



PDE | PRONATEC

*PROGRAMA NACIONAL DE ACESSO AO
ENSINO TÉCNICO E EMPREGO*

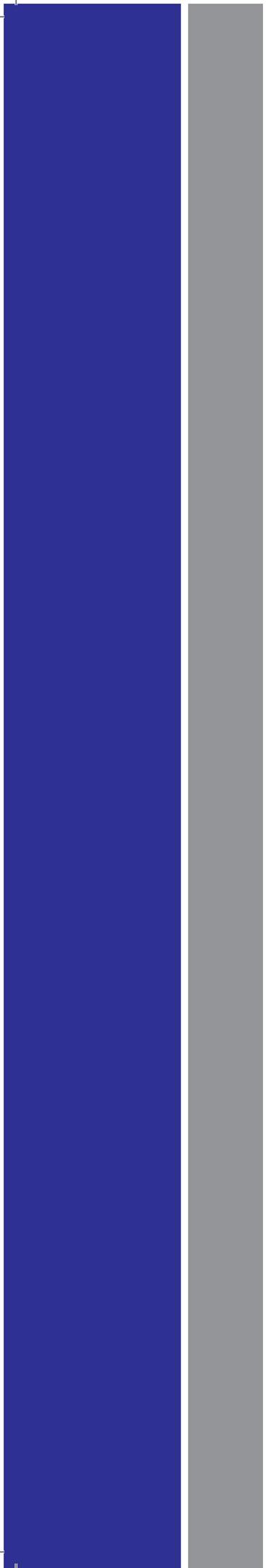
UTRAMIG

Fundação de Educação para o Trabalho de Minas Gerais

**CURSO
TÉCNICO**

**ANÁLISES
CLÍNICAS**

Etapa 3



Curso Técnico
**ANÁLISES
CLÍNICAS**
Etapa 3

**PROFESSORES ORGANIZADORES
DE CONTEÚDO**

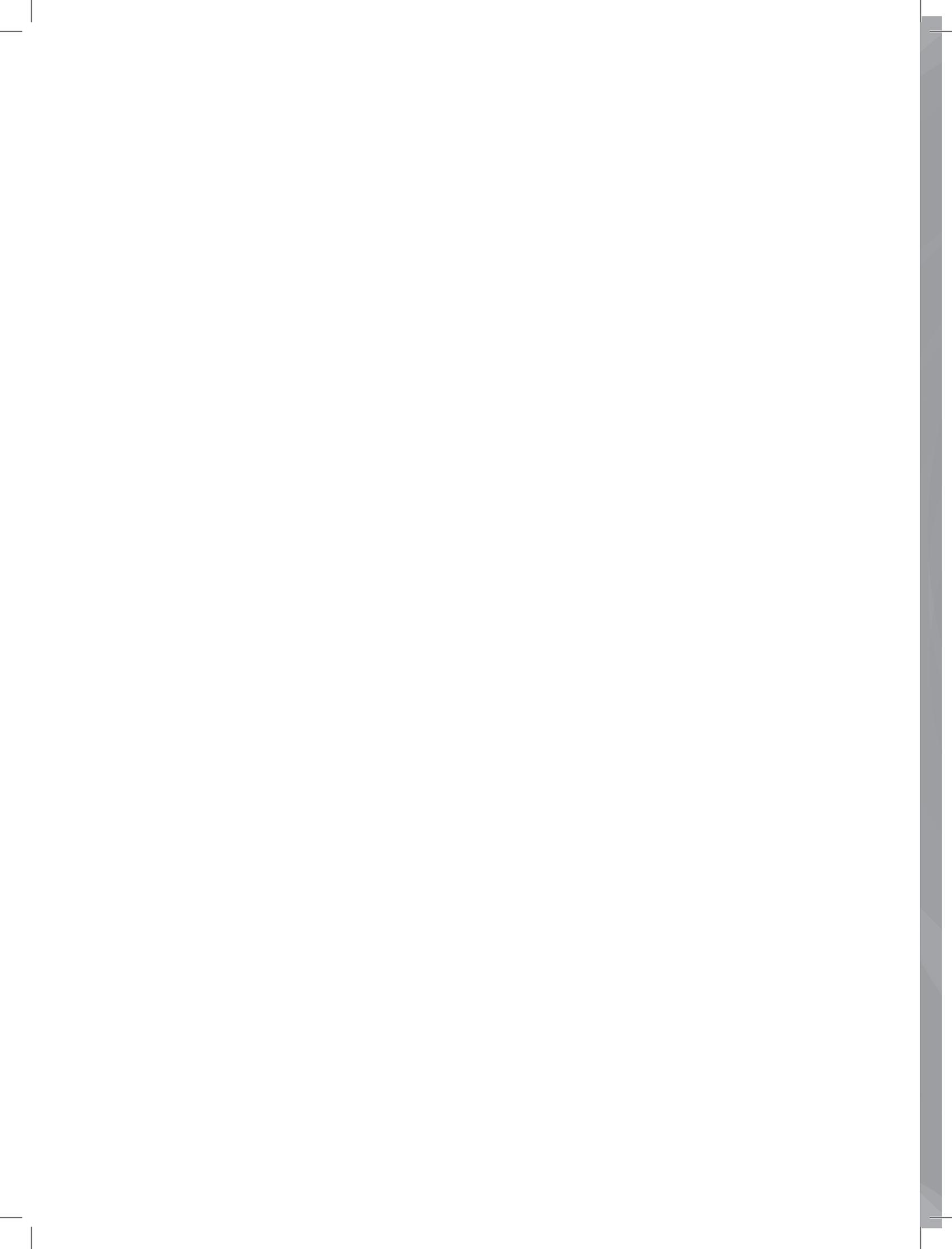
Ana Cristina de Andrade
Ana Lúcia Nascimento
Magno Brandão Ribeiro
Vanessa Aparecida da Cruz
Vanessa Gomes Prado

Curso Técnico

ANÁLISES CLÍNICAS

Etapa 3

CONTEÚDOS ESPECÍFICOS	PÁGINA
Bioquímica	3
Parasitologia	53
Microbiologia	95
Hematologia	137
Imunologia	169





CURSO TÉCNICO EM
ANÁLISES CLÍNICAS
ETAPA 3

BIOQUÍMICA

Sumário

DISTÚRBIOS DO METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS – DIABETES MELLITUS	5
COMPOSTOS NITROGENADOS PROTEICOS.....	11
COMPOSTOS NITROGENADOS NO PROTEICOS	17
URINÁLISE	22
BILIRRUBINAS	28
LIPIDEOS.....	30
MÉTODOS DE VISUALIZAÇÃO DAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS	34
ENZIMAS.....	35
GASOMETRIA.....	39
IONOGRAMA – DOSAGEM DE ÍONS.....	43
URINÁLISE II	46

DISTÚRBIOS DO METABOLISMO DOS CARBOIDRATOS

DIABETES MELLITUS

Os carboidratos (açúcares que possuem a fórmula $C_n (H_2O)_n$) desempenham funções importantes para o nosso metabolismo. Ex: Função energética e estrutural.

Após sua absorção no intestino, a veia porta hepática fornece ao fígado uma grande quantidade de glicose que vai para a corrente sanguínea para ser distribuída por todo organismo a fim de suprir as necessidades energéticas das células.

As concentrações normais de glicose plasmática (glicemia) situam-se em torno de 60 - 99 mg/dl graças à ação de um sistema hormonal apurado que entra em ação para evitar que o aporte sanguíneo de glicose exceda aos limites considerados normais.

Os hormônios pancreáticos insulina e glucagon têm importante papel na regulação dos níveis plasmáticos da glicose. A insulina é produzida pelas células beta das ilhotas de Langerhans sendo liberada quando há um aumento dos níveis de glicose plasmática (hiperglicemia) que ocorre normalmente após uma alimentação contendo carboidratos. Podemos dizer, resumidamente, que a insulina estimula a captação de glicose pelas células (exceto neurônios e hepatócitos), o armazenamento da glicose sob a forma de glicogênio hepático e muscular (glicogênese), o armazenamento de aminoácidos (fígado e músculos) e lipídios (adipócitos).

Assim, devido à ação da insulina, há uma queda gradual da glicemia (hipoglicemia) que estimula as células alfa do pâncreas a liberarem o glucagon. Este hormônio possui ação contrária à da insulina: aumenta a utilização de lipídios e aminoácidos; estimula a utilização das reservas de glicose (glicogenólise), estimula a neoglicogênese (síntese de glicose a partir de lipídios e aminoácidos).

Esses efeitos hiperglicemiantes possibilitam nova ação da insulina, fazendo com que a glicemia de um indivíduo normal fique em torno dos 60 a 99 mg/dl.

Distúrbios do metabolismo da glicose podem levar a hiperglicemia (aumento dos níveis séricos de glicose – como o Diabetes mellitus) ou hipoglicemia (diminuição dos níveis séricos de glicose).

1. HIPERGLICEMIA - DIABETES MELLITUS

A hiperglicemia, aumento da concentração sérica de glicose, ocorre em vários processos patológicos como feocromocitoma, hipertireoidismo, síndrome de Cushing, acromegalia e Diabetes mellitus. Abordaremos neste capítulo apenas o Diabetes mellitus.

DIABETES MELLITUS

É uma doença crônica caracterizada por uma elevação anormal dos níveis séricos de glicose podendo haver excreção do excesso de glicose na urina (glicosúria).

Pode originar-se da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos.

Caracteriza-se por hiperglicemia com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. Em longo prazo pode-se observar disfunção e falência de vários órgãos. Está associado frequentemente a lesões da microcirculação, alterações neuropáticas, nefropáticas e ateroscleróticas.

Fatores determinantes

-Hereditariedade: as células beta do pâncreas encontram-se mais susceptíveis à destruição por vírus ou há um aumento da produção de auto anticorpos contra as células beta do pâncreas.

-Obesidade: pode levar a uma diminuição do número de receptores para a insulina.

-Consumo excessivo de alimentos: induz a um aumento na produção de insulina.

Classificação

Tipo 1: caracteriza-se pela destruição das células beta do pâncreas gerando uma deficiência absoluta de insulina; pode ser de origem autoimune ou de causa desconhecida. A evolução clínica é rápida; o pico de incidência

ocorre na infância e na adolescência. A concentração da insulina endógena encontra-se diminuída ou ausente. Sintomas mais comuns são: glicosúria, poliúria, polifagia, polidipsia, perda de peso rápida, cetoses frequentes. Frequentemente há necessidade de insulina exógena.

Tipo 2: caracteriza-se por um aumento da resistência à insulina ou deficiência de sua secreção. Corresponde a 90% da população com diabetes; geralmente ocorre após 40 anos de idade, a maioria é obesa, hipertensa, sedentária ou com história familiar. Não depende de insulina exógena (em pacientes com glicemia sob controle). Neste tipo de diabetes, quando a glicemia está sob controle, os sintomas são discretos.

Gestacional: é diagnosticado durante a gestação. Há uma resistência insulínica provocada por hormônios produzidos na placenta; a glicemia elevada no sangue materno favorece seu transporte pela placenta até o feto.

Mulheres que já tiveram diabetes em gestações anteriores, com história familiar de diabetes, história de aborto espontâneo, correm mais riscos de desenvolverem diabetes gestacional. Como consequências do diabetes gestacional pode haver anomalias congênitas, natimortalidade, macrossomia, hipoglicemia neonatal que se não for detectada a tempo pode deixar sequelas pela falta de glicose nas células.

Pré-diabetes ou Tolerância à glicose diminuída: Valores de glicemia intermediários, com riscos relativamente altos de desenvolver diabetes. Apresentam hiperglicemia quando submetidos à sobrecarga oral de glicose. Na maioria das vezes são assintomáticos.

Sinais e sintomas

Os sinais clássicos de Diabetes Mellitus são:

- glicosúria: glicose na urina; aparece quando a glicose sérica encontra-se acima do limiar renal 160-180 mg/dl.
- poliúria: aumento do volume e da frequência urinária;
- polidipsia: sede intensa;
- perda de peso;
- polifagia: fome intensa;

Pacientes diabéticos têm maior propensão em desenvolver hipertensão, arteriosclerose, doenças oculares, doenças renais, feridas não cicatrizantes em extremidades do corpo (pés, pernas, e mãos) que podem levar a amputação dos membros.

2. HIPOGLICEMIA

Definida como concentração sérica de glicose menor ou igual a 50mg/dl. Representa o conjunto de manifestações clínicas que ocorrem devido à privação de glicose no cérebro. Estes sintomas desaparecem rapidamente quando há administração oral ou intravenosa de glicose.

Sintomas de hipoglicemia

Ansiedade, palpitação, tremor, sudorese, cefaleia, fala arrastada, comprometimento do SNC, convulsões, coma e morte.

Causas:

- Fisiológicas: exercícios forçados, jejum prolongado, estresse.
- Hipoglicemia reacional
- Insulinoterapia
- Doença autoimune
- Doenças hepáticas, hormonais, alcoolismo;
- Recém-nascidos prematuros: < 20 mg/dl; a termo: < 35 mg/dl.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Determinação da glicemia de jejum: o sangue venoso obtido de plasma fluoretado é a amostra de escolha para determinações da glicose. O plasma deve ser separado em no máximo 30 minutos.

Para se submeter ao teste, é preciso permanecer em estado de jejum por 8 a 14 horas.

Valores de referência segundo a Associação Americana de Diabetes (ADA):

Normal:	60 a 99 mg/dl
Alterada:	100mg/dl a 125mg/dl
Diabetes:	glicemia de jejum igual ou maior a 126 mg/dl

(confirmada por uma nova coleta); glicemia maior ou igual a 200 mg/dl duas horas após a administração de 75 g de dextrosol (teste de tolerância) ou a qualquer hora do dia, independente de jejum.

Teste Oral de Tolerância à Glicose

Para se preparar para este teste deve-se manter uma dieta normal nos três dias que antecedem ao exame, interromper qualquer medicação que possa interferir no resultado (sob orientação médica); permanecer em repouso durante o exame e não fumar.

O teste oral de tolerância à glicose consiste em administrar 75 g de glicose para adultos e 1,75 g por kg de peso para crianças (no máximo 75 g de glicose), diluído em 300 mL de água, com ingestão em no máximo cinco minutos (tempo contado a partir do primeiro gole).

Quando a curva glicêmica tem como objetivo o diagnóstico de diabetes mellitus, devem ser feitas apenas duas coletas de sangue: a basal e duas horas após a sobrecarga (ou a critério médico). São considerados normais valores de glicemia duas horas após a sobrecarga inferiores a 140 mg/dL; os valores intermediários (entre 140 e 200 mg/dL) definem a condição de tolerância à glicose diminuída (pré-diabetes). Acima de 200 mg/dl – Diabetes mellitus.

Teste Oral para Gestantes

É importante que as mulheres grávidas sejam testadas, a critério médico.

-Teste de rastreio: consiste na ingestão de uma dose de 50g de glicose. O sangue será colhido nos tempos basal e 60 minutos após a ingestão. Os resultados serão considerados alterados quando maiores ou iguais a 140mg/dl uma hora após sobrecarga de glicose.

-Teste de diagnóstico: quando o resultado do teste de rastreio for maior ou igual a 140 mg/dl, realiza-se um novo teste com a ingestão de 100g de glicose e avaliação da glicemia. Os valores limites são:

- Jejum: < 95 mg/dL;
- 60 min: < 180 mg/dL;
- 120 min: < 155 mg/dL
- 180 min: < 140 mg/dL.

O diagnóstico de diabetes gestacional requer que pelo menos duas das quatro glicemias apresentem valores iguais ou superiores aos limites descritos.

Glicose pós-prandial

Deve-se realizar a dosagem da glicose basal e duas horas após o almoço. Valores superiores a 200 mg/dL em amostra colhida duas horas após o almoço ou a qualquer hora do dia e em quaisquer condições, desde que acompanhada de sintomas e sinais característicos sugerem Diabetes mellitus.

Glicohemoglobina (Hemoglobina Glicada) – A1c

O exame de glicohemoglobina possui enorme importância na avaliação do controle do diabetes. Deve ser usada para monitoração do paciente diabético e não para diagnóstico. Através deste exame pode-se verificar se o controle da glicemia foi eficaz ou não, num período de 60 a 90 dias.

Quanto maior a concentração sérica da glicose, maior a quantidade de hemoglobina que vai incorporando glicose e, conseqüentemente, haverá um aumento da hemoglobina glicosilada.

O valor de A1c deve estar entre 4 a 6%.

Este exame é contra-indicado a pacientes com anemias hemolíticas, perdas crônicas de sangue, esplenectomia recente; A amostra biológica utilizada é o sangue total coletado em EDTA/heparina sódica/citrato sódico.

Frutosamina

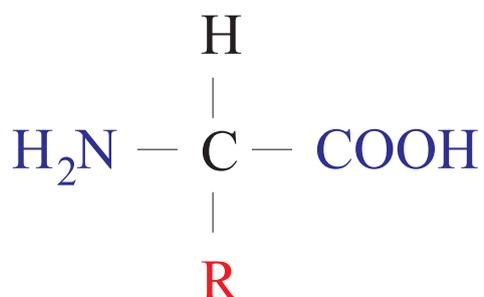
Este exame é capaz de apresentar o controle glicêmico das últimas 4 a 6 semanas. Pode ser útil para a avaliação de alterações do controle de diabetes em intervalos menores que a glicohemoglobina. A dosagem da frutosamina geralmente é indicada quando a A1c não pode ser usada (exemplo, nas anemias hemolíticas).

COMPOSTOS NITROGENADOS PROTEICOS

PROTEÍNAS

São compostos orgânicos de alto peso molecular formados pela ligação de aminoácidos unidos através de ligações peptídicas. Correspondem a mais da metade do peso seco da célula sendo o composto orgânico mais abundante do ser vivo.

São formadas basicamente por átomos de carbono (C), hidrogênio(H), oxigênio (O) e nitrogênio(N). Possuem a estrutura básica abaixo:



R: radical orgânico

AMINOÁCIDO

Estrutura das proteínas:

As proteínas podem ser encontradas em quatro níveis estruturais:

1. Estrutura primária: está relacionada com a sequência linear dos aminoácidos que compõem a proteína. A função de uma proteína depende da sequência de aminoácidos e da forma em que se encontram distribuídos.

Ala---arg---asp---glu---met---trp---ser---gly---lys---val---met---his---leu---ser---pro

2. Estrutura Secundária: está relacionada com a disposição da sequência de aminoácidos no espaço, normalmente em forma de hélice (em espiral) mantidas por pontes de hidrogênio que se formam entre os aminoácidos.

3. Estrutura Terciária: é o enovelamento espacial da forma secundária fazendo com que ela adquira uma forma globular (as hélices da estrutura secundária se dobram em torno de si mesmas). Essa estrutura é mantida por

pontes de hidrogênio e de dissulfeto. Confere a forma à proteína e está diretamente relacionada à sua função.

4. Estrutura Quaternária: esta estrutura mostra a união de duas ou mais cadeias polipeptídicas com estruturas terciárias, para formar um complexo protéico.

Propriedades

1. Especificidade: cada proteína realiza uma determinada função graças a sua estrutura primária e conformação espacial.

2. Desnaturação: alterações de temperatura e de pH alteram a forma das proteínas alterando também sua atividade; a proteína torna-se inativa. Esse processo de alteração da forma da proteína é denominado desnaturação.

Classificação

1. Proteínas simples: constituída apenas por aminoácidos, são também denominadas de homoproteínas.

2. Proteínas conjugadas ou heteroproteínas: formadas por uma parte proteica chamada apoenzima associada a outras substâncias de natureza não proteicas denominadas grupo prostético ou cofator. Se o cofator é uma substância orgânica - coenzima.

Funções

1. Estrutural: participa da estrutura do tecido. Ex: queratina, colágeno.

2. Nutritiva: vitelo do ovo (nutrição do embrião).

3. Imunológica: globulinas - anticorpos formados para combater o antígeno.

4. Hormonal: muitos hormônios são proteínas. Insulina.

5. Contrátil: actina e miosina, presentes nos músculos - mecanismo da contração muscular.

6. Transportadora: hemoglobina – transporta o oxigênio dos pulmões para os tecidos.

7. Coagulante: fibrinogênio – coagulação sanguínea.

8. Equilíbrio osmótico do sangue: - Albumina: proteína mais abundante do sangue, importância na regulação osmótica e viscosidade do plasma.

9. Enzimática: ação catalisadora de reações química. Amilase: atua sobre o amido, clivando-o.

PROTEÍNAS PLAMÁTICAS

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções:

- manutenção da pressão osmótica;
- viscosidade do sangue;
- regulação do pH sanguíneo;
- transporte de nutrientes, hormônios e produtos do metabolismo que deverão ser excretados;
- participação na coagulação sanguínea.

A concentração das proteínas plasmáticas pode estar aumentada na desidratação, por hemoconcentração.

Encontra-se diminuída em doenças hepáticas, distúrbios intestinais, renais ou alimentação pobre em proteínas.

Albumina

A albumina é uma das principais frações proteicas do plasma; é a mais abundante. É sintetizada no fígado e tem grande papel na manutenção da osmolaridade plasmática, reserva proteica, transportadora de lipídios, aminoácidos, metais, hormônios, bilirrubina e outras substâncias, e na regulação do pH sanguíneo.

A causa mais frequente de aumento de albumina plasmática (hiperalbuminemia) é a hemoconcentração causada por desidratação: vômitos, diarreia, Diabetes Insipidus.

A concentração da albumina plasmática pode diminuir (hypoalbuminemia) em várias situações:

- lesão hepática: os níveis séricos de albumina podem estar diminuídos em casos de falha hepática;
- diminuição da ingestão de proteínas;
- doenças parasitárias devido à perda de proteínas pelo intestino e ação expoliativa;

- doença renal com a perda de albumina pela urina (albuminúria ou proteinúria);
- catabolismo aumentado devido a um déficit energético;

Globulinas

A concentração de globulinas é obtida pelo cálculo entre a diferença da concentração das proteínas totais e da albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos: alfa, beta e gama globulinas, identificadas mediante eletroforese. Elas desempenham papéis importantes no transporte de várias substâncias bem como na imunidade (fração gama).

As globulinas são indicadores limitados do metabolismo proteico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios.

Altos níveis de globulinas estão associados a doenças infecciosas ou a vacinações recentes. Níveis diminuídos podem ser encontrados em perdas proteicas por doenças intestinais, hipogamaglobulinemias.

As concentrações de albumina e globulinas são inversamente proporcionais; assim, um aumento nas globulinas leva à redução da síntese de albumina pelo fígado como um mecanismo compensatório para manter constante o nível proteico total e assim, a pressão osmótica sanguínea. Ex: Numa disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta.

Fibrinogênio

O fibrinogênio (Fator I) é uma proteína sintetizada no fígado e tem importante papel na etapa final da coagulação sanguínea, sendo transformado em fibrina, sob a ação da trombina.

Além de seu papel na coagulação, desempenha também um importante papel na resposta inflamatória de fase aguda. Pode estar elevado em processos inflamatórios e infecciosos agudos, neoplasias, pós-operatório, uso de contraceptivos orais, estrógenos e andrógenos, gravidez.

Pode estar reduzido devido à diminuição de sua síntese hepática como nas doenças hepáticas, ou por aumento de consumo como na coagulação intravascular disseminada, fibrinólise.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Dosagens séricas na prática dosam-se as proteínas totais e a albumina; as globulinas são obtidas pela diferença entre as proteínas totais e a albumina. No soro não se dosa o fibrinogênio, pois o mesmo foi consumido durante o processo de coagulação sanguínea.

Para a dosagem de fibrinogênio utiliza-se o plasma citratado que deve ser separado imediatamente após a coleta e congelado.

PROTEÍNAS TOTAIS = ALBUMINA + GLOBULINA

Valores de referência:

Proteínas Totais: 6,0 a 8,5 g/dl Albumina: 3,5 a 5,5 g/dl
Globulinas: 1,5 a 3,0 g/dl

Eletroforese de proteínas: as proteínas são formadas por sequências de aminoácidos unidos através de ligações peptídicas. Os aminoácidos podem ser: ácidos, básicos, ou neutros.

Num meio alcalino (pouco H^+) os grupos "R" dos aminoácidos ácidos ($-COOH \rightarrow -COO^-$) estão dissociados e a proteína apresenta carga líquida negativa.

Em meio ácido (muito H^+) os grupos "R" dos aminoácidos básicos ($-NH_2 \rightarrow -NH_3^+$) tornam a proteína com carga líquida positiva. Uma proteína que se encontre carregada, positiva ou negativamente, tenderá a migrar para o polo oposto ao da sua carga, quando submetida a um campo elétrico. A velocidade de migração dependerá da quantidade de carga desta proteína, do seu peso molecular e de outros fatores.

A eletroforese de proteínas (EFP) no soro é uma técnica utilizada para separar as proteínas do soro. Em condições normais, são separadas cinco bandas do soro: albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gamaglobulinas. Como a amostra utilizada é o soro, a determinação do fibrinogênio não é realizada.

