecânicas devido a formação crônica de bolhas e ceratoderma podem provocar traumas em terminações nervosas, deixando-os mais sujeitos a lesões<sup>23</sup>.

KLK10, um gene associado a dor, catalisa a produção de bradicinina, que desencadeia a sensação de dor depois da união ao seu receptor nas terminações da fibra nervosa<sup>3</sup>.

A dor é explicada por especialistas da seguinte maneira:

A forma ativa de mTOR está presente em uma subpopulação de axônios da raiz dorsal mielinizada, mas raramente em fibras C não mielinizadas, e fortemente expressos no corno dorsal por neurônios de projeção de lâmina I / III que são conhecidos por mediar a indução e manutenção dos estados de dor. (GÉRANTON et al., pag.1, 2009)

Esse fato fisiológico, caso alterado, pode levar o paciente a uma hiperalgesia, a qual se descreve por um aumento exacerbado da dor, mesmo que por estímulos não nocivos<sup>5</sup>. Entretanto, o progresso nos estudos da neuroanatomia, neurofarmacologia e fisiopatologia da dor visam inovações no tratamento da dor.

Uma modificação na proteína de barreira filagrina manifesta aumentar os sintomas referentes ao PC, a qual é, ocasionalmente, incapacitada de espalhar a pressão física constante produzida pelo ato de andar e / ou limpeza, tendo como consequência uma hiperproliferação e uma perda focal de proteção de barreira<sup>12</sup>.

Assim, uma associação de fenótipos de perda e ganho de função pode favorecer a manifestação clínica geral heterogênea do PC<sup>12</sup>.

Dessa maneira, saber o tipo de PC (1 ou 2) e a mutação exata (K6a, K6b, K16 e K17) é fundamental para futuros testes clínicos, com o intuito de testar agentes terapêuticos que estão em construção<sup>11</sup>, pois o PC manifesta um padrão de herança dominante autossômica, penetração total e expressividade variável<sup>15</sup>.

## 2 | METODOLOGIA

O trabalho apresentado se baseia em uma revisão sistemática da literatura científica nacional e internacional sobre o tema percepção da dor no paciente de

paquioníquia congênita (PC), o qual tem como objeto de pesquisa a elaboração científica publicada em diferentes intervalos de tempos nos bancos de dados da *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *United States National Library of Medicine* (PubMed), *Asociación Española de Pediatría* (AEP) e *Revista Brasileira de Ciência da Saúde* (RBCS). A análise foi sucedida de acordo com as orientações metodológicas da declaração PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) para trabalhos de revisão sistemática.

A pesquisa dos artigos se deu nos meses entre setembro de 2017 a abril de 2018, para tal ação utilizou-se como característica a dor na PC e as questões relacionadas à mesma e, seus equivalentes em inglês, espanhol e português. Em nenhuma base de dados foi aplicado filtro, assim, foram localizadas 465 publicações no PubMed, 2 no SciELO e 1 na AEP. Enquanto que na revista, 38.

Posteriormente, foram escolhidos os artigos científicos compreendidos no estudo de acordo com os títulos e resumos, de maneira independente, acatando ao seguinte método de inclusão: apresentar justificativas/causas para a dor na paquioníquia congênita e questões fisiológicas/psicológicas da dor, publicados nos idiomas português, inglês e espanhol.

Depois da análise dos títulos e resumos, foram selecionados 22 artigos. Por fim, após avaliação crítica dos artigos selecionados, os trabalhos foram fichados e organizados por objetivos, tipo de metodologia utilizada e resultados encontrados.

### 3 | RESULTADOS

De acordo com os 22 artigos escolhidos, o gráfico 1 apresenta o número de artigos incluídos, indicados nas bases de dados PubMed, SciELO, AEP e revista de acordo com os títulos e resumos.

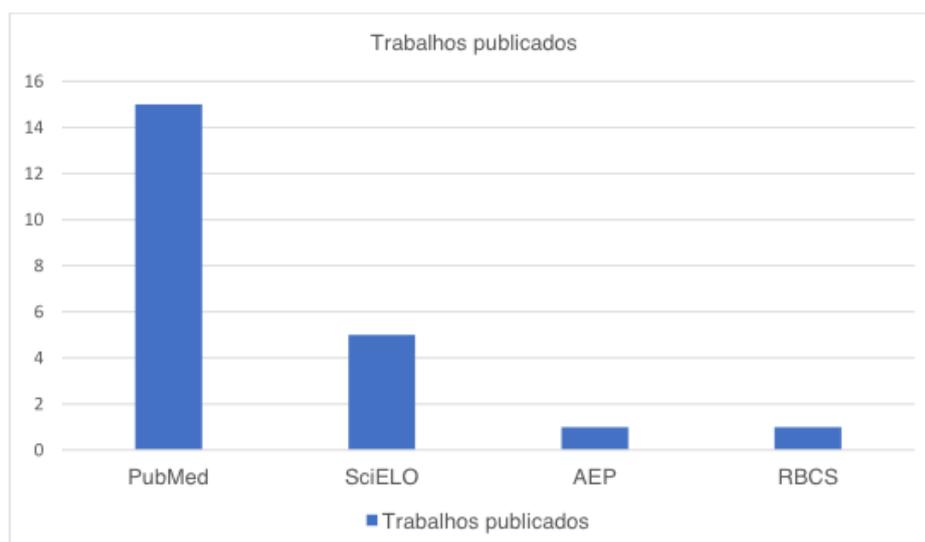


Gráfico 1: Número de trabalhos incluídos nas bases de dados, livros e revistas.

Foram relatados os dados dos 22 artigos (Tabela 1), onde são exibidos: autor principal, ano de publicação, material/método de pesquisa e a relação da dor. Do conjunto de artigos abrangidos na revisão, 4 trabalhos apresentam como metodologia a imunohistoquímica, 1 a coloração de rotina hematoxilina e eosina em tecido epitelial, 3 amostras de DNA genômico, 1 classificação molecular para subtipos de PC, 3 histopatológico, 2 biópsia, 1 exame físico multidisciplinar, 1 mecanismo de ação sobre a liberação da acetilcolina, 1 método psicofísico, 3 revisões de artigos científicos, 1 estudo de bases neurológicas e 1 no registro de pesquisa internacional de paquioníquia congênita.

Até o momento não há uma concordância na literatura a respeito da explicação/descrição da dor para PC. Existem autores que caracterizam a dor em nível severo, “[...] ela descreveu sua dor como afiada e latejante a filmagem, acompanhada de formigamento e sensações de alfinetes e agulhas. Em média, ela classificou sua dor como 7 a 8/10 de intensidade em uma escala analógica visual[...]” (TARIQ, SCHMITZ e KANJIA, pag.305, 2010). Enquanto outros, em níveis leve ou moderado. Dessa maneira, a análise da dor clínica é estabelecida por registros verbais do paciente. O problema principal é que, na maioria das vezes, as descrições dadas dividem significados com outras dimensões da dor<sup>20</sup> e para uma apropriada terapia, é necessário o conhecimento da mesma em todos os âmbitos, seja ele emocional ou fisiológico<sup>25</sup>, mas essa descrição apenas é relatada pelo próprio paciente, sem possíveis testes clínicos, o que dificulta bastante as análises. Em síntese, os parâmetros de autorregistros são considerados o padrão-ouro na mensuração ou avaliação da dor. Contudo, hoje em dia, para se avaliar a dor crônica, existe o Questionário de McGill, que é bastante usado para diferenciar os elementos avaliativo, afetivo e sensitivo da dor<sup>5</sup>.

Neste trabalho foi avaliada a causa para a dor desta mutação genética, que apresenta muitas variações, pois segundo a literatura, 20 genes humanos de queratina estão relacionados com um único distúrbio genético<sup>13</sup>, como por exemplo, o gene *SPRR1A*, este exhibe níveis aumentados de proteína em secções de pele envolvidas com PC comparadas com não envolvidas<sup>3</sup>, então por isso, testes genéticos são essenciais.

Um dos artigos descreve o caso de uma menina que relata dor no pé durante toda a vida, classificando a mesma com um nível de 7 a 8/10, a qual é mais intensa ao andar ou usar sapatos<sup>23</sup>. Já os autores Harris et al. (2011) descrevem o relato de caso de 7 pacientes, sendo que em 3 deles as bolhas e dores são intensificadas devido ao uso de sapatos, também. Tudo isso remete a uma queda na qualidade de vida do paciente e de seus familiares que presenciam tais situações<sup>19</sup>.

Autor	Ano de publicação	Método	Relação da dor
Smith FJ	1998	Hibridização in situ e imunohistoquímica	—

Leachman SA	2005	A coloração de rotina hematoxilina e eosina em tecido epitelial	97% dos casos de PC apresentam espessamento da unha e queratodermia plantar dolorosa.
Smith FJ	1997	Sequenciamento direto de produtos genômicos de PCR	_____
Terrinoni A	2001	Amostras de DNA genômico extraídos de linfócitos sanguíneos periféricos	_____
Liao H	2005	Análise do enlace genético do DNA genômico	As mutações nas queratinas resultam em redes citoesqueléticas aberrantes, [...] causando uma fragilidade epitelial.
McLean WH	2011	Classificação molecular para subtipos de PC	Principais características clínicas da doença incluem ceratodermia plantar dolorosa e altamente debilitante, distrofia ungueal hipertrófica e leucoceratose oral.
Almeida Jr.	2004	Imunohistoquímica	Alteração em sua estrutura molecular leva a enfermidades cutâneas, como PC, que apresenta dor constante.
O. Micol-Martínez	2016	Cultura das unhas	Acometimento principalmente dos dois terços distais da lâmina ungueal. Podem associar fragilidade, perionixia crônica e predisposição a superinfecção por infecções bacterianas.
Cammarata-Scalisi F	2015	Estudo histopatológico	Alterações afetam as citoqueratinas, as quais compõem os filamentos medianos do citoesqueleto das células epiteliais. Ao modificar uma estrutura, ambas são prejudicadas, resultando em dor constante devido ao abalo primordial.
Yu-An Cao	2016	Biópsias retiradas de pele plantar	Muitos genes diferencialmente expressos codificam componentes críticos para a homeostase da barreira da pele, incluindo proliferação, diferenciação, cornificação e descamação de queratinócitos. Assim, ao haver um “desequilíbrio” ocorrerá a ceratodermia plantar dolorosa.
Tariq, Sarah	2016	Exame físico multidisciplinar	A dor crônica impacta negativamente a qualidade de vida; onde se torna severamente limitada em atividades diárias, secundárias à dor.
Juliane C. Lessard	2012	Histopatologia e imunofluorescência	Ceratodermia palmoplantar associada ao PC é extremamente dolorosa e compromete a mobilidade do paciente, tornando-o o sintoma mais debilitante do PC, comprometendo gravemente a capacidade de andar.
Garcia, Marta	2010	Transcriptase reversa-PCR, análise histopatológica e culturas primárias de queratinócitos humanos	_____

Sandrine M. Géranton	2009	Imunohistoquímica, coleta de tecido e immunoblotting	Estados de dor persistentes, mas não o comportamento agudo da dor, são substancialmente aliviados pela rapamicina administrada centralmente.
Colhado, O. C. G	2009	Mecanismo de ação sobre a liberação da acetilcolina	Comprovadamente, a Toxina Botulínica pode enfraquecer seletivamente a musculatura dolorosa, interrompendo o ciclo espasmo-dor.
Fu DJ	2014	Imunohistoquímicas	K9 é necessário para a diferenciação terminal e manutenção da integridade mecânica da epiderme palmoplantar. Pois ela colabora com a proteção da pele.
SILVA, José Aparecido da.	2011	Métodos psicofísicos empregados para a mensuração, tanto da dor clínica quanto da dor experimental.	A metodologia psicofísica pode ser uma medida fidedigna e válida do quinto sinal vital, que é a dor, em todas as suas dimensões.
SILVA, Fabiana Coêlho da.	2009	Revisão de artigos científicos.	Por mais confiável que seja a mensuração da dor por meio de escalas, ela apresenta limitações, pois esse sintoma consiste numa manifestação subjetiva multifatorial, influenciada pelo estado emocional da pessoa.
SALLUM, Ana Maria Calil.	2012	Revisão narrativa da literatura.	Diferentemente das dores agudas, a dor crônica não está relacionada com a permanência ou aparecimento de alterações neurovegetativas (sinais de alerta). Dor crônica é mais que um sintoma é a doença que persiste.
COVIAN, Miguel R.	1965	Estudo das bases neurofisiológicas da sensação.	Hiperalgisia (hiperpatia) superficial ou cutânea — Este distúrbio caracteriza-se pelo fato de que um estímulo originariamente não nocivo causa dor ou porque um estímulo nocivo provoca mais dor do que normalmente.
TRINDADE, H. I.	2013	Revisão da literatura	Para que a adequada instituição de ferramentas terapêuticas de bloqueio da dor há necessidade do conhecimento dos mecanismos envolvidos na sua fisiopatologia.
HARRIS, K.	2011	Registro de Pesquisa Internacional de Pachyonychia Congenita	Medicamentos utilizados para melhoria das infecções.

Tabela 1 Artigos incluídos neste estudo, classificados segundo autor principal, ano da publicação, método de pesquisa e relação da dor.

#### 4 | DISCUSSÃO

De acordo com a literatura, o indício primordial de PC é a onicodistrofia, a qual acomete especialmente os dois terços distais do leito ungueal. Eles relacionam-se a fragilidade, perionixis crônica (patologias do restante do aparelho ungueal, como as dobras ungueais laterais e proximais) e predisposição a superinfecção (uma nova infecção sobreposta a uma infecção preexistente durante a terapêutica antimicrobiana

desta última) por *C. albicans* ou infecções bacterianas<sup>15</sup>.

Grande parte das mutações acontecem em códons específicos, apresentando uma “frequência”, onde em K6a ocorre no códon N171 e, K17 nos códons N92 e R94<sup>13</sup>.

Essas alterações afetam as citoqueratinas, as quais compõem os filamentos medianos do citoesqueleto das células epiteliais, onde apresentam semelhanças à proteína, que possui um domínio helicoidal central que tem como função a polimerização das proteínas afim de dar forma ao tonofilamento da queratina. Esse domínio se apresenta em formato circular e fragmentado em segmentos (1A, 1B, 2A e 2B) e por ligantes flexíveis (L1, L12 e L2). Tendo como principal localização da montagem dos filamentos intermediários o começo da hélice 1A e o término da hélice 2B, as alterações ocorridas nesses locais dão início a este tipo de enfermidade<sup>18</sup>.

A existência de proteína mutante de queratina livre não agregada possibilita o aumento da patogênese do fenótipo PC. O organismo apresenta queratinas que são “induzíveis” (K6, K16 e K17) e que sua função é ligeiramente ativada depois de estresse ou lesão. Dessa maneira, em PC, os níveis de transcrição dos genes *KRT6A*, *KRT6B*, *KRT16* e *KRT17* se apresentam elevados<sup>3</sup>. *A instabilidade genômica no primeiro éxon do K6a e K17 justifica o motivo das mutações mais frequentes ocorrerem nesses genes, pois, devido as repetições das trincas, a DNAPol erra na tradução*<sup>24</sup>. Desse modo, ao alterar uma estrutura, todas as outras são prejudicadas, tendo como resultado a dor constante devido a sensibilização inicial.

Além do mais, a queratina K9 também está envolvida na sustentação de peso mecânico recebido ao caminhar, por exemplo<sup>6</sup>, ela é numerosa e exclusivamente manifestada na diferenciação terminal dos queratinócitos da epiderme, porém é extremamente diminuída na pele envolvida de K6<sup>3</sup>, logo, todos esses fatores, de uma forma ou outra, interferem estruturalmente, manifestando a dor.

Gabriel et al. (2001) afirma que o estado de ansiedade intensifica a dor e sua percepção, levando ao círculo “dor-tensão-dor”, desmitificando o fato de que a dor é apenas um fato orgânico<sup>7</sup>.

Por isso, Agne (2004) vem dizer que a dor precisa ser analisada em três aspectos:

Suas qualidades sensoriais e discriminativas: são as que abordam os aspectos qualitativos espaciais, temporais, de calor e pressão da dor; sua resposta afetiva e motivacional: é representada pelas reações emocionais e autonômicas que a dor pode provocar; e seus aspectos de avaliação cognitiva: é aquela que traz a capacidade do indivíduo em perceber e avaliar a importância subjetiva da vivência de um quadro doloroso, comparando-o com suas experiências anteriores. (AGNE, 2004)

Até mesmo o meio cultural de origem do paciente norteia qual será a sua reação, percepção e significado à dor<sup>16</sup>.

Dessa maneira, a distração e a diversão diminuem a sensação dolorosa, criando um ambiente mais agradável psicologicamente, fazendo com que haja a redução dos influxos das fibras finas<sup>16</sup>.

Sabendo que os humanos apresentam três cópias de um gene *KRT6* praticamente

iguais (K6a, K6b e K6c), uma opção terapêutica seria um silenciamento gênico específico do alelo utilizando pequeno RNA de interferência<sup>8</sup>, silenciando totalmente a queratina modificada, sendo que sua perda seria suportada pelos outros genes<sup>14</sup>, o que diminuiria drasticamente a dor sentida pelo paciente.

Além disso, outra alternativa é a utilização de rapamicina, onde os especialistas afirmam:

Estudos *in vitro* mostraram que a rapamicina aumentou o limiar de ativação elétrica das fibras A $\delta$  nas raízes dorsais. Assim, alguns resultados sugerem que a rapamicina central reduz a dor neuropática atuando tanto em um subconjunto positivo de mTOR de nociceptores A e neurônios de projeção de lâmina I e sugere uma nova via farmacológica para intervenção terapêutica em estados de dor persistentes. (GÉRANTON et al., pag.1, 2009)

Outra opção terapêutica é a acupuntura, que é uma terapia milenar que utiliza de estímulos em pontos específicos pelo corpo que possuem terminações nervosas, tendo como benefícios: analgesia, sedação, antidepressivo etc. Em pacientes com dores, seria uma opção para redução do uso de medicamentos analgésicos e diminuição da dor, já que é uma terapia cientificamente comprovada. E tudo isso se baseia na liberação de neurotransmissores que atuam no organismo<sup>25</sup>.

Por outro lado, existem outras maneiras relatadas de alívio da dor, como em um estudo de caso que se constatou que injeções de gabapentina e toxina botulínica plantar, juntamente com uma equipe multiprofissional (psicólogo, terapia cognitivo-comportamental e fisioterapeuta), foi-se benéfico no alívio da dor crônica no pé de uma paciente, onde a mesma apresentava um diagnóstico médico complicado<sup>23</sup>. Onde, a toxina botulínica é uma neurotoxina que apresenta alta afinidade pelas sinapses colinérgicas, em que acarreta o impedimento da liberação de acetilcolina pelo terminal nervoso, sem mudar a direção neural de sinais elétricos ou síntese e armazenamento de acetilcolina. Assim, ela debilita seletivamente a musculatura dolorosa, impedindo o ciclo espasmo-dor<sup>4</sup>, fazendo com que a dor palmoplantar seja aliviada.

E para as bolhas causadas por traumas ou infecções, um dos artigos cita a utilização de violeta genciana pelos pacientes estudados, sendo que esse medicamento é um bactericida de amplo espectro e fungicida, além de possuir propriedades anti-inflamatórias<sup>10</sup>.

Portanto, é possível que outros fatores, tanto genéticos como ambientais, estejam envolvidos na determinação do fenótipo clínico geral<sup>14</sup>.

## 5 | CONCLUSÃO

É rara a inclusão do nível/causa da dor nos pacientes com PC nas metodologias aplicadas, dado que nos trabalhos analisados faltavam informações relevantes sobre o tema. Sugere-se aqui a realização de estudos específicos sobre a dor no paciente de PC.

Um ponto positivo é a abordagem do fato da dor relacionar vários componentes, que vão de questões psicológicas à estruturais, assim, proporciona informações suficientes para um paciente com tal enfermidade descrever tal percepção da dor e aumentar seu conhecimento sobre o tema.

## REFERÊNCIAS

- 1 AGNE, Jones E. **Eletrotermoterapia: teoria e prática**. Santa Maria, RS: Orium, 2004.
- 2 ALMEIDA JR, Hiram Larangeira de. Citoqueratinas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. vol.79, n.2, Rio de Janeiro, ISSN 0365-0596. Mar. 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962004000200002](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962004000200002)> Acesso em: 29 jan. 2018.
- 3 CAO Y. A.; HICKERSON R. P.; SEEGMILLER B. L.; GRAPOV D.; GROSS M. M.; BESSETTE M. R.; PHINNEY B. S.; FLORES M. A.; SPEAKER T. J.; VERMEULEN A.; BRAVO A. A.; BRUCKNER A. L.; MILSTONE L. M.; SCHWARTZ M. E.; RICE R. H.; KASPAR R. L. **Gene Expression Profiling in Pachyonychia Congenita Skin**. *Journal of Dermatological Science*. Publicação online. PMC4374015. Mar. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25656049>> Acesso em: 20 mar. 2018.
- 4 COLHADO O. C. G.; BOEING M.; ORTEGA L. B. **Toxina Botulínica no Tratamento da Dor**. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. vol.59, n.3, Rio de Janeiro, ISSN 0034-7094. Maio. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rba/v59n3/13.pdf>> Acesso em: 30 abr. 2018.
- 5 COVIAN, Miguel R. **Fisiopatogênese da dor**. *Arq. Neuro-psiquiat*. Vol. 23. n.3. Set. São Paulo, 1965. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/anp/v23n3/01.pdf>> Acesso em: 16 abr. 2018.
- 6 FU D. J.; THOMSON C.; LUNNY D. P.; DOPPING-HEPENSTAL P. J.; MCGRATH J. A.; SMITH F. J. D.; IRWIN MCLEAN W. H.; LESLIE PEDRIOLI D. M. **Keratin 9 is required for the structural integrity and terminal differentiation of the palmoplantar epidermis**. *The Journal of Investigative Dermatology*. Publicação online. PMC3923277. Mar. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23962810>> Acesso em: 24 abr. 2018.
- 7 GABRIEL, Maria R. S.; PETIT, J. Diaz & CARRIL, Maria L. de S. **Fisioterapia em traumatologia, ortopedia e reumatologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.
- 8 GARCIA M.; LARCHER F.; HICKERSON R. P.; BASELGA E.; LEACHMAN S. A.; KASPAR R. L.; DEL RIO M. Development of skin-humanized mouse models of pachyonychia congenita. *The Journal of Investigative Dermatology*. Publicação online. PMC S0022-202X. Dez. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21150925>> Acesso em: 23 abr. 2018.
- 9 GERANTON S. M.; JIMÉNEZ-DÍAZ L.; TORSNEY C.; TOCHIKI K. K.; STUART A. S.; LEITH J. L.; LUMB B. M.; HUNT S. P. **A rapamycin-sensitive signaling pathway is essential for the full expression of persistent pain states**. *Journal of Neuroscience*. Publicação online. PMC2830115. Nov. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19940197>> Acesso em 24 abr. 2018.
- 10 HARRIS, K.; HULL, P. R.; HANSEN, C. D.; SMITH, F. J. D.; MCLEAN, W. H. I.; ARBISER, J. L.; LEACHMAN, S. A.; **Transgrediens pachyonychia congenita (PC): case series of a nonclassical PC presentation**. *British Association of Dermatologists*. Publicação online. DOI 10.1111/j.1365-2133.2011.10537.x. Jul. 2012. Disponível em: <<http://www.pachyonychia.org/wp-content/uploads/2016/12/Harris-K.-2011.pdf>> Acesso em: 17 abr. 2018.
- 11 LEACHMAN S. A.; KASPAR R. L.; FLECKMAN P.; FLORELL S. R.; SMITH F. J.; MCLEAN W. H.; LUNNY D. P.; MILSTONE L. M.; VAN STEENSEL M. A.; MUNRO C. S.; O'TOOLE E. A.; CELEBI

J. T.; KANSKY A.; LANE E. B. **Clinical and pathological features of pachyonychia congenita**. The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMID:16250204. Out. 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16250204>> Acesso em: 05 nov. 2017.

12 LESSARD J. C.; COULOMBE P. A. **Keratin 16-null mice develop palmoplantar keratoderma, a hallmark feature of pachyonychia congenita and related disorders**. The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMC3326191. Maio. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22336941>> Acesso em: 21 abr. 2018.

13 LIAO H.; SMITH F. J.; CASSIDY A. J.; STEWART A.; HAMILL K. J.; WOOD P.; JOVAL I.; VAN STEENSEL M. A.; BJÖRCK E.; CALLIF-DALEY F.; PALS G.; COLLINS P.; LEACHMAN S. A.; MUNRO C. S.; MCLEAN W. H. **The genetic basis of pachyonychia congenita**. The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMID:16250206. Out. 2005. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16250206>> Acesso em: 18 dez. 2017.

14 MCLEAN W. H.; HANSEN C. D.; ELIASON M. J.; SMITH F. J. **The phenotypic and molecular genetic features of pachyonychia congenita**. The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMID:21430705. Maio. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21430705>> Acesso em: 15 jan. 2018.

15 MICOL-MARTÍNEZ O.; LÓPEZ-GONZÁLEZ V.; GARCIA-MARCOS P. W.; MARTÍNEZ-MENCHÓN T.; GUILLÉN-NAVARRO E. Paquioniquia congénita: nuevo caso asociado al gen KRT17. Asociación Española de Pediatría. vol.84, n.3. Mar. 2016. Disponível em: <<https://www.analesdepediatria.org/es-paquioniquia-congnita-nuevo-caso-asociado-articulo-S1695403315003379>> Acesso em: 15 fev. 2018.

16 OLIVEIRA, Cláudia Clarindo; MAUGIN, Cyntia; OLIVEIRA, Élide Carolina Furtado de; MELO, Fabiane Dantas Pacheco; SILVA, Fernanda de Cássia de Almeida; DIAS, Fernanda Eliza de Jesus; PARREIRA, Gabriela Sales; SÉRVULO, Janaína de Almeida; SANTOS, Rosiane de Paula. **A dor e o controle do sofrimento**. Revista de Psicofisiologia. Minas Gerais, 1997. Disponível em: <<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://labs.icb.ufmg.br/lpf/mono2b.pdf>> Acesso em: 17 abr. 2018.

17 SALLUM, Ana Maria Calil; GARCIA, Dayse Maioli; SANCHES, Mariana. **Dor aguda e crônica: revisão narrativa da literatura**. Acta Paul Enferm. São Paulo, 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/pdf/ape/v25nspe1/pt\\_23.pdf](http://www.scielo.br/pdf/ape/v25nspe1/pt_23.pdf)> Acesso em: 16 abr. 2018.

18 SCALISI F. C.; NATSUGA K.; TOYONAGA E.; NISHIE W.; SHIMIZU H.; STOCK F.; MILANO M.; PETROSINO P.; SOTOLONGO A. A.; MEDINA Y. **Hallazgos clínicos y moleculares de la paquioniquia congénita tipo 2 (PC-2)**. Biología Molecular Y Medicina. Publicação online. vol. 151, n.2. 2015. ISSN 0016-3813. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5180042>> Acesso em: 03 mar. 2018.

19 SILVA, Fabiana Coêlho da; DELIBERATO, Paulo César Porto. **Análise Das Escalas De Dor: Revisão De Literatura**. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, ano VII. n. 19, Jan/mar 2009. Disponível em: <[http://repositorio.uscs.edu.br/bitstream/123456789/110/2/Analise%20das%20Escalas%20de%20Dor\\_RBCS\\_2009.pdf](http://repositorio.uscs.edu.br/bitstream/123456789/110/2/Analise%20das%20Escalas%20de%20Dor_RBCS_2009.pdf)> Acesso em: 15 abr. 2018.

20 SILVA, José Aparecido da; RIBEIRO FILHO, Nilton Pinto. **A dor como um problema psicofísico\***. Ver. Dor. São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rdor/v12n2/v12n2a11>> Acesso em: 15 abr. 2018.

21 SMITH F. J.; CORDEN L. D.; RUGG E. L.; RATNAVEL R.; LEIGH I. M.; MOSS C.; TIDMAN M. J.; HOHL D.; HUBER M.; KUNKELER L.; MUNRO C. S.; LANE E. B.; MCLEAN W. H. **Missense mutations in keratin 17 cause either pachyonychia congenita type 2 or a phenotype resembling steatocystoma multiplex**. The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMID:9008238. Fev.1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9008238>> Acesso em: 10 nov. 2017.

22 SMITH F. J.; JONKMAN M. F.; VAN GOOR H.; COLEMAN C. M.; COVELLO S. P.; UITTO

J.; MCLEAN W. H. **A mutation in human keratin K6b produces a phenocopy of the K17 disorder pachyonychia congenita type 2.** Human molecular genetics. Publicação online. PMID:9618173. Jul.1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9618173>> Acesso em: 28 set. 2017.

23 TARIQ S.; SCHMITZ M. L.; KANJIA M. K. **Chronic Foot Pain due to Pachyonychia Congenita in a Pediatric Patient: A Successful Management Strategy.** Clinical Care. Publicação online. Vol.6. n.10, Maio.2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27182712>> Acesso em: 10 abr. 2018.

24 TERRINONI A.; SMITH F. J.; DIDONA B.; CANZONA F.; PARADISI M.; HUBER M.; HOHL D.; DAVID A.; VERLOES A.; LEIGH I. M.; MUNRO C. S.; MELINO G.; MCLEAN W. H. **Novel and recurrent mutations in the genes encoding keratins K6a, K16 and K17 in 13 cases of pachyonychia congenita.** The Journal of Investigative Dermatology. Publicação online. PMID:11886499. Dez.2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11886499>> Acesso em: 12 dez. 2017.

25 TRINDADE, H. I; BATISTA, M. C. S; SILVA, L. L. B. **Dor: mecanismos envolvidos na sua transmissão e recursos terapêuticos aplicados à sua inibição.** Medicina Veterinária. Vol.7. n.4. Recife, 2013. Disponível em: <<http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/viewFile/582/461>> Acesso em: 17 abr. 2018.

## PREDIÇÃO DA ABSORÇÃO PASSIVA DE FÁRMACOS POR MEIO DA PERMEABILIDADE DETERMINADA IN VITRO UTILIZANDO O ENSAIO EM MEMBRANA ARTIFICIAL PARALELA (PAMPA)

### Iara Dévula Tiso Tana

Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia

Ouro Preto – Minas Gerais

### Tamires Guedes Caldeira

Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia

Ouro Preto – Minas Gerais

### Renata Rodrigues Lima

Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia

Ouro Preto – Minas Gerais

### Dênia Antunes Saúde Guimarães

Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia

Ouro Preto – Minas Gerais

### Jacqueline de Souza

Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia

Ouro Preto – Minas Gerais

**RESUMO:** A biodisponibilidade de fármacos veiculados em formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata está relacionada com as propriedades de solubilidade e permeabilidade do fármaco ao longo do trato gastrointestinal (TGI). Diversos modelos *in vitro* têm sido empregados na determinação e caracterização da permeabilidade, como o ensaio de Permeabilidade em Membrana

Artificial Paralela (PAMPA) que estima a absorção passiva transcelular de moléculas a partir de suas características físico-químicas. O presente capítulo tem o objetivo de descrever a determinação da permeabilidade de fármacos pelo modelo *in vitro* PAMPA, bem como expor as variações da técnica, suas características e dificuldades, apresentando também exemplos de experimentos realizados com fármacos. Para isso, foi realizada busca bibliográfica em banco de dados como Science Direct e PeriódicosCapes, selecionando artigos entre 1998 a 2018. Vinte e sete artigos que descreveram a técnica foram encontrados. Estes mostraram as variações de diversos parâmetros durante o ensaio de predição da permeabilidade no TGI, na pele e na barreira hematoencefálica e apresentaram os cuidados e as limitações do ensaio. O PAMPA é uma técnica rápida, simples, considerada capaz de prever a absorção de fármacos em várias regiões do organismo por meio do ajuste de variáveis inerentes ao estudo e, principalmente, de proporcionar resultados correlacionáveis aos demais modelos. O PAMPA também possui cuidados que devem ser levados em consideração como forma de evitar fontes de erro.

**PALAVRAS-CHAVE:** ensaio PAMPA, permeabilidade, PAMPA permeabilidade.

**ABSTRACT:** The bioavailability of drugs conveyed in solid oral forms of immediate release is defined as the fraction of the administered dose which is absorbed intact in the systemic circulation and is related to the solubility and permeability properties of the drug along the gastrointestinal tract (GIT). Several *in vitro* models have been employed in the determination and characterization of permeability, such as the Parallel Artificial Membrane Permeability Assay (PAMPA), which estimates the transcellular passive absorption of molecules from their physicochemical characteristics. The aim of this chapter is to describe the determination of the permeability of drugs by the *in vitro* model PAMPA, as well as to expose the variations of the technique, its characteristics and difficulties, also presenting experiments with drugs as examples. For this, a bibliographic search was carried out in a database such as Science Direct and PeriodicosCapes, selecting articles between 1998 and 2018. Twenty seven papers describing the technique were found, showing variations of several parameters during the GIT permeability prediction test, skin and the blood-brain barrier and presented the care and limitations of the trial. PAMPA is a fast, simple technique considered to be able to predict the absorption of drugs in various regions of the body by adjusting variables inherent to the study and mainly to have results obtained correlated to the other models. PAMPA also has care that should be taken into account as a way to avoid sources of error.

**KEYWORDS:** PAMPA assay, permeability, PAMPA permeability.

## 1 | INTRODUÇÃO

A absorção de um fármaco a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral ocorre quando há sua dissolução nos líquidos do trato gastrointestinal (TGI) e a sua permeação através das membranas intestinais até a chegada à corrente sistêmica.

Vários são os fatores que alteram a absorção, tais como: fatores fisiológicos, fatores inerentes ao próprio fármaco como suas características físico-químicas e fatores relacionados a forma farmacêutica. A velocidade e a extensão da absorção de um fármaco, administrado por via oral, leva em consideração três pilares essenciais: a solubilidade do próprio fármaco, a permeabilidade através das membranas e a velocidade de dissolução a partir da forma farmacêutica. Logo, quando existe uma alta solubilidade e permeabilidade do fármaco, somado a uma dissolução rápida a partir da forma farmacêutica, quantidade adequada a dose do fármaco atinge a circulação sistêmica em velocidade apropriada e, conseqüentemente, pode ser distribuída e chegar ao local de ação para cumprir seu efeito terapêutico (AMIDON et al., 1995).

Devido a estes fatores, a determinação da permeabilidade se faz necessária, uma vez que o fármaco solubilizado nos líquidos biológicos deve atravessar as células das membranas intestinais para ser absorvido.

A classificação da permeabilidade do fármaco está indiretamente ligada à extensão da sua absorção (da fração absorvida da dose) ou à velocidade de transferência de

massa através da membrana intestinal e está diretamente relacionada com a sua estrutura molecular e com as características físicas e bioquímicas das membranas (FDA, 2017).

As barreiras fisiológicas do corpo humano, seus transportadores, bem como as características físico-químicas do fármaco são parâmetros que influenciam a permeabilidade (GONÇALVES et al., 2009).

Existem vários métodos para a determinação da permeabilidade de fármacos a fim de prever a absorção *in vivo*. Dentre eles, os métodos mais difundidos são: métodos *in vivo* em seres humanos que são estudos de biodisponibilidade absoluta, estudos de balanço de massa e estudos de perfusão intestinal; métodos de perfusão intestinal *in vivo* ou *in situ* em um modelo animal adequado; métodos *in vitro* utilizando seções de tecidos intestinais de origem humana ou animal e cultura de células. Normalmente são empregadas células de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2), células *Madin-Darby* de rim canino (MDCK) e células TC-7, que são subclones isolados das células Caco-2. Para a avaliação preliminar da permeabilidade podem ser utilizados também sistemas artificiais, como o ensaio de permeabilidade em membrana artificial paralela (PAMPA) e métodos *in silico*, que empregam programas computacionais para a previsão da permeabilidade de acordo com a estrutura química da substância (BUENO e RECH, 2009; SOUZA et al., 2007; BALIMANE et al., 2000).

Dentre os métodos citados para a determinação da permeabilidade, o ensaio PAMPA se destaca por ser uma técnica simples, rápida e de baixo custo, que pode gerar informações sobre o caráter lipofílico, o estado de carga em diferentes valores de pH e a solubilidade do fármaco (KANSY et al., 1998).

Proposto por Kansy e colaboradores em 1998, o ensaio PAMPA baseia-se em sistemas artificiais compostos por lipídeos, utilizados nos estudos de previsão da absorção passiva de fármacos. A avaliação da permeabilidade de fármacos é realizada de modo transcelular, dado que não há expressão de transportadores.

Diante disto, este trabalho visa reunir informações sobre o que é e como realizar a determinação da permeabilidade de fármacos pelo modelo *in vitro* PAMPA, discutindo as características e as dificuldades do emprego da técnica, apresentando exemplos de experimentos realizados com fármacos.

## 2 | MÉTODO

Foi realizada busca bibliográfica em bancos de dados, como Science Direct e Periódicos Capes, utilizando as palavras-chaves “PAMPA permeability”, “PAMPA assay” e “permeability”. Artigos científicos contendo informações sobre a técnica, publicados entre 1998 a 2018, foram coletados.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Constituição do sistema para a realização do ensaio PAMPA

Na técnica, duas placas de 96 poços acopladas assemelham-se a um “sanduíche”. Uma placa é chamada de compartimento doador, na qual a substância a ser avaliada está solubilizada em tampão, com pH variando de 3,0 a 10,0 mimetizando o lúmen intestinal, e a outra placa é denominada compartimento receptor, a qual recebe apenas solução tampão, usualmente com pH 7,4 mimetizando a corrente sanguínea. Na base do compartimento receptor existe um filtro, geralmente composto de polivinildifluorideno (PVDF), impregnado por lipídeo dissolvido em solvente orgânico, o qual gera uma membrana que mimetiza a mucosa intestinal. Durante a realização do ensaio, o fármaco em solução migra do compartimento doador para o compartimento receptor por difusão passiva (KANSY et al., 1998; REIS, 2013; AVDEEF, 2005).

Durante a busca bibliográfica, vinte e sete artigos que descreveram o ensaio PAMPA, bem como aqueles que avaliaram a permeabilidade no TGI, na pele e barreira hematoencefálica e que mostraram variações de diversos parâmetros durante o ensaio, foram selecionados.

Para a realização do ensaio PAMPA diversas variações dos parâmetros da técnica são permitidas, conforme o que se deseja estudar. Os solventes n-dodecano, n-hexadecano e 1,7-octadieno podem ser usados para a avaliação da permeabilidade no TGI. Na barreira hematoencefálica, podem ser usados os solventes n-dodecano e n-hexadecano. Os análogos sintéticos da ceramida, colesterol, ácido esteárico e uma mistura de 70% de óleo de silicone com 30% de miristato de isopropila (IPM) são usados para a determinação da permeabilidade na pele. A composição lipídica apresentou alta variabilidade, podendo conter lecitina de ovo ou soja, dioleifosfatidilcolina (DOPC), solução lipídica extraída a partir de cérebro suíno (*Porcine Polar Brain Lipid* - PBL), óleo de silicone e IPM, e mistura de fosfolipídeos, na proporção de 2 a 20%. O pH usado nos compartimentos variou de 4 a 8. O tempo de incubação das placas variou de 2 a 18 horas com ou sem agitação. A temperatura variou de 21°C a 37°C. Os volumes utilizados nos compartimentos doador e receptor variaram de 150 µL a 300 µL (KANSY et al., 1998; ZHU et al., 2002; WOHNSLAND e FALLER, 2001; OTTAVIANI et al., 2006; AVDEEF et al., 2001; BERMEJO et al., 2004; DI et al., 2003; SUGANO et al., 2001; SINKÓ et al., 2012; SCHNEIDER, 2013).

### 3.2 Cálculos de permeabilidade e correlação com absorção

Para a análise dos resultados é realizado o cálculo de permeabilidade efetiva (Equação 1), que leva em consideração os seguintes parâmetros:  $V_D$  = volume do compartimento doador;  $A$  = área da membrana;  $t$  = tempo de incubação da placa em segundos;  $T_{ss}$  = tempo necessário para saturar a membrana;  $\epsilon_a$  = porosidade aparente do filtro de PVDF (NIELSEN e AVDEEF, 2004);  $r_v$  = razão do volume dos compartimentos

doador e receptor;  $C_A(t)$  e  $C_D(0)$  = concentrações em mol/mL das amostras presentes no compartimento receptor ao final do ensaio e no compartimento doador no tempo zero, respectivamente (AVDEEF, 2003; REIS, 2013).

$$P_{\text{eff}} = -\frac{2,303 V_D}{A (t - \tau_{ss}) \varepsilon_a} \cdot \left( \frac{1}{1 + r_v} \right) \cdot \log_{10} \left[ 1 - \frac{1 + r_v^{-1}}{1 - R_M} \cdot \frac{C_A(t)}{C_D(0)} \right]$$

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da Permeabilidade efetiva ( $P_{\text{eff}}$ )

A equação 2 permite a avaliação da possível retenção do fármaco nas membranas e se esta retenção irá acometer no resultado do cálculo de permeabilidade (AVDEEF, 2003).

$$R_M = 1 - \left( \frac{m_D(t)}{m_D(0)} \right) - \left( \frac{m_A(t)}{m_D(0)} \right)$$

Equação 2 – Fórmula para o cálculo da quantidade de fármaco retido na membrana

Os valores calculados de permeabilidade efetiva são então comparados a valores obtidos de fármacos previamente estabelecidos como padrões de alta e baixa permeabilidade e, assim, pode-se concluir acerca da permeabilidade e processo de absorção da substância estudada. Um fármaco é considerado de alta permeabilidade quando a extensão da sua absorção em humanos for igual ou superior a 85%, de acordo com FDA, EMA, OMS e ANVISA (FDA, 2017; WHO, 2006; EMA, 2010; BRASIL, 2011).

### 3.3 Cuidados e limitações do ensaio PAMPA

Certos cuidados durante a realização do ensaio PAMPA são fundamentais, uma vez que alguns parâmetros podem alterar os resultados de permeabilidade obtidos.

#### 3.3.1 Composição das membranas artificiais

A membrana artificial usada nos ensaios PAMPA por Kansy, Senner e Gubernator (1998) é composta por um filtro de PVDF hidrofóbico impregnado por componentes lipídicos dissolvidos em solventes orgânicos. A composição da membrana é amplamente utilizada da mesma maneira, porém pode ser alterada. Com isso, a escolha da composição das membranas selecionadas para a realização do ensaio possui influência no resultado final, uma vez que a regulação da fluidez da membrana afeta as características de transporte transcelular (MEDDINGS e THEISEN, 1989).

### *3.3.2 Integridade das membranas artificiais*

É necessário certificar que a membrana não será rompida durante a realização do ensaio. A integridade da membrana é fundamental para garantir robustez do método, provando que as frações permeadas na técnica não sejam provenientes de danos a membrana (SCHNEIDER, 2013). A integridade da membrana é avaliada antes e após o experimento contribuindo para a eliminação de uma fonte de erro durante a execução do ensaio.

### *3.3.3 Composição e tipos de filtros*

Kansy e colaboradores (1998) idealizaram o ensaio PAMPA utilizando um filtro hidrofóbico (PVDF) impregnado por lipídeo dissolvido em solvente orgânico. Esse tipo de filtro forma membranas estáveis e resistentes a excipientes e agitação. Porém, a geometria dos poros desse filtro facilita a retenção dos fármacos na membrana.

Com isso, pesquisas já foram realizadas utilizando o PVDF hidrofílico, aumentando a permeação das substâncias e reduzindo o tempo de incubação das placas (ZHU et al., 2002).

### *3.3.4 pH e composição dos meios dos compartimentos doador e receptor*

Os meios dos compartimentos doador e receptor geralmente são soluções tamponadas que mimetizam os fluidos sanguíneo e intestinal. O pH do compartimento doador é fundamental no coeficiente de correlação (AVDEEF et al., 2007).

Não há muitos estudos que certificam a condição de pH ideal e de acordo com Avdeef e colaboradores (2007), a correlação pode diminuir com o acréscimo de novas moléculas, principalmente se os fármacos incluídos não possuírem transporte passivo.

Comumente, o uso de um gradiente de pH é usado na técnica. Para o compartimento doador o pH pode variar de 3,0 a 10,0 e no receptor o pH mantém-se, frequentemente em 7,4 (AVDEEF et al., 2005).

O uso de co-solventes nos compartimentos doador e receptor tem sido empregado para aumentar a solubilidade de compostos altamente lipofílicos, como o co-solvente DMSO. Porém, a afinidade do composto lipofílico pelo tampão aumenta na presença de co-solventes, gerando valores de permeabilidade menores do que àqueles onde o co-solvente não é utilizado (SUGANO et al., 2001; DREASSI et al., 2009).

### *3.3.5 Camada de água estacionária*

A camada de água estacionária, corresponde a uma camada de água, muco e glicocálix e tem a característica de ser rígida, adjacente à parede intestinal, podendo ser uma barreira para a permeação por difusão passiva (THOMSON et al., 1984).

A fim de reduzir a espessura da camada de água estacionária no ensaio PAMPA, Wohnsland e Faller (2001) e Avdeef, Nielsen e Tsinman (2004) propuseram o uso de agitadores magnéticos que realizavam rotação individual nos poços das placas e conseguiram diminuir significativamente a camada de água estacionária.

No entanto, empregando consideração feita em 1995 por Adson e colaboradores, a agitação durante o ensaio PAMPA pode ser ineficaz devido ao fato do agitador magnético individual agitar somente um dos lados dos compartimentos.

### 3.4 Aplicações do ensaio PAMPA

O ensaio PAMPA é um modelo *in vitro* que pode prever a absorção *in vivo* de fármacos já existentes, de novas moléculas candidatas a fármaco e de substâncias bioativas. É normalmente empregado para a determinação da permeabilidade no TGI, na pele e barreira hematoencefálica e também na comparação de resultados obtidos com aqueles decorrentes de outros modelos.

O ensaio PAMPA e as células Caco-2 têm sido comumente utilizados para a avaliação da permeabilidade *in vitro* de novas moléculas. Li e colaboradores (2008) realizaram ensaios comparativos entre atividade e permeabilidade. A atividade foi expressa pela razão do coeficiente de inibição ( $K_i$ ) pela concentração inibitória a 90% (IC90),  $K_i/IC90$ , e a permeabilidade foi relacionada à taxa de permeação usando os modelos de permeabilidade em células Caco-2 e PAMPA. Os resultados mostraram uma correlação entre  $K_i/IC90$  e PAMPA de  $r^2=0,76$ , enquanto que a correlação observada entre  $K_i/IC90$  e permeabilidade em células Caco-2 foi de 0,29 (Li et al., 2008). Estes dados sugerem que, para alguns fármacos que possuem a via passiva como modo de permeação, o ensaio PAMPA pode ser mais preditivo do que a técnica de permeabilidade em células Caco-2.

Bermejo e colaboradores (2004) realizaram ensaios de permeabilidade intrínseca utilizando dezessete fluoroquinolonas. Nesta pesquisa, os filtros de PVDF foram impregnados com 20% de lecitina em n-dodecano e foi avaliada a existência de correlação entre os resultados obtidos a partir dos ensaios PAMPA e aqueles obtidos a partir de modelos de perfusão em intestino de ratos e a partir de cultura de células Caco-2 (BERMEJO et al., 2004). Os resultados mostraram que o PAMPA e a cultura de células Caco-2 foram igualmente capazes de mimetizar os resultados obtidos *in vivo* em ratos, demonstrando assim que os resultados obtidos com o ensaio PAMPA são plenamente equiparáveis a outros modelos.

Caldeira e colaboradores (2017) avaliaram a solubilidade em equilíbrio e a permeabilidade da substância bioativa eremantolida C. A permeabilidade foi analisada por método *in silico* e também *in vitro* pelo ensaio PAMPA. As condições do ensaio PAMPA foram: temperatura a 37°C, agitação a 50 rpm por 5 h. O compartimento doador foi composto por uma solução de eremantolida C em tampão pH 6,8 e o compartimento receptor consistiu em tampão fosfato pH 7,4. Eremantolida C teve seus resultados

de permeabilidade efetiva comparados aos fármacos furosemida e cloridrato de propranolol, fármacos geralmente usados como padrão de baixa e alta permeabilidade, respectivamente. A permeabilidade efetiva da eremantolida C foi de  $30,40 \times 10^{-6}$  cm/s, cerca de três vezes maior do que o cloridrato de propranolol ( $9,23 \times 10^{-6}$  cm/s). Os resultados mostraram que eremantolida C é uma substância de alta permeabilidade, o que foi corroborado com resultados obtidos *in silico* (CALDEIRA et al., 2017). O ensaio PAMPA prevê a absorção de substâncias *in vivo* com base nas suas características físico-químicas e possui resultados correlacionáveis com modelos computacionais que fazem o uso do mesmo método.

A combinação entre ensaio *in vitro* (PAMPA), *in situ* (perfusão de cérebro de rato) e o uso de descritores moleculares *in silico*, resultou em um estudo realizado por Dagenais e colaboradores, 2009, que originou o chamado *in combo*-PAMPA. Este modelo foi capaz de prever a permeabilidade passiva de dezenove fármacos através da barreira hematoencefálica, na ausência de efluxo mediado pela glicoproteína P-gp (DAGENAIS et al., 2009). A permeabilidade pela barreira hematoencefálica pode ser prevista pelo ensaio PAMPA de maneira satisfatória.

Sinkó e colaboradores (2012) propuseram o ensaio PAMPA utilizando membranas impregnadas com diferentes proporções de análogos sintéticos da ceramida, colesterol e ácido esteárico (análogas a cetramidas presentes no estrato córneo) em uma pesquisa com sete fármacos. Essa pesquisa teve como objetivo encontrar um modelo de fácil padronização, alta reprodutibilidade e custo benefício superior a metodologias *ex vivo* para estimar a penetração de um fármaco através das barreiras da pele (SINKÓ et al., 2012). O método PAMPA apresentou boa correlação para estudo de permeabilidade de fármacos e cosméticos. Além disso, o ensaio demonstrou ter correlação satisfatória com dados *in vivo*.

#### 4 | CONCLUSÃO

Estudos prévios mostraram que o ensaio PAMPA, assim como qualquer técnica, possui cuidados e limitações que devem ser avaliadas previamente a um experimento a fim de evitar fontes de erros indesejáveis. Este ensaio permite de forma rápida o cálculo da permeabilidade efetiva de fármacos e substâncias biologicamente ativas, que ocorre pela via passiva de absorção transcelular. Isto o torna um modelo muito pertinente para avaliação ou triagem prévia de um grande número de substâncias (KANSY et al., 1998). Com as variações das características do lipídeo, o PAMPA pode prever a absorção de fármacos em várias regiões do organismo mediante o ajuste de variáveis referentes ao objetivo pretendido.

O ensaio PAMPA, assim como qualquer técnica, possui cuidados e limitações que devem ser avaliadas previamente a um experimento a fim de evitar fontes de erros.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), ao Laboratório de Pesquisa e Controle de Qualidade de Medicamentos (LCQ) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- ADSON, A.; BURTON, P. S.; RAUB, T. J.; BARSUHN, C. L.; AUDUS, K. L.; HO, N. F. H. **Passive diffusion of weak organic electrolytes across Caco-2 cell monolayers: uncoupling the contributions of hydrodynamic, transcellular, and paracellular barriers.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.84, p.1197–1204, 1995.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. **A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability.** *Pharmaceutical Research*, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.
- AVDEEF, A. **Absorption and drug development: solubility, permeability and charge state.** Wiley-Interscience, 2003. 287p.
- AVDEEF, A.; ARTURSSON, P.; NEUHOFF, S.; LAZOROVA, L.; GRASJO, J.; TAVELIN, S. **Caco-2 permeability of weakly basic drugs predicted with the Double-Sink PAMPA  $pK_a^{flux}$  method.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 24 (2005) 333-349.
- AVDEEF, A.; BENDELS, S.; DI, L.; FALLER, B.; KANSY, M.; SUGANO, K.; YAMAUCHIPAMPA, Y. **Critical factors for better predictions of absorption.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.96, p.2893-2909, 2007.
- AVDEEF, A.; NIELSEN, P. E.; TSINMAN, O. **PAMPA – a drug absorption in vitro model 11. Matching the in vivo unstirred water layer thickness by individual-well stirring in microtitre plates.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 22, p. 365-374, 2004.
- AVDEEF, A.; STRAFFORD, M.; BLOCK, E.; BALOGH, M. P.; CHAMBLISS, W.; KHAN, I. **Drug absorption in vitro model: filter-immobilized artificial membranes 2. Studies of the permeability properties of lactones in Piper methysticum Forst.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.14, p. 271-280, 2001.
- BALIMANE, P. V.; CHONG, S.; MORRISON, R. A. **Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption.** *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. v. 44, p. 301-312, 2000.
- BERMEJO, M.; AVDEEF, A.; RUIZ, A.; NALDA, R.; RUELL, J.A.; TSINMAN, O.; GONZÁLEZ, I.; FERNÁNDEZ, C.; SÁNCHEZ, G.; GARRIGUES, T.M.; MERINO, **PAMPA—a drug absorption in vitro model 7. Comparing rat in situ, Caco-2, and PAMPA permeability of fluoroquinolones.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.21, p.429-441, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 37, de 3 de agosto de 2011. **“Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências”.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 3 de agosto de 2011.
- BUENO, M. M.; RECH, N. **Biofarmacotécnica: Princípios de Biodisponibilidade, Bioequivalência**

**Farmacêutica, Equivalência Terapêutica e Intercambialidade de Medicamentos.** In: STORPIRTIS, S. et al. *Biofarmacotécnica*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Cap.2, p. 12-20.

CALDEIRA, T. G.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.; DEZANI, A. B.; SERRA, C. H. R.; SOUZA, J. **In silico and in vitro prediction of gastrointestinal absorption from potential drug eremantholide C.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 69 (2017), pp. 1468–1476.

DAGENAIS, C.; AVDEEF, A.; TSINMAN, O.; DUDLEY, A.; BELIVEAU, R. **P-glycoprotein deficient mouse in situ blood–brain barrier permeability and its prediction using an in combo PAMPA model.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 38 (2009) 121–137.

DI, L.; KERNS, E. H.; FAN, K.; MCCONNELL, O. J.; CARTER, G. T. **High throughput artificial membrane permeability assay for blood–brain barrier.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.38, p.223–232, 2003.

DREASSI, E.; ZIZZARI, A. T.; FALCHI, F.; SCHENONE, S.; SANTUCCI, A.; MAGA, G.; BOTTA, M. **Determination of permeability and lipophilicity of pyrazolo-pyrimidine tyrosine kinase inhibitors and correlation with biological data.** *European Journal of Medicinal Chemistry* 44 (2009) 3712–3717.

EMA-EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Guideline on the investigation of bioequivalence.** London, 2010. Disponível em: <[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/01/WC500070039.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf)> Acesso em 15 de fevereiro de 2019.

FDA. **Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutics Classification System.** U.S. Department of Health and Human Service, Food and Drugs Administration, Center for Drug Evaluation Research (CDER), 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>> Acesso em 15 de fevereiro de 2019.

GONÇALVES, J. E.; SOUZA, J.; STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica: Avaliação da Permeabilidade de Fármacos Empregando Culturas Celulares.** In: STORPIRTIS, S. et al. *Biofarmacotécnica*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Cap. 19, p. 204 – 211.

KANSY, M.; SENNER, F.; GUBERNATOR, K. **Physicochemical high throughput screening parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes.** *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 41, n. 7, p. 1007-1010, 1998.

LI, C.; NAIR, L.; LIU, T.; LI, F.; PICHARDO, J.; AGRAWAL, S.; CHASE, R.; TONG, X.; USS, A.S.; BOGEN, S.; NJOROGÉ, F. G.; MORRISON, R. A.; CHENG, K.C. **Correlation between PAMPA permeability and cellular activities of hepatitis C virus protease inhibitors.** *Biochemical Pharmacology*, v.75, p.1186–1197, 2008.

MEDDINGS, J.B.; THEISEN, S. **Development of rat jejunum: lipid permeability, physical properties, and chemical composition.** *American Journal of Physiology*, v.256, p.G931–G940, 1989.

NIELSEN, P. E.; AVDEEF, A. **PAMPA – a drug absorption in vitro model 8. Apparent filter porosity and the unstirredwater layer.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 22, p. 33-41, 2004.