Proteinúria de 24 horas

Proteinúria é definida como a presença de proteínas do plasma (albumina ou globulinas) na urina. A dosagem de proteínas na urina é um exame rotineiro quando se suspeita de doença renal podendo também ser encontrada em processos não patológicos.

Normalmente as proteínas são retidas durante a filtração glomerular, suas concentrações urinárias encontram-se muito baixas. A presença de proteínas na urina pode ser devido a causas renais e não renais (pré e pós-renais). Exemplos: proteinúria ortostática (proteinúria benigna – causa pré-renal), proteinúria de Bence Jones (aparece no mieloma múltiplo devido ao aumento da filtração de proteínas de baixo peso molecular ultrapassando a capacidade de reabsorção dos túbulos renais), pielonefrite crônica (lesão tubular).

O exame de urina só detecta a proteinúria quando ela é superior a 150 mg/24 horas.

A quantificação correta da proteinúria é feita na urina de 24 horas. A proteinúria de 24 horas serve para avaliar a evolução e a gravidade da doença.

Os métodos utilizados para a dosagem da proteinúria são os semiquantitativos como a tira reativa de urina e os específicos para pesquisa em amostras de 24 horas. Os primeiros são usados em nível de triagem. Os métodos empregados mais frequentemente para quantificação (turbidimetria e colorimétrico) são muito mais precisos. Deve-se orientar corretamente o paciente quanto à coleta da urina de 24 horas a fim de evitar resultados errôneos.

COMPOSTOS NITROGENADOS NÃO PROTEICOS

Os rins desempenham importante papel na eliminação da maioria dos compostos nitrogenados não proteicos do organismo. A dosagem destas substâncias na rotina laboratorial tem grande utilidade no estudo da função renal do paciente. O catabolismo de proteínas e ácidos nucleicos resulta na formação dos chamados compostos nitrogenados não proteicos abaixo citados:

Metabólito	Origem	Importância
Amônia	Aminoácidos	Doenças hepáticas e renais
Ureia	Amônia	Doenças hepáticas e renais
Creatinina	Creatina	Doenças renais e musculares
Ácido úrico	Bases púricas	Distúrbios reumáticos – gota

URÉIA

Os aminoácidos provenientes do catabolismo proteico perdem o grupamento amino (-NH₂) com a produção de amônia. Este composto é muito tóxico e deve ser eliminado; para que isso possa ocorrer, a amônia é convertida em ureia (NH₂-CO-NH₂) no fígado, associada ao CO₂.

Após sua síntese hepática, a ureia é transportada pelo plasma até os rins sendo filtrada pelos glomérulos e excretada na urina. Nem toda a ureia filtrada é excretada, cerca de 50-60% é reabsorvida pelos túbulos.

O nível de ureia no plasma é influenciado pela função renal, ingestão proteica, catabolismo proteico e estado de hidratação do paciente por isso, não é considerado um bom indicador de função renal, serve como um índice preditivo da insuficiência renal.

Sua elevação é mais precoce que a da creatinina e não sofre com a variação da massa muscular. Sua avaliação em conjunto com a creatinina é útil no diagnóstico de lesão renal.

Os aumentos dos níveis séricos da ureia (hiperuremia) podem ser classificados em:

- Uremia pré-renal: a hiperuremia ocorre devido ao aumento da produção de ureia ou diminuição do fluxo sanguíneo. Como exemplo podemos citar: catabolismo proteico aumentado, desidratação, ingestão excessiva de proteínas, insuficiência cardíaca.

- Uremia renal: ocorre devido à doença renal. Exemplo: Glomerulonefrite

- Uremia pós-renal: ocorre frequentemente devido a uma obstrução ao fluxo renal. Exemplo: Cálculo renal.

Os níveis séricos diminuídos são menos frequentes e ocorrem principalmente devido a uma diminuição da ingestão de proteínas, reposição excessiva de líquidos, durante a gestação e nas doenças hepáticas graves.

Para fins de avaliação do estado de funcionamento renal é muito comum o médico solicitar a dosagem de ureia e de creatinina. A elevação da creatinina no sangue é mais tardia do que da ureia, porém é mais específica para lesões renais.

Valor de Referência: 15 a 40 mg/dl

CREATININA

A creatinina é produzida como resultado da desidratação (perda de água) da creatina muscular. A creatina é sintetizada no fígado, rins e pâncreas e é transportada para as células musculares e cérebro onde atua como reservatório de energia.

A creatinina formada não é reutilizada, deve ser eliminada; ela se difunde do músculo para o plasma de onde é quase inteiramente depurada em velocidade relativamente constante por filtração glomerular.

A quantidade de creatinina excretada diariamente depende da massa muscular; não é afetada pela dieta. A mulher excreta menos creatinina do que o homem devido a menor massa muscular.

Como a velocidade de excreção da creatinina é relativamente constante e a sua produção não é influenciada pelo metabolismo proteico ou outros fatores externos, a concentração da creatinina sérica é um bom indicador de função renal. Concentrações aumentadas de creatinina sérica são mais específicas de lesão renal do que concentrações aumentadas da ureia sérica.

É depurada do plasma por filtração glomerular e eliminada na urina sem sofrer significativa reabsorção pelos túbulos; a presença de níveis aumentados

de creatinina no sangue indica diminuição do índice de filtração glomerular. Por isso, a creatinina constitui indicador muito específico da função renal.

Produção varia com sexo e idade - (massa muscular)

Homens: 0,6 - 1,5 mg/dL

Mulheres: 0,5 - 1,2 mg/dL

A concentração sérica da ureia eleva-se mais precocemente que a da creatinina, porém o nível sérico da creatinina se mantém elevado por mais tempo.

DEPURAÇÃO DA CREATININA OU CLEARENCE

A função renal pode ser avaliada pelo clearance (depuração) renal de uma determinada substância. Entende-se por clearance o volume de plasma a partir do qual uma determinada substância pode ser totalmente depurada (eliminada) em uma determinada unidade de tempo. Esse processo depende da concentração sérica da substância, da taxa de filtração glomerular e do fluxo plasmático renal (FRP).

É calculado a partir dos valores séricos e urinários da substância e do volume urinário em 24 horas, sendo corrigido em relação à superfície corporal.

Mede a rapidez com que os rins são capazes de remover uma substância filtrável do sangue.

Procedimento:

- Coletar a urina (12 ou 24 horas). Anotar corretamente o volume.
- Dosar a creatinina no soro e na urina.

Cálculos:

1) determinar o volume urinário médio por minuto

$$VM = \frac{\text{volume de urina em mL (colhido no tempo determinado)}}{\text{Tempo em minutos}}$$

2) depuração

$$C = \frac{U \times VM \text{ (ml/min)}}{S}$$

C = clearance

U = concentração de creatinina na urina

S = creatinina sérica (mg/dL)

3) depuração corrigida

$$C_c = C \times \frac{1,73}{A}$$

C_c= Clearance corrigido

A= superfície corporal do paciente

Valores de referência:

-Homens: 07 a 137 ml/min.1,73m²

- Mulheres: 88 a 128 ml/min.1,73 m²

A taxa de filtração glomerular é maior nos homens do que nas mulheres, já que eles possuem uma massa corporal maior. Durante a gravidez, a taxa de filtração aumenta em torno de 50%, retornando ao normal após o parto.

ÁCIDO ÚRICO

O ácido úrico é formado com a partir da metabolização das bases púricas adenina e guanina, durante a formação e degradação dos ácidos nucléicos (RNA e DNA), bem como a partir da metabolização das purinas provenientes da dieta.

Após ser sintetizado pelo fígado, parte do ácido úrico é excretada na urina. O teor de ácido úrico encontrado no plasma representa o equilíbrio entre sua produção hepática e sua excreção urinária.

Os níveis séricos do ácido úrico dependem da dieta, da produção endógena e dos mecanismos de reabsorção e de excreção. Níveis elevadas podem levar ao seu acúmulo, sob a forma de urato, nas articulações e nos tecidos moles causando a gota.

Diversos fatores, além da dieta, podem alterar os seus valores séricos levando a um desequilíbrio entre a sua absorção e excreção. Como exemplo podemos citar: predisposição genética, sexo, idade, medicamentos, alcoolismo e associação com outras patologias como diabetes mellitus e distúrbios lipídicos.

HIPERURICEMIA: é definida por concentrações séricas de ácido úrico acima de 6 mg/dL e 7 mg/dL para mulheres e homens, respectivamente. O acúmulo de ácido úrico pode ser devido ao aumento de sua síntese ou por defeitos em sua eliminação. É frequentemente assintomática e poucos pacientes desenvolverão gota no futuro.

GOTA: É uma desordem clínica caracterizada por hiperuricemia, precipitação de cristais de urato em tecidos moles e articulações, ataques recorrentes de artrite inflamatória aguda, cálculos renais de ácido úrico.

HIPOURICEMIA: é definida como concentrações séricas de ácido úrico < 2 mg/dL. É de pouca importância clínica. Pode ser encontrada em casos de diminuição da síntese de ácido úrico (doença hepatocelular); aumento na excreção renal devido dificuldades de reabsorção e redução na atividade da enzima xantina oxidase que ocorre devido a distúrbios genéticos ou inibição por medicamentos como o alopurinol.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Paciente: para a dosagem de ácido úrico e ureia séricos, é necessário jejum de 8 horas. Para a dosagem de creatinina, o jejum não é obrigatório.

Amostra: pode ser usado soro, plasma ou urina de 24 horas.

- A urina de 24 horas para dosagem de ácido úrico deve ser coletada em frasco contendo bicarbonato de sódio para evitar a perda de ácido úrico por precipitação: bicarbonato de sódio 5g/L de urina.

- Nos casos de clearance, deve ser coletado o sangue para a dosagem sérica de creatinina e a urina de 24 horas. Não se esquecer de anotar o peso e a altura do paciente para a determinação da superfície corporal.

- A urina para clearance deve ser refrigerada desde o início da coleta ou deve-se usar HCl 50% mL/L.

URINÁLISE II

Os rins desempenham importante papel na excreção de várias substâncias assim como na manutenção da pressão osmótica do plasma tendo como produto final a formação da urina que é constituída por água, compostos inorgânicos (sódio, potássio, fosfatos, amônia e outros) e orgânicos (ureia, ácido úrico, creatinina) provenientes da alimentação e do metabolismo orgânico.

O volume urinário médio diário de um adulto, em condições normais, varia de 1.200 a 1500 mL. As alterações no volume urinário médio diário podem ser definidas como:

- poliúria é o aumento do volume urinário médio diário, geralmente acima de 2500 mL.
- oligúria: redução do volume urinário abaixo de 500 mL.
- anúria: redução do volume urinário; geralmente abaixo de 100 mL ou sua completa supressão.

O exame de urina rotina ou EAS (Elementos Anormais e Sedimentoscopia) ou urinálise é um exame não invasivo de grande importância no diagnóstico de doenças renais e não renais (pré e pós-renais).

COLETA DA AMOSTRA

A coleta deve ser realizada em frascos descartáveis apropriados, devidamente identificados. No caso de crianças, utilizam-se sacos coletores que devem ser trocados a cada meia hora de uso. Deve-se coletar, preferencialmente, o jato médio da primeira urina da manhã após higienização da região genital com água e sabão; deve-se desprezar a primeira porção da urina coletando-se o jato médio no frasco, desprezando-se o restante. Deve-se coletar, em média, 40 a 50 mL de urina.

O ideal é que a amostra seja coletada no laboratório; caso a coleta seja realizada em casa, manter o frasco sob refrigeração e levá-lo o mais rápido possível para o laboratório. O exame de urina rotina deve ser realizado o mais rapidamente possível (duas horas no máximo). Caso seja impossível de realizar rapidamente o exame, a refrigeração é recomendada.

A urinálise é composta de três exames:

EXAME FÍSICO DA URINA

- **COR:** a cor de uma urina normal é amarela devido à presença de pigmentos provenientes do metabolismo orgânico normal. A cor da urina vai depender da alimentação, uso de medicamentos, grau de hidratação e metabolismo orgânico.

Como relatar o resultado: amarelo claro, amarelo escuro, amarelo, âmbar, vermelha, marrom ou preta, verde ou azul.

- **ASPECTO:** a urina recém-eliminada é límpida; a presença de turvação pode ser causada pela precipitação de cristais, muco, bactérias, piócitos e outros elementos.

Como relatar o resultado: urina transparente, opaca ou turva.

- **ODOR:** o odor da urina é “sui generis” (característico) devido à presença de ácidos voláteis. Podem-se encontrar odores de frutas (presença de corpos cetônicos) ou fétidos (urina velha).

Como relatar o resultado: “sui generis”.

- **DENSIDADE:** consiste na medida dos solutos dissolvidos na urina. Depende da integridade renal e do grau de hidratação do paciente.

A densidade normal é de 1,010 a 1,030.

Como relatar o resultado: relatar o número mostrado na escala de densidade, na faixa de 1,000 a 1,050.

EXAME QUÍMICO DA URINA

Corresponde à pesquisa na urina de substâncias que, em condições normais, não são excretadas ou são encontradas em concentrações muito baixas consideradas normais. Para a realização deste exame utilizam-se tiras reativas apropriadas podendo-se detectar alguns distúrbios metabólicos, processos infecciosos, hemolíticos e outros.

A urina deve ser homogeneizada e, em seguida deve-se introduzir a tira reativa na urina por aproximadamente um segundo. A leitura é feita visualmente, por comparação com um padrão presente no frasco da tira reativa. Faz-se a pesquisa de:

• **pH:** reflete o equilíbrio ácido-base do organismo. A primeira urina da manhã é ácida com pH entre 5,0 e 6,0; em amostras coletadas a qualquer hora do dia, o pH pode variar de 4,5 a 8,0.

Como relatar o resultado: registrar o valor de pH encontrado.

• **PROTEÍNAS:** a urina normal contém pequena quantidade de proteínas normalmente não detectada pela tira reativa. A albumina, por apresentar baixo peso molecular, pode estar presente na urina com maior frequência que as globulinas. A presença de proteína na urina é denominada de proteinúria. Como já foi estudado anteriormente, podem aparecer na urina em causas pré-renais, renais e pós-renais.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa correspondente à pesquisa de proteínas.

Negativo	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **GLICOSE:** a presença de glicose na urina é denominada glicosúria; é encontrada na urina quando sua concentração sérica ultrapassa o limiar renal de 170-180 mg/dL. A glicosúria pode ser causada tanto pelo diabetes mellitus quanto por outras patologias, como doenças renais que afetem a reabsorção tubular.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de glicose.

Negativo	Normal	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **CETONAS:** podem ser encontradas no diabetes mellitus, jejum prolongado, inanição, febres, após exercícios intensos. Denomina-se cetonúria a presença de corpos cetônicos (cetonas) na urina.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de corpos cetônicos.

Negativo	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **BILIRRUBINA:** produto final do metabolismo da hemoglobina. Na urina encontramos apenas a bilirrubina direta, quando sua concentração sérica ultrapassa o limiar renal; a bilirrubina indireta não é encontrada.

A bilirrubina, quando presente na urina, altera sua cor para âmbar. A determinação da bilirrubina na urina é importante para detecção da causa da icterícia.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de bilirrubinas.

Negativo	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **UROBILINOGÊNIO:** é um pigmento biliar formado no intestino pela redução da bilirrubina direta por ação das bactérias da flora intestinal; aparece na urina nas anemias hemolíticas e nas doenças hepáticas.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de urobilinogênio.

Negativo	Normal	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **SANGUE:** a urina de um paciente normal não contém sangue (exceto a mulher no período menstrual – recomenda-se a realização do EAS uma semana após o término da menstruação ou a critério médico).

Quando se encontra sangue positivo, este pode ser devido à presença de hemácias íntegras (hematúria – a urina fica vermelha e turva), de hemoglobina (hemoglobinúria – a urina fica vermelha e transparente) ou pela presença de mioglobina (mioglobinúria).

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de sangue.

Negativo	Normal	Positivo (+)	Positivo (++)	Positivo (+++)	Positivo (++++)
----------	--------	--------------	---------------	----------------	-----------------

• **NITRITO:** o nitrito é formado na urina a partir da redução do nitrato pelas bactérias Gram negativas encontradas na urina. O trato urinário é normalmente estéril, um resultado de nitrito positivo indica a presença de infecção nas vias urinárias.

Como relatar o resultado: O resultado é liberado de acordo com a intensidade da cor da área da tira reativa que correspondente à pesquisa de nitrito. Nitrito neg ativo ou nitrito positivo.

SEDIMENTOSCOPIA

Este exame consiste na análise microscópica dos elementos celulares e não celulares presentes no sedimento urinário, como por exemplo, a identificação e quantificação de células epiteliais, piócitos, hemácias, cristais, cilindros, flora bacteriana, muco e outros elementos que podem ser encontrados na urina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SACHER, R. A.; McPHERSON, R. A. *Widmann Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais*. 11ªEd
São Paulo: Manole, 2002.
- Manual de Exames e Serviços: Instituto Hermes Pardini – 2006-2007
- BAPTISTA, J.M. A; SOUSA, M.O. Apostila de Urinálise.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Faculdade de Farmácia UFMG. Setembro de 2005.
- STRASINGER, SK. Uroanálise e fluídos biológicos. Editorial Premier.
São Paulo, 3a Edição, 2000.

BILIRRUBINAS

A bilirrubina é o principal produto do metabolismo do grupo heme da hemoglobina.

A molécula de hemoglobina é formada por um grupamento chamado heme (Fe + protoporfirina) e pela globina (proteína). Quando as hemácias são metabolizadas no baço e no sistema retículo endotelial, elas liberam o grupamento heme e a globina. O ferro e a globulina são reaproveitados pelo organismo, a protoporfirina deve ser eliminada; desta forma ela é reduzida a bilirrubina indireta (forma não conjugada). Essa bilirrubina recém-formada é lipossolúvel e precisa de uma molécula transportadora para poder circular no sangue; ela se liga então à albumina sérica sendo transportada até o fígado.

No fígado, a bilirrubina indireta desliga-se da albumina e sofre ação da enzima glicuronil transferase dando origem à bilirrubina direta (forma conjugada - hidrossolúvel) que é conduzida através dos canalículos biliares para a vesícula biliar, fazendo parte da composição da bile; alcança o intestino onde é metabolizada pelas bactérias da flora intestinal formando o urobilinogênio. Grande parte do urobilinogênio é perdida nas fezes, mas uma pequena parte é absorvida. Uma vez no sangue, a maior parte do urobilinogênio absorvido circula pelo fígado, sendo extraído pelas células hepáticas e excretado na bile retornando ao intestino; uma pequena quantidade alcança os rins sendo excretada na urina (quantidades mínimas, indetectáveis pela tira reativa de urina).

Distúrbios hepáticos podem alterar a capacidade de captação e/ou conjugação-excreção das bilirrubinas levando à alteração dos níveis séricos das mesmas.

Os aumentos séricos da bilirrubina indireta não levam ao aumento da bilirrubina na urina (devido ao seu caráter lipossolúvel), porém, aumentos dos níveis séricos da bilirrubina direta podem culminar na sua presença na urina.

Icterícia: é a pigmentação amarelada da pele, esclera e mucosas; torna-se evidente a partir de 2,5 - 3,0 mg/dl de bilirrubinemia. Pode ser:

-Neonatal: geralmente fisiológica.

- Adquirida
 - Pré-hepática: exemplo – processos hemolíticos
 - Hepática: exemplo - hepatites
 - Pós-hepática: exemplo – cálculo biliar
- Genética
 - Síndrome de Crigler-Nijjar
 - Síndrome de Gilbert
 - Síndrome de Dubin-Johnson

Valores de referência:

Bilirrubina Total: até 1,2 mg/dl Bilirrubina direta: até 0,4 mg/dl
Bilirrubina indireta: até 0,8 mg/dl

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**Bilirrubinas séricas**

Na prática, o médico solicita a dosagem das bilirrubinas totais e frações. Deve-se coletar o sangue do paciente em tubo sem anticoagulante âmbar ou envolvido em papel que impeça a passagem de luz, pois a bilirrubina é fotossensível. O jejum não é obrigatório. Observar sempre a coloração do soro. Icterícia está relacionada com concentrações elevadas das bilirrubinas. Observar se deve utilizar a técnica macro ou micro.

Dosam-se apenas a bilirrubina total e a bilirrubina direta. A bilirrubina indireta é obtida através da subtração entre a total e a direta.

$$\text{Bilirrubina Total} = \text{Bilirrubina Direta} + \text{Bilirrubina Indireta}$$

Bilirrubinas urinárias

Em condições normais não encontramos bilirrubinas na urina; seu aparecimento é patológico e sempre às custas da bilirrubina direta. Como já vimos anteriormente, a bilirrubina indireta não aparece na urina.

Coletar cerca de 30 ml de urina (jato médio) em frasco âmbar; a determinação pode ser quantitativa, por método colorimétrico ou semi-quantitativa, através de tiras reativas.

LIPIDEOS

Os lipídios são substâncias orgânicas de grande importância, pois atuam como hormônios ou precursores hormonais, fonte energética, componentes estruturais das membranas, etc. Os principais lipídios plasmáticos são o colesterol, triglicérides, fosfolipídios e ácidos graxos.

Rotineiramente são solicitadas as seguintes determinações a fim de se avaliar o perfil lipídico do paciente:

- Colesterol total.
- Triglicérides.
- Colesterol-HDL.
- Colesterol-LDL e Colesterol VLDL
- Relação: colesterol total/colesterol-HDL.
- Relação: colesterol-LDL/colesterol HDL.

COLESTEROL

O colesterol é o esteroide mais abundante dos tecidos humanos. Pode ser proveniente da alimentação (origem exógena) ou sintetizado no fígado (origem endógena). Sua síntese endógena é dependente de sua ingestão: quanto maior for a ingestão, menor será a quantidade sintetizada pelo fígado. Seu excesso é prejudicial à saúde, pois se acumula a nível de endotélio vascular podendo levar à aterosclerose.

TRIGLICÉRIDES

Os triglicéridos são lipídios provenientes do metabolismo dos carboidratos. São derivados de duas fontes: alimentação e fígado. Após a refeição, parte dos carboidratos da dieta é convertida em triglicérides e são secretados como lipoproteínas.

A dosagem de triglicérides séricos pode ser realizada para avaliar o perfil lipídico, o risco de pancreatite, aumento dos triglicérides séricos secundário à administração de determinados tipos de medicamentos e para avaliar a eficácia de tratamentos utilizados para reduzir os níveis de triglicérides.

LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

Devido ao fato dos lipídios serem insolúveis em água e, conseqüentemente, insolúveis no sangue, para serem transportados na corrente sanguínea devem se ligar a proteínas específicas formando um composto chamado Lipoproteína.

As lipoproteínas são constituídas por quantidades variáveis de colesterol, triglicérides, fosfolipídios e apoproteínas, sendo solúveis no plasma devido à natureza hidrofílica da parte proteica.

Existem vários tipos de lipoproteínas com composição lipídica e proteica variáveis. Estas podem ser classificadas de diversas maneiras. O modo pelo qual geralmente são classificadas se baseia em sua densidade medida em um densitômetro.

- Quilomícron = É a lipoproteína menos densa, o principal lipídio transportado são os triglicérides provenientes da dieta.
- VLDL = Lipoproteína de Densidade Muito Baixa: transporta triglicérides endógenas (síntese hepática).
- LDL = Lipoproteína de Densidade Baixa: principal lipoproteína transportadora de colesterol; seus níveis aumentados no sangue estão relacionados com o aumento do risco de infarto agudo do miocárdio.
- HDL = Lipoproteína de Densidade Alta: atua retirando o excesso de colesterol da circulação. Seus níveis aumentados no sangue estão associados a uma diminuição do risco de infarto agudo do miocárdio.

COMPOSIÇÃO LIPÍDICA E FUNÇÕES DAS LIPOPROTEÍNAS

Lipoproteína	Componente lipídico principal	Função principal
Quilomícrons	triglicérides	Transportar triglicérides do intestino para o fígado e tecidos
VLDL	Triglicérides	Transportar triglicérides do fígado para os tecidos
LDL	Colesterol	Transportar colesterol do fígado (via IDL - LDL) aos tecidos
HDL	Colesterol	Retira colesterol dos tecidos impedindo seu acúmulo. É rica em proteínas.

VALORES DE REFERÊNCIA

Lipídios (mg/dL)	Desejáveis (mg/dL)	Aumentados (mg/dL)
COLESTEROL TOTAL	< 200	≥ 240
COL HDL	≥ 35	
COL LDL	< 130	≥ 160
TRIGLICERÍDIOS	< 150	≥ 200

DISLIPIDEMIAS

São alterações provenientes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico ocasionando repercussão nos níveis séricos dos mesmos. Pode ser primária – como a hipercolesterolemia familiar (colesterol total maior que 300 mg/dl e colesterol LDL maior que 200 mg/dl) e hipertrigliceridemia familiar (triglicérides maior que 500 mg/dl) e secundária – quando resultante de uma doença de base ou uso de determinados medicamentos, como por exemplo, hipotireoidismo, diabetes mellitus.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A amostra utilizada para a determinação do perfil lipídico é o soro coletado com 12 horas de jejum. Os quilomícrons não são encontrados na amostra em jejum.