OTTAVIANI, G.; MARTEL, S.; CARRUPT, P. A. **Parallel Artificial Membrane Permeability Assay: A New Membrane for the Fast Prediction of Passive Human Skin Permeability (2006) *J. Med. Chem.*, 49(13), 3948-3954.**

REIS, J. M. **Utilização de PAMPA como ferramenta para predizer a fração de absorção in vivo de fármacos e sua correlação com a taxa de metabolização in vitro.** São Paulo, 2013. 157p. Tese de doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

SCHNEIDER, N. F. Z.; PADUA, R. ; KREIS, W. ; BRAGA, F. C. ; SIMÕES, C. M. O. **Standardization and application of PAMPA assay (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay) to cardenolides permeability evaluation.** In: III International Symposium on Drug Discovery, 2013, Araraquara. III International Symposium on Drug Discovery, 2013.

SINKÓ, B.; GARRIGUES, T. M.; BALOGH, G. T.; NAGY, Z. K.; TSINMAN, O.; AVDEEF, A.; TAKÁCS-NOVÁK, K. **Skin-PAMPA: A new method for fast prediction of skin penetration.** European Journal of Pharmaceutical Sciences 45 (2012) 698–707.

SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. **Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. v. 43, n. 4, p. 515-527, 2007.

SUGANO, K.; HAMADA, H.; MACHIDA, M.; USHIO, H.; SAITOH, K.; TERADA, K. **Optimized conditions of bio-mimetic artificial membrane permeation assay.** International Journal of Pharmaceutics, v.228, p.181–188, 2001.

THOMSON, A. B. Mechanisms of intestinal adaptation: **unstirred layer resistance and membrane transport.** Can J Physiol Pharmacol. 1984; 62(6):678-82.

WHO -WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Technical Report Series, n° 937, 2006. Annex 8 –Proposal to waive invivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. Disponível em: <[http://www.who.int/medicines/areas/quality\\_safety/quality\\_assurance/ProposalWaiveVivoBioequivalenceRequirementsModelListEssentialMedicinesImmediateReleaseSolidOralDosageFormsTRS937Annex8.pdf](http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/ProposalWaiveVivoBioequivalenceRequirementsModelListEssentialMedicinesImmediateReleaseSolidOralDosageFormsTRS937Annex8.pdf)> Acesso em 15 de fevereiro de 2019.

WOHNSLAND, F.; FALLER, B. **High-throughput permeability pH profile and high- throughput alkane/water log P with artificial membranes.** Journal of Medicinal Chemistry, v.44, p.923–993, 2001.

ZHU, C.; JIANG, L.; CHEN, T. M.; HWANG, K. K. **A comparative study of artificial membrane permeability assay for high throughput profiling of drug absorption potential.** European Journal of Medicinal Chemistry, v.37, n.5, p. 399-407, 2002.

## PRINCIPAIS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS EM CRIANÇAS DO ESTADO DE RORAIMA

### **Ana Iara Costa Ferreira**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Victor Hugo Araújo Moraes**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Geovanna Ferreira Silva**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Yasmin de Freitas Santos**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Larissa Soares Cardoso**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Leila Braga Ribeiro**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Fabiana Nakashima**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Cynthia Dantas de Macedo Lins**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Antonio Carlos Sansevero Martins**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina, Boa Vista – Roraima

### **Bianca Jorge Sequeira**

Universidade Federal de Roraima, Curso de Medicina e Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Boa Vista – Roraima

### **Wagner do Carmo Costa**

Governo do Estado de Roraima, Vice-governadoria, Boa Vista – Roraima

**RESUMO:** As causas das malformações podem ser genéticas, ambientais ou multifatoriais. Os agentes teratogênicos são ambientais e podem ser físicos, químicos ou biológicos. Economicamente, o estado de Roraima se utiliza de atividades garimpeiras, agrícolas e pecuárias, sendo que os produtos poluentes dessas atividades como os metais pesados e agrotóxicos são lançados frequentemente nos solos e rios. Essa prática abusiva leva a contaminação de peixes, plantações, bem como pastagens destinadas aos rebanhos. Assim, rotineiramente a população de Roraima está sendo exposta aos teratógenos, incluindo as gestantes. O objetivo deste estudo foi conhecer as principais malformações congênitas em crianças do estado de Roraima. Trata-se de um estudo observacional descritivo, no qual foram consultados prontuários do Centro de Referência de Saúde da Mulher e do Hospital Materno Infantil Nossa Senhora de Nazaré dentre o período de três anos. Além disso, foram convidadas para participar da pesquisa gestantes de fetos com e sem malformações congênitas atendidas no Centro de Referência de Saúde da Mulher. Foram analisados 569 prontuários e aplicadas 50

fichas epidemiológicas, destes, 88 possuíam crianças com malformação congênita. Dentre as malformações, 72,7% foram malformações isoladas, 11,3% malformações associadas, 9,1% malformações múltiplas e 6,9% síndromes genéticas. As principais malformações congênitas observadas nessa população foram as anomalias do sistema nervoso (39,8%) e as cardiovasculares (25%). Acredita-se que os resultados obtidos a partir dessa pesquisa, oferecerão subsídios para propor medidas que visam aumentar o conhecimento da população sobre os defeitos congênitos no estado de Roraima.

**PALAVRAS-CHAVE:** Embriologia; Gravidez; Anormalidades congênitas.

**ABSTRACT:** The causes of the malformations can be genetic, environmental or multifactorial. Teratogenic agents are environmental and may be physical, chemical or biological. Economically the state of Roraima uses garimpeiras, agricultural and livestock activities, and the pollutants of these activities, such as heavy metals and agrochemicals, are frequently released in soils and rivers. This abusive practice leads to contamination of fish, plantations, and pastures for herds. Thus, the Roraima population is routinely being exposed to teratogens, including pregnant women. The objective of this study was to know the main congenital malformations in children of the state of Roraima. This is a descriptive observational study, in which the medical records of the Reference Center for Women's Health and the Maternal and Child Hospital Nossa Senhora de Nazaré were consulted within the three-year period. In addition, pregnant women from fetuses with and without congenital malformations attended at the Reference Center for Women's Health were invited to participate in the study. A total of 569 medical records and 50 epidemiological records were analyzed, of which 88 had children with congenital malformation. Among the malformations, 72.7% were isolated malformations, 11.3% were associated malformations, 9.1% were multiple malformations and 6.9% were genetic syndromes. The main congenital malformations observed in this population were abnormalities of the nervous system (39.8%) and cardiovascular abnormalities (25%). It is believed that the results obtained from this research, will offer subsidies to propose measures that aim to increase knowledge of the population about the congenital defects in the state of Roraima.

**KEYWORDS:** Embryology; Pregnancy; Congenital abnormalities.

## 1 | INTRODUÇÃO

Malformação congênita diz respeito a “um defeito morfológico de um órgão, parte dele ou de uma região maior do corpo resultante de um processo do desenvolvimento intrinsecamente anormal”. Esta, afeta negativamente o desenvolvimento normal da criança, e em muitos dos casos, traz graves prejuízos à sua saúde (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016).

As malformações podem ser resultantes de fatores genéticos, ambientais ou multifatoriais (HOROVITZ; LLERENA-JR; MATTOS, 2005). Os defeitos congênitos ocasionados por fatores genéticos podem ter origem a partir das anomalias

cromossômicas numéricas ou estruturais e através de genes mutantes (PATIL; RAO; MAJUMDAR, 2014). Os teratógenos estão inseridos dentro dos fatores ambientais, contudo, a maioria das malformações decorrentes dos agentes teratogênicos podem ser evitadas desde que não haja a exposição materna (SCHÜLER-FACCINI et al., 2002; GILBERT-BARNESS, 2010; MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016).

Está determinado que o momento crítico para a gestante frente aos agentes teratogênicos ocorre durante o pico da diferenciação celular e da morfogênese do embrião (GILBERT-BARNESS, 2010). Porém, ainda que se saiba que o período crítico se refere a fase embrionária, é imprescindível lembrar que algumas substâncias podem desempenhar um papel teratogênico mesmo quando empregadas depois deste período (ZOMERDIJK, et al. 2014; BOLTMAN-BINKOWSK, 2016). Já a herança multifatorial é determinada por uma combinação dos fatores genéticos e ambientais (SCHÜLER-FACCINI et al., 2002).

A investigação epidemiológica, contextualizada sobre as malformações, está relacionada com a determinação de como as anormalidades específicas podem associar-se com determinada circunstância, condição, tempo e lugar (KALTER, 2003). No Brasil, os estudos epidemiológicos sobre o assunto são reduzidos e se baseiam principalmente em dados hospitalares (NUNES et al., 2010; LIMA et al., 2018).

No estado de Roraima ainda não existem estudos disponíveis sobre o tema, embora os indivíduos residentes nesta região estejam interagindo direta ou indiretamente com vários tipos de ambientes propícios ao desenvolvimento destas anormalidades. Nessa região do país, observa-se a presença de áreas de garimpo, onde existe elevada concentração de metais pesados (DINIZ; SANTOS, 2005), uma diversidade de plantas está inserida neste espaço da Amazônia setentrional, sendo frequentemente, algumas espécies, consumidas pela população local na forma de remédios caseiros (LUZ, 2001), e a própria flora da região de Roraima e o clima propiciam a proliferação de mosquitos que transmitem agentes infecciosos, tais como os vírus causadores da Dengue, Zika e Chikungunya (MANIERO et al., 2016). Diante da importância dos defeitos congênitos na população em geral e pela escassez de trabalhos no Estado, o presente estudo teve por objetivo conhecer as principais malformações congênitas em crianças do estado de Roraima.

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de um estudo observacional descritivo que foi aprovado pela Diretoria de Ensino e Pesquisa (DEP) do Hospital Materno Infantil Nossa Senhora de Nazaré (HMINSN), pela Diretoria do Centro de Referência de Saúde da Mulher (CRSM) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos da Universidade Federal de Roraima – CEP/UFRR (2.366.062).

Inicialmente, foi realizado um levantamento de dados de prontuários de um período de três anos (2015-2018), no HMINSN e no CRSM para averiguar os tipos

de malformações presentes no estado de Roraima. Além disso, foram convidadas para participar da pesquisa gestantes de fetos com e sem malformações congênitas atendidas no CRSM. As participantes selecionadas receberam explicação detalhada sobre o objetivo do estudo e a seguir, foram convidadas a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e o termo de assentimento, quando necessário. Após a assinatura, as gestantes foram submetidas a uma ficha de dados epidemiológicos.

Gestantes menores que 12 anos de idade e maiores do que 45, bem como o grupo de vulneráveis (pacientes indígenas, portadoras do vírus da imunodeficiência humana e imigrantes) foram excluídas desta pesquisa. Os dados dos prontuários do HMINSN e do CRSM, mais as informações coletadas das gestantes foram analisadas através do programa Microsoft Excel.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 569 prontuários do período de 2015 a 2018 no HMINSN e no CRSM de recém-nascidos com algum grau de comprometimento após o parto e foram aplicadas 50 fichas de dados epidemiológicos em gestantes atendidas no CRSM. Desses prontuários e fichas, 88 (14,2%) apresentavam crianças com malformação congênita.

Para facilitar a análise, as anomalias foram classificadas em quatro grupos: malformações isoladas, malformações associadas, malformações múltiplas e síndromes genéticas. As isoladas são as anomalias que afetam um único sistema, as associadas comprometem dois sistemas e as múltiplas afetam três ou mais sistemas do corpo humano (FONTURA; CARDOSO, 2014).

Sessenta e quatro (72,7%) dos indivíduos acometidos apresentaram malformações isoladas, 10 (11,3%) malformações associadas, 8 (9,1%) malformações múltiplas e 6 (6,9%) casos de síndromes genéticas (gráfico 1).

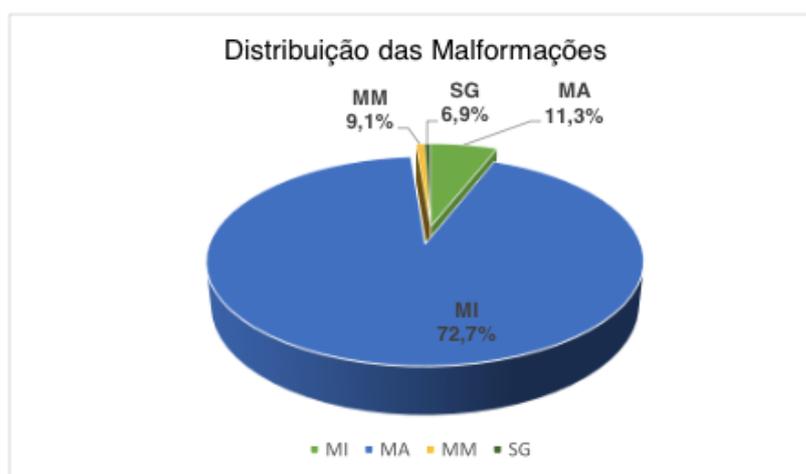


Gráfico 1: Distribuição das malformações congênitas de acordo com os grupos

\*MI= malformações isoladas, MA= malformações associadas, MM= malformações múltiplas e SG= síndromes genéticas.

A partir desses dados pode-se observar ainda que os casos de anomalias que afetam o sistema nervoso são prevalentes entre as crianças nascidas em Roraima, representando 39,8% (N=35) do total de malformações congênitas. Entre as malformações do sistema nervoso, 80% (N=28) se manifestaram de forma isolada, 17,1% (N=6) em associação e 2,9% (N=1) múltipla.

As malformações congênitas que afetam o sistema cardiovascular ganharam um segundo papel de destaque na pesquisa, atingindo 25% (N=22) da população estudada. Sendo que 63,7% (N=14) se apresentaram de forma isolada, 22,7% (N=5) em associação e 13,6% (N=3) múltipla. Todas as informações supracitadas estão inseridas na tabela 1, juntamente com os dados das demais malformações encontradas no estudo.

<b>Sistema/área comprometido com a malformação</b>	<b>N° MI</b>	<b>N° MA</b>	<b>N° MM</b>	<b>N° Total</b>	<b>% (n°88)</b>
Neurológico	28	6	1	35	39,8
Cardiovascular	14	5	3	22	25
Craniofacial	6	4	3	13	14,8
Parede abdominal anterior	9	1	1	11	12,5
Geniturinária	4	3	1	8	9,1
Gastrointestinal	3	1	2	6	6,8
Osteomuscular	-	-	5	5	5,7
Pulmonares	-	-	2	2	2,3
Cisto Abdominal	-	-	2	2	2,3

Tabela 1: Distribuição das malformações congênitas encontradas em Roraima, Brasil

\*Devido a presença de malformações associadas e múltiplas, a soma do n. total e do percentual final difere do número absoluto (n.88) de casos.

Com relação aos pacientes que apresentaram síndromes genéticas (tabela 2), não foi possível definir os tipos de alterações fisiológicas que eles apresentaram ao nascimento, devido a escassez de informações nos prontuários médicos.

<b>Síndromes genéticas</b>	<b>N°</b>	<b>(N°6) %</b>
Down	3	49,9
Noonan	1	16,7
Turner	1	16,7
Osteocondrodisplasia	1	16,7

Tabela 2: Distribuição das síndromes genéticas

Esses achados se assemelham aos encontrados no berçário anexo à Maternidade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, onde os pesquisadores também constataram que as malformações neurológicas foram prevalentes (PIMENTA; CALIL; KREBS, 2010). No entanto, Pimenta e colaboradores

determinaram que as anomalias do sistema urogenital foram a segunda causa de malformações entre a população estudada, porém, ambos os estudos trazem as anomalias craniofaciais como a terceira causa de malformações entre as crianças. Outro estudo que se aproxima do realizado em Roraima, demonstra que os defeitos do sistema cardiovascular, seguido das alterações do sistema nervoso central, são as principais causas de obtido de recém-nascidos e menores de um ano com malformações congênitas no estado de Pernambuco (ARRUDA; AMORIM; SOUZA, 2008).

Diferente dos resultados encontrados para o estado de Roraima, mas que se destaca por se repetir em outros Estados (São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Pernambuco, Maranhão e Ceará) brasileiros, é a categorização em primeiro lugar das malformações osteomusculares, seguidas das alterações neurológicas (NASCIMENTO et al., 2006; GUERRA et al., 2008; MELO et al., 2010; SILVA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2014; FONTURA; CARDOSO, 2014). A partir desses dados, é possível inferir que a distribuição das malformações ocorre de forma variada, de acordo com a área de estudo. Além do mais, pode-se observar que essa variação ocorre até mesmo em localizações diferentes dentro de um mesmo Estado (MELO et al., 2010; POLITA et al., 2013). Isso se dá devido ao ambiente em que a gestante está inserida, bem como sua carga genética e hábitos de vida, visto que o risco para se gerar uma criança com malformação pode ser genético, ambiental ou multifatorial (HOROVITZ; LLERENA-JR; MATTOS, 2005).

Quando analisamos as principais malformações encontradas em Roraima, pode-se deduzir que o ambiente (fauna e flora), as práticas laborais (garimpo, agricultura e pecuária) e a cultura (uso de plantas medicinais) do Estado estão influenciando direta ou indiretamente no desenvolvimento dessas anomalias (LUZ, 2001; DINIZ; SANTOS, 2005; MANIERO et al., 2016). Afinal, o sistema nervoso e o cardiovascular se desenvolvem de forma complexa e prolongada, tornando-se suscetíveis a erros do desenvolvimento tanto no período embrionário como fetal (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016).

#### **4 | CONCLUSÃO**

Pode-se observar que as principais malformações encontradas em crianças do estado de Roraima acometem o sistema nervoso e cardiovascular. Acredita-se ainda que os resultados obtidos a partir dessa pesquisa, oferecerão subsídios para propor medidas que visam aumentar o conhecimento da população sobre os defeitos congênitos em Roraima.

#### **REFERÊNCIAS**

ARRUDA, T.A.M.; AMORIM, M.M.R.; SOUZA, A.S.R. Mortalidade determinada por anomalias

congênitas em Pernambuco, Brasil, de 1993 a 2003. **Rev Assoc Med Bras**, v. 54, n. 2, p. 122-126, 2008.

BOLTMAN-BINKOWSK, H. A systematic review: are herbal and homeopathic remedies used during pregnancy safe? **Curationis**, v. 39, n. 1, p. 1-8, 2016.

DINIZ, A.M.A.; SANTOS, R.O. O vertiginoso crescimento populacional de Roraima e seus impactos socioambientais. **Cad de Geografia**, v. 15, n. 25, p. 23-44, 2005.

FONTOURA, F.C.; CARDOSO, M.V.L.M.L. Associação das malformações congênitas com variáveis neonatais e maternas em unidades neonatais numa cidade do nordeste brasileiro. **Texto Contexto Enferm**, v. 23, n. 4, p. 907-914, 2014.

GILBERT-BARNES, E. Review: teratogenic causes of malformations. **Ann Clin Lab Sci**, v. 40, n. 2, p. 99-114, 2010.

GUERRA, F.A.R.; LLERENA-JR., J.C.; GAMA, S.G.N.; CUNHA, C.B.; THEME-FILHA, M.M. Defeitos congênitos no Município do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação através do SINASC (2000-2004). **Cad Saúde Pública**, v. 24, n. 1, p. 140-149, 2008.

HOROVITZ, D.D.G.; LLERENA-JR, J.C.; MATTOS, R. A. Atenção aos defeitos congênitos no Brasil: panorama atual. **Cad de Saúde Pública**, v. 21, n. 4, p. 1055-1064, 2005.

KALTER, H. Teratology in the 20th century: environmental causes of congenital malformations in humans and how they were established. **Neurotoxicol Teratol**, v. 25, p. 131-282, 2003.

LIMA, N.A.; SILVA, C.F.; SANTOS, M.M.; FERNANDES, T.A.A.M.; LUCENA, E.E.S. Perfil epidemiológico das malformações congênitas em recém-nascidos no estado do Rio Grande do Norte no período de 2004 a 2011. **R bras ci Saúde**, v. 22, n. 1, p. 45-50, 2018.

LUZ, F.J.F. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. **Hortic bras**, v. 19, n. 1, p. 88-96, 2001.

MANIERO, V.C.; SANTOS, M.O.; RIBEIRO, R.L.; OLIVEIRA, P.A.C.; SILVA, T.B.; MOLERI, A.B.; MARTINS, I.R.; LAMAS, C.C.; CARDOZO, S.V. Dengue, Chikungunya e Zika vírus no Brasil: situação epidemiológica, aspectos clínicos e medidas preventivas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 118-145, 2016.

MELO, W.A.; ZURITA, R.C.M.; UCHIMURA, T.T.; MARCON, S.S. Anomalias congênitas: fatores associados à idade materna em município sul brasileiro, 2000 a 2007. **Rev Electr Enf**, v. 12, n. 1, p. 73-82, 2010.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N.; TORCHIA M.G. Embriologia básica. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 311 p.

NASCIMENTO, L.F.C.; PINTO, C.O.; PROENÇA, F.P.; GOTLIEB, S.L.D. Prevalência de anomalias congênitas em São José dos Campos, São Paulo, em 2001. **Rev Paul Pediatría**, v. 24, n. 1, p. 47-51, 2006.

NUNES, Maria Diniz. **Perfil epidemiológico das malformações congênitas em recém-nascidos no estado do Tocantins no período de 2004 a 2008**. Brasília, 2010. 109p. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, 2010.

PATIL, S.; RAO, R.S.; MAJUMDAR, B. Chromosomal and multifactorial genetic disorders with oral manifestations. **J Int Oral Health**, v. 6, n. 5, p. 118-125, 2014.

PIMENTA, M.S.; CALIL, V.M.L.T.; KREBS, V.L.J. Perfil das malformações congênitas no berçário anexo à maternidade do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. **Rev Med (São Paulo)**, v. 89, n. 1, p. 50-56, 2010.

POLITA, N.B.;1, FERRARI, R.A.P.; MORAES, P.S.; SANT'ANNA, F.L.; TACLA, M.T.G.M. Anomalias congênitas: internações em unidade pediátrica. **Rev Paul Pediatr**, v. 31, n. 2, p. 205-210, 2013.

RODRIGUES, L.S.; LIMA, R.H.S.; COSTA, L.C.; BATISTA, R.F.L. Características das crianças nascidas com malformações congênitas no município de São Luís, Maranhão, 2002-2011. **Epidemiol Serv Saúde**, v. 23, n. 2, p. 295-304, 2014.

SCHÜLER-FACCINI, L.; LEITE, J.C.L.; SANSEVERINO, M.T.V.; PERES, R.M. Avaliação de teratógenos na população brasileira. **Ciênc Saúde Coletiva**, v. 7, n. 1, p. 65-71, 2002.

SILVA, S.R.G.; MARTINS, J.L.; SEIXAS, S.; SILVA, D.C.G.; LEMOS, S.P.P.; LEMOS, P.V.B. Defeitos congênitos e exposição a agrotóxicos no Vale do São Francisco. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 33, n. 1, p. 20-26, 2011.

ZOMERDIJK, I.M.; RUITER, R.; HOUWELING, L.M.A.; HERINGS, R.M.C.; STRAUS, S.M.J.M.; STRICKER, B.H. Dispensing of potentially teratogenic drugs before conception and during pregnancy: a population-based study. **BJOG**, v. 122, p. 1119-1129, 2014.

## PRODUÇÃO DE MOLÉCULAS EFETORAS, CITOCINAS E QUIMIOCINAS POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS C57BL/6 E BALB-C INFECTADOS *in vitro* COM *Leishmania infantum*

### **Rafaela Miranda Barbosa**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG),  
Passos, Minas Gerais, Brasil.

### **Marcela Rezende Lemes**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Lara Beatriz Ferreira**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Laura Caroline de Faria**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Paula Tatiana Mutão Ferreira**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Jonatas da Silva Catarino**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Rafael Obata Trevisan**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Amanda Freire De Assis Riccardi**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG),  
Passos, Minas Gerais, Brasil.

### **Helioswilton Sales de Campos**

Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia,  
Goiás, Brasil.

### **Juliana Reis Machado e Silva**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Carlo José Freire de Oliveira**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Virmondes Rodrigues Junior**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

### **Camila Belfort Piantino Faria**

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG),  
Passos, Minas Gerais, Brasil.

### **Marcos Vinícius Da Silva**

Universidade Federal do Triângulo Mineiro  
(UFTM), Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

**RESUMO:** A leishmaniose visceral é uma patologia de interesse mundial, pois seus portadores apresentam elevadas taxas de morbimortalidade. Nas Américas e no Mediterrâneo, o principal agente etiológico causador dessa doença é a *Leishmania infantum*, parasita intracelular obrigatório transmitido através do repasto sanguíneo das fêmeas dos flebotomíneos, que tem a capacidade de disseminar nos órgãos internos do hospedeiro, gerando graves complicações. Dentre os modelos animais utilizados para estudo desse parasita, destaca-se o murino. Estudos mostram que, nessa infecção, linhagens distintas de uma mesma espécie podem apresentar diferentes respostas imunológicas. Apesar dos recentes avanços, ainda há necessidade de novas estratégias de controle e tratamento dessa doença.

Sendo assim, o presente trabalho avaliou diferentes respostas imunológicas em macrófagos intraperitoneais obtidos de camundongos Balb-c e C57Bl/6 infectados *in vitro* com *Leishmania infantum*, a fim de observar quais respostas se associam mais àquelas observadas no organismo humano. As metodologias empregadas foram as específicas para cada variável analisada. A produção de IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$  e ROS foram significativamente maiores nos macrófagos provenientes da linhagem C57Bl/6 quando comparado à linhagem Balb-c. Assim, pressupõe-se que os camundongos da linhagem C57Bl/6, apresentam capacidade de controlar de forma eficaz a leishmaniose visceral causada pela *L. infantum* em virtude da produção acentuada de citocinas pró-inflamatórias e intermediários reativos do nitrogênio. Por outro lado, evidenciou-se que a linhagem Balb-c foi mais susceptível ao desenvolvimento da doença, se mostrando melhor opção para estudos em que a replicação e desenvolvimento do parasita se fazem necessário.

**PALAVRAS CHAVES:** *Leishmania infantum*, Macrófagos, Balb-c, C57Bl/6.

**ABSTRACT:** Visceral leishmaniasis is a worldwide interest pathology because of its high morbidity and mortality rates. *Leishmania infantum* is the most common etiological agent in the Americas and Mediterranean. It is an obligate intracellular parasite transmitted by the female sandfly and has the ability to disseminate to internal organs. One of the best models to study this disease is the murine model. Studies show that different strains of the same leishmania may present different immune responses. Even with all the recent findings there is still a need for new strategies for control and treatment of this disease. Thus, the present study consists of the analysis of different immunological responses in phagocyte strains obtained in Balb-c and C57Bl/6 mice infected *in vitro* with *Leishmania infantum*, in order to observe which responses are associated more with those observed in the human organism. Our findings demonstrated that the production of IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$  and ROS were significantly higher in macrophages from the C57Bl/6 lineage when compared to the Balb-c lineage. Regarding NO production, there was no significant difference between the two strains. Based on the findings in question it is assumed that mice of the C57Bl/6 lineage present the ability to effectively control visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* due to the fact that it produces more proinflammatory cytokines by controlling infection. However, the Balb-c strain is more susceptible to the development of the disease, showing a better option for studies in which the replication and development of the parasite is necessary.

**KEYWORDS:** *Leishmania infantum*, Macrophages, Balb-c, C57Bl/6.

## 1 | INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um conjunto de doenças causadas por cerca de 20 protozoários do gênero *Leishmania*, os quais são transmitidos durante o repasto sanguíneo da fêmea do flebotomíneo no mamífero (DE FREITAS et al., 2016). Clinicamente as leishmanioses são divididas em quatro formas, sendo elas a

leishmaniose cutânea, cutânea difusa, mucocutânea e a leishmaniose visceral (LV) (AKHOUNDI et al., 2016). Em 2016 foram registrados 220 mil novos casos dessas doenças no mundo, sendo 20 mil casos da LV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018)

A LV é a forma mais agressiva da doença e se não tratada tem chance de 95% de óbito (READY, 2014) a neglected tropical disease. These parasitic protozoans are usually transmitted between vertebrate hosts by the bite of blood sucking female phlebotomine sand flies. This review focuses on the two parasites causing most human visceral leishmaniasis (VL. Ela é causada pelos parasitos do complexo *L. donovani*, sendo a *L. donovani* o agente etiológico na Índia e África Central e a *L. infantum* nas Américas, Oriente Médio, Ásia Central, China e mediterrâneo (PALATNIK-DE-SOUSA; DAY, 2011) surveillance and control of cross-species disease, education, and research into disease pathogenesis, diagnosis, therapy and vaccination. The concept encompasses the human population, domestic animals and wildlife, and the impact that environmental changes ('environmental health'. Durante muito tempo, acreditou-se que essa doença era causada por três espécies: *Leishmania donovani* (*L. donovani*), *L. infantum* e *Leishmania chagasi* (*L. chagasi*). Entretanto, *L. infantum* e *L. chagasi* foram consideradas como sendo uma única espécie, por compartilharem do mesmo material genético (MOMEN; GRIMALDI JÚNIOR; DEANE, 1987).

Diferentemente das espécies que causam lesões cutâneas, em que a proliferação dos parasitos permanece contida no local da lesão, na leishmaniose visceral esses protozoários têm a capacidade de disseminar para outros órgãos como fígado, baço e medula óssea, gerando problemas graves como hepatoesplenomegalia, febre alta, pancitopenia e hipergamaglobulinemia. Essas alterações são consideradas os sintomas mais característicos da fisiopatologia da doença (FORESTIER, 2013).

A transmissão da *Leishmania* ocorre por meio do repasto sanguíneo da fêmea hematófaga do flebotomíneo (GOMES et al., 2018). Ao se alimentar de um hospedeiro, uma fêmea saudável pode ingerir fagócitos infectados, os quais se rompem no interior de seu intestino médio, liberando formas amastigotas que logo se dividem e transformam em formas promastigotas (NEVES, 2016). O sangue ingerido é envolto pela matriz peritrófica, a qual se rompe entre 48 e 72 horas após a alimentação e libera essas formas, que migram para o intestino anterior do inseto, tornando-se formas promastigotas metacíclicas, as quais são infectantes para o hospedeiro vertebrado. Ao realizar o repasto, as formas infectantes presentes no intestino anterior do inseto entram em contato com o sangue do hospedeiro definitivo e lá podem ser internalizadas por fagócitos e se diferenciarem em formas amastigotas (BATES, 2007; NEVES, 2016).

Os macrófagos são células do sistema imune inato, responsáveis por diversas funções do organismo como a fagocitose - processo essencial para a reciclagem de nutrientes, homeostase do organismo (ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H; PILLAI, 2012), defesa contra patógenos, produção de citocinas, apresentação de antígenos às células da imunidade adaptativa, entre outras (ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H;

PILLAI, 2012). Esse tipo celular é encontrado em todos os tecidos, e se desenvolvem a partir de células mielóides na medula óssea (SIEWEKE et al., 2013).

A *L. infantum* encontra no interior dos macrófagos um lugar ideal para sobreviver, pois após escaparem do sistema fagocítico dessa célula, estas têm à sua disposição os nutrientes necessários à sobrevivência e proliferação dentro do organismo (FLANNAGAN; COSÍO; GRINSTEIN, 2009).

Ao observar esse processo mais detalhadamente, como já foi descrito por estudos anteriores, após a inoculação da *L. infantum* pelo flebotomíneo, o parasito é fagocitado pelos macrófagos do tecido. Embora muitos deles sejam destruídos pelos mecanismos de fagocitose, alguns escapam do poder microbicida do fagolisossomo, transformando-o em um vacúolo parasitóforo que abriga o parasito (LODGE; DESCOTEAUX, 2008). Depois de alojados nesse vacúolo, os parasitos se transformam em amastigotas, as quais são capazes de se multiplicar por fissão binária. A partir do momento em que a célula hospedeira fica sobrecarregada por parasitos, esta sofre apoptose e libera as formas amastigotas que contaminam outros macrófagos (REAL et al., 2014). O ciclo de vida é concluído quando um flebotomíneo ingere sangue contendo amastigotas ou fagócitos infectados (ARANGO DUQUE; DESCOTEAUX, 2015).

Sabe-se que, assim como em inúmeras outras infecções, as células do sistema imune inato são cruciais para uma resposta imunológica eficaz (ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H; PILLAI, 2012). Na resposta imunológica gerada pelos macrófagos durante as primeiras horas da infecção por *Leishmania spp.*, os principais mecanismos observados são a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) (FANG, 2004; ILES; FORMAN, 2002). Esse processo é rigorosamente regulado pelo organismo e tem como finalidade eliminar o patógeno sem danificar, ou danificando o mínimo, a célula hospedeira. Este sofre influência direta do processo de fagocitose, envolvendo várias enzimas. Dentro desse contexto, é observado que a enzima sintase induzida do óxido nítrico (iNOS) é de suma importância, sendo responsável pela produção de NO nos fagolisossomas (RITTER; FRISCHKNECHT; VAN ZANDBERGEN, 2009; ROSSI; FASEL, 2018).

É sabido que os parasitos *Leishmania spp.* apresentam um escudo de lipofosfoglicano (LPG), o qual é capaz de gerar maior resistência frente aos mecanismos imunológicos, principalmente aqueles mediados pelos macrófagos no fagolisossoma (CARNEIRO et al., 2018). Ademais, estudos já mostraram que esse parasito apresenta a capacidade de secretar e induzir os macrófagos a produzirem arginase, que compete com iNOS, regressando a produção de NO. No final do processo, é observado que os macrófagos produzem os nutrientes essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento dos parasitos, além de deixarem de produzir intermédios para eliminá-los (GAUR et al., 2007).

A ativação adequada dos macrófagos elimina o parasito, enquanto o oposto leva à reação inflamatória crônica (BRANDONISIO et al., 1996). Há estudos que mostram que nessa fase da infecção, os parasitos modulam os macrófagos a ponto de impedir

que este seja ativado, criando um reservatório de infecção que é protegido do ataque imunológico (JANEWAY, CHAERLES A.; TRAVERS, PAUL; WALPORT, MARK; SHLOMCHIK, 2001).

Evidências demonstram que o parasito tem a capacidade de modular o metabolismo mitocondrial do macrófago infectado. Tal fato pode ser explicado pela *L. infantum* sequestrar o eixo SIRT1-AMPK (do inglês: *AMP-activated protein kinase - histone/protein deacetylase*), fazendo com que, durante a infecção, os macrófagos mudem de um metabolismo glicolítico inicial para uma fosforilação oxidativa (MOREIRA et al., 2015).

Estudos indicam que quando há presença concomitante de LPS com o parasito *Leishmania spp.*, as células de defesa são capazes de combatê-lo melhor, principalmente no âmbito da produção de NO, gerando melhores resultados na resposta imune, e conseqüentemente, na redução da carga parasitária (PANARO et al., 2001).

Apesar de serem observados estudos que visem cada vez mais a compreensão de como a *Leishmania spp.* é capaz de modular as respostas imunológicas dos macrófagos, é perceptível que o conhecimento das respostas das citocinas derivadas de macrófagos e os mecanismos moleculares envolvidos ainda são limitados e necessitam de mais estudos para serem melhor compreendidos (LAPARA; KELLY, 2010).

Sabe-se que para eliminação do parasito nos macrófagos, são indispensáveis a produção de citocinas e quimiocinas pró inflamatórias como a IL-6, TNF- $\alpha$  e MCP-1, as quais são capazes de gerar recursos imunológicos capazes de eliminar ou atenuar a infecção no interior dessas células. Porém, estudos já mostraram que os parasitos *L. infantum* apresentam a capacidade de impedir ou atenuar de forma significativa a produção desses mecanismos (ARANGO DUQUE; DESCOTEAUX, 2015; LAPARA; KELLY, 2010; TEIXEIRA et al., 2006).

O extenso uso de camundongos em estudos *in vivo* e o uso de suas células em estudos *in vitro* se deve à popularidade e sucesso na pesquisa biomédica. Esse fato pode ser explicado pela existência de uma grande coleção de linhagens endogâmicas e pela facilidade de manipular a forma de acasalamento, gerando uma prole com um genótipo altamente parecido, facilitando o estudo de variáveis (SZATKIEWICZ et al., 2008). Também é importante destacar a simplicidade de mantê-los, outra vantagem desse modelo (GUÉNET, JEAN-LOUIS; BONHOMME, 2003).

Dentre os modelos mais utilizados na pesquisa *in vivo* de parâmetros imunológicos - ou não - da infecção por *Leishmania spp.*, destaca-se o murino. Sabe-se que os organismos reagem de forma distinta quando expostos a espécies diferentes de *Leishmania spp.*. Entretanto, diferentes espécies de camundongos produzem respostas distintas, frente a diferentes variáveis da infecção, mesmo quando acometidos pela mesma espécie do patógeno, como o aqui estudado. Com isso, acentua-se a importância de conhecer essas diferenças, a fim de que o pesquisador seja capaz de

determinar um modelo experimental adequado ao estudo que se pretende realizar (LORÍA-CERVERA; ANDRADE-NARVÁEZ, 2014).

Camundongos das linhagens Balb-c e C57Bl/6 são hospedeiros experimentais importantes para estudos frente o desenvolvimento da doença e testes vacinais (NATALE, C. C.; SEIXAS, P. M.; DE ALMEIDA, 2016). Contudo, é essencial conhecer as limitações e benefícios que cada linhagem apresenta quanto a infecção do microrganismo estudado, para que as pesquisas que serão posteriormente realizadas sejam com os melhores modelos experimentais possíveis.

## **2 | METODOLOGIA**

### **2.1 Animais**

Trata-se de estudo do tipo experimental, no qual foram utilizados macrófagos provenientes de camundongos das linhagens Balb-c e C57Bl/6, com idade entre 6 e 8 semanas, sendo cinco animais de cada linhagem. Os camundongos foram obtidos no biotério central da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e os experimentos realizados no laboratório de Imunoparasitologia da mesma Universidade, em Uberaba, Minas Gerais. O trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética da UFTM, registrado sob o nº 23085.002402/2018-99.

### **2.2 Obtenção dos macrófagos e infecção**

Para obtenção dos macrófagos, inoculou-se pela via intraperitoneal de cada camundongo, 1 mL de Tioglicolato a 4%, aplicado no lado direito inferior do peritônio. Após 72 horas, os animais foram eutanasiados e as células presentes no compartimento peritoneal, coletadas através de lavado intraperitoneal, utilizando-se 3 mL de meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) estéril. O lavado coletado foi centrifugado a 400 G , durante 10 minutos, e ressuspenso em meio RPMI suplementado com 5% de Soro Fetal Bovino (SFB) (RPMI 5%) na concentração de  $2 \times 10^6$ /ml.

Após,  $2 \times 10^5$  macrófagos foram adicionados às placas de microtitulação e mantidos nas seguintes condições: sem estímulo (Meio), estimulados com 1ug/mL de LPS (LPS), na presença de *L. infantum* CEPA IOCL2906 MOI 3:1 (*L. infantum*), e na presença concomitante de *L. infantum* e LPS, nas condições descritas anteriormente (*L. infantum*+LPS). As culturas foram mantidas à 37°C, 5% CO<sub>2</sub> por 4h, para quantificação de ROS e NO, e por 24h, para quantificação de NO, TNF- $\alpha$ , IL-6 e CCL-2 (MCP-1). Após cada tempo, os sobrenadantes foram recolhidos e armazenados à -20°C para posterior análise

### **2.3 Quantificação de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)**

A produção de Espécies Reativas de Oxigênio foi avaliada pela marcação intracelular com a sonda DCFDA (10uM/poço) sensível especialmente aos radicais

hidroxilo e peróxido de hidrogénio. Posteriormente, foram adicionados aos poços de cada placa estímulos específicos, conforme descrito anteriormente. A produção de ROS foi avaliada após 4 horas, mediante fluorescência emitida em 517 nm, após excitação em 488 nm, em leitor de microplacas EnSpire multimode plate reader.

## 2.4 Quantificação de Óxido nítrico (NO)

Para a dosagem do óxido nítrico, foi utilizada a reação colorimétrica de Griess, que consiste na detecção de nitrito, resultante da oxidação do NO nos sobrenadantes de cultura, previamente coletados nos tempos de 4 e 24h. Adicionou-se a uma placa de 96 poços 50 uL do sobrenadante de cultura, seguido do mesmo volume do reagente de Griess. Para a confecção de uma curva-padrão, procedeu-se com diluições seriadas de nitrito de sódio. Após incubação de 10 minutos ao abrigo da luz, a leitura no espectrofotômetro (FACSCalibur) foi realizada a 450 nm.

## 2.5 Dosagem de citocinas e quimiocinas

O método utilizado para a quantificação destas foi o Cytometric Bead Array (CBA). Essa técnica permite a dosagem de um conjunto de citocinas e quimiocinas na mesma amostra. Neste trabalho foram quantificadas: IL-6, MCP-1 e TNF- $\alpha$ . O princípio da análise consiste na junção de diferentes beads com anticorpos de captura para cada analito que se deseja dosar. As beads que se ligam às citocinas/quimiocinas emitem fluorescências de intensidades diferentes para cada variável pesquisada. A quantificação das mesmas foi realizada através da citometria de fluxo, que captou as diferentes fluorescências de cada tipo de citocina/quimiocina, e reportou as concentrações em relação à curva padrão confeccionada paralelamente com citocinas e quimiocinas recombinantes.

## 2.6 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas considerando a produção das culturas na presença de *L. infantum*, subtraída da produção de seu respectivo controle basal: *L. infantum* - Meio e *L. infantum*+LPS – LPS. As análises estatísticas foram realizadas no ambiente de desenvolvimento integrado para cálculos estatísticos e gráficos “R” (<https://www.r-project.org/>) por meio dos algoritmos dedicados do pacote Stats versão 3.6.0 (R CORE TEAM, 2018).

As análises estatísticas foram realizadas no ambiente de desenvolvimento integrado para cálculos estatísticos e gráficos “R” (<https://www.r-project.org/>) por meio dos algoritmos dedicados do pacote Stats versão 3.6.0 (R CORE TEAM, 2018).

As dosagens de cada uma das variáveis quantitativas – NO, citocinas e quimiocinas – foram submetidas ao teste de Análise de Variância com dois fatores (ANOVA two-way) para indicar dependência das variáveis qualitativas Linhagem e/ou Estímulo. Prosseguiu-se, então com o teste a posteriori utilizando-se o teste de Tukey Honest Significant Differences (Tukey HSD) para localizar os padrões das diferenças

com intervalo de confiança  $\geq 95\%$  (p valor  $\leq 0,05$ ).

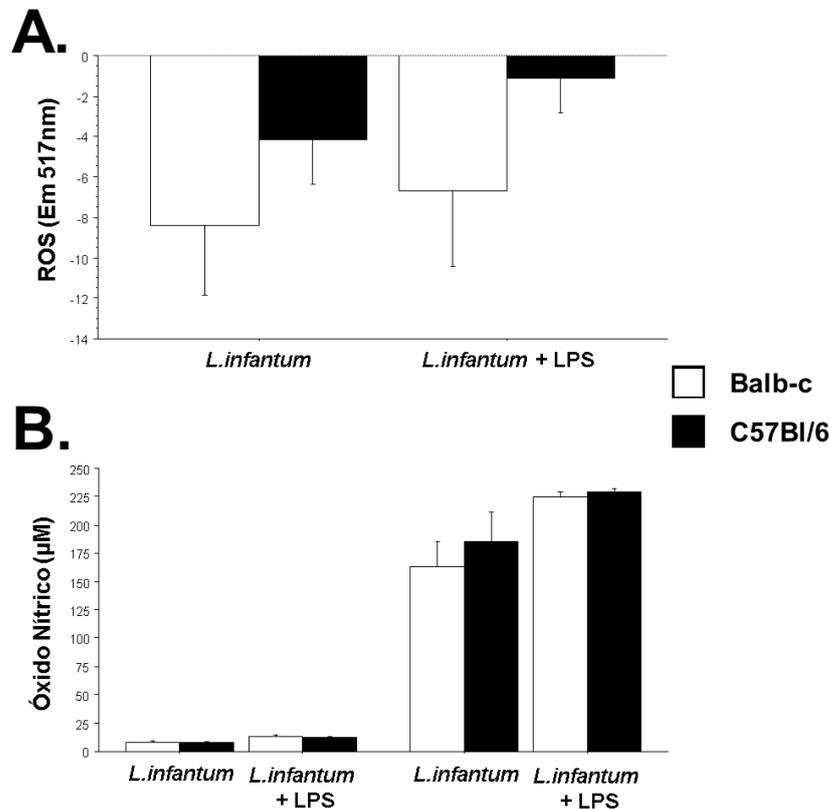
A média da resposta aos diferentes tratamentos em cada fator foi traçada em gráficos de interação bidirecional utilizando-se os algoritmos do pacote ggpubr versão 0.1.0 (KASSAMBARA, 2018).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sabe-se que a resposta imunológica da leishmaniose *in vivo* e *in vitro* depende, dentre outros fatores, de um delicado equilíbrio de moléculas efetoras e várias citocinas e quimiocinas, pró e anti-inflamatórias (LOEUILLET; BAÑULS; HIDE, 2016). Neste sentido, a susceptibilidade aumentada ao parasito *L. infantum* dos camundongos da linhagem Balb-c já foi descrita em alguns estudos. Achados da literatura demonstraram que a capacidade de produção de citocinas anti-inflamatórias como a interleucina 4 (IL-4) e interleucina 10 (IL-10) por esses camundongos é significativamente maior (ROLÃO et al., 2007). Complementar a este estudo foi evidenciado que a linhagem dos camundongos C57Bl/6 é mais resistente à leishmaniose visceral quando comparado ao Balb-c, tanto os infectados por *L. donovani* quanto por *L. infantum* (BODHALE, N. P.; PAL, S.; KUMAR, S.; CHATTOPADHYAY, D.; SAHA, B.; CHATTOPADHYAY, N.; BHATTACHARYYA, 2018). Contudo, o efeito desta infecção nas células onde esta infecção se desenvolve e a caracterização de pontos específicos que podem ser impactados diferencialmente entre estas linhagens ainda necessitam de estudos.

#### 3.1 A infecção por *L. infantum* modula diferencialmente a produção de ROS e Óxido nítrico em camundongos Balb-c e C57Bl/6

Após a infecção com *L. infantum* macrófagos derivados de camundongos Balb-c e C57Bl/6 tiveram sua capacidade de gerar ROS inibida, tanto na infecção isolada com *L. infantum* quanto na infecção concomitante com LPS (Figura 1A). Embora os animais Balb-c tenham demonstrado uma maior tendência de inibição desta produção, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada. Por outro lado, ambas as linhagens foram capazes de produzir NO após a infecção com *L. infantum*, de forma crescente, com aumento de cerca de 10 vezes entre 4 horas e 24 horas pós infecção (Figura 1B). Cabe ressaltar que ambas as linhagens produziram quantidades basais equivalentes de ROS e NO, sem diferença estatisticamente significativa (Dados não mostrados).



**Figura 1 - Produção de ROS e Óxido nítrico após infecção com *L. infantum*.**

Produção de ROS (A) e Óxido nítrico (B) após infecção por 4 e/ou 24h de macrófagos peritoneais de camundongos Balb-c (n=5) e C57Bl/6 (n=5) com *L. infantum* (MOI 3:1) e *L. infantum* (MOI 3:1) + LPS (1ug/ml). Resultados expressos pela variação da produção entre macrófagos infectados e seus respectivos controles não infectados (*L. infantum* - Meio e *L. infantum*+LPS – LPS). Diferenças significativas se  $p < 0,05$ .

Já é sabido que células fagocíticas – incluindo macrófagos - infectadas com parasitos do gênero *Leishmania spp.* apresentam capacidade de produzir ROS durante a fagocitose, em busca de eliminá-los ou controlá-los, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. (BRÜNE *et al.*, 2013). A deficiência na produção desse mecanismo de defesa pode ser induzida pelos próprios parasitos, incluindo *L. infantum*, transformando o ambiente celular e tornando-o mais propício a replicação e vivência destes dentro das células (MALLINSON, DAVID J; COOMBS, 1989; PHAM; MOURIZ; KIMA, 2005).

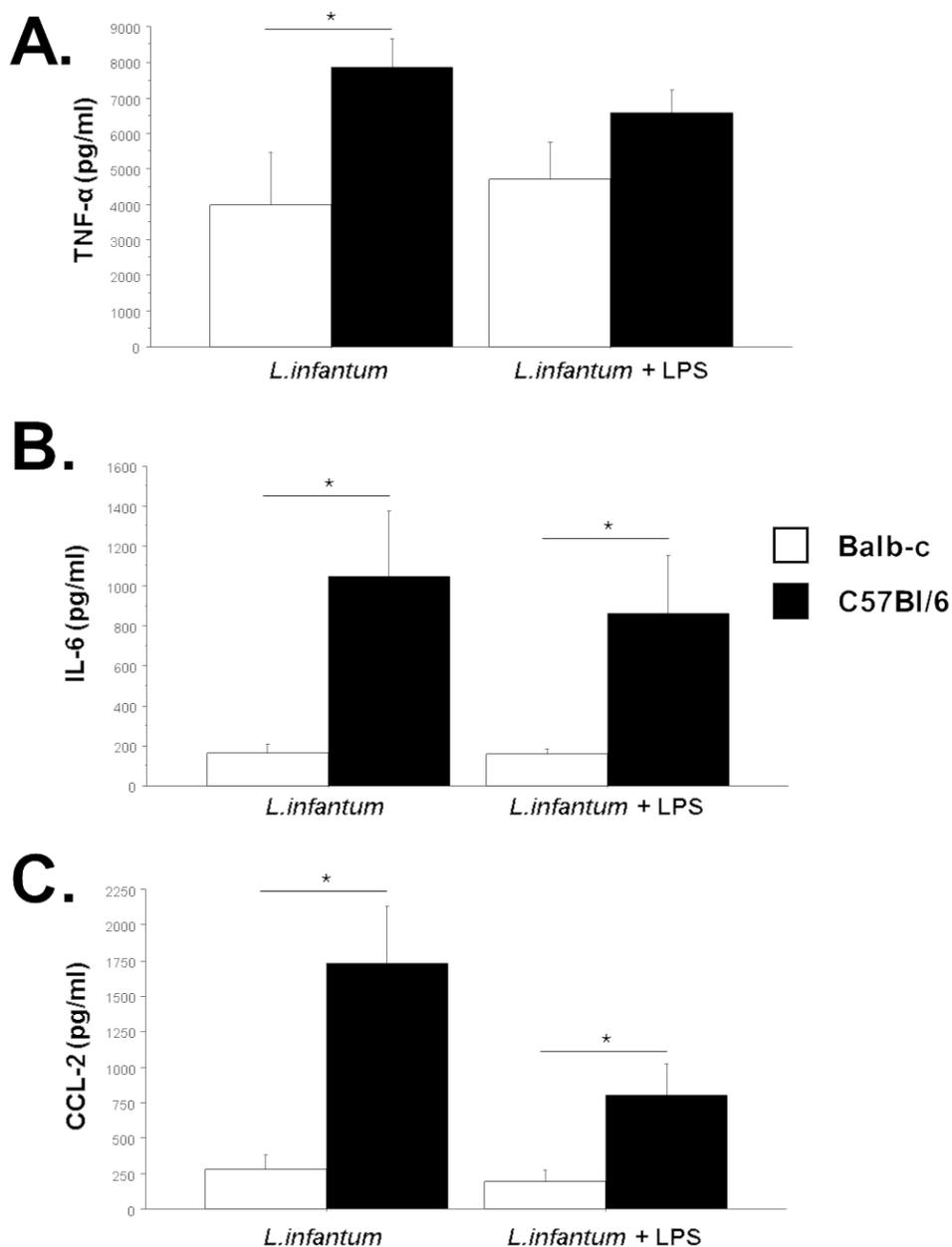
A produção de NO, é outra variável que está diretamente relacionada com a atividade anti-leishmanicida dos macrófagos, bem como está descrita em estudos anteriores, os quais mostraram que a morte de parasitos do gênero *Leishmania spp.* pode ser um evento associado a sua regulação positiva (MILLS *et al.*, 2000). Dentro desse contexto, há estudos como o realizado por Álvarez de Celis e colaboradores, em 2015, sugerindo que a diminuição da produção de efeitos imunológicos, capazes de combater a infecção por *Leishmania spp.*, pode estar associado a uma maior produção de proteínas capazes de modular essas respostas. Em nosso estudo foi demonstrado que a produção de NO não teve correlação com as linhagens, fato também evidenciado por Van Den Kerkhof e colaboradores em 2018 (VAN DEN KERKHOFF *et al.*, 2018).

### 3.2 Macrófagos de camundongos C57Bl/6 são melhores produtores de citocinas e quimiocinas após infecção com *L. infantum*

Nossos dados apontam que embora macrófagos derivados de camundongos Balb-c e C57Bl/6 tenham produção similar de espécies reativas de oxigênio e Óxido nítrico, diferem substancialmente na produção de citocinas e quimiocinas chaves nos mecanismos microbicidas de macrófagos e no direcionamento de mecanismos posteriores de imunidade adaptativa.

Em relação ao TNF- $\alpha$ , observamos que camundongos C57Bl/6 produzem quantidades significativamente maiores desta citocina após a infecção com *L. infantum*,  $p=0,04$ , que animais Balb-c (Figura 2A). De forma surpreendente, macrófagos estimulados concomitantemente com LPS, um clássico indutor de TNF- $\alpha$ , não apresentaram diferenças estatisticamente significativas após a infecção com *L. infantum*, aparentemente devido à redução na produção por animais C57Bl/6 em relação à infecção sem adição de LPS.

A produção de IL-6 foi significativamente aumentada nos animais C57Bl/6 em relação aos Balb-c, tanto na infecção somente com *L. infantum*,  $p=0,02$ , quanto na infecção concomitante ao estímulo com LPS,  $p=0,04$  (Figura 2B). Não observamos diferenças significativas entre a infecção apenas com *L. infantum* e juntamente com o estímulo com LPS. Similarmente, a produção de CCL-2, quimiocina previamente denominada MCP-1 e relacionada com recrutamento de monócitos, células dendríticas e células T, foi significativamente aumentada nos macrófagos derivados de animais C57Bl/6 infectados com *L. infantum*,  $p=0,007$ , e infectados com *L. infantum* + LPS,  $p=0,03$  (Figura 2C). Cabe ressaltar que, da mesma forma que para TNF- $\alpha$  e IL-6, estas diferenças não foram devidas à produção basal, sem diferenças significativas entre as linhagens nas condições sem estímulo ou estimuladas com LPS (dados não mostrados).



**Figura 2 - Produção de TNF- $\alpha$ , IL-6 e CCL-2 após infecção com *L. infantum*.**

Produção de TNF- $\alpha$  (A), IL-6 (B) e CCL-2 (C) após infecção por 24h de macrófagos peritoneais de camundongos Balb-c (n=5) e C57Bl/6 (n=5) com *L. infantum* (MOI 3:1) e *L. infantum* (MOI 3:1) + LPS (1 $\mu$ g/ml). Resultados expressos pela variação da produção entre macrófagos infectados e seus respectivos controles não infectados (*L.infantum* - Meio e *L. infantum*+LPS – LPS). Diferenças significativas se p<0,05.

O TNF- $\alpha$  pode ser produzido por macrófagos ativados, linfócitos ou monócitos, sendo o LPS o principal estímulo para sua produção (BINGHAM, 2002). Ainda, o TNF- $\alpha$ , através de receptores específicos, pode gerar a apoptose da célula (ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H; PILLAI, 2012), fato que pode contribuir para a eliminação dos parasitas *L. infantum* e impedir a disseminação da infecção.

Estudos demonstram que níveis moderados de TNF- $\alpha$  contribuem para a proteção do hospedeiro de maneira sistêmica e que a produção de TNF- $\alpha$  é fundamental para a proteção na leishmaniose visceral, especialmente nas células do fígado de modelos animais murinos (KAYE et al., 2004). Ainda, o estudo de Arango Duque e Descoteaux (2015), demonstrou que algumas proteínas de membrana estão relacionadas com

a secreção dessas citocinas ou a inibição delas, apontando que o parasita tem a capacidade de inibir esses receptores, e conseqüentemente a produção dessas citocinas, fazendo com que a doença se desenvolva de forma sintomática (ARANGO DUQUE; DESCOTEAUX, 2015).

A IL-6 configura-se como uma citocina pró-inflamatória (ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H; PILLAI, 2012) de grande valia na resposta imunológica contra a *L. infantum*, e sua produção já foi descrita em diversos estudos. No estudo de Lapara e Kelly (2010), foi avaliada a produção de diversas citocinas nas culturas de macrófagos em infecções por *Leishmania spp.* durante a estimulação do receptor do tipo Toll-4 (TLR4) (LAPARA; KELLY, 2010). Entretanto, foi mostrado que pelo menos diante a estimulação, especificamente do TLR4, a IL-6 não foi suprimida nesses macrófagos.