Ao dosar os lipídios, verificar sempre o aspecto do soro – soro lipêmico

- triglicérides aumentados.

Quando o médico solicitar a dosagem de colesterol total e frações, deve-se dosar o colesterol total, triglicérides e o colesterol HDL, as demais frações do colesterol são determinadas como mostrado abaixo utilizando a fórmula de Friedewald:

Colesterol LDL

Colesterol LDL = Colesterol total - (colesterol HDL + Colesterol VLDL)

- Esta fórmula deve ser utilizada para valores de triglicérides inferiores a 400 mg/dL. Para valores acima de 400 mg /dl, não se determinam as frações LDL e VLDL por este método.

Colesterol VLDL = $\frac{\text{triglicérides}}{5}$

5

Índice de risco coronariano I = $\frac{\text{Colesterol total (mg/ dL)}}{\text{Colesterol HDL (mg/ dL)}}$

Índice de risco coronariano II = $\frac{\text{Colesterol LDL (mg/ dL)}}{\text{Colesterol HDL (mg / dL)}}$

MÉTODOS DE VISUALIZAÇÃO DAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS

- COLORIMÉTRICOS:

- As reações são lidas na região do visível (400 a 700 nm) do espectrofotômetro.
- Há formação de um produto corado.

- REAÇÕES NO ULTRAVIOLETA (U.V.):

- As reações se processam na região do ultravioleta (~340 nm)
- Há participação das coenzimas NADH e NADPH
- Não há formação de produto corado.

COMO MONITORAR AS REAÇÕES:

- **REAÇÃO DE PONTO FINAL:** baseia-se apenas nos pontos inicial e final da reação. Não considera o que ocorre durante a reação. É menos precisa. Ex. Métodos colorimétricos.

- **REAÇÃO DE MÚLTIPLOS PONTOS (REAÇÃO CINÉTICA):** a reação é lida em vários pontos. É muito mais precisa e sensível. Ex: Métodos em U.V.

FATORES QUE AFETAM A VELOCIDADE DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS:

- **CONCENTRAÇÃO DO SUBSTRATO:** O substrato deve ser saturante (grande quantidade) em relação à quantidade de enzima de modo que a velocidade da reação seja proporcional à enzima presente na amostra.

- **TEMPERATURA:** o controle da temperatura durante a reação é essencial. Pequenas variações podem gerar erros no resultado final. Cada reação tem uma temperatura ideal – temperatura ótima; há uma tendência a padronização das reações a 37°C.

- **pH:** As enzimas são muito sensíveis às variações pH. Cada reação tem um pH ótimo para ocorrer.

ENZIMAS

São proteínas que possuem ação catalítica, ou seja, aumentam a velocidade das reações através da diminuição da energia de ativação, sem serem alteradas ou consumidas durante o processo; atuam em condições de pH e temperatura fisiológicos (ideais) e são muito específicas para os seus substratos.

Uma reação enzimática pode ser expressa pela seguinte equação:



ENZIMAS DE INTERESSE CLÍNICO

O estudo das enzimas tem grande importância clínica. Todas as enzimas presentes no corpo humano são sintetizadas intracelularmente, porém atuam em locais diferentes:

Enzimas plasmáticas: têm ação no plasma. Ex: enzimas da coagulação sanguínea.

Enzimas secretadas. São enzimas que atuam em locais extracelulares. Ex: amilase pancreática: sintetizada no pâncreas e secretada no intestino.

Enzimas celulares: são enzimas intracelulares cujas concentrações plasmáticas são baixas. Seus níveis aumentam quando são liberadas pelos tecidos lesados. Como muitas enzimas são encontradas em apenas determinados tecidos, pode-se ter uma ideia do local atingido.

Estudaremos agora as principais enzimas de interesse clínico, localização e importância.

MARCADORES ENZIMÁTICOS HEPÁTICOS

- Enzimas indicadoras de lise hepatocelular:

Fase aguda: ALT

Fase crônica: AST

- Enzimas indicadoras de colestase:

GGT e fosfatase alcalina

- Transaminase Oxaloacética (TGO/AST)

A aspartato aminotransferase - AST, antigamente denominada transaminase oxaloacética (TGO), pode ser encontrada no coração, fígado, músculo esquelético e hemácias. Podem ser encontrados no citoplasma e nas mitocôndrias, por isso, seus valores elevados podem estar relacionados com uma lesão celular mais profunda (lesão de célula e organela). Encontram-se aumentadas no infarto agudo do miocárdio, hepatites alcoólicas, metástases hepáticas.

- Transaminase Pirúvica (TGP/ALT)

A alanina aminotransferase - ALT, antigamente denominada transaminase pirúvica (TGP) é encontrada em maior quantidade no fígado, em quantidades menores nos rins, no coração e na musculatura esquelética.

É uma enzima citoplasmática; é um marcador bastante sensível da função hepática, porém é menos sensível que a AST nas hepatopatias alcoólicas, cirrose e obstruções extra-hepáticas.

Encontram-se aumentada nas hepatites virais, mononucleose, citomegalovirose e hepatites medicamentosas.

- Fosfatas Alcalina

É uma enzima que pode ser encontrada nos ossos, placenta, trato intestinal e fígado.

Na prática clínica, é muito utilizada na investigação de doenças hepatobiliares e ósseas. Encontra-se também alterada em processos fisiológicos como gravidez e adolescência.

- Gama Glutamil Tansferase

A gama glutamil transferase (GGT) está presente no fígado, pâncreas, intestino e rins.

Valores elevados são encontrados nos quadros de colestase (obstrução hepato-biliar) e outras patologias hepáticas e biliares. Pode estar alterada em alcoólatras, na obesidade e no uso de medicamentos como analgésicos, anticonvulsivantes, e contraceptivos orais.

MARCADORES ENZIMÁTICOS CARDÍACOS

A elevação das enzimas cardíacas no sangue está relacionada à lesão ou morte das células cardíacas.

-CK total

-CK MB

-TGO

-LDH

- CK Total

A creatinoquinase (CK), também chamada de creatina-fosfoquinase (CPK), é uma enzima com grande distribuição tecidual. Pode ser encontrada na musculatura estriada, cardíaca e no cérebro.

A CK-Total é formada por três isoenzimas citoplasmáticas que podem ser fracionadas por eletroforese: CK-BB (CK-1) encontrada no cérebro; a CK-MB (CK-2) encontrada no miocárdio (~20%) e no músculo esquelético (~1%) e a CK-MM (CK-3) encontrada no músculo esquelético (~99%) e cardíaco (~76%).

A CK total aumenta nas primeiras 4 a 6 horas após o início do quadro de infarto agudo do miocárdio (IAM), atinge um pico entre 18 a 24 horas e permanece alterada por 48 a 72 horas.

- CK-MB

A CK-MB é uma das isoenzimas da CK total; tem grande importância no diagnóstico precoce do infarto agudo do miocárdio.

Normalmente, a CK-MB representa em torno de 5 a 6% da CK total. Percentuais acima desses valores (e inferiores a 20%) são indicativos de origem miocárdica. Valores abaixo de 5% podem estar relacionados com distúrbios da musculatura esquelética (a CKMB também pode ser encontrada na musculatura esquelética) e valores acima de 20% podem estar associados à macroCK.

- Desidrogenase Láctica

É uma enzima intracelular que pode ser encontrada em praticamente

todas as células do organismo. Devido a esta baixa especificidade, utiliza-se mais na prática a determinação de suas isoenzimas.

Os níveis séricos elevados são encontrados em diferentes casos como anemia megaloblástica e hemolítica, leucemias, hemoglobinopatias, infarto agudo do miocárdio, etc.;

MARCADORES ENZIMÁTICOS PANCREÁTICOS

-Amilase

-Lipase

- Amilase

A importância clínica da determinação da amilase no soro e na urina está no auxílio ao diagnóstico de doenças pancreáticas.

A inflamação do pâncreas leva a liberação de amilase e outras enzimas pancreáticas na circulação. Nas pancreatites agudas o nível sérico da amilase se eleva 6 a 24 horas após o início do quadro retornando ao normal em média 5 dias. Como a amilase é uma enzima de baixo peso molecular, pode ser encontrada na urina quando há um aumento do seu nível sérico.

A amilase não é uma enzima específica de lesões pancreáticas, pois pode ser encontrada em níveis elevados nas lesões das glândulas salivares (caxumba) e outras lesões não pancreáticas; porém, seu aumento é quase sempre de origem pancreática, sendo muito solicitada em pacientes com dor abdominal com suspeita de pancreatite. Os abscessos pancreáticos também podem elevar os níveis séricos da amilase. As pancreatites crônicas cursam com níveis normais ou ligeiramente aumentados de amilase.

- Lipase

Sua determinação é muito importante no diagnóstico das doenças pancreáticas. Normalmente seus níveis elevam-se um pouco mais tarde que os da amilase, porém mantêm-se elevados por um período mais longo, pois não é eliminada pela urina. A lipase é um marcador mais específico de doença pancreática aguda do que a amilase.

GASOMETRIA

A gasometria é um exame que tem a finalidade de possibilitar a detecção de distúrbios de ordem metabólica ou respiratória através da avaliação do pH e das pressões parciais de O₂ e CO₂ em uma amostra de sangue. A amostra utilizada pode ser sangue arterial ou venoso. Geralmente, quando se está interessado em uma avaliação da função pulmonar (nível de oxigenação dos tecidos, trocas gasosas) utiliza-se o sangue arterial; se o objetivo for avaliar a parte metabólica, realiza-se uma gasometria venosa.

Os valores normais do sangue arterial são mostrados no quadro abaixo:

Parâmetro	Sangue arterial
pH	7.35 a 7.45
PaCO ₂	35 a 45 mmHg
PaO ₂	83 a 108 mmHg
HCO ₃	21 a 28 mmol/L
CO ₂ TOTAL	24 a 31 mmol/L
BE	-3,0 a 3,0 mmol/L
SO ₂	95 a 99%

COMO É COLETADA A AMOSTRA

A amostra deve ser coletada usando como anticoagulante a heparina. A técnica consiste em aspirar cerca de 1 mL de heparina sódica (1.000 U/mL) e fazer ambiente na seringa, logo após, desprezar todo o conteúdo.

O volume médio da amostra deve ser de aproximadamente 2 mL. É importante que se tenha este cuidado porque a heparina é ácida e, quando em excesso, pode alterar o pH do sangue. Volumes grandes de sangue podem ultrapassar a capacidade anticoagulante da heparina levando à coagulação do mesmo.

As amostras de sangue devem estar sem bolhas de ar e ser transportadas em gelo.

O exame é realizado por meio da coleta de uma amostra de sangue de uma artéria radial (punho), femoral (virilha) ou braquial (braço). Após a extração do sangue deve-se exercer pressão sobre o local da punção por pelo menos cinco minutos a fim de deter o sangramento.

Neste capítulo abordaremos apenas os distúrbios relacionados ao equilíbrio ácido-básico do sangue. Não serão abordados os distúrbios relacionados às trocas gasosas.

REGULAÇÃO DOS ÁCIDOS E BASES DO ORGANISMO

Em nosso organismo estão ocorrendo, continuamente, várias reações metabólicas que resultam na produção de substâncias ácidas e básicas, porém, o pH sanguíneo não pode variar, a não ser em limites bem estreitos. Variações maiores do pH seriam incompatíveis com a vida

A manutenção do pH dos líquidos orgânicos depende do equilíbrio entre a quantidade de ácidos e bases produzidos. Essa regulação depende da ação conjunta dos sistemas tampões, dos pulmões e dos rins. O mau funcionamento de qualquer um desses sistemas de regulação pode produzir ou agravar as alterações do equilíbrio ácido-base do organismo.

SISTEMA TAMPÃO

Sistema químico formado por um ácido fraco e seu sal (formado com uma base forte) que tem a finalidade neutralizar o excesso de ácidos ou bases formados.

No nosso organismo podemos encontrar os seguintes sistemas tampões: bicarbonato/ácido carbônico (o principal), hemoglobina/oxiemoglobina, proteínas, fosfato.

É um sistema de ação imediata; quando há um aumento na produção de ácidos, o bicarbonato do sistema tampão bicarbonato/ácido carbônico reage com ele neutralizando o excesso de ácidos. Quando há um excesso de base, o ácido carbônico reage com ela neutralizando o excesso de base.

COMPONENTE PULMONAR

Os pulmões têm grande papel na regulação do pH sanguíneo. Atuam através do aumento da retenção de CO₂ sérico formado durante o metabolismo celular ou do aumento da sua eliminação.

↑ CO₂ sérico • ↑ H₂CO₃ sérico • ↓ pH • Acidose

Os pulmões tentam compensar esta acidez através do aumento da eliminação do CO₂.

↓ CO₂ sérico • ↓ H₂CO₃ sérica • ↑ pH • Alcalose

Os pulmões tentam compensar este aumento do pH através do aumento da retenção do CO₂.

COMPONENTE RENAL

Consiste na eliminação dos íons H⁺ (ácido) e retenção do bicarbonato (bases) em casos de acidose ou, quando necessário, eliminação de íons bicarbonato e retenção de íons H⁺ em casos de alcalose.

pH ácido • ↑ eliminação de íons H⁺ (ácido) e retém HCO₃ (base)

pH alcalino • ↑ eliminação de íons HCO₃ (base) e retém H⁺ (ácido).

CLASSIFICAÇÃO DOS DESVIOS DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE

Os distúrbios do equilíbrio ácido-básico podem ser:

Alcalose: quando o pH encontra-se acima de 7,45. Neste caso temos um aumento de bases no sangue. Pode ser de origem respiratória que ocorre devido a uma redução dos níveis de CO₂ no sangue ou metabólica quando há excesso de bicarbonato (bases) no sangue.

Acidose: quando o pH encontra-se abaixo de 7,35. Neste caso temos um excesso de ácido. Pode ser de origem respiratória que ocorre devido a um aumento do CO₂ sanguíneo ou metabólica quando há um déficit de bases.

PARÂMETROS DA GASOMETRIA

- pH : deve estar entre 7,35 e 7,45.
- PCO₂: pressão parcial de CO₂ dissolvido no sangue.
- Excesso de Base: ou B.E. - estima a quantidade necessária de base para a restauração do pH normal.
- Bicarbonato Atual: corresponde à concentração de bicarbonato;
- PO₂: mede a pressão parcial de oxigênio.

PADRONIZAÇÃO:

PaO₂ - Pressão parcial do oxigênio no sangue arterial.

PvO₂ - Pressão parcial do oxigênio no sangue venoso.

PaCO₂ - Pressão parcial do dióxido de carbono no sangue arterial.

PvCO₂ - Pressão parcial do dióxido de carbono no sangue venoso.

SaO₂ - Saturação de oxigênio da hemoglobina no sangue arterial.

SvO₂ - Saturação de oxigênio da hemoglobina no sangue venoso.

PAO₂ - Pressão parcial de oxigênio no ar alveolar.

INTERPRETAÇÃO DO EXAME

A interpretação da gasometria arterial pode ser feita através das seguintes etapas:

- Verificação do pH: acidose ou alcalose
- Verificação da PCO₂: componente respiratório
- Verificação das bases (bicarbonato): componente metabólico
- Verificação da diferença de bases (excesso ou déficit). BE ou BD

IONOGRAMA – DOSAGEM DE ÍONS

Os íons podem ser dosados por fotometria de chama, eletrodo íon-seletivo (ISE), colorimetria ou titulometria.

A fotometria de chama é um método espectro químico que se baseia na medida da intensidade da radiação emitida pelo átomo em estudo quando sua solução é nebulizada em uma chama. Ainda é muito utilizada para a dosagem de íons como o sódio e o potássio.

Os íons participam de numerosos processos bioquímicos e metabólicos essenciais para o bom funcionamento orgânico.

Principais íons orgânicos:

- Sódio – Na⁺;
- Potássio – K⁺;
- Cloreto – Cl⁻;
- Cálcio – Ca²⁺;
- Fósforo – P;
- Magnésio – Mg²⁺;

Sódio

Principal íon extracelular. Desempenha um papel importante na distribuição normal da água.

Hiponatremia: Na < 135 mEq/L. Causas: diminuição da ingestão de Na; vômitos prolongados, diarreia persistente, enteropatias perdedoras de sal; perda renal por uso de diuréticos;

Hipernatremia: Na > 145 mEq/L. Causas: raramente encontrada; ingestão insuficiente de água pela ausência da sensação de sede; administração inadequada de solutos hipertônicos;

Potássio

É o principal íon intracelular. Sua presença é necessária para que as funções enzimáticas e metabólicas ocorram normalmente, é importante na condutibilidade da membrana.

Hipopotassemia: < 3,5 mEq/L. Causas: as causas mais comuns são as perdas gastrointestinais e urinárias muitas vezes associadas à reposição inadequada; perdas por vômitos, diarreia, fístulas;

Hiperpotassemia: > 5,5 mEq/L. Causas: administração exagerada; insuficiência Renal Aguda; insuficiência Renal Crônica;

Cloretos

É o principal íon extracelular. Desempenha papel importante na manutenção da neutralidade elétrica atuando juntamente com o sódio como um sal (cloreto de sódio), acompanhando assim as perdas ou excessos de sódio;

Hipocloremia: < 97 mEq/L. Causas: excesso hídrico, vômitos, queimaduras.

Hiperclorémia: > 106 mEq/L. Causas: desidratação, disfunção renal, alcalose respiratória.

Cálcio

É um dos íons mais importantes do organismo. Pode ser encontrado como: cálcio ionizável e cálcio não ionizável, quase todo ligada à proteína;

A fração ionizável tem papel importante na função muscular, nervosa, membrana celular, coagulação sanguínea, formação óssea.

Hipocalcemia: < 8,6 mg. Causas: Hipoparatiroidismo, hipovitaminose D;

Hipercalemia: > 10,5 mg/dl. Causas: hiperparatiroidismo, hipervitaminose D, metástases ósseas.

Fósforo - P

É o ânion que se encontra em maior quantidade no espaço intracelular. Encontra-se, geralmente, sob a forma de ATP. É fundamental para a formação óssea e para o metabolismo de energia celular;

Excessos de fósforo (fosfato) impedem a absorção de cálcio, diminuindo a calcemia e estimulando a paratiroides.

VR: adultos-2,5-5,0mg/dL; crianças-4,0-7,0mg/dL

Magnésio

Sua concentração plasmática normal situa-se entre 1,9-2,5 mg/dL. É um íon intracelular tendo importância na atividade enzimática, incluindo condução nervosa e contração muscular. Participa da função neuromuscular;

Como os níveis de magnésio, cálcio e potássio estão intimamente ligados, a redução de um deles leva a uma redução dos outros.

URINÁLISE II

O exame de urina rotina é um exame não invasivo que tem grande importância a nível de diagnóstico de doenças renais, pré-renais e pós-renais, para monitoramento da evolução da patologia e para verificação da eficácia de determinado tratamento. Vários distúrbios metabólicos podem ser detectados através do exame de urina rotina.

Este exame é composto, resumidamente, pelas seguintes etapas:

Exame Físico: onde se faz uma avaliação física da urina recebida. Neste exame realiza-se a determinação da cor, cheiro, aspecto e densidade da urina.

Exame Químico: neste exame faz-se a pesquisa de elementos que normalmente não são encontrados na urina um paciente normal. Estes elementos são: glicose, proteínas, urobilinogênio, bilirrubinas, corpos cetônicos, nitrito, sangue e leucócitos. Faz-se também a determinação do pH.

Sedimentoscopia: faz-se uma análise minuciosa dos elementos celulares e não celulares encontrados no sedimento urinário.

Neste capítulo estudaremos mais detalhadamente a sedimentoscopia ou análise do sedimento urinário.

ANÁLISE MICROSCÓPICA DO SEDIMENTO URINÁRIO OU SEDIMENTOSCOPIA

Este exame consiste na observação, identificação e quantificação dos elementos presentes no sedimento urinário.

Após o exame físico e químico, deve-se centrifugar cerca de 10ml de urina em um tubo cônico por cinco minutos a 1500 rpm. Após a centrifugação, despreza-se o sobrenadante deixando cerca de 1 ml de sedimento (sedimento + urina).

Ressuspende-se o sedimento e coloca-se 20 µL do sedimento em uma lâmina, coberto por lamínula. Faz-se uma análise do sedimento nas objetivas de 10 e 40 x (ocular de 10x). Para o exame quantitativo, deve-se observar 10 campos.

Elementos do sedimento urinário:

Células epiteliais: As células epiteliais encontradas no sedimento urinário podem ser: escamosas (células eliminadas na urina devido à descamação normal do epitélio, são provenientes da uretra e vagina), transicionais (provenientes da pelve renal, ureter e bexiga) e renais (raramente são encontradas no sedimento urinário, pois quase não se descamam).

Como liberar o resultado: Contar o número médio de células epiteliais em 10 campos no aumento de 40x.

- Ausentes: quando não encontrar nenhuma célula.
- Raras: quando encontrar de uma até três células por campo
- Algumas: 4 a 10 células por campo
- Numerosas: acima de 10 células por campo
- Campos repletos: mais de 50 células por campo

Obs: Identificar e quantificar os tipos de células epiteliais encontradas.

Piócitos: são leucócitos “mortos” encontrados no sedimento urinário. Normalmente são encontrados no sedimento urinário até quatro leucócitos por campo. O aumento do número de piócitos na urina é denominado piúria e indica inflamação no trato genitourinário.

Como liberar o resultado: Contar o número médio piócitos em 10 campos, no aumento de 40x.

- Ausentes: quando não encontrar nenhum piócito.
- Raros: menos de um piócito por campo
- Até 50 por campo: relatar o número por campo
- Numerosos: acima de 50 por campo
- Campos repletos: quando o campo apresentar inúmeros piócitos, impedindo a sua quantificação.
- Deve-se relatar a presença de aglomerados de piócitos.

Hemácias: a presença de hemácias em número superior a três por campo é definida como hematúria que é um sinal de hemorragia no trato urinário, por causas diversas.

Como liberar o resultado:

- Ausentes: quando não se observa hemácias no sedimento urinário.
- Raras: menos de uma hemácia por campo
- Até 50 por campo: relatar o número de hemácias por campo
- Numerosas: acima de 50 hemácias por campo
- Campos repletos: quando o campo apresentar inúmeras hemácias, impedindo sua quantificação.
- A presença de aglomerados de hemácias deve ser relatada.

Cilindros: são elementos do sedimento urinário formados por uma matriz proteica denominada proteína de Tamm-Horsfall. Possui a forma dos túbulos renais onde são formados. Algumas vezes, a sua presença no sedimento urinário está relacionada com doença renal. Os cilindros podem ser de diversos tipos: cilindros hialinos, epiteliais, hemáticos, leucocitários, granulados, céreos e gordurosos.

A presença de pequenas quantidades de alguns tipos de cilindros no sedimento urinário, no aumento de 10x, é considerada normal.

A presença de cilindros céreos ou gordurosos está associada à doença renal grave.

Como liberar o resultado: contar 10 campos utilizando o aumento de 10x após identificar cada tipo de cilindro no aumento de 40x. Registrar o nome do cilindro e sua quantidade média encontrada por campo em aumento de 10x.

Cristais: são formados pela precipitação de sais presentes na urina devido a variações do pH, da temperatura e da concentração urinária, raramente, têm significado clínico.

Cristais normais de urina ácida:

- Oxalato de cálcio
- Urato amorfo
- Ácido úrico

Cristais normais de urinas alcalinas:

- Fosfato amorfo
- Fosfato triplo
- Fosfato de cálcio
- Carbonato de cálcio
- Biurato de amônio

Cristais anormais de origem metabólica:

- Cistina: é encontrada em amostras de urina de pacientes com cistinúria, uma alteração congênita do transporte de aminoácidos.
- Leucina: está associado com doença hepática grave e distúrbios do metabolismo de aminoácidos. Seu aparecimento na urina é raro.
- Tirosina: pode ser observado em amostras de urina de pacientes com doença hepática grave. É muito raro.
- Bilirrubina: pode ser encontrada em alguns casos de excreção urinária do pigmento biliar bilirrubina, como nas doenças hepáticas e nas colestases.
- Colesterol: sua presença indica síndrome nefrótica.

Como relatar o resultado: identificar cada tipo de cristal, contar 10 campos em aumento de 400x e calcular a média desses campos.

- Ausentes: cristais não observados
- Raros ou (+): até 3 por campo
- Alguns (++) : 4 a 10 por campo
- Numerosos (+++): acima de 10 por campo
- Campos repletos (++++): acima de 50 por campo

Muco: constituído por mucoproteínas que atravessam a membrana glomerular. Sua presença na urina não tem significado clínico.

Como liberar o resultado: ausente, escasso, moderado e aumentado.

Flora Bacteriana: o trato urinário é estéril e as amostras de urina normais e recém-emitidas não devem conter bactérias. A bacteriúria presente na urina

recente indica a ocorrência de um processo infeccioso.