Segundo a literatura, a quimiocina CCL-2 é responsável por atração dos monócitos da corrente sanguínea para os tecidos (macrófagos), promovendo aumento da inflamação no local desejado. Sua produção é induzida após indução por estresse oxidativo, citocinas ou fatores de crescimento (BEALL et al., 1996; COCHRAN; REFFEL; STILES, 1983; DESHMANE et al., 2009). Na resposta imunológica frente a *L. infantum*, como mostrado no estudo de (ROUSSEAU et al., 2001), uma maior produção de MCP-1 está diretamente correlacionada a uma melhor resposta imunológica protetora frente a este parasito. Outro estudo (TEIXEIRA et al., 2006) relata que a MCP-1 apresenta a capacidade de induzir mecanismos anti-leishmanicida *in vitro* em macrófagos humanos infectados por *L. Infantum*, através de mecanismo regulador mediado pelo óxido nítrico. Nossos dados apontam para a hipótese de que a capacidade da linhagem C57Bl/6 de controlar melhor a infecção está relacionada com esta quimiocina (BODHALE, N. P.; PAL, S.; KUMAR, S.; CHATTOPADHYAY, D.; SAHA, B.; CHATTOPADHYAY, N.; BHATTACHARYYA, 2018).

#### 4 | CONCLUSÃO

O presente estudo aponta que as diferenças no desenvolvimento da infecção com *Leishmania infantum* entre camundongos C57Bl/6 e Balb-c são, pelo menos em parte, devidas à forma com que macrófagos derivados desta linhagem respondem após a infecção. De maneira geral, observamos que ambas as linhagens sofrem prejuízo na produção de ROS, embora mantenham a capacidade de produzir NO, moléculas essenciais para a ação dos mecanismos microbicidas. Contudo, há uma substancial diferença na capacidade destas células de produzir citocinas e quimiocinas relacionadas com os eventos iniciais da infecção - TNF- $\alpha$ , IL-6 e CCL2, sendo os animais C57Bl/6 os grandes produtores destas moléculas. Com base em nossos dados, é possível conjecturar que a já sabida susceptibilidade da linhagem Balb-c em desenvolver a forma sintomática e progressiva da leishmaniose visceral, quando comparada a linhagem C57Bl/6, pode estar relacionada com estas diferenças.

Obviamente, não podemos ignorar que a resposta imune durante a infecção por *L.infantum* é resultado de complexas interações entre parasito e sistema imune e compreende intrincadas relações entre células. Neste sentido, nosso estudo aponta mecanismos que podem estar relacionados com o estabelecimento dos parasitos nestas linhagens de camundongos e estudos das repercussões destas diferenças *in vitro* e *in vivo* devem ser realizados.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H; PILLAI, S. H. I. V. **Imunologia básica e aplicada**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.
- AKHOUNDI, M. et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. 1–40, 2016.
- ARANGO DUQUE, G.; DESCOTEAUX, A. Leishmania survival in the macrophage: Where the ends justify the means. **Current Opinion in Microbiology**, 2015.
- BATES, P. A. Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 10, p. 1097–1106, 2007.
- BEALL, C. J. et al. Site-directed mutagenesis of monocyte chemoattractant protein-1 identifies two regions of the polypeptide essential for biological activity. **Biochemical Journal**, v. 313, n. 2, p. 633 LP-640, 15 jan. 1996.
- BINGHAM, C. O. The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation. **The Journal of Rheumatology**, v. 65, p. 3 LP-9, 1 set. 2002.
- BODHALE, N. P.; PAL, S.; KUMAR, S.; CHATTOPADHYAY, D.; SAHA, B.; CHATTOPADHYAY, N.; BHATTACHARYYA, M. Inbred mouse strains differentially susceptible to Leishmania donovani infection differ in their immune cell metabolism. **Cytokine**, v. 112, n. March, p. 12–15, 2018.
- BRANDONISIO, O. et al. **Evaluation of polymorphonuclear cell and monocyte functions in Leishmania infantum-infected dogs**. [s.l.: s.n.]. v. 53
- CARNEIRO, M. B. H. et al. NOX2-Derived Reactive Oxygen Species Control Inflammation during Leishmania amazonensis Infection by Mediating Infection-Induced Neutrophil Apoptosis. **The Journal of Immunology**, v. 200, n. 1, p. 196 LP-208, 1 jan. 2018.
- COCHRAN, B. H.; REFFEL, A. C.; STILES, C. D. Molecular Cloning of Gene Sequences by Platelet-derived Growth Factor. **Cell**, v. 33, n. July, p. 939–947, 1983.
- DE FREITAS, E. O. et al. **The contribution of immune evasive mechanisms to parasite persistence in visceral Leishmaniasis** **Frontiers in Immunology**, 2016.
- DESHMANE, S. L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. **Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research**, v. 29, n. 6, p. 313–326, jun. 2009.
- FANG, F. C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 820, 1 out. 2004.
- FLANNAGAN, R. S.; COSÍO, G.; GRINSTEIN, S. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and

bacterial evasion strategies. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 355, 1 maio 2009.

FORESTIER, C. L. Imaging host-leishmania interactions: Significance in visceral leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 35, n. 9–10, p. 256–266, 2013.

GAUR, U. et al. An Effect of Parasite-Encoded Arginase on the Outcome of Murine Cutaneous Leishmaniasis. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 12, p. 8446 LP-8453, 15 dez. 2007.

GOMES, R. S. et al. Human IL-32 $\gamma$  plays a protective role in an experimental model of visceral leishmaniasis in mice. **Infection and Immunity**, n. February, p. IAI.00796-17, 2018.

GUÉNET, JEAN-LOUIS; BONHOMME, F. Wild mice: an ever-increasing contribution to a popular mammalian model. **Trends in Genetics**, v. 19, n. 1, p. 24–31, 2003.

ILES, K. E.; FORMAN, H. J. Macrophage signaling and respiratory burst. **Immunologic Research**, v. 26, n. 1, p. 95–105, 2002.

JANEWAY, CHARLES A.; TRAVERS, PAUL; WALPORT, MARK; SHLOMCHIK, M. J. **Immunobiology: The Immune System in Health & Disease**. 5ª ed. New York, NY: Garland Science, 2001.

KASSAMBARA, A. **Package ‘ggpubr’**, 2018. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/ggpubr/ggpubr.pdf>>

KAYE, P. M. et al. The immunopathology of experimental visceral leishmaniasis. **Immunological Reviews**, v. 201, p. 239–253, 2004.

LAPARA, N. J.; KELLY, B. L. Suppression of LPS-induced inflammatory responses in macrophages infected with Leishmania. **Journal of inflammation (London, England)**, v. 7, n. 1, p. 8, 2 fev. 2010.

LODGE, R.; DESCOTEAUX, A. Leishmania Invasion and Phagosome Biogenesis BT - Molecular Mechanisms of Parasite Invasion: Subcellular Biochemistry. **Subcellular Biochemistry**, p. 174–181, 2008.

LOEUILLET, C.; BAÑULS, A. L.; HIDE, M. Study of Leishmania pathogenesis in mice: Experimental considerations. **Parasites and Vectors**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2016.

LORÍA-CERVERA, E. N.; ANDRADE-NARVÁEZ, F. J. Animal models for the study of leishmaniasis immunology. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 56, n. 1, p. 1–11, 2014.

MALLINSON, DAVID J; COOMBS, G. H. Interaction of leishmania metacyclics with macrophages. **International Journal for Parasitology**, v. 19, n. 6, p. 647–656, 1989.

MILLS, C. D. et al. M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 12, p. 6166 LP-6173, 15 jun. 2000.

MOMEN, H.; GRIMALDI JÚNIOR, G.; DEANE, L. M. **Leishmania infantum, the aetiological agent of American visceral leishmaniasis (AVL)?** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1987.

MOREIRA, D. et al. Leishmania infantum Modulates Host Macrophage Mitochondrial Metabolism by Hijacking the SIRT1-AMPK Axis. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 3, 2015.

NATALE, C. C.; SEIXAS, P. M.; DE ALMEIDA, D. M. A importância dos modelos murinos na caracterização das respostas imunológicas às leishmanioses: uma revisão. **Atas de Ciências da Saúde**, v. 4, n. 3, p. 35–59, 2016.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**São PauloAtheneu, , 2016.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; DAY, M. J. One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, p. 197, 2011.

PANARO, M. A. et al. **Nitric oxide production by Leishmania -infected macrophages and modulation by prostaglandin E 2**. [s.l.: s.n.]. v. 1

PHAM, N.-K.; MOURIZ, J.; KIMA, P. E. Leishmania pifanoi amastigotes avoid macrophage production of superoxide by inducing heme degradation. **Infection and immunity**, v. 73, n. 12, p. 8322–8333, dez. 2005.

R CORE TEAM. **The R stats package**, 2018. Disponível em: <<https://stat.ethz.ch/R-manual/R-devel/library/stats/html/00Index.html>>

READY, P. Epidemiology of visceral leishmaniasis. **Clinical Epidemiology**, v. 6, n. 1, p. 147, maio 2014.

REAL, F. et al. Cell-to-cell transfer of Leishmania amazonensis amastigotes is mediated by immunomodulatory LAMP-rich parasitophorous extrusions. **Cellular microbiology**, v. 16, n. 10, p. 1549–1564, out. 2014.

RITTER, U.; FRISCHKNECHT, F.; VAN ZANDBERGEN, G. Are neutrophils important host cells for Leishmania parasites? **Trends in Parasitology**, 2009.

ROLÃO, N. et al. Leishmania infantum: Mixed T-helper-1/T-helper-2 immune response in experimentally infected BALB/c mice. **Experimental parasitology**, v. 115, p. 270–276, 2007.

ROSSI, M.; FASEL, N. How to master the host immune system? Leishmania parasites have the solutions! **International Immunology**, 2018.

ROUSSEAU, D. et al. Sustained parasite burden in the spleen of Leishmania infantum-infected BALB/c mice is accompanied by expression of MCP-1 transcripts and lack of protection against challenge. **European cytokine network**, v. 12, n. 2, p. 340–347, 30 nov. 2001.

SIEWEKE, M. H. et al. Beyond Stem Cells : Self-Renewal of Differentiated Macrophages. v. 342, 2013.

SZATKIEWICZ, J. P. et al. An imputed genotype resource for the laboratory mouse. **Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society**, v. 19, n. 3, p. 199–208, mar. 2008.

TEIXEIRA, M. J. et al. Chemokines in host – parasite interactions in leishmaniasis. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 32–40, 2006.

VAN DEN KERKHOFF, M. et al. Impact of primary mouse macrophage cell types on Leishmania infection and in vitro drug susceptibility. **Parasitology Research**, v. 117, n. 11, p. 3601–3612, 23 ago. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global leishmaniasis surveillance update, 1998-2016. **Weekly Epidemiology Record**, v. 40, n. 93, p. 521–540, 2018.

## QUANTIFICAÇÃO DO CARBONATO DE CÁLCIO EM DENTIFRÍCIOS POR ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

### Déborah Fernandes Rodrigues

Universidade federal de São João del-Rei –  
Campus CCO  
Divinópolis – MG.

### Brenda Caroline Andrade Santana

Universidade federal de São João del-Rei –  
Campus CCO  
Divinópolis – MG.

### Whocely Victor de Castro

Universidade federal de São João del-Rei –  
Campus CCO  
Divinópolis – MG.

### Ruben Dario Sinisterra Millán

Universidade Federal de Minas Gerais –  
Departamento de Química  
Belo Horizonte – MG.

### Carlos Eduardo de Matos Jensen

Universidade Federal de São João del-Rei –  
Campus CCO  
Divinópolis – MG.

**RESUMO:** O carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) é utilizado em produtos cosméticos, principalmente em dentifrícios, com função abrasiva. Para verificar a qualidade físico-química destas pastas é necessária caracterização e quantificação de carbonato de cálcio. Este trabalho teve como objetivo desenvolver método analítico para quantificar o carbonato de cálcio em dentifrícios utilizando

a técnica de análise termogravimétrica (TGA). O  $\text{CaCO}_3$  foi inicialmente quantificado por titulação complexométrica com EDTA, conforme a Farmacopeia Brasileira 5<sup>a</sup> e, posteriormente, a TGA foi realizada. Os resultados das análises foram comparados estatisticamente por testes pareados. Os resultados das proporções de  $\text{CaCO}_3$  nos cremes dentais de diferentes marcas, determinada pelos dois métodos analíticos, demonstraram concentrações estatisticamente semelhantes. Portanto, a TGA mostrou-se um método alternativo simples, rápido e eficaz para quantificar o  $\text{CaCO}_3$  em dentifrícios e pode ser facilmente adotado pelas indústrias.

**PALAVRAS-CHAVE:** Dentifrícios, Carbonato de Cálcio, Termogravimetria.

**ABSTRACT:** Calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) is used in cosmetic products, mostly dentifrices, with an abrasive function. In order to verify the physical-chemical quality of such pastes, calcium carbonate should be characterized and quantified. This paper aimed to develop an analytical method to quantify calcium carbonate in dentifrices using Thermogravimetric Analysis (TGA).  $\text{CaCO}_3$  was initially quantified by complexometric titration with EDTA according to the Brazilian Pharmacopoeia 5th Edition and subsequently TGA was performed. The results of the analyses were statistically compared by

paired tests. The results of the CaCO<sub>3</sub> proportions in toothpastes of different brands, determined by those two analytical methods, demonstrated concentrations that were statistically similar. Therefore, TGA proved to be a simple, rapid and effective alternative method to quantify CaCO<sub>3</sub> in dentifrices and can be easily adopted by industries.

**KEYWORDS:** Dentifrices, Calcium Carbonate, Thermogravimetry.

## 1 | INTRODUÇÃO

Crems dentais têm sido usados desde a antiguidade e são um dos elementos de higiene indispensáveis para prevenção de doenças encontradas na cavidade bucal (ERSOY *et al.*, 2008; DAVIES *et al.*, 2010), como a cárie e a periodontite, que têm como fator etiológico principal o biofilme dentário (LINDHE, 2005), uma estrutura firmemente aderida às superfícies dentárias, que contém quantidades significativas de microrganismos (VIEIRA *et al.*, 2010).

Componentes abrasivos são essenciais para garantir a remoção de biofilme dentário e manchas das superfícies dos dentes (MARTINS *et al.*, 2012). O carbonato de cálcio é o abrasivo mais comumente utilizado em pastas de dente. Algumas propriedades deste componente são o aumento induzido do pH da placa dentária, dos níveis de cálcio da placa e a participação no processo de remineralização (DAVIES *et al.*, 2010). Nos últimos anos, a demanda por produtos que promovem o clareamento dos dentes aumentou significativamente. Dentifícios contendo carbonato de cálcio como sistema abrasivo são cada vez mais incorporados a novas formulações a fim de atender às demandas, gerando assim, um mercado bastante competitivo. (COSTA, 2011).

Contudo, é fundamental verificar a qualidade dessas pastas empregando métodos analíticos capazes de, especificamente e seletivamente, indicar a concentração de carbonato de cálcio presente no produto acabado. Para essa quantificação, as indústrias cosméticas podem empregar métodos de ensaios químicos farmacopéicos e/ou de publicações que possuem credibilidade científica, desde que demonstrem, através de validação, que os métodos de análise executados conduzam a resultados confiáveis (INMETRO, 2003).

A análise termogravimétrica (TGA) tem sido utilizada em estudos de matérias-primas de uso cosmético e no desenvolvimento, produção e controle de qualidade de produtos cosméticos acabados (SILVA *et al.*, 2007). A TGA fornece informações com relação às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura sob determinadas condições atmosféricas. Os experimentos são executados por meio de uma termobalança de elevada sensibilidade, reprodutibilidade e resposta rápida às variações de massa (WENDLANDT, 1974; MATOS E MACHADO, 2004).

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método analítico para quantificar o carbonato de cálcio em dentifícios, utilizando a técnica de análise termogravimétrica.

## 2 | METODOLOGIA

Inicialmente, realizou-se a validação, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Resolução RE nº 899/2003, do método de titulação complexométrica com EDTA, conforme a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. Em seguida, o carbonato de cálcio contido em 9 dentifrícios de diferentes marcas foi quantificado por intermédio deste método validado.

Os mesmos 9 dentifrícios foram analisados por termogravimetria. A TGA foi realizada sob atmosfera de nitrogênio (fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup>), taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>, até temperatura de 900 °C. Este método (PILLOT® *et al.*, 2014) consiste em medir o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) emitido por uma amostra quando ela é termicamente decomposta (600 a 800 °C) durante um aquecimento monitorado. A desestabilização térmica do carbonato de cálcio produz a seguinte reação:



Como os carbonatos emitem CO<sub>2</sub> durante sua desestabilização, é possível quantificar a quantidade de carbonato inicialmente presente na amostra após uma completa decomposição térmica. Também é possível distinguir carbonatos e matéria orgânica, porque quando os carbonatos são termicamente decompostos com um fluxo de ar (entrada de oxigênio), eles não produzem monóxido de carbono (CO), enquanto a oxidação da matéria orgânica produz CO e CO<sub>2</sub> por combustão na presença de oxigênio. Portanto, conhecendo a massa de CO<sub>2</sub> liberada durante a desestabilização, é possível deduzir a massa do mineral.

Os resultados das análises foram comparados estatisticamente por testes pareados.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Método	Teor de Carbonato de Cálcio (%)									t [cal]	t[0,05;8]
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9		
TG	29,7±2,6	32,6±1,9	29,4±1,1	31,7±2,2	29,4±1,9	34,9±1,2	0	0	0	0,0077	1,8600
TiC	26,9±1,2	29,5±0,9	26,9±0,8	28,4±1,1	27,2±1,3	29,6±0,9	0	0	0		

Tabela 1 - Resultado das análises de diferentes cremes dentais através de dois métodos para dosar carbonato de cálcio e valores de *t* calculado e *t* tabelado:

TG: Análise Termogravimétrica; TiC: Titulometria de complexação; P: Pasta dental

Os resultados das proporções de CaCO<sub>3</sub> nos cremes dentais de diferentes marcas, determinada pelos dois métodos analíticos, demonstraram concentrações estatisticamente semelhantes. O produto 3, por exemplo, teve o teor de CaCO<sub>3</sub> determinado por titulometria de complexação de 26,90% ± 0,8; já por TGA o teor foi de 29,36% ± 1,3. Os dentifrícios 7, 8 e 9 não apresentaram nenhuma quantidade de carbonato de cálcio na sua composição, resultado este que já era esperado por estes

dentifrícios serem destinados ao uso infantil e não conter  $\text{CaCO}_3$  conforme descrição qualitativa de componentes. Além disso, quando se compara uma metodologia com a outra através do tratamento estatístico de *t*-Student, é possível afirmar que não há diferença significativa entre os valores encontrados ( $t$  calculado: 0,0077 <  $t$  tabulado: 1,860) com intervalo de confiança de 95%. Ou seja, os teores de  $\text{CaCO}_3$  determinados por TGA não se diferem daqueles encontrados quando se utilizada a metodologia farmacopeica.

## 4 | CONCLUSÃO

A metodologia proposta para quantificação de carbonato de cálcio em cremes dentais demonstrou ser específica, linear, precisa, exata e robusta na faixa de trabalho. Portanto, o método de doseamento desse composto através da termogravimetria é adequado, seguro e confiável além de possuir baixo custo e ser rápido, podendo então ser uma alternativa para as indústrias e laboratórios no controle da qualidade.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE 899, de 29 de maio de 2003**. Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 de Junho de 2003a.

COSTA, E. B. M. **Role and influence of the toothpaste components in the oral biochemistry**. Integrated master dentistry. Porto University, 2011.

DAVIES, R.; SCULLY, C.; PRESTON, A. J. **Dentifrices--an update**. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, v. 15, n. 6, p. e976-82, Nov 1 2010. ISSN 1698-4447.

ERSOY, M. et al. **The allergy of toothpaste: a case report**. In: (Ed.). Allergol Immunopathol (Madr). Spain, v.36, 2008. p.368-70. ISBN 0301-0546 (Print) 0301-0546 (Linking).

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos** DOQ-CGCRE-008. Março, 2003

LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica. e Implantodontia Oral. 4º edição**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogarn, 2005.

MARTINS, R. S. et al. **Composição, princípios ativos e indicações clínicas dos dentifrícios: uma revisão da literatura entre 1989 e 2011**. J Health Sci Inst, v. 30, n. 3, p. 287-91, 2012.

MATOS, J. D. R.; MACHADO, L. **Análise térmica–termogravimetria. Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, p. 209-228, 2004.

PILLOT, D.; DEVILLE, E.; PRINZHOFER, A. **Identification and quantification of carbonate species using Rock-Eval pyrolysis**. Oil & Gas Science and Technology–Revue d'IFP Energies nouvelles, v. 69, n. 2, p. 341-349, 2014. ISSN 1294-4475.

SILVA, E. C. D.; PAOLA, M. V. R. V. D.; MATOS, J. D. R. **Análise térmica aplicada à cosmetologia**.

2007.

VIEIRA, T. R.; PÉRET, A. D. C. A.; PÉRET FILHO, L. A. **Alterações periodontais associadas às doenças sistêmicas em crianças e adolescentes**. Revista Paulista de Pediatria, v. 28, p. 237-243, 2010. ISSN 0103-0582.

WENDLANDT, W. W. **Thermal methods of analysis**. 1974. ISBN 047193366X.

## REDE DE AJUDA ENTRE AMIGOS

### Débora Rezeck Totti

Instituto Nacional de Telecomunicações – Inatel  
deboratotti@geb.inatel.br

### Isabela Vieira Santana

Instituto Nacional de Telecomunicações – Inatel  
isabelavieira@geb.inatel.br

### Maria Paula Riolino

Instituto Nacional de Telecomunicações – Inatel  
mariapaula@geb.inatel.br

### Karina Perez Mokarzel Carneiro

Instituto Nacional de Telecomunicações – Inatel  
karina@inatel.br

**RESUMO:** Este trabalho apresenta a um software voltado para área de saúde. Tem por finalidade facilitar o acesso ao banco de dados, assim como o cadastro de novos candidatos a doação de sangue. O objetivo é tornar mais dinâmico e rápido o processo de recrutamento dos doadores.

**PALAVRAS-CHAVE:** software, doação de sangue, hemocentro.

**ABSTRACT:** This article presents the creation of a software intended for health care. The purpose is to facilitate access to the database, as well as the registration of new candidates for blood donation. The goal is also make more dynamic and fast donor recruitment process.

**KEYWORDS:** Software, Blood donation

## 1 | INTRODUÇÃO

Hemocentro são instituições sem fins lucrativos responsáveis pela arrecadação e distribuição de sangue, seus componentes e hemoderivados para hospitais públicos e privados.

De acordo com a repórter da Agência Brasil, Paula Lamboisierre, a demanda por sangue e derivados esta cada vez maior, porém poucos brasileiros doam devido a falta de informação e a falta de uma boa comunicação entre o hemocentro e o doador[1]. O *software* Rede de ajuda entre amigos foi desenvolvido para melhorar a eficiência e aumentar o numero de doações.

O *software* em questão tem o objetivo de fazer a checagem e a análise dos doadores de sangue. Com a criação de um banco de dados, o hemocentro pode selecionar e entrar em contato com os doadores de uma forma mais eficiente, visto que de acordo com o Luís Guilherme Barrocho da BBC Brasil ( British Broadcasting Corporation, em português Corporação Britânica de Radiodifusão), apenas 1,8% [2] da população brasileira doa sangue e esse numero se deve principalmente pela falta de comunicação entre o doador e o hemocentro.

## 2 | VISITA AO HEMOCENTRO

Foi realizada, no dia 18 de agosto de 2015, uma visita ao Hemocentro de Pouso Alegre – MG. A responsável pelo hemocentro, Solange Forcione Assis, apresentou as salas de preparação e armazenamento do sangue, os equipamentos utilizados, assim como o processo de doação e o pessoal envolvido nesse mecanismo. Foi relatada a importância deste hemocentro, que atende 9 (nove) Assistências Hemoterápicas, 13 (treze) Agências Transfuncionais, atendendo 52 (cinquenta e dois) municípios do Sul de Minas Gerais, com uma população estimada de um milhão de habitantes. Em média consegue atender 1.200 (mil e duzentos) candidatos a doação por mês.

Posteriormente foi apresentado o processo realizado para a doação de sangue. O tipo sanguíneo dos doadores é armazenado em um arquivo e as informações pessoais em outro. Isso dificulta a seleção e o contato com os possíveis doadores, principalmente em caso de emergência. Foi constatado também que o sistema atual não contém nenhum recurso que avise se a pessoa está impedida temporária ou permanentemente de doar. Por exemplo, no caso de gravidez, doenças, ou viagens prolongadas.

Foi fornecido o material de apoio utilizado para a conscientização da população. Este material serviu de apoio para o desenvolvimento do software. As figuras 1 mostra a versão 01 da cartilha explicativa que é distribuída pelo hemocentro, publicada em outubro de 2014. A figura 2 apresenta a cartilha com os requisitos necessários para a realização da doação de sangue.



Figura 1: Cartilha explicativa do hemocentro, versão 01.

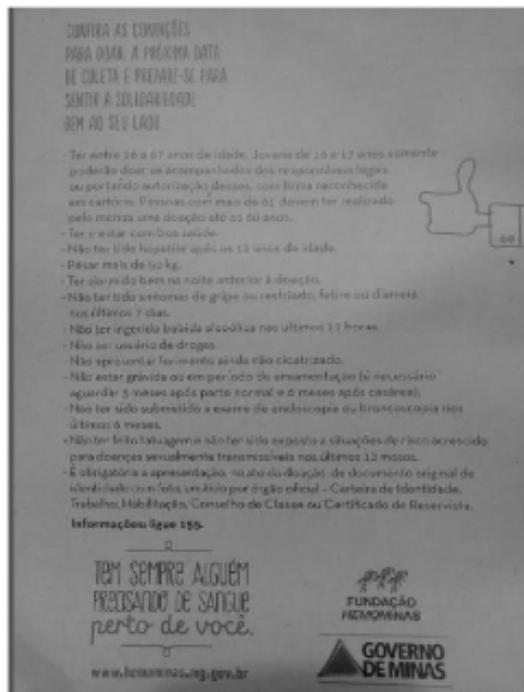


Figura 2: Cartilha de requisitos para a realização da doação de sangue.

### 3 | O SOFTWARE

O software foi desenvolvido no banco de dados MySQL e possui uma interface Java.

O MySQL foi escolhido pelos seguintes motivos:

- Tem código aberto e funcionar em um grande número de sistemas operacionais: Windows, Linux, FreeBSD, BSDI, Solaris, Mac OS X, SunOS, SGI, etc.;
- É reconhecido pelo seu desempenho e robustez e também por ser multi-tarefa e multi-usuário;
- Portabilidade (suporta praticamente qualquer plataforma atual);
- Compatibilidade (existem drivers ODBC, JDBC e .NET e módulos de interface para diversas linguagens de programaco, como Delphi, Java, C/C++, Python, Perl, PHP e Ruby);
- Excelente desempenho e estabilidade;
- Pouco exigente quanto a recursos de hardware;
- Facilidade de uso;
- Ser um Software Livre;

A ficha de preenchimento é a mesma já utilizada no hemocentro, porém o programa contará com alguns filtros, como por exemplo: cidade, faixa etária, sexo, tipo sanguíneo entre outros. Isso contribui para a eficiência da localização do doador. Os dados serão cadastrados no mesmo banco de dados e contará com a permissão do candidato. A ficha também contém um espaço destinado para aqueles doadores que estão temporariamente impossibilitados de doar sangue.

O programa tem interface de fácil entendimento, tornando o processo ágil para o operador.

A figura 3 mostra a imagem da primeira etapa do cadastro, contendo as informações pessoais como: nome, endereço e telefone, dentre outras. A figura 4 apresenta a interface dos filtros: Tipo sanguíneo, Cidade e Idade.

**CADASTRO**  
1ª parte

Nome:

Data de Nascimento:

CPF:

RG:

Telefone:

Celular:

Endereço:

Cidade:

UF:

Email:

Sexo:  Masculino  Feminino

**SALVAR**

Figura 3: Imagem da 1ª etapa do cadastro.

**PROCURAR**

Tipo Sanguíneo

Cidade

Idade

**BUSCAR**

Figura 4: Imagem da interface dos filtros.

## 4 | FUNCIONAMENTO DO SOFTWARE

O software terá uma interface simples e auto-explicativa, não sendo necessário um alto conhecimento em informática para manuseá-lo.

O cadastro será dividido em etapas. A primeira etapa é composta por informações básicas, para a identificação do paciente (Figura 3). A segunda etapa é composta por informações sobre a saúde do doador, contendo as seguintes informações: data da última doação, peso, se contraiu alguma DST, se contraiu doença de Chagas, se já contraiu Hepatite após os 11 anos, se possui alguma doença cardiovascular, se faz uso de medicamentos diariamente e o motivo.

Após a realização do exame teste, o paciente será classificado com apto ou não para a doação de sangue, se houver alterações no exame, a segunda etapa será atualizada com as informações do exame.

Para a seleção de pacientes serão utilizados filtros que tornam a procura mais eficiente (Figura 4). Após a localização dos possíveis doadores, irá aparecer na tela as informações para contato, sendo preservada a segunda etapa do cadastro. Caso o doador localizado não possa doar sangue, o operador terá como classifica-lo como não apto para a realização da doação, escrevendo o motivo e por quanto tempo (caso o doador esteja doente, amamentando ou grávida). Assim em uma próxima seleção este paciente não ficará visível ao operador.

Os filtros foram escolhidos de acordo com a necessidade do hemocentro pesquisado, podendo ser alterados de acordo com a necessidade.

## 5 | APLICAÇÕES

O software tem como principal aplicação o uso no hemocentro de Pouso Alegre, porém já foi verificada a possível implementação em outros hemocentros. Como exemplo, o hemocentro de Poços de Caldas que foi visitado em novembro de 2015 e foram verificados os mesmos problemas.

Também pode ser possível, com algumas modificações no *software*, o uso em outras áreas do hospital. Por exemplo para o banco de dados de medula óssea.

## 6 | CONCLUSÃO

O trabalho ressalta os aspectos do *software* Rede de ajuda entre Amigos, programa aplicado na área de doação de sangue. Também foi abordado seu desenvolvimento e funcionamento. O *software* contribui na eficiência do hemocentro e na qualidade de atendimento ao doador.

Após o término do *software*, foram feitos testes com doadores fictícios e simulações nos filtros de busca, o que comprovou a eficiência do programa.

## REFERÊNCIAS

[1] Laboissière, Paula. Demanda por sangue e derivados é cada vez maior, alerta OMS. EBC (on-line). Disponível na Internet. URL: <http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2012-06-14/demanda-por-sangue-e-derivados-e-cada-vez-maior-alerta-oms> (Acesso em 14/11/2015).

[2] Barrucho, Luis. O que falta para o Brasil doar mais sangue? (on-line). Disponível na Internet URL: [http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/08/150812\\_sangue\\_doacoes\\_brasil\\_lgb](http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/08/150812_sangue_doacoes_brasil_lgb) (Acesso em 14/11/2015).

## TRANSFORMAÇÃO DE *E. COLI* DH5 $\alpha$ PELO MÉTODO DE ELETROPORAÇÃO E EXTRAÇÃO DOS PLASMÍDEOS POR MINIPREP CASEIRA

### **Artur Fontenelle Lima Montenegro**

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS  
Fortaleza - CE

### **Antônio Bruno Alves da Silva**

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS  
Fortaleza - CE

### **Martha Jéssika Oliveira Santos**

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS  
Fortaleza - CE

### **Walisson Leonidas de Albuquerque**

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS  
Fortaleza - CE

### **Carlos Roberto Koscky Paier**

Universidade Federal do Ceará (UFC)  
Departamento: Laboratório de Oncologia  
Experimental (LOE) – Núcleo de Pesquisa e  
Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM)  
Fortaleza - CE

### **Márcia Valéria Brandão dos Santos Martins**

Centro Universitário Christus - UNICHRISTUS  
Fortaleza – CE

**RESUMO:** Através da tecnologia do DNA recombinante, várias opções terapêuticas foram introduzidas na medicina, possibilitando tratamento para doenças que não podem ser tratadas por drogas convencionais. Essa tecnologia envolve a clonagem de DNA exógeno em *Escherichia coli*. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é apresentar a eletroporação,

uma técnica de transformação genética em *E. coli* com um conjunto de plasmídeos de diferentes aplicações. Essa técnica foi realizada com a cepa TOP10 previamente submetida a um processo de eletrocompetência. A bactéria foi submetida a campo elétrico de alta voltagem em eletroporador, na presença do plasmídeo, que foi incorporado ao citoplasma das células transformantes. Uma incubação em meio LB líquido a 37°C por 1h foi realizada, seguido de centrifugação e uma nova incubação a 37°C por 16 h. O antibiótico do meio seletivo foi escolhido de acordo com a marca de resistência do plasmídeo transformado. Após o crescimento em meio sólido, uma colônia transformante foi inoculada em meio LB líquido seletivo a 37°C por 16 h. A cultura líquida foi centrifugada e o precipitado foi empregado na purificação dos plasmídeos clonados, processo denominado “miniprep”. A partir da execução da técnica foi possível a obtenção de plasmídeos puros, sem contaminação no processo de extração, e em maior número. Portanto, foi possível concluir que a técnica é de fácil execução e apresenta alta eficácia para a clonagem de plasmídeos em *E. coli*.

**PALAVRAS-CHAVE:** DNA recombinante. Eletroporação. *E. coli*. Cepa TOP10. Miniprep.

**ABSTRACT:** Through the recombinant DNA technology many therapeutic options have been

introduced into medicine, making it possible to treat diseases that can not be treated by conventional drugs. This technology involves the exogenous DNA cloning into *Escherichia coli*. The objective of this study is to introduce the electroporation which is a technique of genetic transformation on *E. coli* with a set of different application plasmids. This technique was performed on a TOP10 strain previously submitted to an electrocompetence process. The bacterium was submitted to a high voltage electric field in an electroporator, in the presence of the plasmid, which was incorporated into the cytoplasm of the transforming cells. An incubation in liquid LB medium at 37°C for 1h was performed. After that a centrifugation and another incubation at 37°C for 16h was performed. The antibiotic from the selective medium was chosen according to the resistance tag of the transformed plasmid. After the growth on solid medium, a transformed colony was inoculated in liquid selective LB medium at 37°C for 16h. The liquid culture was centrifuged and the precipitate was used on the cloned plasmid purification, a process known as “miniprep”. Through the execution of the technique it was possible to obtain pure plasmids with a higher number and without contamination of the extraction process. Therefore we conclude that the technique is easily executed and presents high efficacy to clone plasmids on *E. coli*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Recombinant DNA. Electroporation. TOP10 *E. coli* strain. Miniprep.

## 1 | INTRODUÇÃO

Um gene pode ser caracterizado como uma sequência de DNA que contém toda a cadeia de nucleotídeos necessários e suficientes para a produção de um produto correspondente. Qualquer fragmento de DNA pode ser clonado, a mais simples destas maneiras envolve a inserção de um fragmento de DNA particular no DNA genômico purificado de um elemento genético que se autorreplica – plasmídeo (ALBERTS et al., 2010).

Podemos considerar que, com o início do século XXI, devido à grande evolução na tecnologia do sequenciamento genético, foi possível identificar uma parte considerável de determinadas sequências constituídas por segmentos de DNA com capacidade de movimentar-se dentro de genomas ou mesmo entre diferentes genomas e células. Esses segmentos são chamados de elementos genéticos móveis (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2014). Entre esses elementos genéticos móveis podemos citar os plasmídeos, sendo estes extracromossômicos e capazes de se replicar autonomamente. Contudo, apesar de obter a capacidade de se replicar de forma independente, por estarem fisicamente dissociados dos cromossomos, esses elementos ainda precisam se utilizar das mesmas enzimas que replicam o genoma da célula hospedeira (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2014).

Os plasmídeos tornaram-se ferramentas de uso essencial nas técnicas de biologia molecular devido a suas características, tais como: são autorreplicáveis; são

maleáveis; possuem estabilidade; são multifuncionais (WATSON, 2015). É importante mencionar que a base de conhecimento para utilização dos plasmídeos vem da observação de um processo de recombinação genética natural, como o que ocorre em bactérias. Os plasmídeos mais usados na tecnologia do DNA recombinante são aqueles que replicam em *E. coli* a informação genética responsável pela codificação de antígenos com aplicação vacinal, como será discutido mais a frente, é realizada a clonagem e propagação em linhagens de *E. coli*, um habitante inofensivo de nossa microbiota intestinal. Utilizados como vetores de clonagem, estes plasmídeos foram otimizados com a remoção de partes desnecessárias de plasmídeos naturais de *E. coli*, contendo agora somente as regiões essenciais para a clonagem do DNA: uma origem de replicação - estrutura que possibilita a replicação do DNA plasmidial dentro da célula inserida; um marcador que permite a seleção – geralmente é um gene de resistência a fármaco; uma região a qual fragmentos de DNA exógenos podem ser inseridos; Região Promotora - projetado para recrutar maquinaria transcricional de um determinado organismo ou grupo de organismos (LODISH, 2014; ADDGENE, 2017).

Além de obter uma classificação funcional, por serem ferramentas utilizadas na recombinação de DNA, os plasmídeos também apresentam uma classificação de acordo com sua aplicação em laboratório. Os mais conhecidos dentre esses tipos são: os vetores de clonagem, responsáveis pelo aumento da quantidade de plasmídeos; e os vetores de expressão, os quais são responsáveis, além da clonagem, pela expressão da proteína sintetizada a partir do gene alvo, ou pelo próprio estudo das utilidades do gene em si. A diferença estrutural entre esses dois tipos de vetores consiste na presença de uma região promotora, nos vetores de expressão, permitindo a transcrição e tradução do gene nele inserido (ADDGENE, 2017).

Pela sua maneabilidade, os plasmídeos são os vetores de excelência para a clonagem de genes ou fragmentos de DNA específicos, apesar de também serem usados na construção de bibliotecas de genes, hoje em dia a clonagem tem interesses múltiplos no âmbito da engenharia genética, tais como isolamento de um gene particular, parte de um gene, ou região de um genoma e produção de um RNA particular e proteínas moleculares em grandes quantidades (WATSON, 2015).

A tecnologia do DNA recombinante engloba a alteração genética de um material, externo ao organismo, e a inserção deste material alterado no organismo para que características sejam obtidas em organismos vivos ou em seus produtos. Sendo assim, essa tecnologia envolve a inserção de um fragmento de DNA a partir de uma sequência genética desejada, através de um vetor apropriado (KHAN et al., 2016).

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS / METODOLOGIA

### 2.1 Material necessário

Água ultra pura; Glicerol; DNA para transformação (vetor com ou sem inserto); *E. coli* DH5α eletrocompetente; Meio líquido LB (Cloreto de sódio, extrato de levedura, triptona ou peptona); Cubas de eletroporação; Eletroporador (Gene Pulser Xcell); Placas com meio LB e o antibiótico apropriado para seleção dos transformantes, de acordo com o vetor utilizado (Ampicilina, Canamicina e Clorofenicol) e outro qualquer agente de seleção, por exemplo: X-Gal, para os vetores que o possuem; Demais instrumentos para pipetagem/banho de gelo; GET (25mM Tris-HCl pH 8,0; 10mM EDTA; 50mM Glicose); Acetato de amônia; Isopropanol; Etanol; TE (10mM Tris-HCl pH 8,0; 0,1mM EDTA); Solução de lise (100μL de SDS 10%, 200μL de NaOH 1M, 700μL de H<sub>2</sub>O ultra pura autoclavada).

### 2.2 Método de preparo de células de *E. coli* eletrocompetentes.

O processo de indução de competência ao processo de eletroporação para *Escherichia coli* se inicia através da inoculação de uma colônia dessas bactérias em 50mL de meio LB (Luria-Bertani) com 0,5% de NaCl, realizando o crescimento a 37°C e 200 rpm, *overnight*, em uma incubadora. No dia seguinte, é necessário separar 1mL de meio LB, antes de inocular, para ser utilizado como branco nas medidas de densidade óptica a 600nm em espectrofotômetro. Logo após, ocorre a transferência de 2,5% da cultura crescida para 1L de meio LB (dividido em volumes de 500mL em dois erlens de 2L), realizando a incubação a 37°C e 200rpm, até atingir DO 0,6 a 600nm. Após esse processo, deve-se esfriar os frascos em gelos de 15 a 30 minutos e centrifugar por 20 minutos a 4000 rpm em centrífuga refrigerada, removendo com cuidado os sobrenadantes após centrifugação e ressuspender as células em 1L e água ultra pura estéril e gelada, realizando uma nova centrifugação por 20 minutos a 4000rpm e 4°C. Novamente deve-se descartar o sobrenadante e ressuspender as células cuidadosamente em 10mL de glicerol 10% estéril e gelado, realizando uma nova centrifugação por 10 minutos a 4000rpm e 4°C. Por fim, deve-se descartar novamente o sobrenadante e ressuspender as células cuidadosamente em 2 a 3mL de glicerol 10% gelado e estéril, fazendo com que as células permaneçam bem concentradas, aliquotar 40μL de células em microtubos de 500μL estéreis e gelados, mantendo-os sempre em gelo, e estocar a -80°C.

#### 2.2.1 Método de execução de transformação de *E. coli* por eletroporação.

O procedimento deve se iniciar com a esterilização das cubetas com etanol e deixa-las secando no fluxo laminar. Enquanto ocorre a secagem das cubetas, deve-se manter microtubos contendo 40μL de *E. coli* DH5α eletrocompetente em banho de

gelo. Assim que as cubetas estiverem secas também devem ser mantidas em banho de gelo, sendo o restante do processo realizado dessa forma, em baixa temperatura. Terminando esses preparos iniciais, deve-se pipetar 1 ou 0,5µL do DNA para transformação no microtubo contendo a bactéria eletrocompetente e homogeneizar o material.

Após a homogeneização, o conteúdo presente no microtubo deve ser transferido para a cubeta (contendo aproximadamente 41µL) e deve ser levado ao eletroporador, em banho de gelo. Antes de colocar a cubeta no eletroporador é necessário verificar se existe a presença de bolhas na cultura líquida, realizar retirada das bolhas presentes através de movimentos bruscos, e retirar o excesso de umidade presente nas placas metálicas da cubeta. O pulso aplicado na cubeta deve ser ajustado entre 1800 e 2000V no eletroporador.

Após a eletroporação o material deve ser levado de volta ao fluxo laminar, em banho de gelo, onde será adicionado 1 mL de meio LB à cubeta e depois será transferido o meio líquido com as células eletroporadas para um novo microtubo, estéril. Dessa forma, as células eletroporadas são colocadas na incubadora a 200rpm e 37°C por uma hora, no mínimo, para que as células bacterianas possam produzir as proteínas contidas no plasmídeo e a sua seleção em meio sólido possa ocorrer.

Sendo assim, após o período de incubação, 100µL das células contidas no microtubo devem ser plaqueadas em meio LB sólido seletivo de acordo com a resistência conferida pelo plasmídeo, para crescimento apenas das bactérias transformadas. A incubação das placas deve ser mantida a 37°C por 16h em estufa.

É importante pontuar que a corrente elétrica gerada para ocorrer a abertura de poros dentro das células bacterianas foi utilizada segundo o protocolo pré-estabelecido do equipamento, Gene Pulser Xcell, o qual configurava os seguintes parâmetros: 1800V, 25µF, 200Ω, utilizando uma cubeta de 0.1cm, um volume de células de 20µL e um pulso de decadência exponencial. O meio LB utilizado foi feito a partir de cloreto de sódio, extrato de levedura, triptona (Kasvi) e ágar (apenas no meio sólido).

### *2.2.2 Inoculação das bactérias transformadas*

Após o crescimento das bactérias em placas de meio LB sólido, uma colônia foi retirada para que pudesse realizar seu crescimento em meio líquido. Para realizar a transferência de uma colônia isolada é necessário a utilização de um fluxo laminar, de tubos de ensaio de 10mL e palitos de dente autoclavados.

Sendo assim, foi executada a transferência de uma colônia isolada, a partir da utilização do palito de dente autoclavado para retirar a colônia do meio de cultura, para o tubo de ensaio contendo 10mL de meio LB líquido e 10µL do antibiótico específico, segundo o plasmídeo utilizado, deixando o palito em contato com o meio. O tubo de ensaio, então, é levado para a incubadora, onde deve ser mantido em uma rotação de 200rpm e 37°C, *overnight*.

### 2.2.3 Extração dos plasmídeos replicados

Após o crescimento das bactérias em meio líquido, o conteúdo presente no tubo de ensaio é transferido para microtubos de 2mL e centrifugado por 5 minutos a 13000rpm.

Ao fim da centrifugação, o sobrenadante presente no microtubo foi retirado e o conteúdo ainda restante no tubo de ensaio foi transferido para o microtubo para uma nova centrifugação, nos mesmos parâmetros. O processo é repetido até que todo o volume contido no tubo de ensaio tenha sido transferido e centrifugado no microtubo, realizando a retirada do sobrenadante.

Após todas as centrifugações é adicionado 100µL de GET ao microtubo, ressuspensando o *pellet* com uma pipeta. Adiciona-se 300µL de solução de lise, depois da ressuspensão, realizando a mistura do material por inversão, gentilmente, em temperatura ambiente e por no máximo 5 minutos. Em seguida é adicionado 300µL de acetato de amônia 7,5M, realizando uma mistura rápida e vigorosa por inversão. O material, então, é levado para centrifugação a 13000rpm por 10 minutos, transferindo-se o sobrenadante, após a centrifugação, para um novo microtubo de 1,5mL. Sendo assim, deve-se adicionar 700µL de isopropanol e deixar o material em repouso no freezer durante, no mínimo, 30 minutos.

Após o período de repouso, o material é novamente centrifugado a 13000rpm, a 4°C, por 10 minutos, ocorrendo a remoção do sobrenadante logo em seguida para a adição de 300µL de etanol 70% gelado, homogeneização gentil e nova centrifugação do material a 13000rpm, a 4°C, durante 3 a 4 minutos. Em seguida, retira-se o sobrenadante e o tubo é colocado, aberto e na posição horizontal, na estufa, a 37°C, durante 10 a 20 minutos para a secagem do pellet. Por fim, o material é ressuspensado em 50µL de TE e é acrescentado 1µL de RNase a 10mg/mL (DNase free) ao tubo contendo o material a 37°C por 30 minutos.

### 2.2.4 Eletroforese

Ao fim do processo de extração do DNA dos plasmídeos contidos nas células bacterianas, foi realizado uma eletroforese do DNA desses plasmídeos para verificar a pureza do conteúdo. Esse processo é importante pois caso haja alguma falha no processo de extração, pode haver apresentação de outros conteúdos além do DNA dos plasmídeos no produto final.

A eletroforese foi realizada a partir da preparação de um gel de agarose (0,8%) e de uma cuba para eletroforese, montada segundo o fabricante (Kasvi). O tampão tae, composto de 4,84g de Tris Base, 1,14mL de ácido acético glacial, 2mL de EDTA 0,5M pH 8,0 e ddH<sub>2</sub>O, foi utilizado na preparação do gel e na corrida. Os parâmetros utilizados na corrida foram: 80V, por aproximadamente 1h. Foi utilizado o gel red como corante no gel de agarose, em uma proporção de 1:100.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da execução do método de eletroporação nas bactérias eletrocompetentes produzidas no laboratório de Citotoxicidade do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), localizado na Universidade Federal do Ceará (UFC), seguindo o protocolo padrão já estabelecido dentro do laboratório, podemos afirmar que a transformação das bactérias pelos plasmídeos utilizados, os quais são considerados variações de pET e pGEM, foi bem sucedida, assim como o processo de extração pela miniprep, como podemos observar na eletroforese realizada (Figura 1), sinalizando um resultado positivo.



Figura 1: Da esquerda para a direita, considerando a primeira banda como o peso molecular: pET28aGST-tev; pETDuet-1; pET28aSUMO; pETTEVplus; pETTEV; pMAL-c4X; pGEX-4T1; pET7-GroES; pET-Blue2; pET3a; pET11d; pET29a; pcDNA3.1/Neo; pcDNA3.1/Hygro; pcDNA3.1/Hygro-myc; pcDNA3.1/Hygro-His6; pcDNA3-FLAG; pcDNA3-FLAG-GFP; pGEM-mKO2.

Na manutenção da saúde e tratamento de doenças, existem várias formas da tecnologia do DNA recombinante ser aplicada. A terapia gênica pode ser utilizada também em combinação com a terapia medicamentosa e, segundo testes, pode oferecer proteção às células tronco hematopoiéticas da quimioterapia por agentes alquilantes contra glioblastoma (KHAN et al., 2016).

Assim como descrito por Vilela (2007), o uso da tecnologia do DNA recombinante para a produção de anticorpos contra um antígeno específico é totalmente possível, através da técnica de clonagem gênica e manipulação da expressão proteica em *E. coli*. O procedimento de produção é relativamente simples e menos oneroso do que aquele envolvido na obtenção de proteínas recombinantes (DINIZ, 2010). A aplicação desta tecnologia consiste basicamente em escolher uma imunoglobulina e posteriormente empregar a metodologia para fundir o DNA codificante da região variável da cadeia pesada do anticorpo com o DNA codificante para a região constante

(SCALLON, 2006).

A tecnologia do DNA recombinante pode ser usada através de diferentes estratégias, a depender do objetivo que se pretende alcançar. Na produção de vacinas é possível realizar a produção de proteínas recombinantes em sistemas heterólogos, com *E. coli*, manipulação genética para a inserção de genes que codifiquem antígenos e imunização com plasmídeos recombinantes (DINIZ, 2010).

A produção de anticorpos monoclonais através da técnica também pode ser realizada, em que serão produzidos anticorpos cujos alvos serão proteínas de membranas e receptores de membranas (FILPULA, 2007). O uso terapêutico de anticorpos monoclonais em pacientes com tumores sólidos tem demonstrado uma taxa maior de sucesso com os anticorpos específicos para o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e para o Receptor do Fator de Crescimento Endotelial (EGFR) (SCOTT, 2012).

Outra aplicação desta tecnologia refere-se ao desenvolvimento de receptores antigênicos quiméricos (CARs) expressos em células T. Esses receptores, compostos por domínios anticorpo-ligante conectados com domínios que ativam as células T, podem superar a tolerância admitindo que células T respondam a antígenos de superfície celular. Sendo assim, estudos realizados por Tey (2007), foram capazes de verificar a reatividade de células apresentando esses tipos de receptores contra o tumor, utilizando um CAR de CD30 para Doença de Hodgkin refratária, assim como CAR direcionado a GD2, expresso no vírus Epstein-Barr. A partir desses estudos foi introduzida uma técnica de transplantação de células T reativas a tumores por meio da expressão de receptores antigênicos quiméricos contra o tumor, obtendo também um gene indutor de apoptose para uma função suicida caso essas células T venham a gerar reatividade contra o hospedeiro (doença do enxerto contra o hospedeiro) (TEY et al., 2007; LAM et al., 2013).

Citocinas são polipeptídeos que regulam a resposta inflamatória e a resposta imune de um indivíduo, provendo sinais importantes de patologias na fisiologia de um organismo. Elas fazem parte de um grupo de mediadores relevantes dentro de uma rede complexa e coordenada que rege as repostas inflamatórias, além de exercerem ações pleiotrópicas, são produzidas por uma grande quantidade de células e são capazes de realizar trabalhos terapêuticos no organismo (NAVARRO-GONZÁLEZ, 2008). Citocinas que estão relacionadas à ativação ou à proliferação das células do sistema imune podem ser usadas como estratégia para induzir o aumento da resposta desejada de uma vacina de DNA. Em estudos feitos por Diniz (2010), desenvolveram uma terceira versão das vacinas de DNA para tumores induzidos por HPV-16, coadministrada de plasmídeos que expressam as citocinas IL-12 ou GM-CSF em combinação com os plasmídeos que expressam a E7 ou E7E6E5 de HPV-16 fusionados à gD de HSV-1. Através desta abordagem, obteve-se resposta de imunização máxima, ou seja, foi obtido um efeito protetor terapêutico de 100% nos camundongos usados no experimento.

Em uma revisão feita por Baigent (2002), ele apresenta dados do uso de Interleucina-2 recombinante humana (Proleucina®) no tratamento de Carcinoma Metastático Renal (CMR) e de Melanoma Metastático (MM), em subgrupos de pacientes de CMR e MM obteve-se, respectivamente, respostas completas e duráveis de aproximadamente 7% e 6%, afirmando que estudos realizados dizem que pacientes tratados com a Proleucina® viveram por mais de 10 anos após o tratamento. A substância não possui efeito antitumoral, ao invés disso, acredita-se que ela estimula o sistema imune a reconhecer as células tumorais como células “estrangeiras”. As células tumorais frequentemente desenvolvem mecanismos para passarem despercebidas pelo sistema imune, o qual confunde células saudáveis com células mutadas.

A utilização de RNAs de pequena interferência (siRNA) também é capaz de gerar receptores de células T (TCRs) de atividade antitumoral aumentada, através da recombinação genética utilizando vetores genéticos. Essa maior atividade ocorre pela eliminação ou redução de expressão de componentes endógenos que ajudam a diminuir o desaparecimento desses receptores, sem mencionar que genes de TCR podem ser utilizados para redirecionar células T contra uma variedade de antígenos antitumorais (KERSHAW; WESTWOOD; DARCY, 2013).

A partir de estudos realizados pelo grupo de pesquisadores de Kim (2006), foi realizada a produção de um peptídeo rico em arginina que pode atuar como carreador de siRNA. Segundo esse grupo de pesquisadores, o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) pode ser inibido por esse siRNA desenvolvido. Para localizar tumores ativos também desenvolveram um carreador de gene bioreduzível conjugado com o peptídeo NGR, o qual pode ser revelado por imagem e poderia ser utilizado para direcionar plasmídeos para o local do tumor, mas ainda existem dúvidas se a expressão ocorreria (KIM et al., 2006; SON et al., 2012; LAM et al., 2013).

Inúmeros dados têm sido acumulados acerca de miRNAs, constantemente eles estão envolvidos em diferentes processos celulares de diferenciação, proliferação, sobrevivência e morte programada. Desse modo, não é novidade que alterações na expressão e na função de miRNA estejam relacionadas ao desenvolvimento de estados neoplásicos em um organismo. Genes clássicos podem ser superexpressos ou silenciados de acordo com seu papel no desenvolvimento do câncer e anormalidades em suas expressões e funções podem ser associadas como marcadores tumorais (PASCULLI, 2015).

Diferentes níveis de expressão de miRNA podem ser encontrados em diferentes tecidos saudáveis e em tecidos tumorais, como no caso de câncer de mama, colorretal, glioblastoma, adenocarcinomas, entre outros (BERINDAN-NEAGOE et al., 2015). Sobretudo, a literatura tem demonstrado que o fenótipo do câncer é caracterizado por uma redução geral de miRNA em relação a tecidos saudáveis, o que corrobora sobre o papel do miRNA na manutenção e diferenciação celular e homeostasia do organismo (PASCULLI, 2015).

O uso de injeções peri-tumorais de miRNA no tratamento de camundongos

com tumores de próstatas apresentou bons resultados na redução do crescimento tumoral em comparação ao grupo controle (ISCAIFE, 2016). Uma série de estudos sobre ganho e perda de função gênica em combinação com a predição de alvo demonstraram que alterações na expressão de miRNAs podem afetar não somente o processo tumorigênico, mas também a sensibilidade celular às drogas. Desse modo, o uso da tecnologia do DNA recombinante para produção de sequências gênicas que tenham como alvo miRNAs e os mecanismos que cercam os RNAs endógenos podem representar um vasto campo para o desenvolvimento de novas terapias contra o câncer, como por exemplo, o anticorpo monoclonal Herceptin® representa o primeiro medicamento alvo-específico para pacientes com câncer de mama que possuem mutação no gene HER-2 (BERINDAN-NEAGOE et al., 2015)

## 4 | CONCLUSÃO

O método de eletroporação é altamente eficaz, já que a maioria das bactérias foram capazes de ser transfectadas pelo processo, e de simples execução, dependendo somente de treinamento nas técnicas para a realização do método e um pouco de conhecimento teórico sobre o assunto para que seja executado de forma eficiente, segundo o protocolo.

A partir dos experimentos realizados, foi capaz de entender que existem alguns interferentes no processo de eletroporação, pois mesmo com o cuidado de realizar a tirada de bolhas presentes no meio e enxugar as placas metálicas ainda assim pode ocorrer uma falha no processo e a corrente ser conduzida pelo meio.