Como liberar o resultado: relatar a quantidade de flora bacteriana observada: ausente, escassa, moderada e aumentada.

Artefatos ou contaminantes:

-Espermatozóides: pode estar presente na urina de mulheres (não relatar sua presença) e homens (relatar sua presença, pois pode estar associado a uma espermatorréia).

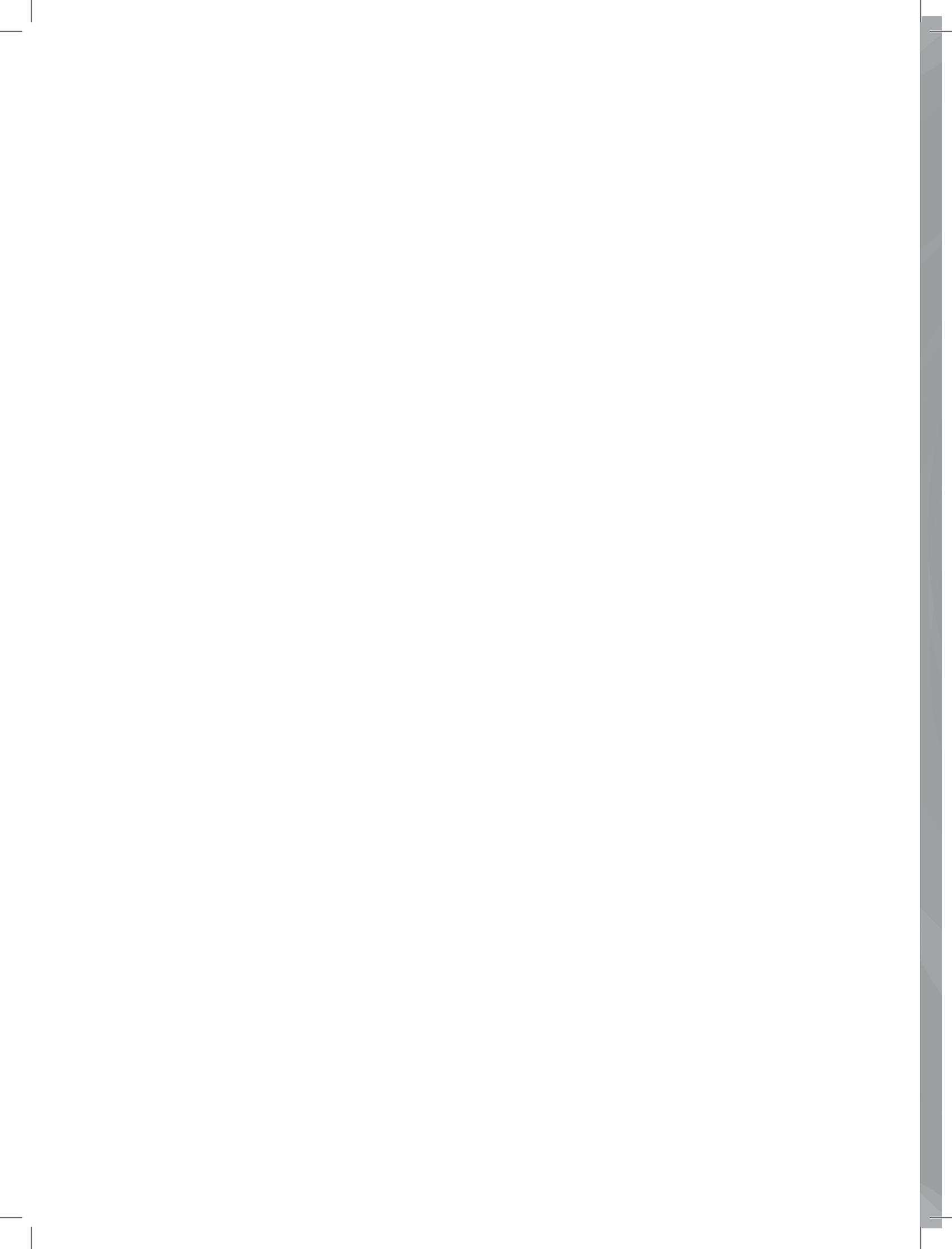
-Leveduras: As principais leveduras observadas são as de *Cândida sp.* No resultado relatar: “presença de células leveduriformes com ou sem pseudohifas sugestivas de *Cândida sp.*”.

-Parasitas: o parasita encontrado com maior frequência no sedimento urinário é o *Trichomonas vaginalis* responsável por infecções vaginais e pode também infectar a uretra, a bexiga e a próstata.

-Diversos: podemos encontrar outros elementos contaminantes no sedimento urinário, tais como: amido, fibras, bolhas de ar, gotículas de gordura, talco, pêlos, etc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SACHER, R. A.; McPHERSON, R. A. Widmann Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais. 11ªEd
São Paulo: Manole, 2002.
- Manual de Exames e Serviços: Instituto Hermes Pardini – 2006-2007
- PERFUSION LINE – CURSO DE GASOMETRIA ON LINE. Disponível em: www.perfline.com
- APOSTILA DE URINÁLISE DA UFMG
- BAPTISTA, J.M. A; SOUSA, M.O. Apostila de Urinálise.
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas. Faculdade de Farmácia UFMG. Setembro de 2005.
- STRASINGER, SK. Uroanálise e fluídos biológicos. Editorial Premier.
São Paulo, 3a Edição, 2000.



CURSO TÉCNICO EM
ANÁLISES CLÍNICAS
ETAPA 3

PARASITOLOGIA

Sumário

PROTOZOSES	55
CAPÍTULO I: TRICOMONÍASE	56
CAPÍTULO II: DOENÇA DE CHAGAS.....	60
CAPÍTULO III: LEISHMANIOSE	68
CAPÍTULO IV: MALÁRIA.....	77
CAPÍTULO V: TOXOPLASMOSE.....	85

PROTOZOSES

Protozoários são seres unicelulares, na maioria heterótrofos, mas com formas autotróficas e com mobilidade especializada. Esta última serviu de critério para sua taxonomia. A maioria deles é muito pequena, medindo de 0,01 mm a 0,05 mm aproximadamente, sendo que algumas exceções podem medir até 0,5 mm como, por exemplo, os foraminíferos. Sua forma de nutrição é muito diferenciada, pois podem ser predadores ou filtradores, herbívoros ou carnívoros, parasitas ou mutualistas. A digestão é intracelular, por meio de vacúolos digestivos, sendo que o alimento é ingerido ou entra na célula por meio de uma "boca", o citóstoma.

A célula é muito especializada, e cada organela tem uma função vital. O sistema locomotor é um dos mais especializados, com flagelos, cílios, membranas ondulantes, cirros ou pseudópodes.

Há um sistema hidrostático, constituído de vacúolos pulsáteis que eliminam o excesso de água que entra na célula por osmose nos protozoários dulcícolas, estabelecendo assim o equilíbrio osmótico.

O citoesqueleto também é especializado para manter a forma da célula, emissão de pseudópodes, locomoção, movimentação de vacúolos digestivos, entre outras funções necessárias. Pode haver exoesqueleto em algumas espécies.

Estes organismos estão presentes em todos os ambientes por causa de seu tamanho reduzido e produção de cistos resistentes.

Quanto à sistemática, podem ser divididos, em quatro grupos distintos: Flagelados, ameboides, formadores de esporos e ciliados.

Dependendo da sua atividade fisiológica, algumas espécies possuem fases bem definidas:

- Trofozoíto: é a forma ativa do protozoário, na qual ele se alimenta e se reproduz.
- Cisto: é a forma de resistência ou inativa.

CAPÍTULO I: TRICOMONÍASE

Introdução

É uma infecção causada pelo protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis*, tendo como reservatórios a vagina e a uretra. Trata-se de uma doença sexualmente transmissível (DST) que acomete principalmente o sexo feminino e está relacionada à falta de higiene corporal, sobretudo, quando se trata de relações sexuais não protegidas e ou promíscuas.

Apesar de apresentar sintomas bastante característicos, pode permanecer assintomática no homem e na mulher, principalmente após a menopausa.

Agente Etiológico

O *Trichomonas vaginalis* é um parasita eucariota flagelado anaeróbio com cerca de quinze micrômetros. Tem quatro ou cinco flagelos e membrana ondulante que lhe dão mobilidade, e uma protuberância em estilete denominada axóstilo. O *Trichomonas vaginalis* não é capaz de usar oxigênio na sua respiração, sendo desprovido de mitocôndrias, mas tem hidrogenossomas que produzem gás hidrogênio.

Morfologia

O *Trichomonas vaginalis* é encontrado somente na forma de trofozoíto, não havendo formação de cistos. O trofozoíto é, portanto, simultaneamente a forma infecciosa e ativa. Reproduz-se por divisão binária simples.

Transmissão

A transmissão, em geral, ocorre através de relação sexual. Mas pode ocorrer também através do uso comum de roupas íntimas, água de uso comum para o asseio íntimo, uso comum de toalhas e até por gotículas de secreção vaginal no assento de vasos sanitários (principalmente em banheiros públicos).

O *Trichomonas vaginalis* é transmitido pelo contato entre a mucosa infectada de um indivíduo, por exemplo, a uretra de um homem, e a mucosa vaginal de uma mulher, durante a relação sexual. As mulheres têm mucosas genitais muito mais extensas e receptivas ao parasita, daí a maior parte das pessoas afetadas serem do sexo feminino. Contudo os homens também são freqüentemente infectados e podem ser portadores assintomáticos, sendo, portanto, a principal fonte de infecção do parasita.

Ciclo Evolutivo

Após a infecção, o *Trichomonas vaginalis* pode ser encontrado na mucosa vaginal ou uretral apenas na forma de trofozoíto. Esta é a forma que causa a infecção genital. No local da infecção o parasita reproduz-se por divisão binária simples, através de sucessivas mitoses.

Fonte: fcfrp.usp.br

Patogenia

A tricomoníase representa aproximadamente 10% das infecções vaginais. Acredita-se que 10 a 25% das mulheres entre 15 e 45 anos de idade apresentam esta infecção parasitária.

O período de incubação da infecção varia de 4 dias a 4 semanas.

- No homem, a sintomatologia é mais discreta ou inaparente. Manifesta-se através de corrimento uretral, geralmente pela manhã, antes da primeira micção, bem como irritação da uretra. Os homens com tricomoníase não manifestam habitualmente sintomas, mas podem infectar as suas

parceiras sexuais. Alguns apresentam uma secreção proveniente da uretra que é espumosa e semelhante ao pus, sentem dor ao urinar e precisam fazê-lo com frequência. Os referidos sintomas costumam ter lugar de manhã cedo. As principais complicações no homem são a epididimite que é uma infecção do epidídimo, caracterizada por dor testicular e a prostatite, uma infecção na próstata.

- Na mulher, os sintomas são corrimento abundante, amarelo ou amarelo-esverdeado, bolhoso, com mau cheiro característico, prurido e irritação vulvar. Geralmente ocorre dor pélvica devido à vaginite. A doença costuma começar com uma secreção espumosa de cor verde-amarelada proveniente da vagina. Em algumas, a referida secreção é escassa. A vulva pode estar irritada e dolorida e é possível que o coito também cause dor. Nos casos graves, a vulva e a pele que a rodeia inflamam-se, bem como os lábios. Os sintomas são dor ao urinar ou um aumento na frequência das micções, que se assemelham aos de uma infecção da bexiga.

O *Trichomonas vaginalis* não causa sintomas em quase metade das infecções nas mulheres e em mais de dois terços dos casos nos homens, mas mesmo nessas circunstâncias é infeccioso. Nos restantes casos, após alguns dias de incubação surge um corrimento amarelo purulento e de mau-cheiro da vagina ou uretra masculina ou feminina devido à inflamação (vaginite ou uretrite) e a infecções por bactérias oportunistas. Além disso, é frequente disúria (dor ao urinar), irritação da mucosa com prurido e ardor.

Epidemiologia

Segundo a OMS há 170 milhões de infecções por *Trichomonas vaginalis* em cada ano. Nos países menos desenvolvidos, 5% dos homens e 15% das mulheres são portadores do parasita.

O *Trichomonas vaginalis* pode sobreviver em água com baixo teor de cloro durante algumas horas (o nível de cloro usado nas piscinas mata-o quase instantaneamente). É possível a transmissão pela partilha de toalhas de banho imediatamente consecutiva bem como o uso de banheiro com pouca higiene.

Profilaxia

É recomendável o uso de preservativo durante o ato sexual, uso individual de roupas íntimas, tratamento de indivíduos portadores, inclusive os homens assintomáticos, esterilização dos aparelhos ginecológicos, higiene em relação aos sanitários públicos, etc.

Diagnóstico

O diagnóstico é clínico e através de exames microscópicos realizados no próprio consultório médico, exames de laboratório ou pelo Exame Preventivo (Papanicolau).

No caso das mulheres, o diagnóstico geralmente estabelece-se em poucos minutos, examinando uma amostra da secreção vaginal ao microscópio. Também se efetuam habitualmente análises para outras doenças de transmissão sexual.

Nos homens, as secreções provenientes da extremidade do pênis devem ser colhidas de manhã, antes de urinar. Estas são examinadas ao microscópio e uma parte da amostra é usada para cultura. Uma cultura da urina também pode ser útil, porque é mais provável que se detectem *Trichomonas vaginalis* que não se encontraram no exame ao microscópio.

O diagnóstico, portanto, é feito pela observação do parasita ao microscópio óptico em amostras do líquido de corrimento.

Através da sedimentoscopia do exame de urina rotina também é possível evidenciar a presença do parasita. Na amostra fresca, o parasita têm movimentos rápidos característicos.

Tratamento

O tratamento é feito com uso de antiprotozoários em administração oral e através de creme vaginal. Em todos os casos em que se positiva o diagnóstico da infecção na mulher, deve-se estender também o tratamento ao

seu parceiro sexual. Caso contrário poderá ocorrer reincidência na mulher e perpetuação do quadro clínico apresentado.

Uma única dose de metronidazol cura até 95 % das mulheres infectadas, desde que os seus parceiros sexuais recebam tratamento simultaneamente. Como não se sabe com certeza se uma única dose é eficaz nos homens, costuma-se tratá-los durante 7 dias.

Se for tomado com álcool, o metronidazol pode causar náuseas e vermelhidão da pele, efeito conhecido como dissulfiram. Pode ocorrer, ainda, uma diminuição no número de glóbulos brancos e, nas mulheres, uma maior susceptibilidade às infecções vaginais por leveduras (candidíase genital).

CAPÍTULO II: DOENÇA DE CHAGAS

Introdução

Essa doença foi assim denominada em homenagem ao médico Dr. Carlos Chagas, que a descobriu em 1909, quando trabalhava em Minas Gerais, nos tempos da construção das linhas da Ferrovia Central do Brasil.

No Brasil, esta endemia atinge cerca de oito milhões de habitantes, principalmente populações pobres que residem em condições precárias.

Além do homem, mamíferos de pequeno porte têm funcionado como verdadeiros reservatórios do *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico, entre os quais se destacam tatus, gambás, macacos e morcegos, bem como os cães, gatos e ratos.

Os insetos transmissores do *Trypanosoma cruzi* se dispersam por toda a América Latina e, no Brasil, são vulgarmente chamados de "barbeiro", "chupões", "fincões", "bicudos" ou "chupanças". No Brasil, os gêneros *Triatoma infestans* e *Panstrongilus megistus* são os principais transmissores da doença de Chagas.

Agente Etiológico

O agente etiológico é um protozoário denominado *Trypanosoma cruzi*. No homem e nos animais, vive no sangue periférico e nas fibras musculares, especialmente as cardíacas e digestivas. No inseto transmissor, vive no tubo digestivo.

Foi descrito por Carlos Chagas em 1909 como *Trypanosoma cruzi*. Chagas, além de descrever o parasita, descobriu também os seus transmissores, os reservatórios domésticos e silvestres e ainda parte da patogenia e da sintomatologia.

Morfologia

A morfologia do *T. Cruzi* é variável conforme a fase evolutiva e o hospedeiro. No hospedeiro vertebrado (homem) são encontradas intracelularmente as formas amastigotas e extracelularmente as formas tripomastigotas presentes no sangue circulante. No hospedeiro invertebrado (barbeiro) são encontradas as formas esferomastigotas presentes no estômago e no intestino, epimastigotas presentes em todo o intestino e tripomastigotas presentes no reto. Assim, podemos descrever:

- Tripomastigotas: formas encontradas nas fezes do barbeiro e no sangue do homem. São alongadas, com cinetoplasto na extremidade posterior, membrana ondulante e flagelo livre.....
- Epimastigotas: formas encontradas no intestino do barbeiro, alongadas, com cinetoplasto na extremidade anterior, pequena membrana ondulante e flagelo livre.
- Amastigotas: formas encontradas nos tecidos parasitados do homem. São arredondadas e sem flagelo livre.

Agente Transmissor

O "barbeiro" é um inseto da sub-família *Triatominae* que se alimenta de sangue de vertebrados, sendo chamados hematófagos.

A principal espécie propagadora da Doença de Chagas no Brasil é o *Triatoma infestans*. Mas outras espécies podem ser as responsáveis pela manutenção da doença em algumas regiões, tais como o *Panstrongylus megistus* e o *Triatoma sordida*.

Geralmente, os barbeiros se alojam em locais muito próximos à fonte de alimento e podem ser encontrados na mata, escondidos em ninhos de pássaros, toca de animais, casca de tronco de árvore, montes de lenha e embaixo de pedras. Nas casas escondem-se nas frestas, buracos das paredes, nas camas, colchões e baús, além de serem encontrados no peridomicílio (galinheiro, chiqueiro, paiol, curral e depósitos em geral).



Fonte: www.condelab.com.br

Modo de Transmissão

O barbeiro, em qualquer estágio do seu ciclo de vida, ao picar uma pessoa ou animal contaminado com o parasita, suga juntamente com o sangue formas de *T. cruzi*, tornando-se um “barbeiro” infectado.

O *Trypanosoma cruzi* se multiplica no intestino do barbeiro, sendo eliminados através das fezes. A transmissão se dá pelas fezes que o inseto deposita sobre a pele da pessoa, enquanto suga o sangue. Geralmente, a picada provoca coceira e o ato de coçar facilita a penetração do parasita pelo local da picada. O *T. cruzi* contido nas fezes do barbeiro pode penetrar no organismo humano, também pela mucosa dos olhos, nariz e boca ou através de feridas ou cortes recentes existentes na pele.

Podemos ter ainda outros mecanismos de transmissão tais como transfusão de sangue, caso o doador seja portador da doença; transplante de

órgãos; transmissão congênita da mãe chagásica, para o filho via placenta ou através da amamentação caso a mãe esteja em fase aguda da doença; manipulação de caça; acidentalmente em laboratórios e mais recentemente descrita à ingestão de formas de transmissão presentes no caldo de cana e no açai contaminado com fezes do barbeiro.

Ciclo Evolutivo

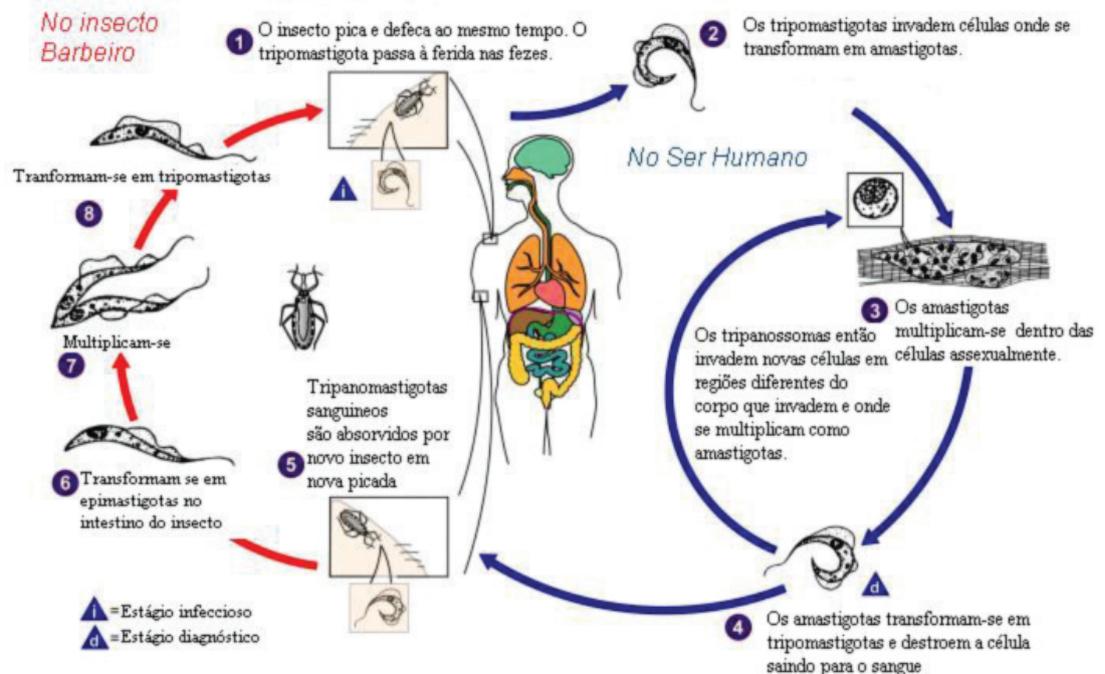
O ciclo do *Trypanosoma cruzi* é do tipo heteroxênico.

Os tripomastigotas metacíclicos eliminados nas fezes e urina do vetor, durante ou logo após o repasto sanguíneo, penetram pelo local da picada. Neste local, ocorre a transformação dos tripomastigotas em amastigotas, que aí se multiplicam por divisão binária simples. A seguir ocorre a diferenciação dos amastigotas em tripomastigotas que são liberados da célula hospedeira, caindo no interstício. Os tripomastigotas, então, caem na corrente circulatória, atingem outras células de qualquer tecido ou órgão para cumprir novo ciclo celular.

No início da infecção do homem (fase aguda) a parasitemia é mais elevada podendo levá-lo à morte. Quando o homem desenvolve resposta imune eficaz, diminui a parasitemia e a infecção tende a se cronicar.

Os triatomídeos vetores se infectam ao ingerir as formas tripomastigotas presentes na corrente circulatória do homem durante o hematofagismo. No estômago do inseto, eles se transformam em esferomastigotas e epimastigotas. No intestino médio, os epimastigotas se multiplicam por divisão binária simples, sendo, portanto, responsáveis pela manutenção da infecção no vetor. No reto, os epimastigotas se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos (infectantes para o homem), sendo eliminados nas fezes ou urina.

Doença de Chagas: Ciclo de Vida do *Trypanossoma cruzi*



Fonte: pt.wikipedia.org

Patogenia

O período de incubação oscila entre 4 e 10 dias, quando a transmissão é pelos barbeiros. Nos casos de transmissão transfusional, pode alongar-se entre 20 ou mais dias.

O quadro clínico inicial corresponde aos sinais da doença que se produzem no próprio local, onde se deu a contaminação pelas fezes do inseto. Estes sinais surgem mais ou menos de 4 a 6 dias, após o contato do barbeiro com a sua vítima.

Os sintomas variam de acordo com a fase da doença, que pode ser classificada em aguda e crônica.

- **Fase aguda:**

A fase aguda pode ser sintomática ou assintomática. Inicia-se através de manifestações locais, quando o *T. cruzi* penetra na conjuntiva (Sinal de Romaña) ou na pele (chagoma de inoculação). O sinal de Romaña se caracteriza por edema bupalpebral unilateral e congestão conjuntival e o chagoma de inoculação correspondem a um processo inflamatório agudo no ponto de inoculação do parasita. Estas lesões aparecem em 50% dos casos agudos dentro de quatro a 10 dias após a picada do barbeiro.

As manifestações gerais da fase aguda são representadas por febre prolongada, cansaço, desânimo, dor e inchaço dos gânglios linfáticos, inchaço ou edema facial e das pernas, hepatomegalia e esplenomegalia. O surgimento de taquicardia ou aceleração do ritmo cardíaco pode ocorrer com ou sem febre e é sinal de miocardite que, na maioria dos casos, é benigna. No entanto, estes sinais desaparecem em 2 a 4 meses.

- **Fase crônica:**

Após a fase aguda, mais da metade das pessoas acometidas por Chagas permanecem pelo resto da vida com a forma indeterminada, assintomática ou latente da doença. Nos demais portadores crônicos, com o passar dos anos começam a surgir alguns sinais de comprometimento do coração ou sistema digestivo, caracterizando as formas cardíaca e digestiva da doença crônica.

A forma cardíaca é a mais grave e importante manifestação clínica da doença e pode ocorrer em 80% dos pacientes. Caracteriza-se por palpitações (taquicardia) e batimentos cardíacos fora de ritmo, tonteiras, dor no peito, falta de ar quando da realização de esforços físicos e insuficiência cardíaca progressiva. O paciente apresenta cardiomegalia.