As regras de biossegurança também podem ser consideradas um importante parâmetro para a obtenção de resultados positivos, pois quando não são bem executadas podem acontecer acidentes ou ocorrência de resultados inesperados enquanto quando bem executadas geralmente o resultado esperado é alcançado.

## AGRADECIMENTOS

Os autores e profissionais envolvidos no desenvolvimento deste projeto gostariam de agradecer a todos que se disponibilizaram para que tudo fosse realizado dentro do possível e da melhor forma possível.

Ao professor Dr. José Lima, reitor do Centro Universitário Christus (Unichristus) e ao professor Dr. Manoel Odorico, diretor do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (NPDM-UFC) por se disponibilizarem e quebrarem barreiras ao promover o desenvolvimento científico entre instituições públicas e privadas.

À professora Dr<sup>a</sup> Cláudia Roberta, coordenadora geral do curso de Biomedicina da Unichristus, por ser facilitadora e ajudar com oportunidades de experiência como

essa no Laboratório de Oncologia Experimental do NPDM.

À professora Dr<sup>a</sup> Márcia Valéria, por ser nossa orientadora, se disponibilizar e nos motivar a prosseguir na carreira científica, sempre fazendo o que está a seu alcance para que tudo ocorra conforme esperado.

À professora Dr<sup>a</sup> Raquel Montenegro, por se dispor a coordenar as atividades que seriam realizadas, se disponibilizar e ser facilitadora na receptividade e engajamento dos alunos dentro do Núcleo.

Ao professor Dr. Carlos Paier, por se responsabilizar, acompanhar, disponibilizar e dedicar seu tempo ao ensino dos alunos que desenvolveriam as atividades nos laboratórios do Núcleo.

## REFERÊNCIAS

ADDGENE. **Addgene Protocols:** How to do a Bacterial Transformation. Disponível em: <https://www.addgene.org/protocols/bacterial-transformation/>. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

ALBERTS, Bruce et al. **Biologia Molecular da Célula**. 5<sup>a</sup> edição, Porto Alegre: Artmed, 2010. 1396p.

BAIGENT, G; BARNGROVER, D. **Recombinant Interleukin-2 (aldesleukin) for oncology and HIV disease and recombinant protein treatment (Fabrazyme) for Fabry's disease (No. 14 in a series of articles to promote a better understanding of the use of genetic engineering)**. Journal of Biotechnology Volume 95, Issue 3, 23 May 2002, Pages 277-283.

Berindan-Neagoe, I; Monroig, P. d. C; Pasculli, B; Calin, G. A. **MicroRNAome genome: A treasure for cancer diagnosis and therapy**. CA A Cancer Journal for Clinicians, 64: 311–336. 2014.

BROWN, T.A. **Clonagem genica e análise de DNA: uma introdução**. 4<sup>o</sup> edição. Porto Alegre: Artmed, 2003. 376p.

DINIZ, M.O; FERREIRA, L.C.S. **Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas**. Estud. av., São Paulo, v. 24, n. 70, p. 19-30, 2010 .

FERENC, Matthew. **Plasmids 101:** Common Lab E. coli Strains. 2014. Addgene. Disponível em: <<http://blog.addgene.org/plasmids-101-common-lab-e-coli-strains>>. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

FILPULA, D. **Antibody engineering and modification technologies**. Biomolecular Engineering, Amsterdam, v. 24, p. 201-215, 2007.

GOUVÊA, A; PEREIRA, I.; BOLITO, L. et al. **Controlo da Replicação de Plasmídeos**. Engenharia Biomédica. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Universidade de Coimbra, 2005. Acesso em 17 agosto de 2017. Disponível em <[http://www.fis.uc.pt/data/20042005/apontamentos/apnt\\_1354\\_35.pdf](http://www.fis.uc.pt/data/20042005/apontamentos/apnt_1354_35.pdf)>

ISCAIFE, Alexandre. **O uso de microRNA para o tratamento do câncer de próstata: estudos *in vitro* e *in vivo*** / Alexandre Iscaife – São Paulo, 2016. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

KERSHAW, Michael H.; WESTWOOD, Jennifer A.; DARCY, Phillip K.. Gene- engineered T cells for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], v. 13, n. 8, p.525-541, 24 jul. 2013. Springer Nature.

KHAN, Suliman et al. Role of Recombinant DNA Technology to Improve Life. **International Journal Of**

**Genomics**, [s.l.], v. 2016, p.1-14, 2016. Hindawi Limited.

KIM, Won Jong et al. Cholesteryl Oligoarginine Delivering Vascular Endothelial Growth Factor siRNA Effectively Inhibits Tumor Growth in Colon Adenocarcinoma. **Molecular Therapy**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.343-350, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.03.022>.

LAM, P.; KHAN, G; STRIPECKE, R.; HUI, K.M.; KASAHARA, N.; PENG, K.W.GUINN, B.A. **The innovative evolution of cancer gene and cellular therapies**. Cancer Gene Therapy. [s.l.], v. 20, n. 3, p.141-149, 1 fev. 2013. Springer Nature.

LODISH, H. **Biologia Celular e Molecular**. 7º Edição. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1210p

Navarro-González JF<sup>1</sup>, Mora-Fernández C. **The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy**. J Am Soc Nephrol. **March 2008** vol. 19 no. 3433-442.

PASCULLI, B; CALIN, G.A. **RNA Interference in Cancer Therapy**. Rev. Cell Biol. Mol. Medicine Vol 1, n 3, 2015.

SCALLON, B.J; SNYDER, L.A; ANDERSON, M.G; CHEN, Q; YAN, L; WEINER, L.M; NAKADA, M.T. A. **Review of Antibody Therapeutics and Antibody- Related Technologies for Oncology**. J Immunother 2006; 29:351–364.

SCOTT, A.M; WOLCHOK, J.D; OLD, L.J. **Antibody therapy of câncer**. *Nature Reviews Cancer* 12, 278-287; April 2012.

SON, Sejin et al. Bioreducible Polymers for Gene Silencing and Delivery. **Accounts Of Chemical Research**, [s.l.], v. 45, n. 7, p.1100-1112, 17 jul. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ar200248u>.

TEY, Siok-keen et al. Inducible Caspase 9 Suicide Gene to Improve the Safety of Allogeneic T Cells after Haploidentical Stem Cell Transplantation. **Biology Of Blood And Marrow Transplantation**, [s.l.], v. 13, n. 8, p.913-924, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2007.04.005>.

VILELA, A.A; CALÁBRIA, L.K; COELHO, M.V; ESPINDOLA, F.S. **Uso de proteína recombinante e produção de anticorpo para miosina-v e dlc no estudo de cérebro da abelha Apis melífera**. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Genética e Bioquímica, Bloco 2E, sala 39, Av.. Pará s/ número, CEP. 38400-920, Uberlândia-MG, foued@ufu.br.

WATSON, J.D; BAKER, T.A; BELL, S.P. **Biologia Molecular do Gene**. 7ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

ZAHA, Arnaldo; FERREIRA, Henrique Bunselmeyer; PASSAGLIA, Luciane M. P. **Biologia Molecular Básica**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 403 p.

## USO DA ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*) NO TRATAMENTO COADJUVANTE EM PACIENTES COM PROBLEMAS GASTROINTESTINAIS

### Francisco Ítalo de Sousa Brito

Universidade Federal do Piauí, Departamento do  
Curso de Farmácia, Teresina-PI

### Carolina Francisca Alves de Jesus Sousa

Centro Universitário Santo Agostinho, Curso de  
Farmácia, Teresina-PI

### Mateus Marques Rodrigues de Jesus

Universidade Federal do Piauí, Departamento do  
Curso de Farmácia, Teresina-PI

### Lília Rafaela Barbosa de Sousa

Universidade Federal do Piauí, Departamento do  
Curso de Farmácia, Teresina-PI

### Carlos Átila Pereira de Araújo

Universidade Federal do Piauí, Departamento do  
Curso de Farmácia, Teresina-PI

**RESUMO:** A *Maytenus ilicifolia*, popularmente conhecida como espinheira-santa ou cancrossa, pertence à família Celastraceae possuindo 55 gêneros e 850 espécies espalhadas nas regiões trópicas e subtropicais do mundo. Diversas atividades farmacológicas são atribuídas à planta como antiácido, antiespasmódico, antiinflamatório e cicatrizante. Também é usada no tratamento de úlceras pépticas e gastrite crônica. O objetivo deste trabalho foi analisar o uso da Espinheira Santa (*Maytenus ilicifolia*) no tratamento de pacientes com problemas gastrointestinais. Este estudo constitui-se de uma revisão bibliográfica, fundamentada em

dados gerados pela literatura científica, no qual se realizou uma consulta nas bases de dados Lilacs, Scielo e PUBMED utilizando artigos originais e de revisão de 2003 até a data presente, nos idiomas português e inglês. Estudos iniciais revelaram que *Maytenus ilicifolia* contém compostos bioativos que mostraram potente ação antitumoral e antileucêmica em doses muito baixas. Entretanto, seu uso mais popular é no tratamento de úlceras, indigestão, gastrites crônicas e, dispepsia, pois observou-se que extratos hexano e etilacetato de *Maytenus ilicifolia* promovem um aumento do volume gástrico e do pH no estômago, além da ação anti-ulcerogênica e antiinflamatória. Foi observado que o extrato de folhas de *Maytenus ilicifolia* reduz a secreção ácida na mucosa gástrica de rãs, com efeito semelhante ao medicamento cimetidina. A partir da análise dos dados, pode-se observar que a *Maytenus ilicifolia* é capaz de ajudar no tratamento de pacientes com problemas gastrointestinais devido ao seu efeito gastroprotetor como forma de melhorar a terapêutica do paciente.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Maytenus ilicifolia*; problemas gastrointestinais; anti ulcerogênica.

**ABSTRACT:** The *Maytenus ilicifolia*, popularly known as espinheira-santa or cancrossa, it belongs to the family Celastraceae possessing

55 goods and 850 dispersed species in the tropical areas and subtrópicas of the world. Several pharmacological activities are attributed to the plant as antacid, antiespasmódico, anti-inflammatory and cicatrizant. It is also used in the treatment of ulcers pépticas and chronic gastritis. The objective of this work was to analyze Espinheira Santa use (*Maytenus ilicifolia*) in the patients' treatment with gastrointestinal problems. This study is constituted of a bibliographical revision, based in data generated by the scientific literature, in which took place a consultation in the bases of data Lilacs, Scielo and PUBMED, using original papers and bibliographical revisions of 2003 to the present date, in the Portuguese and English languages. Initial studies revealed that they contain composed bioativos that showed potent action antitumor and anti-leukemic in very low doses. However, its more popular use is in the treatment of ulcers, indigestion, chronic gastritis and, dyspepsia, because it was observed that extracts hexano and ethyl acetate of *Maytenus ilicifolia* promote an increase of the gastric volume and of the pH in the stomach, they presented action anti-ulcerogenic and anti-inflammatory. It was observed that the extract of leaves of *Maytenus ilicifolia* reduces the acid secretion in the gastric mucous membrane of frogs, with effect similar to the medicine cimetidina. Starting from the analysis of the data, it can be observed that the *Maytenus ilicifolia* is capable to help in the patients' treatment with gastrointestinal problems due to its gastroprotector effect as form of improving the patient's therapeutics.

**KEYWORDS:** *Maytenus ilicifolia*; gastrointestinal problems; anti-ulcerogenic.

## 1 | INTRODUÇÃO

A *Maytenus ilicifolia*, popularmente conhecidas como espinheira-santa ou cancosa, pertence à família Celastraceae possuindo 55 gêneros e 850 espécies espalhadas nas regiões trópicas e subtrópicas do mundo. No Brasil é encontrada no Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Diversas atividades farmacológicas são atribuídas à planta como antiácido, antiespasmódico, antiinflamatório e cicatrizante. Também é usada no tratamento de úlceras pépticas e gastrite crônica. O seu valor terapêutico é atribuído principalmente aos polifenóis (flavonóides e taninos) e triterpenos (CALOU, *et al.*, 2014). A úlcera péptica é uma doença crônica, resultante de um desequilíbrio entre fatores protetores e agressores da mucosa gástrica. Pode ser causada por multifatores, como por exemplo, fatores genéticos e álcool, mas está associado ao uso indiscriminado de AINES e identificação da *Helicobacter pylori* (RUIZ-NARVAEZ, *et al.*, 2018). Estudos apontam que o uso de plantas podem ser utilizadas para prevenção e tratamento de doenças gástricas. Então, o objetivo deste trabalho foi analisar o uso da Espinheira Santa (*Maytenus ilicifolia*) no tratamento de pacientes com problemas gastrointestinais.

## 2 | METODOLOGIA

Este estudo constitui-se de uma revisão bibliográfica, fundamentada em dados gerados pela literatura científica, no qual realizou-se uma consulta nas bases de dados Lilacs, Scielo e PUBMED, utilizando artigos originais e de revisão de 2003 até a data presente, nos idiomas português e inglês. Os artigos foram selecionados para esta pesquisa de acordo com os critérios: abordagem sobre a atividade anti-ulcerogênica de *Maytenus ilicifolia*, publicação dos últimos 15 anos e disponibilidade do texto completo.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos iniciais revelaram que *Maytenus ilicifolia* contém compostos bioativos que mostraram potente ação antitumoral e antileucêmica em doses muito baixas. Entretanto, seu uso mais popular é no tratamento de úlceras, indigestão, gastrites crônicas e, dispepsia, pois observou-se que extratos hexano e etilacetato de *Maytenus ilicifolia*, promovem um aumento do volume gástrico e do pH no estômago, além de apresentar ação anti-ulcerogênica e antiinflamatória (TABACH & OLIVEIRA, 2003). Foi observado que o extrato de folhas de *Maytenus ilicifolia* reduz a secreção ácida na mucosa gástrica de rãs, com efeito semelhante ao medicamento cimetidina (FERREIRA, *et al.*, 2004). Outros estudos mostram que a planta atua na recomposição da flora intestinal e inibição de bactérias patogênicas, como laxante, para eliminar toxinas através dos rins e pele e para regular a produção do ácido clorídrico do estômago (JESUS & CUNHA, 2012).

Vários flavonóides foram identificados em extratos de *Maytenus ilicifolia* sendo a estes atribuídos atividade anti-ulcerogênica pela inibição da secreção ácida gástrica tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Baggio e colaboradores observaram em seu estudo com a fração rica em flavonóides extraída das folhas de *Maytenus ilicifolia* uma efetividade na proteção contra úlceras agudas e crônicas por inibição da secreção ácida gástrica. Nas lesões agudas induzidas por etanol foi observada uma redução significativa com o tratamento prévio dos animais com o extrato rico em flavonóides, no entanto não foi observada nenhuma alteração nos mecanismos citoprotetores. Já nos animais com lesões induzidas por indometacina, fármaco que inibe a produção de prostaglandinas - responsável pela integridade da mucosa gástrica através da inibição da secreção ácida e estimulação da secreção de bicarbonato - houve uma proteção significativa da mucosa dos animais pré-tratados com a fração rica em flavonóides, indicando assim ação dos flavonóides da planta no sistema ciclooxigenase-prostaglandina (BAGGIO, *et al.*, 2007).

Alguns triterpenos relatados em literaturas foram identificados em extratos de *Maytenus ilicifolia*, onde são sugeridos como substâncias responsáveis pela terapia de enfermidades gastrintestinais, como é o caso do friedelan-3-ol e o friedelan-3-on, destacados no tratamento da úlcera gástrica. Eles foram caracterizados de

extratos obtidos com etilacetato através de cromatografia gasosa de alta resolução e espectrometria de massas (CALOU *et al.*, 2014).

Em processos de cura de feridas, queimaduras e inflamações, os taninos ajudam na recuperação, formando uma camada protetora sobre a mucosa ou a pele, protegendo e favorecendo a recuperação natural do organismo. No caso na *Maytenus ilicifolia*, junto dos óleos essenciais, os taninos, principalmente a epigalocatequina são responsáveis por parte dos efeitos gastroprotetores (SANTOS-OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Em seu estudo, Tabach e colaboradores observaram que o uso prolongado da planta não causou genotoxicidade e nem teratogenicidade, sendo essa planta uma importante alternativa para o tratamento de úlceras gástricas devido sua alta segurança e eficácia observadas em diversos estudos (TABACH *et al.*, 2017).

## 4 | CONCLUSÃO

Diante da análise dos conteúdos pesquisados nas bases de dados informadas, pode-se observar que a *Maytenus ilicifolia* é capaz de ajudar no tratamento de pacientes com problemas gastrointestinais devido às suas propriedades antiinflamatória e antiulcerogênica - efeito gastroprotetor - como forma de melhorar a terapêutica do paciente.

## REFERÊNCIAS

- BAGGIO, C. H. *et al.* Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and formation of nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 3, p. 433-440, 2007.
- CALOU, I. B. F. *et al.* A atividade gastroprotetora da *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 3, n. 2, p. 33-42, 2014.
- FERREIRA, P. M. *et al.* A lyophilized aqueous extract of *Maytenus ilicifolia* leaves inhibits histamine-mediated acid secretion in isolated frog gastric mucosa. **Planta**, v. 219, n. 2, p. 319-324, 2004.
- JESUS, W. M. M.; CUNHA, T. N. Estudo das propriedades farmacológicas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) e de duas espécies adulterantes. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 2, n. 1, p. 20-46, 2012.
- RUIZ-NARVAEZ, C. E. *et al.* *Helicobacter pylori*, úlcera péptica y cáncer gástrico. **rev.fac.med.**, Bogotá, v. 66, n. 1, p. 103-106, Mar. 2018.
- SANTOS-OLIVEIRA, R.; COULAUD-CUNHA, S.; COLAÇO, W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p. 650-659, 2009.
- TABACH, R.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; CARLINI, E. A. Pharmacological and toxicological study of *Maytenus ilicifolia* leaf extract. part I—preclinical studies. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 6, p. 915-920, 2017.
- TABACH, R.; OLIVEIRA, W. P. Evaluation of the anti-ulcerogenic activity of a dry extract of *Maytenus*

ilicifolia Martius ex. Reiss produced by a jet spouted bed dryer. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 8, p. 573-576, 2003.

TORRES, O. J. M. *et al.* Atividade de *Orbignya phalerata* e *Euterpe edules* na prevenção e no tratamento da úlcera péptica em ratos. **ABCD, arq. bras. cir. escavação**. São Paulo, v. 31, n. 3, e1390, 2018.

## UTILIZAÇÃO DE NEUROPROTETORES FAVORECE A SOBREVIDA DOS MOTONEURÔNIOS DA MEDULA ESPINAL NA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA) – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

**Thaís Costa Porto Marinho**

Centro Universitário IBMR, Rio de Janeiro, RJ

**Angélica Dutra de Oliveira**

Centro Universitário IBMR, Rio de Janeiro, RJ

**RESUMO:** A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa fatal caracterizada pelo acometimento do neurônio motor superior e inferior, tronco encefálico e medula espinal, causando fraqueza muscular progressiva e atrofia. É uma doença multifatorial, caracterizada pela mutação na enzima Cu/Zn superóxido dismutase-1 (SOD1). As causas mais prováveis para surgimento e desenvolvimento da doença se implicam na excitotoxicidade do glutamato, no entanto, estratégias neuroprotetoras e neuroregenerativas, surgiram como uma forma de tratamento promissora na tentativa de redução da progressão da degeneração neural. O delineamento metodológico seguiu o modelo PRISMA. Foram utilizadas as bases de dados: PUBMED, Lilacs, Scielo, Science Direct e Bireme, sem filtro de data inicial até julho de 2018. Para quantificar os efeitos do tratamento foi utilizado o tamanho do efeito (g), corrigido pelo viés (g de Hedge) com IC de 95%. As metanálises foram aplicadas usando o modelo de efeito fixo a partir da heterogeneidade dos tamanhos de efeito. Os neuroprotetores

utilizados por Tollosa (2011), Crossio (2012) e Lee (2012) apresentaram redução na concentração do glutamato, diminuindo o processo inflamatório e reduzindo os níveis de agentes oxidantes. Nesse contexto, foi avaliado os níveis de THA, NF-KB e TNF para avaliar a possível neuroproteção. A mensuração do THA demonstrou efeito -5,67. Em relação ao % NF-KB, o mesmo mostrou um efeito 119,19 ( $p < 0,0001$ ). Por último, a avaliação dos níveis de TNF apresentou um efeito 176,78 ( $p < 0,0001$ ). A análise estatística dos dados demonstrou que houve redução nos níveis extracelulares de TNF e na ativação NF-KB, sugerindo que a utilização dos neuroprotetores minimizou a morte neuronal. Sendo assim, sugere-se que a utilização de neuroprotetores na ELA promove maior sobrevivência dos motoneurônios da medula espinal, possibilitando a redução do processo inflamatório e da neurodegeneração. No entanto, esses neuroprotetores agem em diferentes vias, assim a utilização de dois ou mais neuroprotetores em conjunto poderia repercutir em resultados diferentes.

**PALAVRAS-CHAVES:** Esclerose Lateral Amiotrófica, ELA, Doença do neurônio Motor, Neuroinflamação, Excitotoxicidade.

**ABSTRACT:** Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease characterized by the death of upper and lower

motor neurons, brainstem and spinal cord, causing a progressive muscle weakness and atrophy. Its cause is multifactorial characterized by to a mutation in the Cu/Zn-superoxide dismutase gene (SOD1). The most likely causes for the onset and development of the disease imply excitotoxicity in the presence of glutamate, however, the neuroprotective and neurodegenerative strategies emerged as a promising form of treatment in an attempt to reduce the progression of neural degeneration. The methodological lineation was performed according to the declaration of the PRISMA, based on articles searched in the databases: Pubmed, Lilacs, Scielo, Science Direct and Bireme. The search was limited to English language publications, having no filter from the initial date until July 2018. To quantify the effects of the treatment, the effect size (g), corrected for bias (g of Hedge) with 95% CI was used. The Meta-analyzes were used using the fixed effect model of the heterogeneity of effect sizes. The neuroprotectors were used by Tollosa (2011), Crossio (2012) and Lee (2012), in reducing glutamate, decreasing the action process and levels of oxidizing agents. In this context, levels of THA, NF-KB and TNF have been published to assess neuroprotection. A THA measurement showed an effect -5,67. Regarding %NF-KB, it had a 119.19 ( $p < 0.0001$ ) effect. Finally, an evaluation of TNF levels showed an effect 176,78 ( $p < 0.0001$ ). A statistical analysis of the data was restricted in the extracellular domains of TNF and NF-KB, suggesting that the use of neuroprotectors minimized neuronal death. Therefore, they suggest that the use of neuroprotectors in ALS promotes a greater survival of the spinal cord motoneurons, allowing a reduction of the process of combat to neurodegeneration. However, neuroprotectors act in different ways, as the use of two or more neuroprotectors together could have repercussions on different results.

**KEYWORDS:** Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS, Motoneurons diseases, Neuroinflammation, Excitotoxicity.

## 1 | INTRODUÇÃO

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa fatal caracterizada pelo acometimento dos neurônios motores superiores (NMS) e inferiores (NMI), tronco encefálico e medula espinal, sendo de rápida progressão [1,14,15].

A idade média do aparecimento da doença ocorre entre 50 e 65 anos, além de possuir um tempo curto de sobrevida, cerca de 3-5 anos. Aproximadamente 5 - 8% dos casos de ELA são familiares, e cerca de 20% ocorre devido a uma mutação no gene da superóxido dismutase Cobre/Zinco (SOD1) [12,18].

Possui perfil multifatorial e de etiologia desconhecida, com variedade genética e fatores ambientais. As causas mais prováveis para o desenvolvimento da doença implicam a excitotoxicidade na presença do glutamato, estresse oxidativo, alteração na função mitocondrial e neuroinflamação [15].

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC), possuindo grande importância na cognição, transporte rápido no impulso nervoso, memória, movimentação, sensação, além de ser crucial para a plasticidade

sináptica. Os neurônios do SNC possuem dois tipos de receptores de glutamato: os ionotrópicos e o metabotrópicos. Os ionotrópicos são divididos em três grupos: N-metil-D-aspartato (NMDA), amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionato e Kainato (AMPA/KA) e os metabotrópicos são do grupo mGluR, que podem ser mGluR1, mGluR3 e mGluR5 [4,19,20].

A definição de ionotrópico se dá devido a ativação desses receptores através de íons, ou seja, o aumento da concentração de íons específicos modulará positivamente a ativação dos receptores NMDA e AMPA/KA através do  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Na}^{+}$  respectivamente. Ambos se agregam no mesmo complexo proteico transmembranar, dessa forma, a neurotransmissão mediada pelos receptores iGluRs são rápidas. [19,20].

No entanto, a ativação dos receptores metabotrópico ocorre por meio de uma proteína G que ao ser fosforilada desencadeará uma cascata de reações intracelulares, possibilitando a ativação de canais iônicos localizados na superfície da membrana plasmática do neurônio pós sinápticos, sendo considerada uma neurotransmissão mais lenta [19,20].

Segundo Ruggiero e col (2011), os receptores NMDA ficam localizados na membrana pós sináptica das sinapses excitatórias e possuem maior permeabilidade ao  $\text{Ca}^{+2}$  do que os receptores AMPA e KA. Essa maior permeabilidade ao  $\text{Ca}^{+2}$  faz com que ele contribua diretamente com mecanismos neurotóxicos.

Na família dos receptores L-Glu o mais estudado é o NMDA. Em estudos prévios, receptores L-Glu estão envolvidos no mecanismo de excitotoxicidade e degeneração neural e isto foi reforçado quando utilizaram injeção de NMDA intravítrea como um modelo de lesão in Vivo, estimulando a degeneração de células da retina de ratos. Sendo assim, o aumento da concentração do glutamato pode exercer em algumas situações efeitos neurotóxicos que podem induzir a degeneração neural. Segundo Sungyoub e col (2012), a excitotoxicidade causada pelo aumento dos níveis do glutamato tem se mostrado significativamente importante para a degeneração dos neurônios motores nesta patologia [13,16,17,19,23,25].

Esta hipótese é sustentada pelo aumento da concentração de glutamato encontrado no fluido cérebro espinal em pacientes com ELA [7]. Isso ocorre devido a uma diminuição da recaptção do glutamato pelas células da Glia e por transportadores próprios (GLT-1) presentes nas células neuronais pré-sinápticas e da medula espinal. A ineficiência na recaptção resulta em uma excessiva concentração de glutamato na fenda sináptica, ocasionando uma hiperestimulação dos receptores de glutamato. Promovendo a elevação nos níveis de  $\text{Na}^{+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ , podendo promover morte neuronal (Figura 1) [7,25].

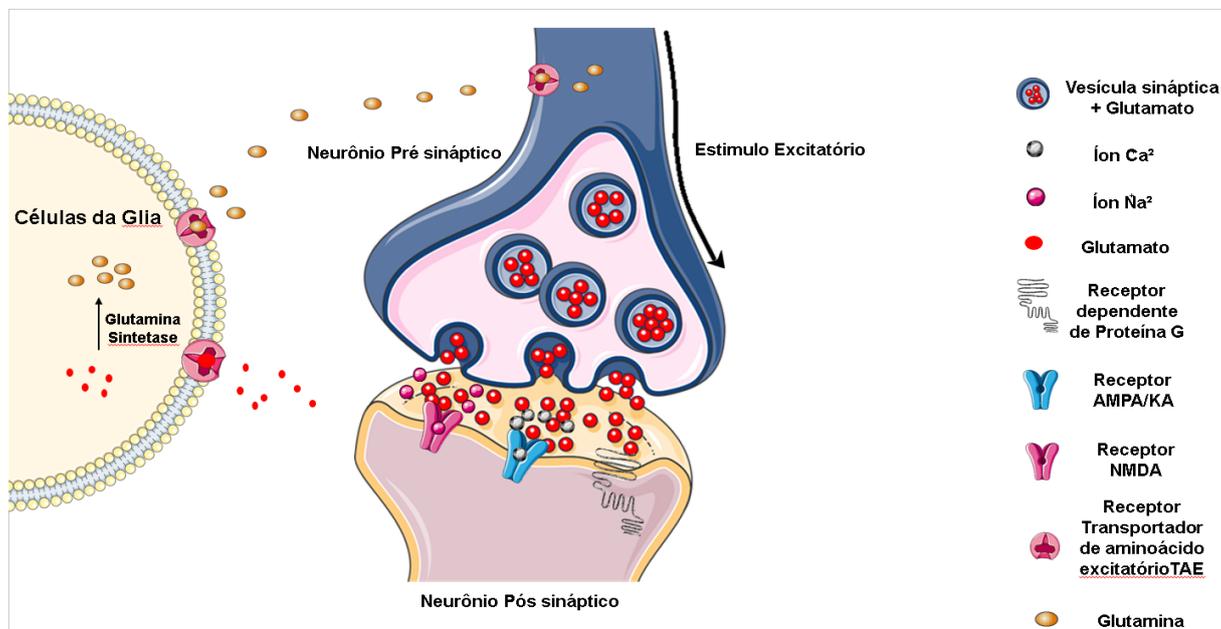


Figura 1: Ilustração da transmissão glutamatérgica e ativação dos receptores NMDA, AMPA/KA e mGluR através dos íons  $Na^{+2}$  e  $Ca^{+2}$ . Após o estímulo excitatório, as células da glia e transportadores próprios do neurônio pré-sináptico realizam a recaptação do glutamato.

Dessa forma, a morte neuronal ocasionada pela excitotoxicidade promove um quadro neuroinflamatório. Em contrapartida, as células da Glia quando lesadas, liberam citocinas pró-inflamatórias, dentre elas interleucina seis (IL-6), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral (TNF), interferon gama (IFN- $\gamma$ ), Ciclooxigenase 2 (COX2), prostaglandina (PGE2) e espécie reativa de oxigênio (ROS) [1,5,11,15,18,25].

A síntese desses mediadores pró-inflamatórios e outros mecanismos de sinalização celular presentes na ELA induz a ativação do NF-KB. O NF-KB é um fator de transcrição nuclear que pode ser ativado através de estresse oxidativo e aumento dos níveis de  $Ca^{+2}$  intracelular, além de estar envolvido na resposta imune inata e adaptativa [4]. Quando esse fator não está ativado ele se encontra no citoplasma ligado a uma proteína inibitória IKB. Esse complexo IKB impede a translocação do NF-KB para o núcleo aonde este será fosforilado e ativado [5,7].

Inúmeros fatores levam a fosforilação do IKB, o que é importante para a sua degradação. Dessa forma, depois de fosforilada IKB recebe a adição de uma ubiquitina, sendo endereçada para a degradação via proteassoma e resultando na ativação do NF-KB. No entanto, para controlar essa ativação, o NF-KB possui um inibidor fisiológico o IKB $\alpha$ . O IKB $\alpha$  se juntará a p50 impedindo que ela esteja livre e se associe ao NF-KB e conseqüentemente, translocada para o núcleo [5,7].

Estudos recentes apresentam diversos neuroprotetores, dentre eles o Cape, Bay - 11-7082, Receptor antagonista AMPA/KA [CNQX], Grelina, Antocianina, GFAP-IkBaAA e GFAP-IkBaAA/SOD1G93A. Estes possuem mecanismos de ação diferenciados na contenção da neurodegeneração e na diminuição do processo inflamatório. Alguns agem inibindo a ativação do NF-KB, na ativação microglial e conseqüentemente, promove a diminuição da liberação de mediadores pró-inflamatórios. Outros, competirão pelo

mesmo sítio de ligação do glutamato, reduzindo o estresse oxidativo e ROS [1,10,15, 21].

Neste trabalho abordamos a ação dos neuroprotetores interferindo na excitotoxicidade promovida pelo glutamato e correlacionando com um melhor prognóstico da ELA. Desta forma, analisamos a efetividade dos neuroprotetores na contenção da degeneração neuronal e a sua possível eficácia no aumento da sobrevivência dos neurônios motores.

## 2 | METODOLOGIA

A revisão sistemática foi desenvolvida de acordo com a declaração do PRISMA, com base em artigos pesquisados nos bancos de dados do Pubmed, Lilacs, Scielo, Science Direct e Bireme. As buscas foram realizadas na língua inglesa, sem filtro para data inicial e até julho de 2018. As palavras chaves utilizadas para a realização da pesquisa foram ELA, Esclerose Lateral amiotrófica, doença do sistema imune, desordem imune e neuroinflamação.

Após a elaboração das palavras chaves, a busca nas bases de dados apresentou um total de 1.297 artigos, onde após a análise dos títulos e resumos foram selecionados 100 artigos para a leitura dos artigos integra. Após a aplicação dos critérios de inclusão, 6 artigos que contemplaram os critérios de elegibilidade, conforme demonstrado na figura 2.

Dados utilizados na análise estatística foram passados para o software Stata Intercooled 9.2. Os dados foram combinados, e realizamos metanálise com modelo de efeitos fixos. Para quantificar os efeitos do tratamento foi utilizado o tamanho do efeito (g), corrigido pelo viés (g de Hedge), com intervalo de confiança (IC) de 95%. Foram realizados testes de heterogeneidade e viés de publicação após análise, e os valores de  $p < 0,0001$  e  $p < 0,05$  foram considerados indicativos de heterogeneidade dos tamanhos de efeito.

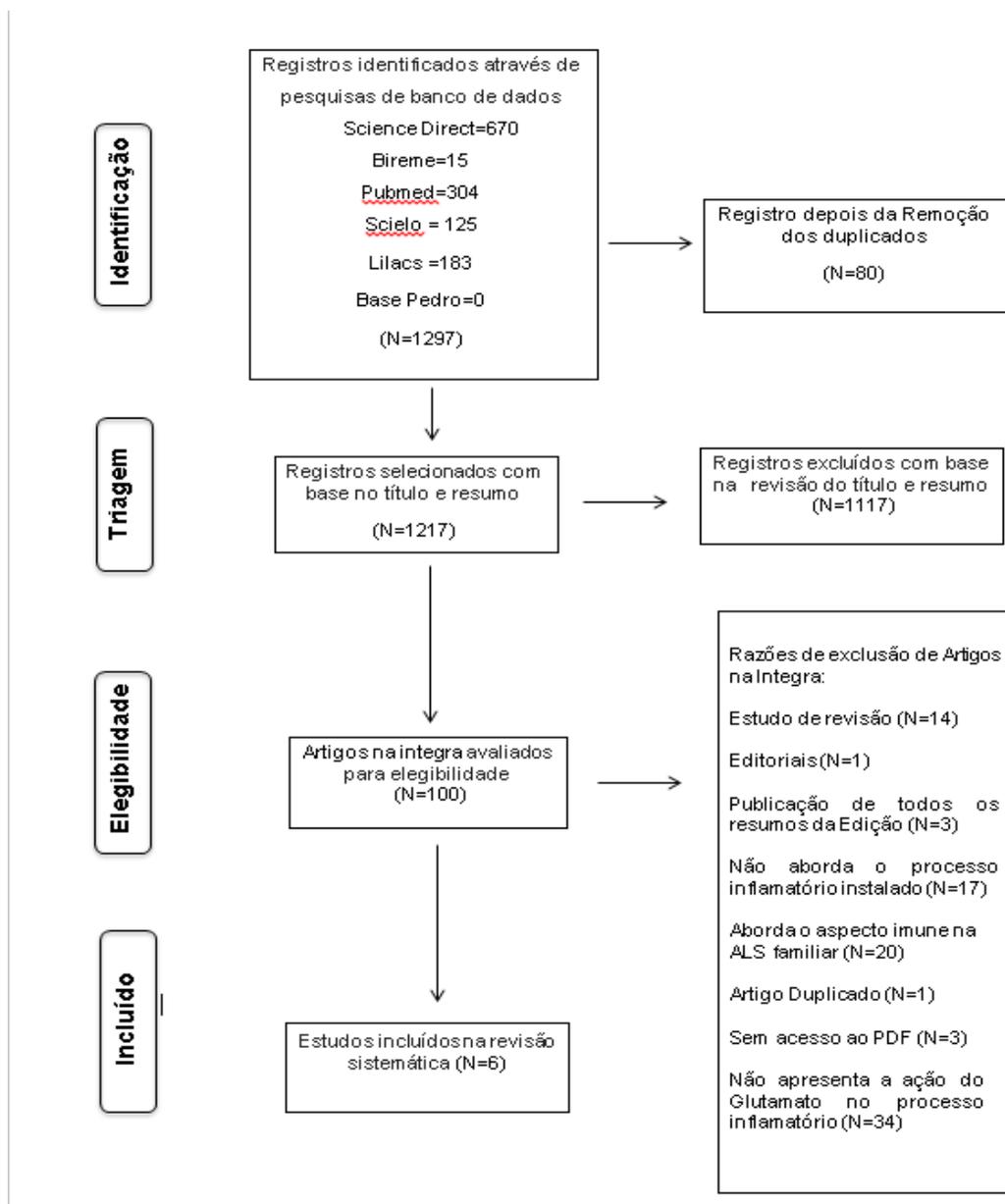


Figura 2: Fluxograma

### 3 | RESULTADO

A Metanálise foi realizada para cada indicador presente nos estudos, respeitando as avaliações e de acordo com a disponibilidade de indicadores, visto a existência de lacunas em determinados indicadores. Das análises metanalíticas realizadas verificam-se todos os valores de P com significância estatística (Tabela 1).

Neste estudo, foram observados efeitos dos neuroprotetores na contenção da neurodegeneração no grupo controle e experimental, e a correlação com a porcentagem do número de neurônios motores da medula espinal de ratos.

Indicador	Estudos	Paciente		Controle		Efeito Geral*	95%-IC	p-valor
		Média	±DP	Média	±DP			
THA	Tolosa, 2011	11,6	0,95	13	1,1	-5,67	[-2,16; -0,64]	<0,0001
	Lee, 2012	6,65	0,515	15,76	1,25		[-9,79; -8,43]	

% NF-KB	Tolosa, 2011	376,3	31,55	110,5	28,39	119,19	[243,57; 288,03]	<0,0001
	Crosio, 2012	105,8	6,7	35,8	9,2		[57,12; 82,88]	
TNF	Tolosa, 2011	1108,6	139,15	200	143,45	176,78	[803,91; 1.013,29]	<0,0001
	Lee, 2012	165,2	41,05	17,8	5,75		[126,42; 168,38]	

Tabela 1: Análise descritiva de cada indicador presente nos estudos.

Na ausência de neuroproteção, observamos uma redução do número de neurônios motores da medula espinal. O gráfico 1 mostra o tamanho de efeito dos estudos do Tolosa e col e Lee e col, onde comparamos o tamanho de efeito dos grupos com a presença de um indutor da degeneração threohydroxyaspartate (THA) e na ausência de neuroproteção. O THA é um inibidor da recaptção de glutamato, ou seja, ele inibe o transportador de glutamato induzindo um quadro de excitotoxicidade [15].

A partir da análise do gráfico 1, observamos um efeito geral de  $-5,67$  indicando que o grupo com ausência de neuroproteção e com a utilização do THA foi favorecido, ou seja, na ausência de neuroproteção e com a indução da degeneração observa-se uma redução do número de motoneurônios na medula espinal.

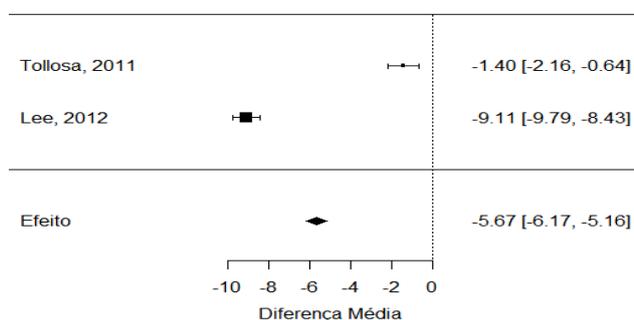


Gráfico 1: *Forest Plot* com Número de Neurônio Motor. Analisando o efeito da redução do Número de Neurônio motor da medula espinal, foi observado um efeito negativo  $-5,67$  indicando uma diferença significativa entre pacientes e controles.

No entanto, na presença de neuroproteção, observamos uma redução da ativação de NF-KB o que promove uma diminuição da ativação astrocitária e redução da liberação de glutamato. Com a diminuição da concentração de glutamato na fenda sináptica, modulará negativamente os seus receptores localizados nos neurônios motores, reduzindo o influxo de  $Ca^{+2}$  e  $Na^{+}$ , minimizando o efeito da hiperestimulação e da sua excitotoxicidade (figura 2).

No gráfico 2, apresentamos o tamanho de efeito do estudo do Tolosa e col e Crosio e col, observamos o tamanho de efeito dos grupos com ausência e presença de neuroproteção. A partir dessa análise, demonstramos um efeito geral de  $119,19$ , indicando que o grupo com a presença de neuroproteção foi favorecido em relação ao grupo com ausência de neuroproteção.

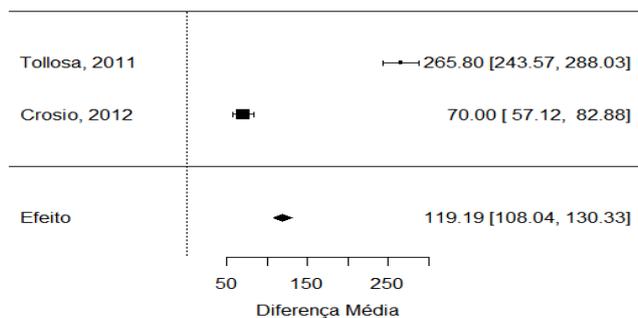


Gráfico 2: Forest Plot para a porcentagem de NF-KB. Analisando os efeitos de cada estudo, o efeito geral foi igual a 119,19 indicando uma diferença significativa entre pacientes e controles.

Além da redução da ativação de NF-KB, observamos também uma redução dos níveis extracelulares de TNF. Essa redução promove uma diminuição da ativação de NF-KB, o que irá refletir na redução da ativação astrocitária, na liberação de glutamato e conseqüentemente, uma diminuição da ativação microglial (figura 3).

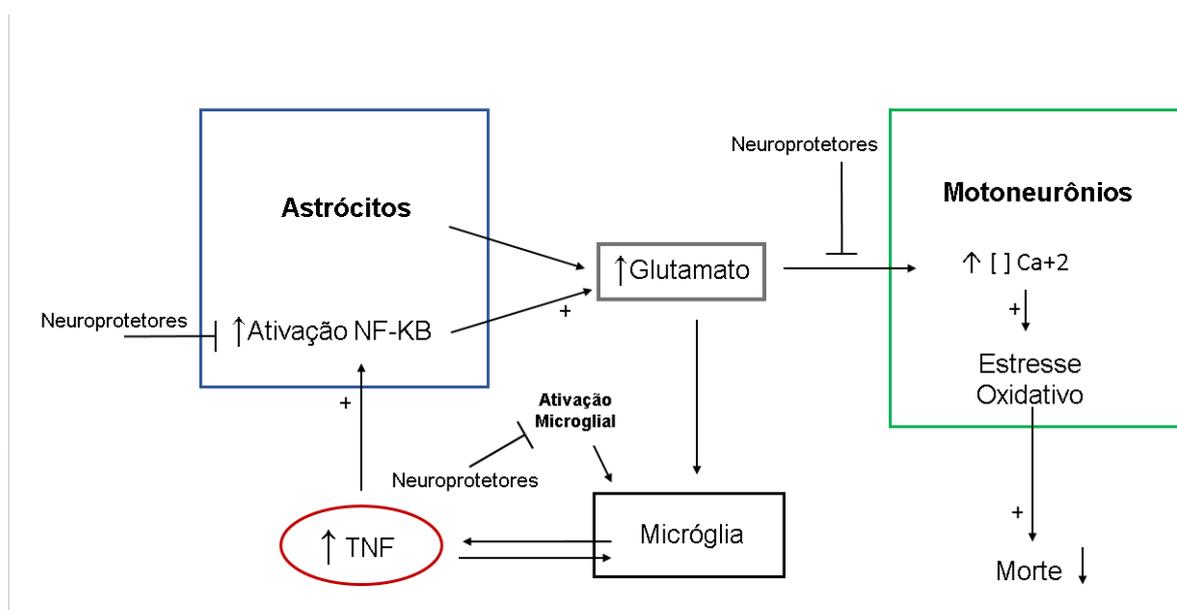


Figura 3: Inibição da ativação do NF-KB, ativação Microglial e hiperestimulação dos receptores de glutamato na presença de neuroproteção (Tolosa e col, 2011; Lee e col, 2012; Crosio e col, 2012).

O gráfico 3, mostra uma redução dos níveis extracelulares de TNF, onde analisamos os estudos do Tollosa e col e Lee e col e comparamos o tamanho de efeito entre os grupos. A partir dessa análise, observamos um efeito geral de 176,78 indicando que o grupo com a presença de neuroproteção foi favorecido em relação ao grupo com ausência de neuroproteção.

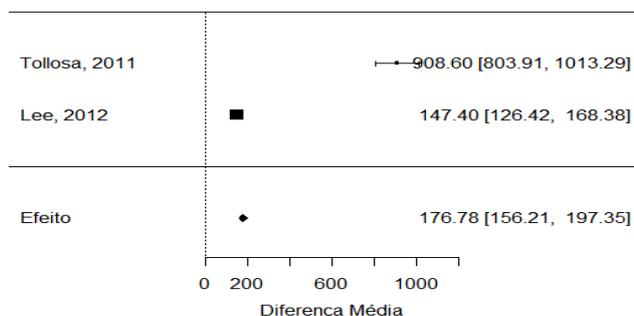


Gráfico 3: Forest Plot do indicador de TNF. Analisando os efeitos de cada estudo e o efeito geral foi de 176,78 indicando uma diferença significativa entre pacientes e controles.

Dessa forma, podemos concluir, a partir dos dados acima, que na presença de neuroproteção o processo degenerativo é atenuado devido à redução de fatores pró-inflamatórios que induzem o aumento da concentração de glutamato e favorecem o quadro neuroinflamatório. Assim, por meio de estratégias neuroprotetoras e neuroregenerativas é possível promover uma sobrevida aos motoneurônios da medula espinal nessa patologia.

#### 4 | DISCUSSÃO

O conhecimento sobre a patogênese da ELA tem sido obtido, na maioria das vezes, a partir de modelos animais com a forma familiar, e este conhecimento tem permitido desenvolver modelos celulares *in vitro* para a forma esporádica e estudar as propriedades de sobrevivência destas células, sua interação com outros tipos celulares e a suscetibilidade em condições ambientais, que são alguns dos fatores envolvidos na patogênese da doença [2,9].

As doenças neurodegenerativas agudas e crônicas possuem a característica comum de perda de neurônios por mecanismos originados pela sobreativação dos receptores de glutamato, o qual ocorre por uma excessiva excitação sináptica mediada por este aminoácido, ao que chamamos excitotoxicidade. Por esse motivo, é importante sabermos os mecanismos de receptação do glutamato por neurônios ou células gliais, determinando o tempo que o neurotransmissor estará disponível na sinapse [6, 8].

A expressão alterada dos transportadores de glutamato na ELA é talvez um dos melhores exemplos estudados ligando neuropatologia à disfunção do transportador glutamatérgico. Em uma série de estudos descobriu-se um aumento nos níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano, uma diminuição na atividade de transporte, e níveis diminuídos de receptores recaptadores de glutamato em pacientes com ELA, em comparação com um controle ou população de referência com indivíduos que morreram de doenças não neurológicas [22].

Várias hipóteses foram cogitadas sobre a geração possível desta doença as mais citadas são: excitotoxicidade mediada por receptores AMPA, e toxicidade causada por

ganho de função de SOD1 mutado, o que eleva a geração de espécies reativas de oxigênio [6].

Para muitas doenças do sistema nervoso associadas com expressão alterada do transportador de glutamato, a atividade (e em alguns casos os níveis de proteína) foi medida em tecidos periféricos, evidenciando que muitos destes transportadores Na<sup>+</sup> dependente não são exclusivos do sistema nervoso. Na verdade, a atividade do transporte Na<sup>+</sup> dependente é mais baixa em plaquetas de pacientes com ELA e os níveis de glutamato no plasma são mais elevados [22].

Em nosso estudo, Tolosa e Lee, demonstram que a utilização de THA promoveu a inibição da recaptção do glutamato pelas células da glia e por transportadores próprios presentes nas células neuronais pré-sinápticas e da medula espinal. Essa inibição resulta em uma excessiva concentração de glutamato na fenda sináptica, ocasionando uma hiperestimulação de seus receptores promovendo um aumento do influxo de Na<sup>+</sup> e Ca<sup>+2</sup>, levando a morte neuronal.

No entanto, quando utilizado a neuroproteção, a análise estatística dos dados demonstrou que houve redução nos níveis extracelulares de TNF e na ativação NF-KB, sugerindo que a utilização dos neuroprotetores reduziu ativação microglial, astrocitária e minimizou o impacto neuronal.

Devido à importância da excitotoxicidade glutamatérgica como fator importante no desenvolvimento da ELA e à inexistência de fármacos eficientes para o tratamento, considera-se fundamental o estudo de drogas que possam reverter esta toxicidade, através da modulação da transmissão de glutamato. Além disso, lesão causada por estresse oxidativo parece ser fator patogênico comum nas diversas doenças neurológicas [24].

Sendo assim, sugere-se que a utilização dos neuroprotetores na ELA teria um papel importante em promover uma maior sobrevivência dos motoneurônios da medula espinal, possibilitando a redução do processo inflamatório, do estresse oxidativo e da neurodegeneração. No entanto, esses neuroprotetores possuem diferentes mecanismos de ação, assim a utilização de dois ou mais neuroprotetores em conjunto poderia repercutir em resultados diferentes na contenção da neurodegeneração.

## REFERÊNCIAS

1. Aimee N. Winter, Erika K. Ross, Heather M. Wilkins, Trisha R. Stankiewicz, Tyler Wallace<sup>1</sup>, Keith Miller, Daniel A. Linseman. An anthocyanin-enriched extract from strawberries delays disease onset and extends survival in the hSOD1<sup>G93A</sup> mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Nutritional Neuroscience*, 2017.
2. Andrews J. Amyotrophic lateral sclerosis: clinical management and research update. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2009;9(1):59-68.
3. Antero Salminen & Juha M. T. Hyttinen & Kai Kaarniranta. AMP-activated protein kinase inhibits NF-κB signaling and inflammation: impact on healthspan and lifespan. *J Mol Med* (2011) 89:667–676.

4. Antonio de Pádua Carobrez. Glutamatergic neurotransmission as molecular target in anxiety. *Rev Bras Psiquiatr* 2003;25(Supl II):52-8.
5. Claudia Crosio, Cristiana Valle, Arianna Casciati, Ciro Iaccarino, Maria Teresa Carri. Astroglial Inhibition of NF- $\kappa$ B Does Not Ameliorate Disease Onset and Progression in a Mouse Model for Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *PLoS ONE*, 2011, Vol 6, Issue 3, e17187.
6. Corona JC, Tapia R. Mecanismos de Neurodegeneración. *Mensaje Bioquímico*.2005; 29: 17-28.
7. Eunjin Lim, Sungyoub Lee, Endan Li, Yumi Kim, Seungjoon Park. Ghrelin protects spinal cord motoneurons against chronic glutamate-induced excitotoxicity via ERK1/2 and phosphatidylinositol-3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase-3 $\beta$  pathways. *Experimental Neurology*, 230 (2011) 114–122.
8. Grewer C, Rauen T. Electrogenic Glutamate Transporters in the CNS: Molecular Mechanism, Pre-steady-state Kinetics, and their Impact on Synaptic Signaling. *J Membr Biol*. 2005; 203(1):1-20.
9. Hou LL, Hong T. Stem cells and neurodegenerative diseases. *Sci China Ser C-Life Sci*, 2008;51(3):287-294.
10. Isaias Glezera, Tania Marcourakisa,b, Maria Christina Werneck Avellarc, Clarice Gorensteina,b, Cristoforo Scavonea. The role of the transcription factor NF- $\kappa$ B in the molecular mechanisms of action of psychoactive drugs. *Rev Bras Psiquiatr* 2000;22(1):26-30.
11. J. V. Berger, a. O. Dumont, m. C. Focant, m. Vergouts, a. Sternotte, a.-g. Calas, s. Goursaud and e. Hermans. opposite regulation of metabotropic glutamate receptor 3 and metabotropic glutamate receptor 5 by inflammatory stimuli in cultured microglia and astrocytes. *Neuroscience* 205 (2012) 29–38.
12. James A. Oakes<sup>1,2</sup>, Maria C. Davies<sup>2</sup> and Mark O. Collins. TBK1: a new player in ALS linking autophagy and neuroinflammation. *Molecular Brain* (2017) 10:5.
13. Jeffrey D. Rothstein, M.D., Ph.D., Lee J. Martin, Ph.D., and Ralph W. Kuncl, M.D., Ph.D. Decrease glutamate transport by the brain and spinal cord in Amyotrophic Lateral Esclerosis. *The new england journal of medicine*, 1992.
14. Katie Moisse , Michael J. Strong. Innate immunity in amyotrophic lateral sclerosis. *Biochimica et Biophysica*, 2006, *Acta* 1762 (2006) 1083–1093.
15. Laia Tolosa, Víctor Caraballo-Miralles, Gabriel Olmos, Jerònia Lladó. TNF- $\alpha$  potentiates glutamate-induced spinal cord motoneuron death via NF- $\kappa$ B. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2010, 46 (2011) 176–186.
16. Mike O. Karla, Susan Hayesa, Branden R. Nelsona, Kristine Tana, Brian Buckinghamb, and Thomas A. Reha. Stimulation of neural regeneration in the mouse retina. *PNAS*, December 9, 2008, vol. 105, no. 49, 19509.
17. Nikolas L. Jorstad, Matthew S. Wilken<sup>1</sup>, William N. Grimes<sup>3</sup>, Stefanie G. Wohl<sup>1</sup>, Leah S. VandenBosch, Takeshi Yoshimatsu<sup>1</sup>, Rachel O. Wong<sup>1</sup>, Fred Rieke, and Thomas A. Reh. Stimulation of functional neuronal regeneration from Müller glia in adult mice. *Nature*. 2017 August 03; 548(7665): 103–107.
18. Pooja-Shree Mishra, Dinesh K. Dhull, A. Nalini, K. Vijayalakshmi, T. N. Sathyaprabha, Phalguni Anand Alladi and Trichur R. Raju. Astroglia acquires a toxic neuroinflammatory role in response to the cerebrospinal fluid from amyotrophic lateral sclerosis patients. *Journal of Neuroinflammation* (2016) 13:212
19. Rafael N. Ruggiero , Lezio S. Bueno-Júnior , Jana B. de Ross , Helene A Fachim<sup>3</sup> , Fernando

E. Padovan-Neto<sup>2</sup>, Suélen Merlo<sup>1</sup>, Carlos J. S. Rohner, Érika T. Ikeda, Janaína Brusco e Jorge E. Moreira. Glutamatergic neurotransmission and synaptic plasticity: molecular, clinical, and phylogenetic aspects. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2011;44(2): 143-56.

20. Rafael Rodrigues LIMA, Ana Maria Rabelo COSTA, Renata Duarte DE SOUZA e Wallace GOMES-LEAL. Secondary Neurodegeneration And Excitotoxicity. *Revista Paraense de Medicina* V.21 (1) janeiro-março 2007.

21. Shahid Ali Shah, Faiz Ul Amin, Mehtab Khan, Muhammad Noman Abid, Shafiq Ur Rehman, Tae Hyun Kim, Min Woo Kim and Myeong Ok Kim. Anthocyanins abrogate glutamate-induced AMPK activation, oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegeneration in postnatal rat brain. *Journal of Neuroinflammation* (2016) 13:286.

22. Sheldon AL, Robinson MB. The Role of Glutamate Transporters in Neurodegenerative Diseases and Potential Opportunities for Intervention. *Neurochem Int.* 2007; 51: 333-5.

23. Sotaro Ooto, Tadamichi Akagi, Ryoichiro Kageyama, Joe Akita, Michiko Mandai, Yoshihito Honda, and Masayo Takahashi. Potential for neural regeneration after neurotoxic injury in the adult mammalian retina. *PNAS* September 14, 2004 vol. 101, no. 37 13655.

24. Stroeh E. Estudo do inibidor da 3-Hidróxi 3-Metilglutaril-Coenzima A Redutase (Atorvastatina) na Transmissão e Toxicidade Glutamatérgica (monografia). Florianópolis: UFSC, 2008. 53 p.

25. Sungyoub Lee, Yumi Kim, Endan Li, and Seungjoon Park. Ghrelin Protects Spinal Cord Motoneurons Against Chronic Glutamate Excitotoxicity by Inhibiting Microglial Activation. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2012, 16: 43-48.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES** Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

**TIAGO SOUSA MELO** Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-322-4