A forma digestiva da doença caracteriza-se pela dilatação e alteração dos movimentos do esôfago (megaesôfago) ou do cólon descendente do intestino grosso (megacólon). Isto ocorre porque a doença destrói as terminações nervosas e os músculos ficam frouxos, perdendo a capacidade de se contrair e fazendo com que o órgão (esôfago ou intestino) aumente de tamanho. Devido a isso, o paciente tem dificuldade para engolir e há retenção

de fezes e gases, e muita vez ocorre formação de fecaloma (bolo de fezes endurecidas que obstrui a defecação).

Diagnóstico

- **Diagnóstico Clínico:**

Deve-se levar em consideração a origem do paciente, presença dos sinais de entrada, como o sinal de Romaña e o chagoma de inoculação (fase aguda), acompanhados de febre irregular ou ausente, hepatoesplenomegalia, taquicardia, edema generalizado ou dos pés.

As alterações cardíacas (reveladas pelo eletrocardiograma), do esôfago e do cólon (reveladas pelo raio-X) fazem suspeitar da fase crônica da doença.

- **Diagnóstico Laboratorial:**

O diagnóstico laboratorial pode ser feito através da pesquisa do parasito (métodos parasitológicos) ou para a pesquisa de anticorpos (métodos sorológicos).

Na fase aguda da doença, a parasitemia é alta. Quando os títulos de anticorpos se elevam, o que ocorre na fase crônica, a parasitemia diminui. Assim, para cada fase da doença existem um ou mais métodos que funcionam melhor.

Devemos lembrar que os métodos indicados para a fase crônica são os mais utilizados porque a maioria dos diagnósticos é realizada quando o indivíduo já apresenta a doença em fase crônica.

A tabela abaixo mostra os métodos utilizados em cada fase:

	FASE AGUDA	FASE CRÔNICA
PESQUISA DO PARASITA	<ul style="list-style-type: none"> • Exame de sangue a fresco; • Esfregaço sanguíneo corado pelo Giemsa; • Hemocultura; 	.
MÉTODOS SOROLÓGICOS	<ul style="list-style-type: none"> • Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)- pesquisa de IgM. 	<ul style="list-style-type: none"> • RIFI; • ELISA. • HAI

Tratamento

As drogas hoje disponíveis são eficazes apenas na fase inicial da doença, daí a importância do diagnóstico precoce. A terapêutica da doença de Chagas continua parcialmente ineficaz. O uso de medicamentos depende da região em que a doença ocorre. Por exemplo, as drogas usadas muitas vezes não oferecem bons resultados em regiões endêmicas como Minas Gerais. Ainda não se dispõe de vacina para uso imediato.

Profilaxia

As medidas profiláticas baseiam-se principalmente em medidas de controle ao barbeiro, impedindo a sua proliferação nas moradias e em seus arredores. Além de medidas específicas, as atividades de educação em saúde devem estar inseridas em todas as ações de controle, bem como as medidas a serem tomadas pela população local, tais como:

- Melhorar habitação, através de reboco e tamponamento de rachaduras e frestas;
- Usar telas em portas e janelas;
- Impedir a permanência de animais, como cão, o gato, galinhas e outros no interior da casa;

- Evitar montes de lenhas, telhas ou outros entulhos no interior e arredores da casa;
- Construir galinheiro, paiol, tulha, chiqueiro, depósito afastado das casas e mantê-los limpos;
- Retirar ninhos de pássaros dos beirais das casas;
- Manter limpeza periódica nas casas e em seus arredores;
- Controle nos bancos de sangue através de testes sorológicos que rastreiem os doadores infectados;
- Tratamento de doentes.

CAPÍTULO III: LEISHMANIOSE

Introdução

Doença causada por parasitas do gênero *Leishmania sp.* São protozoários que se desenvolvem no trato digestivo de um inseto hospedeiro e no interior das células do sistema mononuclear fagocitário de um hospedeiro intermediário mamífero.

Existem diversas formas de leishmaniose, sendo as mais importantes em nosso meio a leishmaniose tegumentar americana e a leishmaniose visceral.

A Leishmaniose Visceral é também conhecida como Calazar, Esplenomegalia Tropical, Febre Dundun, dentre outras denominações menos conhecidas. É uma zoonose que afeta outros animais além do homem. É uma doença crônica sistêmica, caracterizada por febre de longa duração e outras manifestações e, quando não tratada, evolui para óbito em 1 ou 2 anos após o aparecimento da sintomatologia. Sua transmissão, inicialmente silvestre ou concentrada em pequenas localidades rurais, já está ocorrendo em centros urbanos de médio porte, em área domiciliar ou peridomiciliar. É um crescente problema de saúde pública no país (encontra-se distribuída em 17 estados) e em outras áreas do continente americano, sendo uma endemia em franca

expansão geográfica. Tem-se registrado cerca de 2.000 casos, por ano, no país, com letalidade em torno de 10%.

Agente Etiológico

O agente etiológico pertence à ordem *Kinetoplastidae*, família *Trypanosomatidae*, compondo dois grupos: o das Leishmanioses Tegumentares e o das Leishmanioses Viscerais.

As espécies de maior importância no Brasil são:

- *Leishmania brasilienses*, *Leishmania guyanensis* e *Leishmania amazonensis* responsáveis pelas leishmanioses tegumentares (cutânea e mucocutânea);
- *Leishmania chagasi* responsável pela leishmaniose visceral ou calazar.

Morfologia

As *Leishmanias* possuem basicamente duas formas evolutivas:

- Amastigota: forma elíptica, sem flagelo, com núcleo excêntrico e cinetoplasto. Localiza-se no citoplasma dos macrófagos de órgãos do sistema mononuclear fagocitário (fígado, baço, linfonodos e medula óssea) dos hospedeiros intermediários mamíferos.
- Promastigota: forma alongada, com flagelo livre, núcleo e cinetoplasto. Localiza-se no tubo digestivo dos hospedeiros invertebrados (insetos).

Transmissão

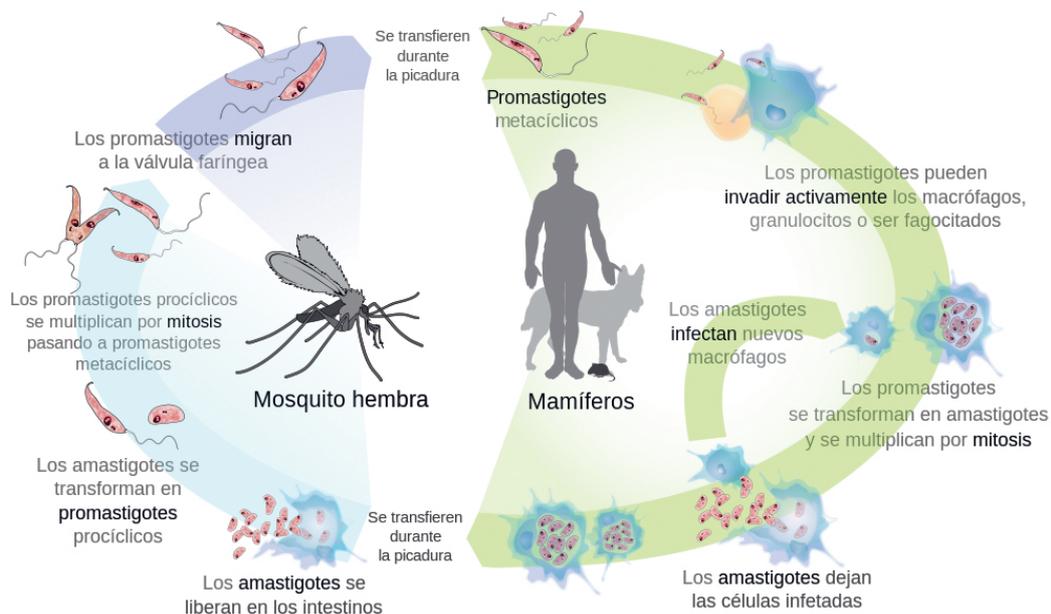
Nos dois tipos de leishmanioses o agente da doença é transmitido ao homem através da picada das fêmeas do inseto transmissor, o mosquito da espécie *Lutzomia longipalpus*, um inseto hematófago. Seu habitat é o domicílio e o peridomicílio humano onde se alimenta de sangue do homem, do cão, de outros mamíferos e de aves. A fêmea tem hábitos antropofílicos, pois necessitam de sangue para o desenvolvimento dos seus ovos. Durante a

hematofagia, inocula no hospedeiro, através da saliva, o protozoário. Não ocorre transmissão direta de pessoa a pessoa.

Ciclo Biológico

O ciclo é do tipo heteroxênico. O vetor fêmea, pertencente ao gênero *Lutzomia*, pica um mamífero parasitado (cão ou homem) e ingere, juntamente com o sangue, as formas amastigotas. Estas ficam em todo o intestino do inseto, onde se transformam em promastigotas, e iniciam a multiplicação por divisão binária.

Os promastigotas, que têm grande motilidade, migram para as glândulas salivares do mosquito, sendo inoculados por este junto com a saliva no ato da hematofagia. O mosquito, num esforço para se alimentar, pica várias vezes o hospedeiro e em cada picada inocula os promastigotas no sangue do hospedeiro vertebrado. Os promastigotas, agora presentes no sangue, são fagocitados por macrófagos, e neste novo ambiente assumem a forma de amastigotas, uma forma intracelular obrigatória, capaz de se desenvolver e multiplicar dentro dos vacúolos fagocitários do macrófago. Sabe-se que a membrana das formas amastigotas resiste à ação destruidora dos macrófagos, além de possuírem uma rápida capacidade de multiplicação. Essas são as razões que explicam a não destruição das formas amastigotas dentro dos macrófagos.



Fonte: commons.wikimedia.org

Epidemiologia

O calazar é uma doença própria de zonas rurais na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo: oriente médio, África, América Central e América do Sul.

A leishmaniose visceral ou calazar está se espalhando assustadoramente pelo Brasil. Já é encontrada em grandes centros urbanos como Belo Horizonte.

Leishmaniose Tegumentar Americana

A leishmaniose tegumentar americana é uma protozoose que acomete pele e mucosas. É uma zoonose em franca expansão geográfica no Brasil, sendo uma das infecções dermatológicas mais importantes, não só pela frequência, mas principalmente pelas dificuldades terapêuticas, deformidades e

sequelas que pode acarretar. Ela vem ocorrendo de forma endêmico-epidêmica apresentando diferentes padrões de transmissão, relacionados não somente à penetração do homem em focos silvestres, frequentemente em áreas de expansão de fronteiras agrícolas. É importante problema de saúde pública pela sua magnitude, transcendência e pouca vulnerabilidade às medidas de controle.

Também denominada de Úlcera de Bauru ou ferida brava, a leishmaniose tegumentar é causada por protozoários do gênero *Leishmania*, cujas principais espécies são a *Leishmania amazonensis* e a *Leishmania braziliensis*.

Este protozoário tem seu ciclo biológico realizado em dois hospedeiros, um vertebrado e outro invertebrado. Os hospedeiros invertebrados são insetos do gênero *Lutzomia*, nos quais ocorre parte do ciclo do parasito. Os hospedeiros vertebrados incluem grande variedade de mamíferos: roedores, tatu, tamanduá, gambá e primatas incluindo o homem.

A infecção do inseto ocorre quando a fêmea pica o vertebrado para exercer o repasto sanguíneo e juntamente com o sangue ingere macrófagos parasitados por formas amastigotas. No estômago do mosquito, os macrófagos se rompem liberando as formas amastigotas que se transformam em promastigotas. Estes migram ao longo do tubo digestivo, chegando à porção anterior do intestino.

Durante o processo de alimentação do mosquito é que ocorre a transmissão do homem. Na tentativa de ingestão, as formas promastigotas são introduzidas no local da picada e fagocitadas por macrófagos. Rapidamente as formas promastigotas se transformam em amastigotas, dentro dos vacúolos fagocitários dos macrófagos.

Após a fagocitose por macrófagos, as formas agora amastigotas se multiplicam por divisão binária, causando uma lesão inicial caracterizada por um processo inflamatório. Esta lesão pode evoluir para uma lesão úlcero-crostosa. Estas lesões caracterizam o quadro clínico deformante da doença. Em geral, as formas amastigotas estão presentes nas bordas da úlcera.

O diagnóstico laboratorial é baseado nos seguintes exames:

- Diagnóstico parasitológico: faz-se exame direto de esfregaços corados de material obtido das bordas das lesões.
- Diagnóstico sorológico: Pode-se fazer a Reação de Montenegro. Essa reação é um teste imunológico intradérmico que utiliza formas promastigotas mortas como antígenos. O teste consiste no inóculo de 0,1ml de antígeno na face interna do braço. No caso de reações positivas, verifica-se o aparecimento de uma reação inflamatória local formando uma pápula entre 48 e 72 horas após a aplicação, indicativo de resposta imune celular.

Não é fácil adotar uma medida profilática que atue em todas as situações. Entretanto, algumas sugestões podem ser fornecidas. Não dormir dentro de matas ou grutas, pois o hematofagismo do flebótomo é principalmente crepuscular e noturno. Construir casas de trabalhadores em derrubada de mata a uma distância mínima de 500m da orla da mesma, pois o *Lutzomia* é um mosquito fraco, que voa pouco. Em algumas situações, usar repelentes, telas ou mosquiteiros, inseticidas. Aperfeiçoamento da vacina, que já tem apresentado relativo sucesso na proteção a animais e em alguns casos humanos.

Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral é uma zoonose que afeta outros animais além do homem. É conhecida como calazar, esplenomegalia tropical, febre dundum, dentre outras denominações menos conhecidas. É uma doença crônica sistêmica caracterizada por febre de longa duração e outras manifestações e, quando não tratada, evolui para o óbito, em um ou dois anos após o aparecimento dos sintomas.

No Brasil, é causada pelo *Leishmania chagasi*. Seu ciclo evolutivo é caracterizado por apresentar duas formas: a amastigota, que é obrigatoriamente parasita intracelular em vertebrados, e a forma promastigota que se desenvolve no tubo digestivo dos vetores invertebrados.

Os mais importantes reservatórios são o cão e a raposa, que agem como mantenedores do ciclo da doença. O homem também pode ser fonte de infecção, principalmente quando o calazar incide sob a forma de epidemia. Os cães infectados podem ou não desenvolver o quadro clínico da doença, cujos sinais são: emagrecimento, queda de pêlos, nódulos ou ulcerações (mais frequentes nos bordos da orelha), hemorragias intestinais, paralisia dos membros posteriores, cegueira e caquexia. Pode evoluir para a morte nos casos mais graves.

O período de incubação varia de 10 dias a 24 meses, sendo em média 2 a 4 meses.

O calazar acometer os órgãos do sistema retículo endotelial que são ricos em macrófagos levando a sintomas como febre, hepatoesplenomegalia, ascite, emagrecimento intenso, complicações circulatórias e respiratórias. Na grande maioria dos casos a evolução é para a morte. Os pacientes tratados precocemente têm prognóstico favorável. A sintomatologia é devida principalmente às alterações que ocorrem no baço, fígado que vão desde o rompimento das células parasitadas, inflamação dos pulmões, anemia e trombocitopenia até hepatite crônica.

As manifestações clínicas da leishmaniose visceral refletem o equilíbrio entre a multiplicação dos parasitos nas células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM), a resposta imunitária do indivíduo e as alterações degenerativas resultantes desse processo. Observa-se que muitos infectados apresentam forma inaparente ou oligossintomática da doença, e que o número de casos graves é relativamente pequeno em relação ao de infectados.

As principais **manifestações clínicas** são:

- Febre, astenia, anorexia, perda de peso e caquexia.
- Hepatoesplenomegalia.
- Intensa palidez de pele e mucosas, consequência de severa anemia.
- Fenômenos hemorrágicos tais como gengivorragias, epistaxes, equimoses e petéquias.
- As mulheres frequentemente apresentam amenorreia.

- A puberdade fica retardada nos adolescentes e o crescimento sofre grande atraso nas crianças e jovens.

Uma forma refratária pode ocorrer no paciente que não respondeu ao tratamento, ou respondeu parcialmente ao tratamento com antimoniais. É clinicamente mais grave, devido ao prolongamento da doença sem resposta terapêutica. Os pacientes com calazar, em geral, têm como causa de óbito as hemorragias e as infecções associadas em virtude da debilidade física e imunológica.

O **diagnóstico laboratorial** do calazar pode ser feito através de:

- Diagnóstico sorológico: é o procedimento de detecção mais fácil e eficiente para o diagnóstico. As provas mais sensíveis, confiáveis e de fácil execução são a imunofluorescência indireta (IgG). Há também disponibilidade de testes imunocromatográficos (testes rápidos), que possuem boa sensibilidade e especificidade (são utilizadas como instrumento de triagem inicial). Por ter valor preditivo negativo questionável, todas as reações Não Reagentes devem ser confirmadas por IFI.
- Diagnóstico parasitológico: os exames são realizados de material retirado preferencialmente do baço e da medula óssea. O material deve ser colhido por punção e exige profissional treinado para praticá-la (mielograma). O material é, então, examinado em lâminas coradas.
- Hemograma: pode evidenciar uma pancitopenia (diminuição do número de hemácias, leucócitos e plaquetas).
- Dosagem de proteínas: há uma diminuição de albumina e consequente aumento de globulinas.

As tentativas de tratamento através de medicamentos eficazes em humanos não têm logrado êxito no tratamento de cães doentes. Devem ser tomadas, portanto, medidas profiláticas. As principais medidas profiláticas no controle do calazar são:

- Tratamento de todos os casos humanos, diminuindo um dos focos de infecção;
- Eliminação de cães infectados;
- Combate ao vetor;
- Controle rigoroso de cães vadios.

Medidas de Controle

As principais medidas de controle para as leishmanioses são:

- **Investigação epidemiológica:** se a área é endêmica, procurar verificar se as medidas de controle estão sendo sistematicamente adotadas. Se for um novo foco, comunicar imediatamente aos níveis superiores do sistema de saúde e iniciar as medidas de controle pertinentes.
- **Eliminação dos reservatórios:** a eliminação dos cães errantes e domésticos infectados, que são as principais fontes de infecção. Os cães domésticos têm sido eliminados, em larga escala, nas áreas endêmicas, após o diagnóstico, através de técnicas sorológicas (ELISA e RIFI).
- **Combate ao vetor:** o uso de inseticidas químicos deverá ser efetuado em todas as casas com casos humanos ou caninos autóctones. Além disso, outras medidas como evitar acúmulo de água em recipientes e telagem de janelas podem ser bastante úteis.
- **Tratamento:** o tratamento se constitui em um fator importante na queda da letalidade da doença e, conseqüentemente, é um importante item na luta contra esse tipo de leishmaniose. Secundariamente, pode haver também um efeito controlador de possíveis fontes humanas de infecção.:
- **Educação em Saúde:** ações educativas devem ser desenvolvidas no sentido de que as comunidades atingidas aprendam a se proteger e participem ativamente das ações de controle do calazar.

CAPÍTULO IV: MALÁRIA

Introdução

A malária é uma doença parasitária bastante grave, causada por protozoários do gênero *Plasmodium* que são transmitidos de uma pessoa para outra através da picada de mosquitos do gênero *Anopheles*.

A doença adquire vários nomes, de acordo com a região em que ocorre. É também conhecida como febre intermitente, impaludismo, maleita, sezão e tremedeira.

Quando causada pela espécie *Plasmodium vivax* é denominada febre terçã benigna, quando pelo *P. Falciparum* recebe a denominação febre terçã maligna e febre quartã quando causada pelo *P. Malariae*.

A malária é uma das mais importantes doenças tropicais do mundo e apresenta-se bastante difundida. Essa doença manifesta-se através de acessos periódicos de febres intensas que debilitam profundamente o doente. Além disso, a malária provoca lesões hepáticas, esplênicas, além de outras. Por acometer as hemácias, levando-as a um intenso processo de hemólise, a malária também pode causar anemia. Isso ocorre porque o *Plasmodium* utiliza o interior das hemácias para reproduzir-se.

Agente Etiológico

A malária é causada por protozoários do gênero *Plasmodium*. Quatro espécies podem produzir a infecção: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium ovale*. O *P. ovale* ocorre apenas na África e, raramente, no Pacífico Ocidental. O *P. falciparum* é o que causa a malária mais grave, podendo ser fatal. O risco maior de aquisição de malária é no interior das habitações, embora a transmissão também possa ocorrer ao ar livre.

Protozoário	Tipo de malária	Ciclo (duração)
<i>Plasmodium vivax</i>	terça benigna	48 horas
<i>Plasmodium malariae</i>	Quartã	72 horas
<i>Plasmodium falciparum</i>	terça maligna (fatal)	24 a 48 horas

Transmissão

A malária, em condições naturais, é transmitida por fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles*. A transmissão é mais comum no interior das habitações, em áreas rurais e semi-rurais, mas pode ocorrer em áreas urbanas principalmente na periferia. O principal transmissor na Região Amazônica é o *Anopheles darlingi*, que tem como criadouro grandes coleções de água. O *Anopheles aquasalis*, que se prolifera em coleções de água salobra, predomina sobre o *A. darlingi* na faixa litorânea, inclusive no Rio de Janeiro. Estes mosquitos têm maior atividade durante a noite, do crepúsculo ao amanhecer.

Como as espécies de *Plasmodium* estão presentes na circulação sanguínea durante a infecção, a transmissão da malária também pode ocorrer a partir de transfusões de sangue, de transplantes de órgãos, da utilização compartilhada de seringas por usuários de drogas endovenosas ou da gestante para o filho (malária congênita) antes ou durante o parto.

Ciclo de Vida

O ciclo de vida dos plasmódios apresenta uma fase sexuada que ocorre no mosquito transmissor e duas fases assexuadas denominadas esquizogonia (com a multiplicação no hospedeiro humano) e esporogonia (com a multiplicação no mosquito). A esquizogonia inclui o ciclo que ocorre nas células do parênquima hepático (ciclo pré-eritrocítico) e o ciclo que se desenvolve nas hemácias (ciclo eritrocítico). E a esporogonia inclui o ciclo que ocorre no mosquito transmissor para a formação dos esporozoítos, a forma inoculada no sangue humano durante o repasto sanguíneo.

- **Ciclo de vida do parasita no homem**

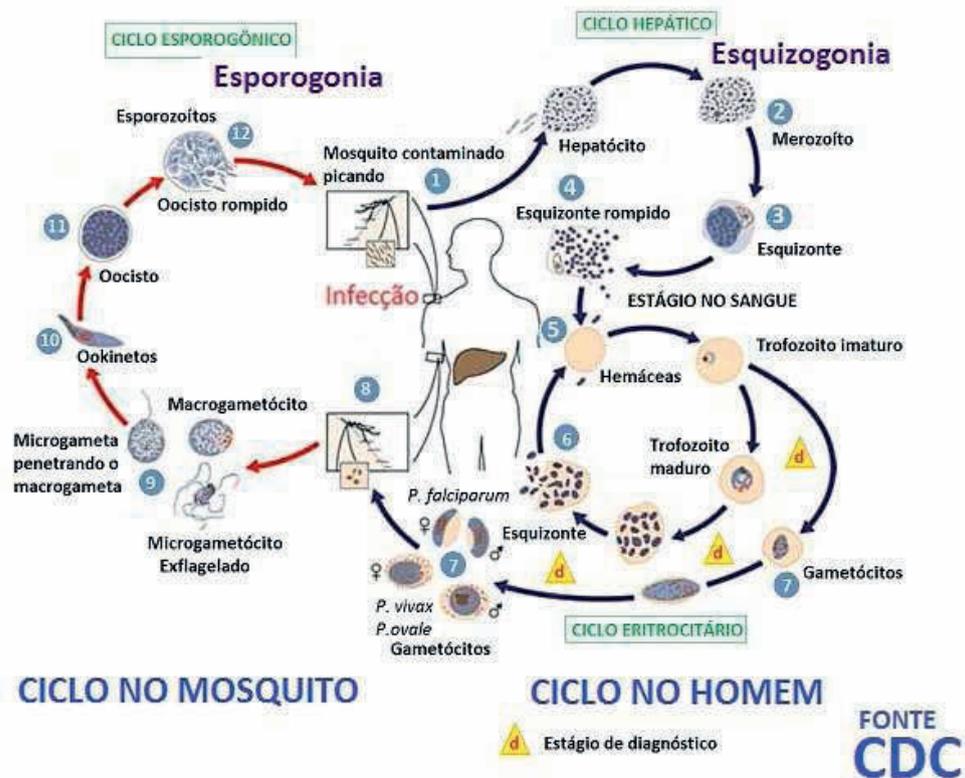
Ao picar um animal ou o homem, os mosquitos, de um modo geral, inoculam o parasita juntamente com a saliva. A forma infectante denomina-se esporozoíto, formas alongadas proveniente da esporogonia que ocorre no interior do inseto transmissor. Após a inoculação das formas infectantes, os esporozoítos ficam circulantes por um breve período de cerca de 30 minutos. Neste curto período, alguns deles são fagocitados, porém, vários deles podem alcançar o fígado e, no interior dos hepatócitos, passam por uma primeira divisão assexuada (ciclo pré-eritrocítico). Decorridos alguns dias, tendo sido produzidos alguns milhares de novos parasitas, a célula do fígado se rompe e os plasmódios têm acesso ao sangue onde invadem os glóbulos vermelhos. Novamente, se multiplicam de forma assexuada (ciclo eritrocítico), em ciclos variáveis (de 24 a 72 horas), cada parasita produzindo de 8 a 32 novos exemplares, em média e de acordo com a espécie envolvida. Depois de alguns ciclos (3 ou 4) surgem os sintomas da doença. Este intervalo que vai desde a picada infectante até o início dos sintomas é chamado de período de incubação.

O ciclo assexuado no sangue humano compreende várias formas evolutivas na seguinte sequência: trofozoíto jovem, trofozoíto maduro, esquizonte, rosácea e merozoítos. Quando os merozoítos se formam por um processo assexuado denominado esquizogonia, ocorre rompimento da hemácia e cada um deles infecta uma nova célula. O ciclo, então, é reiniciado em outra hemácia. Um ou outro parasita pode evoluir para uma forma sexuada chamada gametócito que se mantém livremente circulante, até que algum mosquito, durante o repasto sanguíneo, venha ingeri-lo.

- **Ciclo de vida do parasita no mosquito**

As fêmeas dos anofelinos necessitam de sangue em sua alimentação para o amadurecimento de seus ovos, possibilitando a ovo posição. Assim, após uma fêmea do mosquito *Anopheles* ingerir sangue de um hospedeiro humano contendo as formas sexuadas do parasita (gametócitos) inicia-se uma fase sexuada no interior de seu estômago com a fecundação e formação de um

ovo ou zigoto. Todas as outras formas evolutivas presentes no sangue humano são ingeridas pelo mosquito, mas apenas os gametócitos sobrevivem e dão sequência ao ciclo no interior do hospedeiro invertebrado. Posteriormente, o zigoto, na forma de oocineto, migra através da camada única de células do estômago do mosquito, posicionando-se entre esta e sua membrana basal. Deste modo, por esporogonia, resultam centenas de formas infectantes (esporozoítos) que migram para as glândulas salivares do inseto, as quais poderão, no momento da picada, ser inoculadas no ser humano.



Fonte: malariaportuguesa.globered.com

Patogenia

O desenvolvimento das manifestações da malária, em geral, ocorre entre 9 e 40 dias após a picada de um mosquito infectado, dependendo da espécie de *Plasmodium*. Podem, no entanto, surgir meses ou, eventualmente anos, depois da saída de uma área de transmissão de malária. As manifestações iniciais são febre, sensação de mal estar, dor de cabeça, dor

muscular, cansaço e calafrios. Nas fases iniciais, é comum que a doença seja confundida com uma virose respiratória.

A malária causada por *P. falciparum* caracteriza-se inicialmente por sintomas inespecíficos, como dores de cabeça, fadiga, febre e náuseas. Estes sintomas podem durar vários dias.

Mais tarde, caracterizam-se por acessos periódicos de calafrios e febre intensos que coincidem com a destruição maciça de hemácias e com a descarga de substâncias imunogênicas e tóxicas na corrente sanguínea ao fim de cada ciclo reprodutivo do parasita. Estas crises paroxísticas, mais freqüentes ao cair da tarde, iniciam-se com subida da temperatura até 39-40°C. São seguidas de palidez da pele e tremores violentos durante cerca de 15 minutos à uma hora. Depois cessam os tremores e seguem-se duas a seis horas de febre a 41°C, terminando em vermelhidão da pele e suores abundantes. O doente sente-se perfeitamente bem depois e até à crise seguinte, dois a três dias depois. Se a infecção for de *P. falciparum*, denominada terçã maligna, pode haver sintomas adicionais mais graves como: choque circulatório, convulsões, delírios e crises vaso-oclusivas. A morte pode ocorrer a cada crise de terçã maligna. Pode também ocorrer à chamada malária cerebral, caracterizada por oclusão de vasos sanguíneos no cérebro pelos eritrócitos infectados, causando déficits mentais e coma, seguidos de morte. Danos renais e hepáticos graves ocorrem pelas mesmas razões. As formas causadas pelas outras espécies são geralmente apenas debilitantes, ocorrendo raramente à morte.

Os intervalos entre as crises paroxísticas são diferentes conforme a espécie. Para as espécies de *P. falciparum*, *P. ovale* e *P. vivax*, o ciclo da invasão de hemácias por uma geração, multiplicação interna na célula, hemólise e invasão pela nova geração de mais hemácias dura 48 horas. Normalmente há acessos de febre violenta e tremores no dia 1, e passados 48 horas, já no dia 3, sendo classificada de terçã. A infecção pelo *P. malariae* tem ciclos de 72 horas, dando-se no dia 1, depois no dia 4, constituindo a malária quartã.

Sintomas crônicos incluem a anemia, cansaço, debilitação com redução da capacidade de trabalho e da inteligência funcional, hemorragias e infartos

de incidência muito aumentada, como infarto agudo do miocárdio e AVCs (especialmente com *P. falciparum*).

Se não diagnosticada e tratada, a terçã maligna causada pelo *P. falciparum* pode evoluir rapidamente, resultando em morte.

Epidemiologia

A malária é a doença parasitária que mais mata no mundo inteiro. Cerca de 40% da população mundial vive em áreas com risco de transmissão de malária, resultando em aproximadamente 300 milhões de pessoas infectadas no mundo a cada ano. Mais de 90% dos infectados estão em países africanos, com um número de mortes entre 1 e 1,5 milhões.

No Brasil, a existência de malária é registrada de forma esporádica. A partir da década de 1870, com o início da exploração da borracha na Região Amazônica, tornou-se um grande problema de Saúde Pública. A exploração da borracha atraiu dezenas de milhares de imigrantes provenientes do Nordeste, que foram sistematicamente dizimados pela malária.

Atualmente, a transmissão da malária no Brasil está basicamente restrita à região amazônica, além de estados como o Mato Grosso e Tocantins.

Profilaxia

O risco de malária depende do itinerário e da duração da viagem. Não existem vacinas disponíveis contra a malária. Para estar o mais protegido possível, o viajante deve estar informado sobre os riscos de aquisição da doença, empregar medidas de proteção adequadas e estar ciente que todos os métodos de prevenção podem falhar.

Uma medida é a erradicação do mosquito *Anopheles*. Ultimamente, o uso de inseticidas potentes, mas tóxicos, proibidos no ocidente, tem aumentado porque os riscos da malária são muito superiores aos do inseticida. Entretanto, deve-se lembrar que o uso de inseticidas em regiões de matas pode provocar um desequilíbrio ecológico irreversível. O uso de redes contra mosquitos é eficaz na proteção durante o sono, quando ocorre a grande maioria das infecções. Os cremes repelentes de insetos também são eficazes,

mas mais caros que as redes. A roupa deve cobrir a pele nua o mais completamente possível de dia. O mosquito não tem tanta tendência para picar o rosto ou as mãos, onde os vasos sanguíneos são menos acessíveis, quanto às pernas, os braços ou o pescoço os vasos sanguíneos são mais acessíveis.

Entretanto, a medida mais eficaz no controle da doença é, sem dúvida, o tratamento dos doentes, que representam uma importante fonte de infecção para os mosquitos. É importante lembrar que ainda não há vacina contra a malária.

Diagnóstico

- Diagnóstico Clínico

O elemento fundamental no diagnóstico clínico da malária, tanto nas áreas endêmicas como não endêmicas, é sempre pensar na possibilidade da doença. Como a distribuição geográfica da malária não é homogênea, nem mesmo nos países onde a transmissão é elevada, torna-se importante, durante o exame clínico, resgatar informações sobre a área de residência ou relato de viagens de exposição ao parasita como nas áreas endêmicas. Além disso, informações sobre transfusão de sangue, compartilhamento de agulhas em usuários de drogas injetáveis, transplante de órgãos podem sugerir a possibilidade de malária induzida.

- Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de certeza da infecção malárica só é possível pela demonstração do parasito, ou de antígenos relacionados, no sangue periférico do paciente, através dos métodos diagnósticos especificados a seguir:

- Gota espessa - É o método adotado oficialmente no Brasil para o diagnóstico da malária. Mesmo após o avanço de técnicas diagnósticas, este exame continua sendo um método simples, eficaz, de baixo custo e fácil realização. Sua técnica baseia-se na visualização do parasito através de microscopia ótica, após coloração com corante vital (azul de metileno e Giemsa), permitindo a diferenciação específica dos parasitos a partir da análise

da sua morfologia, e pelos estágios de desenvolvimento do parasito encontrados no sangue periférico.

- Esfregaço sanguíneo - Possui baixa sensibilidade (estima-se que, a gota espessa é cerca de 30 vezes mais eficiente que o esfregaço na detecção da infecção malárica). Porém, o esfregaço é o único método que permite, com facilidade e segurança, a diferenciação específica dos parasitos, a partir da análise da sua morfologia e das alterações provocadas no eritrócito infectado.

O intervalo de tempo entre a colheita de sangue e a observação ao microscópio é de cerca de 20 minutos para a distensão e de 1 hora e 20 minutos para a gota espessa.

Além desses métodos parasitológicos, é possível utilizar-se de provas sorológicas para o diagnóstico da malária tais como a Imunofluorescência Indireta, o ELISA, a aglutinação e imunocromatografia, sendo as duas primeiras as mais sensíveis e operacionalmente factíveis.

A identificação correta da espécie de *Plasmodium* infectante é fundamental para o tratamento adequado da pessoa doente. Além disto, em áreas não endêmicas, a confirmação é importante para a adoção de medidas que reduzam o risco de reintrodução da doença.

Tratamento

Diversos medicamentos estão disponíveis e a malária pode ser tratada com sucesso, especialmente quando a terapêutica é iniciada precocemente e for adequada à espécie infectante. O retardo do tratamento ou a terapêutica direcionada para a espécie de *Plasmodium* incorreta pode ter consequências graves. A malária, quando não for corretamente diagnosticada e prontamente tratada, pode evoluir com anemia, icterícia (olhos amarelados, semelhante às hepatites e à leptospirose) e, a infecção pelo *Plasmodium falciparum*, pode resultar em funcionamento inadequado de órgãos vitais (rins, pulmões e cérebro) e levar ao coma e à morte. Grávidas e crianças estão sob risco maior de desenvolver formas graves de malária.

É importante lembrar que algumas espécies tem se tornado resistente a determinados medicamentos, daí a necessidade de utilizar esquemas múltiplos de tratamento, em que se usam duas ou mais drogas.

CAPÍTULO V: TOXOPLASMOSE

Introdução

A Toxoplasmose é uma doença infecciosa causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um protozoário da classe dos esporozoários que ocorre em animais de estimação e de produção incluindo suínos, caprinos, aves, animais silvestres, cães, gatos e a maioria dos vertebrados terrestres. Nos bovinos, suínos, caprinos acarreta abortos, nascimento de fetos mal formados causando perdas econômicas.

O gato é o animal mais implicado na ocorrência da toxoplasmose. Isso porque está relacionado com a produção e eliminação dos oocistos através de suas fezes e, portanto, perpetuação da doença. Ele ingere os cistos que estão nos tecidos dos ratos, lagartixas, pássaros e baratas, e passa a eliminar nas fezes os oocistos. Estes oocistos têm que esporular no meio ambiente antes de se tornarem infectantes; este processo demora de 1 a 5 dias após a excreção, dependendo da temperatura e umidade do meio ambiente.

Agente Etiológico

O *Toxoplasma gondi* é um protozoário parasita intracelular do grupo dos Apicomplexa, como outros parasitas como o *Plasmodium*. Há pouca variação entre os toxoplasmas presentes em diferentes partes do globo, podendo-se dizer que só há praticamente uma estirpe. O toxoplasma só pode realizar o seu propósito que é reproduzir-se, se as formas excretadas nas fezes dos gatos forem ingeridas ou inaladas por outros hospedeiros. Se for ingerido por seres humanos, por exemplo, pode ocorrer reprodução assexuada do protozoário.

O *T. gondii* pode ser encontrado em vários tecidos, células e líquidos orgânicos tais como saliva, esperma, leite, etc. No gato, é encontrado no epitélio intestinal, sendo eliminado juntamente com as fezes.

Morfologia

As formas evolutivas do *T. Gondii* são:

- Oocisto: é a forma de resistência que possui uma parede bastante resistente às condições do meio ambiente. São produzidos nas células intestinais dos gatos não imunes, sendo eliminados nas fezes.
- Taquizoíto: forma encontrada na fase aguda da infecção, sendo também denominada forma proliferativa. Tem forma de uma banana ou meia lua, núcleo mais ou menos central. É encontrada nas secreções e excreções, sangue, células do Sistema Retículo Endotelial, células nervosas e musculares.
- Bradizoíto: forma encontrada na fase crônica da doença, sendo organismos de multiplicação lenta. É encontrado nos mais variados tecidos (muscular, nervoso e retina) inseridos em uma estrutura que denominamos cistos.

Transmissão

A toxoplasmose pode ser adquirida pela ingestão de alimentos contaminados, em especial carnes cruas ou mal passadas, principalmente de porco e de carneiro, e vegetais que abriguem os cistos do *Toxoplasma*. Obviamente esses animais tiveram contato com as fezes de gatos ou material contaminado por elas mesmas. Além disso, pode ser transmitida congenitamente, ou seja, da mãe para o feto através de taquizoítos que atravessam a placenta. Exceto nessa condição, não se transmite toxoplasmose de uma pessoa para outra.

Assim, podemos resumir as três principais formas de transmissão:

- Ingestão ou inalação de oocistos presentes no solo, areia, jardins, latas de lixo ou qualquer local contaminado com fezes de gato;
- Ingestão de cistos presentes em carnes cruas de suíno, ovino ou caprino;
- Através de sangue contaminado com as formas denominadas taquizoítos;

- Transplacentária durante a fase aguda ou de reagudização da infecção na mulher grávida.

Ciclo de Vida

O *T.gondii* assume diferentes formas em diferentes estágios do seu ciclo e pode apresentar duas fases: uma assexuada que ocorre nos tecidos do homem e vários hospedeiros, inclusive o gato e outra sexuada que ocorre no intestino do gato não imune.

O ciclo inicia-se pela ingestão de cistos presentes em carne (por exemplo, de porco, rato ou coelho) pelos animais como, por exemplo, o gato. O parasita replica-se assexuadamente nos enterócitos (células da mucosa intestinal) do gato, diferenciando-se alguns em formas sexuais, os gametas, por meiose. Os gametas masculinos e femininos, descendentes do mesmo parasita ou de dois diferentes, fundem-se dando origem ao oocisto. Esta é uma forma dormente, resistente e cística com cerca de 12 micrômetros. É composto de um zigoto resultante de recombinação sexual que ocorre no intestino do animal, e uma parede celular grossa. É expulso com as fezes dos animais após nove dias (cada gato expulsa mais de 500 milhões de oocistos em cada defecação).

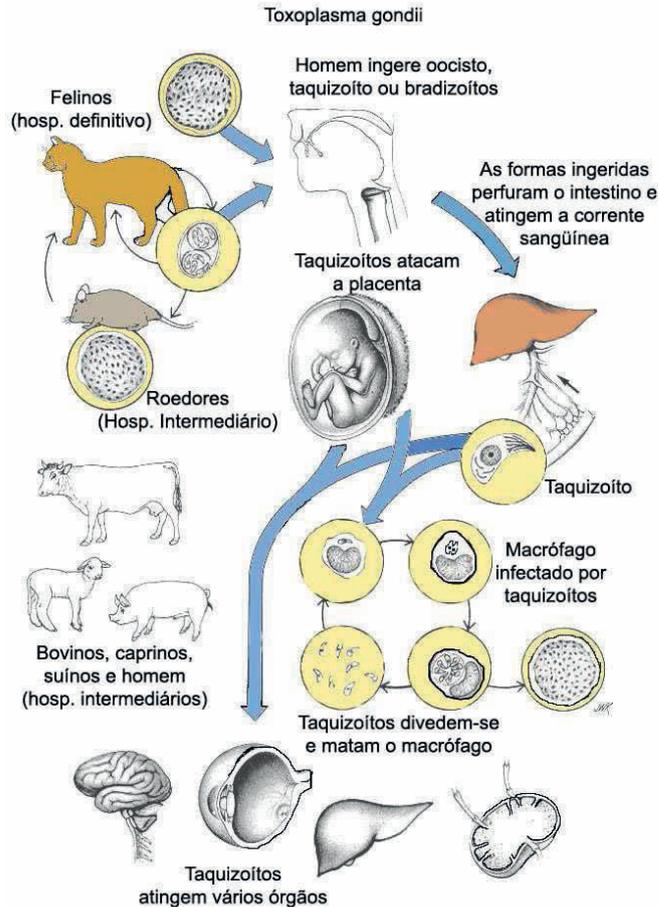
Já no exterior, o oocisto sofre divisão meiótica (esporulação) novamente após alguns dias, formando-se dois esporocistos cada um com quatro esporozoítos, uma forma altamente resistente que pode durar cinco anos em condições úmidas. Estes são ativados em taquizoítos se forem ingeridos por outro animal, chamado hospedeiro intermediário, por exemplo, um rato ou coelho que coma erva em que algum animal tenha defecado ou uma criança ou adulto que mexa com os dedos em material contaminado e depois leve à boca. Os taquizoítos multiplicam-se nas células do hospedeiro intermediário, onde algumas formas formam cistos nos tecidos. Estes cistos irão conter no seu interior formas de multiplicação lenta denominadas bradizoítos. As formas ativas, os taquizoítos, são destruídas pelo sistema imune, mas os cistos contendo bradizoítos permanecem. Se o animal for caçado e devorado por um

gato, os cistos libertam os parasitas dentro do seu intestino, infectando o novo hospedeiro.

Assim, se o homem inalar ou ingerir os oocistos eliminados nas fezes do gato ou se contaminar com sangue ou urina contendo outras formas infectantes denominadas taquizoítos poderá desenvolver a fase assexuada da doença.

Acredita-se que é em função da resposta imunológica que os taquizoítos assumem a forma de bradizoítos encistados nos tecidos para se proteger. A ocorrência das duas formas auxilia na distinção das fases aguda e crônica da doença.

A fase aguda caracteriza-se pela presença de taquizoítos principalmente na corrente sanguínea e a fase crônica, pela presença dos cistos contendo os bradizoítos nos tecidos.



Fonte: www.misodor.com

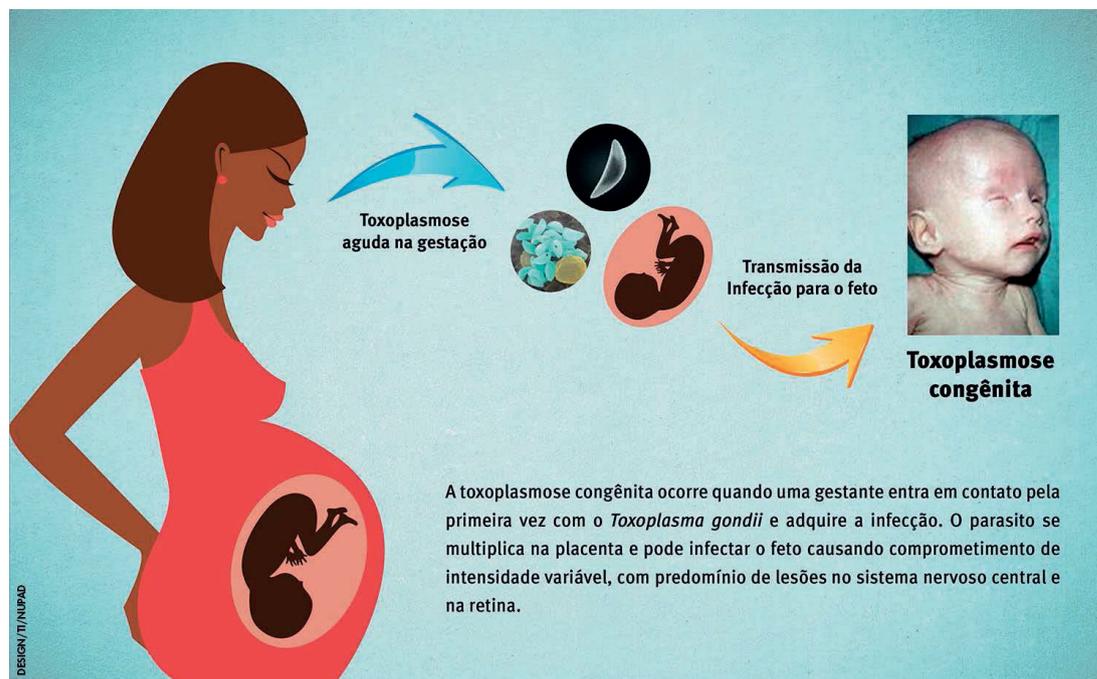
Patogenia

O taquizoíta é a forma ativa no homem e nos hospedeiros intermediários. Invade as células humanas e lá se reproduz por mitose, principalmente nos macrófagos, células musculares e cerebrais. Após ruptura da célula, os parasitas descendentes saem para o exterior e invadem novas células. Na maioria dos casos o sistema imune entra em ação e destrói todos os parasitas livres, contudo não detecta aqueles poucos que encistaram na forma de bradizoítos. Os indivíduos com sistema imune saudável são geralmente assintomáticos. Em indivíduos com AIDS, a infecção é grave, com toxoplasmose não controlada e cerebral. Se a infecção se der durante a gravidez, os parasitas podem atravessar a placenta e infectar o feto, o que pode levar a abortos e a malformações em um terço dos casos. As principais malformações são hidrocefalia, neuropatias diversas como retardo mental e oftalmopatias na criança, muitas vezes podendo levar à cegueira. Porém, se a infecção tiver sido antes do início da gravidez não há qualquer perigo, mesmo que existam cistos. A menos que ocorra uma reagudização da infecção com liberação de parasitas pelos cistos. Daí a importância de exames pré-natais que possam avaliar a ocorrência de uma possível reagudização da doença.

Os cistos são aqueles parasitas que aleatoriamente assumiram a forma de bradizoíta, e em vez de se reproduzir rapidamente, formaram antes estruturas derivadas da célula que infectou forte e resistente, cheia de líquido e onde o parasita se reproduz lentamente. Os cistos crescem e podem afetar negativamente as estruturas em que se situam mais frequentemente os músculos, o cérebro, o coração ou a retina, podendo levar a alterações neurológicas, problemas cardíacos ou cegueira, mas geralmente sem efeitos nefastos. Os cistos permanecem viáveis por muitos anos, mas não se disseminam devido à imunidade eficaz do paciente portador. Se o indivíduo desenvolver imunodeficiência, como após transplantes de órgãos, doenças autoimunes ou na AIDS, as formas ativas (taquizoítos) podem ser reativadas a partir dos cistos, dando origem a problemas sérios, com sintomas como exantemas, pneumonia, meningoencefalite com danos no cérebro e miocardite, com mortalidade alta.

A apresentação clínica da Toxoplasmose, portanto, depende do tipo de infecção e das condições imunológicas do hospedeiro. A infecção pelo *T. gondii* é sintomática em apenas 10% dos indivíduos imunocompetentes, nos quais a manifestação mais frequente é uma linfadenopatia generalizada, com gânglios aumentados, bem-definidos, indolores e não supurativos. No entanto, os pacientes podem desenvolver também febre de curso insidioso, sintomas gerais, hepatoesplenomegalia e *rash* cutâneo eventual, com duração de até dois meses. A linfadenopatia por *Toxoplasma* é autolimitada, tornando-se latente e assintomática com o tempo.

O risco de infecção congênita pelo protozoário é praticamente restrito à primoinfecção materna durante a gravidez e aumenta com a idade gestacional. No entanto, a gravidade da infecção é tanto maior quanto mais cedo à mãe for infectada. A transmissão do parasito é feita por via placentária. Quando no primeiro trimestre, a infecção do feto normalmente leva ao aborto ou deixa sequelas severas nos que sobrevivem. Quando a infecção se dá no terceiro trimestre, a criança normalmente nasce assintomática. Algumas crianças, no entanto, podem nascer apresentando o quadro clínico completo que inclui hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, febre, manifestações cutâneas e alterações severas do sistema nervoso central (como coriorretinite, calcificações cerebrais difusas, surdez). Microcefalia e retardo mental também podem ocorrer.



Fonte: nupad.com

A toxoplasmose em pacientes imunodeprimidos ocorre por reativação da infecção latente, principalmente em pacientes com AIDS. Sinais meníngeos, distúrbios cognitivos, distúrbios da fala, defeitos no campo visual, transtornos sensoriais, sinais cerebelares, convulsões e distúrbios do movimento ocorrem dependendo da área cerebral acometida.

Epidemiologia

A toxoplasmose existe em todo o mundo. Mais da metade da população, mesmo em países desenvolvidos, tem anticorpos específicos contra o parasita, o que significa que está ou já esteve infectada. O que não significa que tenha tido a doença, pode ter tido infecção assintomática.

A grande prevalência de toxoplasmose pode ser explicada por fatores tais como a multiplicidade de hospedeiros, as diferentes formas de contaminação, a presença de gatos infectados convivendo nos ambientes humanos e a resistência dos oocistos no meio ambiente.

Profilaxia

As mulheres grávidas devem evitar o contato com animais e carnes cruas e mal cozidas durante a gravidez. No caso dos gatos, lavar as caixas com água a ferver freqüentemente, e nunca tocadas por mãos sem luvas. Alimentar os gatos com comida enlatada e não lhes permitir caçar animais também reduz o risco.



Fonte: nupad.com

Os cuidados para evitar a toxoplasmose reforçam os hábitos de boa higiene e a ingestão de água tratada:

- Comer carne bem cozida;
- Comer frutas e verduras bem lavadas;
- Beber água tratada ou fervida;
- Beber leite fervido ou pasteurizado;
- Lavar as mãos após mexer com terra, areia ou carne crua (preferencialmente utilize luvas para essas atividades);
- Proteger os alimentos de moscas e baratas;
- Evitar limpar fezes de gatos sem as luvas.

Diagnóstico

O diagnóstico é pela sorologia, ou seja, detecção dos anticorpos específicos contra o parasita (incluindo tipos de anticorpos, como IgM, que só existem nas fases agudas).

A confirmação do diagnóstico, após história e suspeita clínica, baseia-se em estudos imunológicos. A técnica mais usada atualmente é a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) ou Enzimaimunoensaio (ELISA, MEIA) para pesquisa de anticorpos IgG e IgM. Em pacientes imunocompetentes, as infecções agudas ou recentes mostram níveis de IgM elevados, ou elevação dos títulos em amostras seriadas. Já nas infecções antigas, o nível de IgG é positivo e a IgM é negativa (ou está em títulos extremamente baixos), caracterizando a chamada "cicatriz imunológica".

Na infecção congênita inicialmente as gestantes devem realizar o teste de triagem para toxoplasmose o mais precocemente possível após o início da gestação. Esse teste deve ser repetido durante o pré-natal, caso a gestante seja suscetível, isto é, apresente testes sorológicos (IgG e IgM) não reagentes para a parasitose. Os resultados da pesquisa dos anticorpos IgM e IgG anti *Toxoplasma gondii* podem ser interpretados de acordo com quatro possibilidades:

- Gestante com infecção pregressa: (IgM não-reagente e IgG reagente);
- Gestante suscetível: (IgM não-reagente e IgG não-reagente);
- Gestante com possível infecção aguda ou falso positivo para IgM: (IgM reagente e IgG não-reagente);
- Gestante com provável toxoplasmose aguda adquirida na gestação: (IgM reagente e IgG reagente);

O sangue do cordão umbilical não é uma amostra biológica importante para averiguar infecção do feto, pois o IgM identificado pode ter origem materna.

Sendo comuns às lesões no SNC, exames de imagem como ressonância magnética e tomografia computadorizada devem se somar aos

testes sorológicos para estabelecer o diagnóstico correto.

Tratamento

Na maioria dos casos não é necessário tratamento já que o sistema imune geralmente resolve o problema. Na gravidez os esquemas mais utilizados são:

- Espiramicina

Está indicado no 1º trimestre de gestação e quando o feto não está infectado;

- Sulfadiazina, Pirimetamina e Ácido Folínico.

Está indicado no 1º trimestre de gestação e quando o feto não está infectado.

Referências Bibliográficas

- NEVES, David Pereira. Parasitologia humana. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.494 p.
- www.nupad.medicina.ufmg.br



CURSO TÉCNICO EM
ANÁLISES CLÍNICAS
ETAPA 3

MICROBIOLOGIA

Sumário

ENTEROBACTÉRIAS	97
UROCULTURA	99
COPROCULTURA.....	104
MICOLOGIA CLÍNICA.....	121

Enterobactérias

Enterobactérias correspondem aos bastonetes gram negativos que constituem, em sua maioria, a microbiota da região intestinal. Elas são capazes de fermentar glicose e são oxidases negativas. São redutoras de nitrato a nitrito e são microrganismos anaeróbios facultativos.

A família *Enterobacteriaceae* compreende cerca de 30 gêneros bacterianos distintos, com mais de uma centena de espécies. Muitos deles são grandes responsáveis por uma série de quadros infecciosos, estando eles relacionados a um elevado percentual das infecções nosocomiais (hospitalares), sendo hoje conhecidas cepas multirresistentes.

São exemplos de gêneros bacterianos causadores de infecções:

- *Escherichia sp*
- *Klebsiella sp*
- *Salmonella sp*
- *Shigella sp*
- *Yersinia sp*
- *Proteus sp*
- *Hafnia sp*
- *Citrobacter sp*
- *Morganella sp*
- *Edwarsiella sp*
- *Providencia sp*
- *Serratia sp*
- *Cedecea sp*
- Entre outras...

Dentre esses gêneros, podemos citar a *Escherichia sp* como predominante, em especial a *Escherichia coli*, que é o BGN mais prevalente na flora intestinal.

Escherichia coli

A espécie compreende cepas capazes de gerar gastroenterites e várias outras causadoras de infecções urinárias (em especial, em mulheres), meningites, pneumonias, septicemia, entre outras.

Pelo fato de ser a enterobactéria mais prevalente, sua presença em alimentos ou água pode predizer o grau de contaminação com material fecal. Logo, a pesquisa dos coliformes fecais (bactérias em forma de *E. coli*) pode traduzir o quão um ambiente ou alimentos está colonizado por bactérias que habitam as fezes.

A *E. coli* é também importantíssima na produção de medicamentos, como a insulina humana recombinante. É possível alterar a estrutura genética dessa bactéria, visando inserir genes para codificação da produção de insulina. Como a proliferação desse microrganismo é intensa, um cultivo de cepas modificadas geneticamente pode gerar produção de elevadas moléculas de insulina.

Em relação aos aspectos bioquímicos, podemos citar:

- Lactase positiva
- Motilidade positiva (na maioria das vezes)
- Malonato negativo
- Indol positivo
- Citrato negativo
- Produção negativa para H₂S
- Urease negativa
- Gás de glicose positivo
- Lisina positivo (na maioria das cepas)

Diagnóstico laboratorial das infecções por enterobactérias

A infecção por enterobactérias é caracterizada propiciando o isolamento do microrganismo em meio de cultura, observando os seguintes parâmetros: odor de crescimento, morfologia e pigmentação das colônias e, em especial, o resultado das provas bioquímicas.

Métodos alternativos compreendem reações sorológicas, como reação de soroaglutinação para verificação de cepas de *E. coli* produtoras de toxinas, e técnicas de biologia molecular, para caracterização do DNA bacteriano sob suspeita clínica.

Em alguns casos, principalmente em situações de emergências clínicas, como suspeitas de ITU (infecções do trato urinário) e meningites bacterianas, o achado morfo-tintorial ao Gram pode ser de suma importância, não para definir a espécie do agente etiológico, mas para auxiliar na conduta terapêutica emergencial, predizendo se o material biológico apresenta uma bactéria (inclusive dizendo se é gram positivo ou negativo) ou um fungo. Logo, até a definição etiológica, o paciente pode ser medicado conforme a natureza do agente presuntivo observado ao Gram.

Vale sempre lembrar que a impressão clínica do médico é de fundamental importância para definição do quadro patológico.

Urocultura

Trata-se do plantio do material biológico (urina), em meio de cultura apropriada, visando obter o possível agente etiológico do processo infeccioso. A urocultura tem valor nos seguintes casos:

- Suspeita de ITU (infecção do trato urinário)
- Controle da eficácia do tratamento com antimicrobianos
- Pacientes assintomáticos ou com sintomas subclínicos com elevado risco de desenvolvimento de ITU, como pacientes sedados (com sonda uretral) e imunossuprimidos.

- Exames de pré-natal (buscando, principalmente, buscar na microbiota normal o estreptococo -hemolítico do grupo B – *Streptococcus agalactiae* – agente importante causador de infecções neonatais).

Dentre os agentes infecciosos mais prevalentes na ITU, certamente enterobactérias merecem destaque, em especial a *Escherichia coli*, que é a enterobactéria mais prevalente. Em segundo lugar de destaque citamos o *Staphylococcus saprophyticus*.

As ITU são caracterizadas por presença de grande quantidade de leucócitos na urina (piúria), caracterizando o processo inflamatório. Vale aqui ressaltar que piúria é apenas sugestivo de processo infeccioso, pois outros quadros patológicos, como desidratação, neoplasias, lesões renais, entre outros, podem apresentar semelhante quadro.

Material Biológico

A coleta da urina deve ser feita, preferencialmente, na primeira urina matinal, desprezando-se o primeiro jato e colhendo-se o jato médio, com uma antisepsia anterior, com água e sabão. Essa medida reduz o risco de contaminação da urina com bactérias presentes na microbiota genital.

Deve-se usar frasco coletor com tampa de rosca e estéril.

Basicamente, têm-se 5 tipos de amostra de urina:

1. Urina de jato médio – é, certamente, a amostra mais empregada para urocultura, em que é feita uma higienização prévia, desprezando-se o primeiro jato, com coleta do jato posterior. Vale lembrar que, para urocultura, 2mL de urina já são suficientes, diferente do exame de urina rotina, em que o volume deve ser de aproximadamente 10 mL.
2. Amostra de qualquer jato – é a amostra obtida na coleta infantil, quando se usa o coletor urinário. Importante frisar que deve ser feita higienização prévia com água e sabão e sugere-se trocar, a cada 30 minutos, o coletor, visando minimizar contaminação com microbiota normal.

3. Urina de paciente com sonda vesical (sonda urinária) - Deve-se tomar cuidado com a cânula da sonda, que deve ser desinfetada com solução alcoólica 70% no momento da coleta.
4. Urina coletada por punção supra púbica – realizada na impossibilidade de coleta usual, devendo ser procedida por médico capacitado. É mais utilizada em crianças com idade inferior a 2 anos.
5. Urina de 1º jato – é um material importante na pesquisa de DST's, principalmente em mulheres com suspeita de gonorreia, pois são assintomáticas. Após prévia higienização com água e sabão, coletar cerca de 10mL do primeiro jato.

Após a coleta, a urina deve ser processada em até 2 horas, caso esteja em temperatura ambiente. Caso seja refrigerada (2-8° C), pode ser processada em até 24 horas.

Em alguns casos pode-se usar conservantes, como o borato de sódio, que mantém a amostra viável por até 24 horas.

Procedimento

É importante realizar a coloração pelo método de Gram na amostra para verificar a presença de um aspecto morfo-tintorial predominante, o que prediz uma possível ITU e nos auxilia na escolha dos meios de cultura adequados para o plantio. Vale frisar que é possível evidenciar alteração no número de leucócitos (presença ou ausência de piúria). Em suspeita de tuberculose renal faz-se a coloração de Ziehl-Neelsen, para verificação de BAAR.

Para realizar a cultura, temos métodos diferentes de plantio:

1. Técnica *pour-plate*, em que o meio é preparado e, antes de solidificar, coloca-se a urina do paciente. Após isso, a placa é incubada e verifica-se o crescimento ou não da bactéria.
2. Lamino-cultivo – mergulha-se a lâmina dentro do frasco de urina, colocando-a sobre a superfície do meio e incubar.
3. Semeadura semi-quantitativa em placa – certamente é a técnica mais empregada, em que homogeneiza-se a urina e, com auxílio de alças

calibradas (0,01 ou 0,001 mL), realiza-se o esgotamento do material em uma linha centra, fazendo estrias com auxílio da própria alça. Incubar e analisar o isolamento.

Meios de Cultura

Em urocultura, pelos achados epidemiológicos, em que 70% das ITU são ocasionadas por enterobactérias, é preconizado usar meios seletivos para os gram negativos. Logo, uma opção é o agar McConkey, seletivo para bactérias gram negativas. No entanto, não podemos descartar outros microrganismos, logo é interessante usar meios não seletivos, como agar sangue e agar CLED.

É preconizado utilizar o **agar CLED** no plantio de urina, pois além de não seletivo, é um meio pobre em eletrólitos, o que impede a formação do “véu de *Proteus*”, achado que prejudica o diagnóstico laboratorial. Além disso, o CLED possui em sua constituição lactose. Logo, é possível evidenciar se a bactéria isolada é produtora da enzima lactase, ocorrendo mudança de cor do meio (originalmente, tem cor verde, e se a bactéria for produtora de lactase, o meio fica amarelo). Isso é importante, principalmente para diferenciar *E. coli* de *Proteus* sp (a 1ª é lactase positiva e o *Proteus* sp lactase negativo).

Quando a suspeita envolve microrganismos fastidiosos, devem-se utilizar meios enriquecidos, como agar sangue ou agar chocolate, realizando a incubação a 37° C e em atmosfera de microaerofilia, especialmente com a jarra de extinção.

É importante ressaltar também que o resultado negativo da cultura, após 24 horas, com achados sedimentoscópicos de piúria e flora aumentada é discrepante. Assim, recomenda-se incubar por mais 24 horas, e então liberar o resultado.

Interpretação do crescimento

É importante que o crescimento demonstre isolamento bacteriano, evidenciando-se apenas um tipo morfológico de colônia. As ITU não ocorrem por associação de patógenos, usualmente. Logo, aparecimento de 2 ou 3 tipos distintos de colônias sugere contaminação da amostra. Assim, não conseguimos isolar o patógeno, o que irá demandar nova coleta, com maiores critérios de antisepsia.

Ao se utilizar alças calibradas no plantio, podemos fazer uma projeção quantitativa:

- Alça de 0,001mL (1 μ L) – 1 colônia= 1000 UFC/mL de urina
- Alça de 0,01mL (10 μ L) – 1 colônia= 100 UFC/mL de urina

UFC= Unidades formadoras de colônias

Com o crescimento e isolamento bacteriano podemos observar outros aspectos, como forma e consistência da colônia, odor pós-crescimento, coloração da colônia, alteração de cor do meio, hemólise, entre outros. Todos esses fatores contribuem para um pressuposto diagnóstico da espécie. O diagnóstico final é viável após realização das provas bioquímicas. Nos casos de enterobactérias, sugere-se, após isolamento em meio de cultura, usar o meio Rugai modificado, que contém substratos para visualização de 9 provas bioquímicas distintas. Uma grande vantagem é o baixo custo dessa prova. Já uma limitação é a grande dificuldade de leitura das 9 provas, o que demanda intenso treinamento do técnico de patologia clínica. As 9 provas são: indol, sacarose, fenilalanina (LTD), fermentação de glicose, H₂S, ureia, gás de glicose, lisina e motilidade.

Em relação ao aspecto quantitativo, a presença de 100.000 UFC/mL de urina, somado à piúria, é sugestivo de ITU. Quando temos uma quantidade inferior, deve-se ter cuidado ao interpretar o caso, pois se pode tratar de um caso de bacteriúria, com elevação da microbiota na urina.

Logo, os dados da cultura quantitativa, do exame de urina rotina e os dados clínicos devem ser correlacionados, para chegar a um diagnóstico.

Uma prova bioquímica que merece destaque, em termos práticos, é a prova do Citrato de Simmons, que serve de parâmetro para diferenciação de *Escherichia* sp para *Klebsiella* sp. A diferenciação é de extrema importância ao médico que irá conduzir à terapêutica, pois se sabe que a *Klebsiella* sp tem capacidade de desenvolver resistência antimicrobiana via produção de β -lactamase, o que demanda medicamentos mais específicos, como carbapenêmicos e inibidores de β -lactamase. Para averiguar essa situação, realiza-se o antibiograma, usando-se de artifícios para verificar se a cepa produz ou não a β -lactamase.

Coprocultura

Os quadros diarreicos podem ter distintas etiologias. As disenterias podem ser causadas por microrganismos, como bactérias, fungo e vírus, por protozoários (amebíase, giardíase,...), por helmintos (ascaridíase, estrongiloidíase,...), por uso de medicamentos, ingestão de alimentos gordurosos, quadros de ansiedade, carcinomas intestinais, entre outros.

Logo, compete ao médico realizar o diagnóstico diferencial, para conduzir a melhor terapêutica.

O laboratório de análises clínicas mostra-se importante para elucidação, principalmente se o quadro for infeccioso.

Dentre os vários fatores que predis põem gastroenterites, as bactérias são importantes agentes desencadeadores.

A coprocultura consiste no plantio de material biológico (fezes) em meios apropriados, visando isolamento bacteriano e identificação do agente.

Dentre os principais agentes bacterianos causadores de gastroenterites, alguns merecem destaque:

- Alguns sorotipos de *Escherichia coli*, como ETEC, EPEC, EIEC, EHEC e EAEC.
- *Salmonella* sp
- *Shigella* sp
- *Campylobacter jejuni*
- *Yersinia enterocolytica*

- *Vibrio cholerae*
- Entre outros.

Cada uma das bactérias citadas possui um mecanismo de patogenicidade, geralmente via produção de toxina, capacidade de invasão do tecido de revestimento intestinal e aderência à mucosa, com comprometimento da reabsorção de nutrientes na luz intestinal.

De acordo com os sinais e sintomas clínicos, o médico pode levantar suas suspeitas. Alguns parâmetros são analisados, como: consistência das fezes (aquosas ou pastosas), número de evacuações, êmese, febre, grau de desidratação, tempo de início dos sintomas (após ingerir um alimento suspeito e os sintomas surgirem após poucas horas, há suspeita de bactéria produtora de toxinas, pois na invasão tecidual os sintomas surgem após 48 horas), leucocitose (ou presença de grande número de leucócitos após coloração das fezes pelo Gram) e aspecto muco-sanguinolento das fezes.

Material Biológico

É importante que o material fecal seja coletado antes do uso da antibioticoterapia, no intuito de se evitar liberação de resultados falso-negativos. Assim, é importante perguntar ao paciente se usou algum remédio antes de procurar o atendimento.

A amostra deve ser acondicionada, preferencialmente, em frasco com tampa rosqueada, sendo esse material entregue ao laboratório em até 2 horas. Importante frisar para não acondicionar o material em geladeira, sendo o mesmo mantido em temperatura ambiente.

Algumas bactérias, como a *Shigella* sp, são extremamente termo sensíveis e não resistem se as fezes forem coletadas sem conservantes (meios de transporte).

Quando as fezes são acondicionadas em frascos com meio de transporte, elas podem ser acondicionadas em geladeira (2 a 8° C) por 24 horas. Os meios são:

- Glicerina tamponada
- Meio Carry-Blair

Amostras sem conservante, colhidas por tempo superior a 2 horas, fezes coletadas em fralda ou misturadas à urina devem ser descartadas, sendo necessária nova coleta.

Meios de Cultura

Na coprocultura, os agentes de interesse clínico são, em sua maioria, BGN. Logo, é importante uso de meios seletivos para o isolamento desses. Os de escolha são:

- Agar McConkey – seletivo para BGN e possui como substrato a lactose, o que permite evidenciar se a colônia isolada é produtora de lactase.
- Agar *Salmonella* – *Shigella* (Agar S-S) – permite o isolamento e crescimento apenas de *Shigella* sp e *Salmonella* sp, impedindo o crescimento de outras enterobactérias da microbiota normal. Contém indicador para avaliar produção bacteriana de H₂S.

Existem outros meios de uso laboratorial. Porém, para estudo, serão descritos apenas os meios acima relatados, que são os mais utilizados na prática clínica. A seguir, citamos outros meios:

- Meio EMB – Eosine Methylene Blue
- Meio HE – agar Hektoen-Enteric
- Meio VB – agar verde-brilhante
- Agar Campy

Procedimento técnico para realização da coprocultura

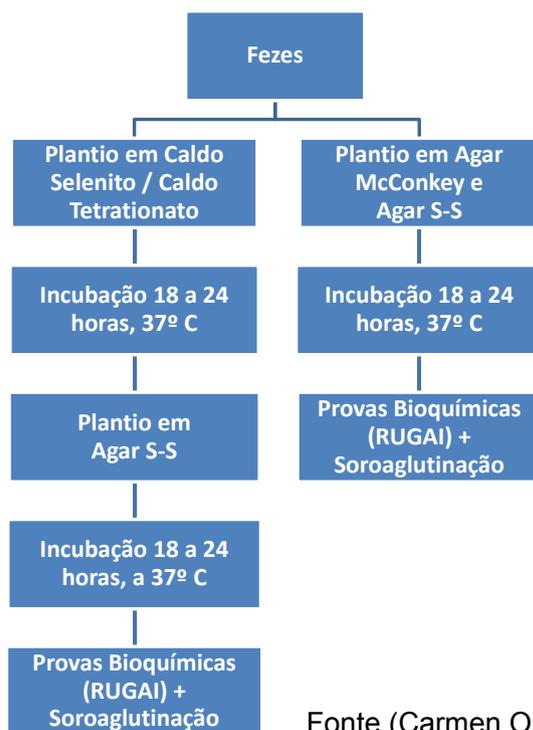
É comum, para os outros espécimes biológicos, a coloração prévia do material pelo método de Gram para determinação do aspecto morfo-tintorial presente. Como estamos falando de fezes, o gram normalmente apresentará tipos morfo-tinturiais, pois as fezes são normalmente dotadas de microbiota normal. Então, pergunta-se: há valor diagnóstico no Gram de fezes? A resposta é sim. O Gram pode demonstrar prevalência de certos tipos morfo-tinturiais, além de poder evidenciar presença de leveduras e aumento dos leucócitos, caracterizando o processo inflamatório.

Faz-se o plantio do material biológico em Agar McConkey e Agar S-S, deixando-se incubar a 37° C por 24 horas.

Também, em paralelo, preconiza-se o plantio do material em meios líquidos denominados meios de enriquecimento. Isso permite a viabilidade das bactérias presentes nas fezes (principalmente *Shigella* sp e *Salmonella* sp), garantindo o crescimento bacteriano quando realizada a sementeira em meios sólidos (Agar S-S). Os meios de enriquecimento usados são:

- Caldo Selenito
- Caldo Tetrionato

O meio de enriquecimento é colocado de 12 a 24 horas a 37° C, e logo após realiza-se plantio em meios sólidos. Incuba-se por 24 horas, a 37° C.



Fonte (Carmen Oplustil et al)

Caso ocorra isolamento, as colônias devem ser submetidas a uma bateria de provas bioquímicas, que podem ser isoladas ou conjuntas, como no meio RUGAI modificado.

Como auxílio diagnóstico complementar são realizadas as provas de soro aglutinação, que caracterizam toxinas e antígenos liberados pelo micro organismo.

Interpretação de Crescimento e Isolamento

Agar McConkey

O Agar McConkey propicia isolamento de BGN (contém antimicrobianos que inibem os CGP), verificando a capacidade de fermentação ou não da lactose pela enzima lactase bacteriana.

As colônias de coloração rósea são as fermentadoras de lactose, propriedade de enterobactérias, como *Escherichia coli*. Sabe-se que *E. coli* pertence à microbiota normal; porém, em se tratando de sorotipos de *E. coli*, temos cepas capazes de gerar gastroenterites. Para saber ao certo se estamos falando desses sorotipos, temos de recorrer às provas de soro aglutinação. Os sorotipos de *E. coli* estão abaixo listados:

- EPEC (enteropatogênica)
- EIEC (enteroinvasora)
- EHEC (entero-hemorrágica)
- EAEC (enteroaderente)
- ETEC (enterotoxigênica)

Já as colônias transparentes correspondem às bactérias não fermentadoras de lactose (ou seja, lactase negativa). Esse achado permite concluir que, caso a enterocolite seja de etiologia bacteriana, ela não é causada por sorotipos de *E. coli*, devendo ser pesquisado isolamento em agar S-S (tanto a *Salmonella* sp quanto a *Shigella* sp são lactase negativos).

Agar S-S

É usado como meio seletivo e diferencial para *Salmonella* sp e *Shigella* sp. Na prática laboratorial, mesmo sendo altamente seletivo, pode-se constatar crescimento de enterobactérias, como *Escherichia coli* e *Klebsiella* sp.

Esse meio possui substratos que permitem evidenciar se a colônia isolada tem a propriedade de sintetizar H₂S (sulfeto de hidrogênio).

Sua cor original tende a vermelho-alaranjada.

Quando se propicia o isolamento de colônias transparentes, temos a suspeita de *Shigella* sp (o que deve ser confirmado com outras provas bioquímicas e soro aglutinação). Isso porque *Shigella* sp não produz H₂S.

Já o isolamento de colônias de aspecto negro é sugestivo de *Salmonella* sp (produtora de H₂S). Da mesma forma, a confirmação é baseada em outras provas bioquímicas e em testes de soro aglutinação.

Colônias pequenas rosadas são sugestivas de enterobactérias, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp e *Proteus* sp.

A seguir está esquematizada uma tabela contendo os principais resultados de provas bioquímicas relativas a bactérias causadoras de gastroenterites.

Espécie	Indol	H₂S	Lisina	Motilidade	Lactase
<i>E. coli</i> (sorotipo)	+	-	+	+/-	+
<i>Salmonella</i> sp	-	+	+	+	-
<i>Shigella</i> sp	-	-	-	-	-

OBS: Já foram relatadas em literatura científica cepas de *Salmonella* sp capazes de sintetizar lactase. Porém, como regra geral, é tida como LAC -.

Reportando os resultados

Dentre as bactérias de maior prevalência como agentes de gastroenterites destacamos os sorotipos de *E. coli*, a *Salmonella* sp e a *Shigella* sp. Logo, diante de um resultado negativo de coprocultura, devemos dizer que para esses agentes, a pesquisa foi negativa.

Em caso de isolamento, basta citar o micro-organismo.

É possível, em casos mais específicos, a pesquisa de agentes como *Yersinia* sp, *Campylobacter* sp e *Vibrio cholerae*. Estes são pesquisados quando o médico relata no pedido a suspeita clínica, demandando outros meios de cultura, além do Agar McConkey e Agar S-S.

Tratamento

A maioria das gastroenterites de etiologia bacteriana são autolimitadas. Isso significa que a cura pode ser espontânea, dependendo da ação do sistema imunológico. Para evitar incômodo ao paciente, preconiza-se um tratamento suporte, baseado em terapia de reidratação oral (uso de soro caseiro). Isso permite manter o paciente hidratado e evita a depleção de eletrólitos, como o sódio, o que poderia causar crises hipotensivas, agravamento diarreico e fraqueza muscular.

Além disso, há medicações auxiliares ao suporte de reidratação: probióticos, que contêm micro-organismos vivos usados para reposição da microbiota normal, como *Lactobacillus* e *Saccharomyces boulardii*. Isso porque na diarreia perdemos grande parte de nossa microbiota (flora) intestinal, o que dificulta o equilíbrio intestinal e a formação fecal.

A própria Disenteria Bacilar Clássica, quadro sintomático com diarreia muco-sanguinolenta, causada por *Shigella* sp, é tido como autolimitada.

Há situações que demandam uso de antimicrobianos, como pacientes debilitados imunologicamente, crianças, idosos e em caso de infecção por *Salmonella typhi* (febre tifoide), em que a bactéria deixa o trato intestinal e ganha a circulação sanguínea, causando bacteremia, o que pode ser perigoso.

Nesses casos, a terapêutica tem de ser bem empregada, pois devem ser usados antimicrobianos de menor espectro de ação, visando menor comprometimento da microbiota normal e menor possibilidade de seleção de cepas resistentes.

Atualmente, a *Salmonella* sp é tida como resistente a tratamentos convencionais como ampicilina e sulfametoxazol-trimetropim, demandando uso de fármacos como cefalosporinas de 3ª geração (ceftriaxona) e quinolonas, como o ciprofloxacino e ofloxacino.

Antibiograma (Teste de Sensibilidade à Antimicrobianos – TSA)

A principal missão do laboratório de microbiologia clínica é propiciar a identificação da bactéria causadora do processo infeccioso. Essa identificação visa, na prática, orientar o médico a aplicar tratamento antimicrobiano específico para aquele agente etiológico.

Nas últimas décadas, com o advento de novos antimicrobianos, a terapêutica tornou-se mais fácil, pois muitos dos fármacos são de espectro ampliado, sendo empregados tanto para bactérias aeróbias gram negativas e positivas, quanto para os anaeróbios.

Assim, o tratamento empírico ficou mais efetivo, pois os fármacos empregados conseguiam eliminar o agente infeccioso, independente de conhecê-lo.

Esses acontecimentos contribuem, atualmente, para agravar um problema extremamente delicado: a seleção natural de cepas bacterianas resistentes.

Podemos citar, como exemplo, cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (não respondem ao tratamento convencional com oxacilina, demandando uso de vancomicina), cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de β -lactamase (refratárias ao tratamento com penicilinas sintéticas, como a amoxicilina), entre outras.

A resistência bacteriana sempre foi algo previsível. Porém, o uso indiscriminado e, às vezes, irresponsável de antimicrobianos, em especial os de amplo espectro, possibilita a emergência das cepas multiresistentes, que

causam preocupação: *Staphylococcus aureus* metilina resistentes (MRSA) refratários à vancomicina, cepas de *Klebsiella pneumoniae* multiresistentes, sensíveis apenas à carbapenêmicos, como imipenem e meropenem, *Pseudomonas aeruginosa* resistente à amino glicosídeos (algumas, susceptíveis apenas à polimixina), *Escherichia coli* resistente às cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, entre outras.

Estima-se que, se a emergência de cepas resistentes continuarem nessa escala, logo o arsenal terapêutico poderá não resolver as infecções.

Os hospitais possuem em seu *staff* uma comissão multidisciplinar para orientar e educar continuamente os médicos prescritores, visando minimizar a resistência bacteriana. Tratam-se das CCIH's (Comissão para Controle das Infecções Hospitalares).

Assim, cabe ao laboratório de microbiologia clínica uma importante missão nesse processo: permitir não só a identificação do agente etiológico, mas também pesquisar o perfil de resistência e susceptibilidade dessas bactérias frente a uma série de antimicrobianos.

Por isso, realiza-se o antibiograma ou teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA).

Antibiograma (TSA)

Em primeiro lugar, o TSA deve ser realizado apenas em casos de isolamento de uma bactéria após o plantio do material biológico em meio de cultura. Não ocorrendo o isolamento, não é possível identificar qual o agente infeccioso em questão.

Sendo assim, podemos listar alguns fatores que determinam a realização do antibiograma:

- Quando se isola um micro-organismo de um local no qual ele já faz parte da microbiota, não se faz o TSA. Exemplo é *Staphylococcus coagulase* negativo isolado na mucosa nasal.
- Nos casos em que a bactéria isolada não tem a capacidade genética de desenvolver resistência a certos fármacos. Exemplo disso é o

estreptococo β -hemolítico do grupo A (*Streptococcus pyogenes*), sensível à penicilina G e aos betalactâmicos.

Como ocorre a seleção dos antimicrobianos a serem testados?

Todas as orientações sobre os antimicrobianos mais adequados para cada grupo de micro-organismos infecciosos (aeróbios, anaeróbios facultativos e bactérias fastidiosas) são publicadas e atualizadas anualmente pela CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*), que é um órgão internacional responsável pela padronização dos antibiogramas.

Compete ao laboratório de microbiologia clínica seguir os padrões preconizados pela CLSI, testar e reportar os antimicrobianos mais apropriados para o micro-organismo isolado em cultura.

A padronização se dá via controle da qualidade laboratorial, em que a monitoração da precisão e exatidão dos procedimentos são monitorados usando cepas padrões ATCC (*American Type Culture Collection*).

Essas cepas bacterianas são compradas pelo laboratório, sendo a CLSI o fornecedor das cepas. Já os discos contendo antimicrobianos são comprados de fornecedores internos.

O laboratório de microbiologia clínica utiliza essas cepas padrão para verificar se o disco que utiliza está em boas condições, possibilitando obtenção de resultados confiáveis e reprodutíveis.

No quadro abaixo temos o exemplo de algumas cepas ATCC, usadas no controle de qualidade.

Bactéria	Característica
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Cepa betalactamase negativa para controle dos discos usados para perfil de enterobactérias
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	Cepa utilizada para controle dos discos usados na detecção de ESBL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cepa betalactamase negativa para controle dos discos usados para avaliar os CGP
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	Cepa betalactamase positiva para controle dos discos betalactâmicos com inibidores da β -lactamase
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Controle de discos para pneumococo

Em relação aos discos de antimicrobianos, os mesmos são feitos de papel filtro impregnado com um dado antimicrobiano. São armazenados em frasco fechado com sílica, em ambiente refrigerado (2 a 8° C).

Abaixo temos uma tabela com alguns fármacos analisados.

Classe do Antimicrobiano	Principais Fármacos
Penicilinas	Penicilina G, Amoxicilina, Ampicilina, meticilina, oxacilina.
Cefalosporina 1ª geração	Cefalotina, Cefalexina, Cefazolina, Cefadroxil.
Cefalosporina 3ª geração	Ceftazidima, Ceftriaxona
Fluorquinolonas	Ciprofloxacino, Norfloxacino, Levofloxacino, Gatifloxacino.
Glicopeptídios	Vancomicina, Teicoplanina
Inibidores do ácido fólico	Sulfametoxazol-trimetropima
Macrolídeos	Eritromicina, Azitromicina
Carbapenêmicos	Imipenem, Meropenem

Métodos para realização do TSA

Temos, basicamente, 3 métodos para realização do TSA:

- Método da Difusão do Disco (Método Kirby-Bauer)
- Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM ou MIC)
- E-test[®]

Os dois últimos métodos são tidos como quantitativos, podendo determinar não apenas a questão de susceptibilidade da bactéria ao fármaco, mas também quantifica a menor concentração necessária para eliminar a bactéria. No entanto, são métodos trabalhosos e muito caros.

Assim, preconiza-se, no geral, o uso de um método qualitativo, tecnicamente simples e barato. O método de difusão do disco torna-se o método de escolha para realização do TSA no laboratório clínico.

Método de Difusão em Disco (Método de Kirby-Bauer)

É um método qualitativo, em que o micro-organismo isolado será classificado como sensível intermediário ou resistente a um grupo de fármacos,

previamente selecionados de acordo com a espécie isolada e a padronização da CLSI.

O baixo custo e a facilidade operacional tornam esse método como de escolha para realização do TSA.

Meio de Cultura utilizado

O meio de escolha é o Agar Mueller-Hinton. Abaixo, seguem os motivos da escolha desse meio.

- Reprodutibilidade aceitável
- Crescimento satisfatório da maioria dos patógenos não fastidiosos
- Vasta experiência prática e científica acumulada

Quando se isola uma bactéria fastidiosa, algumas alterações devem ser processadas no Agar Mueller-Hinton. As modificações têm de ser feitas de acordo com o micro-organismo:

- *Streptococcus pneumoniae* – Usar o Agar Mueller-Hinton suplementado com sangue de carneiro desfibrinado a 5%. A incubação deve ser a 37° C em ambiente com saturação de gás carbônico a 10% (jarra de microaerofilia)
- *Haemophilus* sp – Usar meio *Haemophilus* test médium (HTM), incubado 18 horas em estufa 37° C com ambiente com saturação 10% de gás carbônico.
- *Neisseria* sp – usar Agar Thayer-Martin, em ambiente microaerofilia (10% de gás carbônico), a 37° C por 24 horas.

Preparo do Inoculo

Um dos principais eventos no preparo do TSA é a padronização do inoculo, ou seja, a definição macroscópica da quantidade de bactérias que serão plantadas no agar Mueller-Hinton.

Para o preparo do inóculo, seleciona-se de 3 a 5 colônias bem isoladas e com mesmo aspecto morfológico. Transferi-las, com auxílio de uma alça bacteriológica, para um tubo de ensaio contendo 4 a 5mL de caldo nutriente (caldo tripticase soja) ou salina estéril.

Caso use o caldo tripticase soja, incuba-lo a 37° C por aproximadamente 2 horas até obter suspensão que atinja a escala de 0,5 McFarland, usando cartão de Wickerham (essa escala de 0,5 corresponde ao grau de turbidez que dificulta a visualização dos riscos negros do cartão).

Caso a opção seja a salina estéril, ir pescando uma série de colônias até obtenção da escala 0,5 McFarland no tubo de ensaio.

Para ambos os casos, caso extrapole a escala 0,5 McFarland, basta diluir a suspensão com salina estéril, até turbidez almejada.

O inóculo trata-se, portanto, de uma suspensão de colônias isoladas para plantio em Agar Mueller-Hinton, com turbidez próxima à escala de 0,5 McFarland.

Inoculação das Placas

Após 15 minutos da obtenção do inóculo, um *swab* de algodão estéril é umedecido na suspensão. Roda-se o *swab* algumas vezes, pressionando-o contra a parede do tubo acima do nível do líquido, visando remover o excesso da suspensão.

Inocula-se a superfície seca da placa de Mueller-Hinton por estriamento (3 vezes, rodando a placa 60° a cada vez) para assegurar a distribuição uniforme do inóculo. Ao final deve-se inocular a borda do agar.

É importante que a placa permaneça destampada (semiaberta) por 3 a 5 minutos para permitir que o excesso de umidade da superfície seja absorvida antes da aplicação dos discos.

Vale lembrar que deve ser evitado o inóculo muito denso. Deve-se evitar inóculos não diluídos provenientes de crescimento *overnight* ou inóculos não padronizados.

Aplicação dos discos nas placas inoculadas

Deve-se aplicar a bateria de discos contendo antimicrobianos sobre a superfície da placa inoculada. Cada disco deve ser pressionado contra a superfície para assegurar contato completo. Esses discos devem ser distribuídos uniformemente pela placa, de modo que não haja menos de 24 mm de centro a centro. Geralmente, não se coloca mais de 12 discos em uma placa de Petri de 150 mm e não mais de 5 discos em uma placa de 90 mm.

Como os fármacos se difundem imediatamente, um disco não deve ser recolocado uma vez que tenha tido contato com a superfície.

As placas, depois de colocados os discos, serão invertidas, aguarda-se 15 minutos e realiza-se a incubação a 37° C por 24 horas. Com exceção dos micro-organismos fastidiosos, as placas não devem ser incubadas em atmosfera rica em gás carbônico, pois os halos de interpretação foram desenvolvidos em ar atmosférico, sendo que a alta concentração de gás carbônico altera significativamente os halos de alguns fármacos.

Leitura das placas

Após 18 a 24 horas de incubação, examinar a placa. Nas placas corretamente estriadas com o inóculo há um crescimento confluyente com halos de inibição uniformemente circulares. Caso haja colônias individuais aparentes, temos um inóculo diluído demais, devendo ser refeito.

Os diâmetros das zonas de inibição completa (vistas a olho nu) são medidas com auxílio de régua ou paquímetro.

A medida dos halos de inibição deve ser feita em mm, sempre se avaliando a medida com a placa invertida. As placas devem ser observadas sobre um fundo preto opaco iluminado com luz refletida.

No caso de testagem de *Staphylococcus* sp ou *Enterococcus* sp, aguardar 24 horas de incubação para realizar a leitura de vancomicina e oxacilina (averiguação de possibilidade de MRSA e MRSA resistente à vancomicina). Os outros agentes podem ser lidos entre 16 e 18 horas.

Atenção: qualquer crescimento dentro do halo de inibição é indicativo de resistência (porém, pode ser contaminação da placa).

Os tamanhos dos halos de inibição são interpretados de acordo com as tabelas dos documentos da CLSI, sendo os micro-organismos relatados como sensíveis (S), intermediários (I) ou resistentes (R) aos agentes farmacológicos testados.

Interpretação dos Resultados

O diâmetro do halo de inibição, em milímetros, determina a categoria em que o fármaco se insere e deve ser comparado ao fornecido pelas tabelas da CLSI antes de reportar no resultado final.

- **Sensível:** a infecção devida a uma cepa pode ser apropriadamente tratada com a dosagem do agente antimicrobiano recomendada para aquele tipo de infecção e espécie infectante, a menos que haja alguma contraindicação, como reação de hipersensibilidade (anafilaxia) e efeito adverso do fármaco, o que prejudicaria o paciente.
- **Intermediário:** inclui isolados com MIC que se aproximam dos níveis sanguíneos e tissulares usuais de agentes antimicrobianos e para os quais as taxas de resposta podem ser inferiores aos dos isolados sensíveis. Além disso, implica em eficácia clínica nos sítios corporais onde as drogas são concentradas fisiologicamente ou quando doses maiores que a habitual podem ser usadas (exemplo é a norfloxacin e ampicilina, que por terem excreção renal, concentram-se mais na urina, sendo mais eficazes em ITU).
- **Resistentes:** as cepas resistentes são inibidas pela concentração sistêmica normalmente alcançável pelo agente quando se usa esquemas terapêuticos habituais ou quando seus halos caem dentro da área em que mecanismos de resistência são roáveis.

É importante salientar que algumas bactérias possuem mecanismos específicos de resistência que as caracterizam, sendo inclusive auxiliares na

sua identificação. A esse mecanismo de resistência denominamos resistência intrínseca.

A tabela a seguir denota essa resistência intrínseca.

Espécie bacteriana	Resistência intrínseca à:
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Ampicilina
<i>Citrobacter freundii</i>	Ampicilina, cefalosporinas de 1ª geração.
<i>Edwarsiella tarda</i>	Colistina
<i>Enterobacter</i> sp	Ampicilina, cefalosporinas de 1ª geração e betalactâmicos+inibidores da β -lactamase.
<i>Hafnia alvei</i>	Ampicilina, cefalotina
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ampicilina
<i>Proteus vulgaris</i>	Polimixina, ampicilina, nitrofurantoína, tetraciclina.
<i>Morganella morganii</i>	Polimixina, cefalotina, ampicilina.
<i>Providencia rettgeri</i>	Polimixina, ampicilina, cefalotina, tetraciclina, nitrofurantoína.
<i>Serratia marcescens</i>	Polimixina, ampicilina, cefalotina, tetraciclina, nitrofurantoína.

FONTE: OPLUSTIL et al, 2004

Alguns resultados devem ser criteriosamente avaliados antes de serem liberados devido à ineficiência *in vivo* do agente antimicrobiano. Ou seja, clinicamente esse fármaco é ineficaz, embora o perfil de sensibilidade *in vitro* denote sensível. Esses resultados devem ser reportados ao médico como resistente, no intuito de não comprometer o tratamento clínico.

Bactéria	Reportar como Resistente à:
<i>Salmonella / Shigella</i>	Aminoglicosídeos e cefalosporinas de 1ª e 2ª gerações
<i>Staphylococcus</i> sp resistente à oxacilina	Beta-lactâmicos e carbapenens (imipenem, meropenem).
<i>Enterococcus</i> sp	Cefalosporinas e aminoglicosídeos
<i>Listeria</i> sp	Cefalosporinas

FONTE: OPLUSTIL et al, 2004

A seguinte tabela relata os casos em que deverá, obrigatoriamente, ser feita a revisão do antibiograma, pois são achados incomuns e podem traduzir cepas de resistência extremamente perigosa e preocupante.

Cepa	Resistência à:
<i>Staphylococcus</i> sp	Clindamicina e Vancomicina
<i>Enterococcus</i> sp	Vancomicina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Vancomicina
Enterobactérias	Imipenem
<i>Klebsiella</i> sp e <i>Escherichia coli</i>	Cefoxitina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amicacina
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Ceftriaxona e ciprofloxacino
<i>Neisseria meningitidis</i>	PenicilinaG

FONTE: OPLUSTIL et al, 2004

Determinação de β -lactamase de espectro ampliado (ESBL)

As β -lactamases são enzimas produzidas por algumas cepas bacterianas que inativam as penicilinas, os monobactâmicos e as cefalosporinas. Os carbapenêmicos (meropenem e imipenem) não são inativados por essa enzima. A CLSI já tem padronizados métodos confirmatórios para as β -lactamases de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* e *Escherichia coli*.

Um dos métodos de detecção de ESBL é o **método de triagem**. Os antimicrobianos padronizados pelo CLSI são:

- Cefpodoxima
- Cefotaxima
- Ceftriaxona
- Ceftazidima
- Aztreonam

Os pontos de corte para o método de difusão de disco ou MIC são definidos pela CLSI.

Outro método, muito empregado, é o **método do Disco Aproximação**. No centro da placa de Agar Mueller-Hinton coloca-se um disco de amoxicilina+ácido clavulânico e, ao redor desse, os antimicrobianos marcadores (aztreonam, ceftriaxona, ceftazidima e cefotaxima) na distância de 30mm de centro a centro em relação ao disco central.

A formação de uma zona fantasma entre qualquer antimicrobiano marcador e o disco do ácido clavulânico é positiva para ESBL.

Os testes positivos de BGN produtores de ESBL deve ser reportado mostrando resistência da cepa a penicilinas, monobactâmicos e cefalosporinas de 1ª a 4ª geração. Carbapenêmicos, como o meropenem e imipenem não são afetados.

Micologia Clínica

A micologia compreende um vasto campo de atuação, envolvendo o estudo dos fungos em relação à alimentação (produção de queijos, iogurtes, pães,...), produção de medicamentos (penicilinas), situações clínicas (micoses), entre outros.

Em relação à área médica, em meados dos anos 50 surge um novo campo de pesquisa: as infecções micóticas ocasionais, causadas por fungos oportunistas. Alguns fatores contribuem para esse fato:

- Progresso da terapêutica com o advento de novos antimicrobianos, glicocorticoides e imunomoduladores.
- Surgimento, no final da década de 80, da AIDS.
- Uso de novas técnicas diagnósticas, de caráter invasivo, e cirúrgicas.

Logo, os fungos, até então associados a problemas meramente superficiais e estéticos, passam a ser encarados como vilões clínicos.

O que são esses fungos?

São micro-organismos eucariotas, aeróbios estritos (raramente anaeróbios), não produtores de pigmento clorofila (não realizam fotossíntese), heterotróficos pertencentes ao reino *Fungi*. Armazenam glicogênio como material de reserva energética e apresentam parede celular formada por ergosterol e quitina.

Em relação à morfologia podem ser unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (fungos filamentosos ou micelianos). Essa última forma é constituída por um conjunto de estruturas tubulares (hifas), que em conjunto, formam micélios.

Além dos fungos unicelulares e pluricelulares, temos os fungos dimórficos, que são ora leveduriformes, ora filamentosos. A mudança estrutural ocorre em função da variação da temperatura do ambiente, em que à temperatura ambiente (25 a 28° C) encontram-se na forma miceliana e à temperatura corporal (36 a 37° C), na forma leveduriforme.

A micologia médica ou clínica envolve o estudo dos fungos patogênicos e de seus produtos metabólicos. Logo, é de interesse o estudo de:

- Micoses – superficiais, dermatofitoses, subcutâneas e profundas (sistêmicas).
- Agentes de hipersensibilidade – alergias e mícides
- Micetismo – ingestão de fungos venenosos
- Micotoxicoses – toxinas produzidas por alguns fungos, que causam problemas severos, como o hepatocarcinoma oriundo da aflatoxina (*Aspergillus flavus*) e tetanias produzidas pela ergotamina, gerada pelo fungo *Claviceps purpúrea*.

Coleta do Material Biológico

Uma das fases do diagnóstico laboratorial mais relevante é a coleta do espécime clínico, que deve ser criterioso e representativo.

Na coleta, alguns itens devem ser abordados:

- Identificação do nome, sexo e idade.
- Origem de residência (área rural ou urbana)
- Profissão
- Tempo de evolução da doença
- Localização e aspecto da lesão
- Contato com animais ou plantas
- Uso de medicamentos, como antifúngicos, corticosteróides, citostáticos,...
- Uso prévio de algum produto químico no local, como água sanitária, creolina, álcool, gasolina,...

Esses questionamentos são relevantes, pois muitas doenças são ocupacionais, o fator geográfico auxilia na determinação do agente e o uso prévio de medicamentos ou produtos químicos pode mascarar a identificação fúngica, gerando resultados falsos- negativos.

A seguir citamos algumas formas de coleta para diversos materiais biológicos:

Escamas de pele (raspado cutâneo)

Solicitar ao paciente que evite tomar banho no dia da coleta e evite passar cremes, perfumes ou talco no local a ser analisado. A coleta deve iniciar-se na borda da lesão, usando lâmina cega de bisturi. Raspar o local e colocar as escamas em uma placa de Petri estéril.

Em locais de pouca escamação, pode usar uma fita adesiva sobre o local, colocando-a posteriormente sobre uma lâmina, para avaliação microscópica.

Pêlos

Solicitar ao paciente não lavar o local no dia da coleta. Com uma pinça estéril retirar o pêlo com o bulbo capilar, colocando-o em uma placa de Petri estéril.

Unhas

Para coleta na região subungueal, realizar a retirada do material da região mais distal (com auxílio de alicate) e coletar o material por raspagem com bisturi cego estéril na confluência entre o tecido lesado e o tecido sadio.

Para a coleta supra ungueal fazer raspado da mesma maneira na mesma região de confluência. Em casos de paroníquia, o material urulento deve ser coletado com *swab* estéril.

Mucosas

O material biológico deve ser coletado com *swab* estéril.

Sanque e Urina

Coletar seguindo os procedimentos operacionais padrões (POP's) para hemocultura e urocultura.

Exame Micológico Direto (EMD)

O EMD é a primeira etapa do diagnóstico laboratorial. É a montagem do espécime clínico acrescido de solução de potassa (hidróxido de potássio – KOH) de 10 a 40% p/v, na superfície de uma lâmina de microscopia e cobre-

se o preparado com lamínula. Eventualmente, pode-se colocar uma gota de lactofenol antes de inserir a lamínula.

Após 20 minutos, levar lâmina ao microscópio ótico, em objetiva de 40x, e descrever o observado.

O KOH mostra-se importante, pois digere todo material queratinizado da amostra biológica, clarificando o campo de observação.

O lactofenol é um corante que facilita a visualização das hifas, determinando se as mesmas são septadas ou cenocíticas (não septadas), além de evidenciar os corpos de frutificação e possíveis esporos (estruturas relacionadas à forma de resistência fúngica a um meio ambiente não propício a sua sobrevivência).

Para o líquor, realiza-se o exame direto com tinta da China (tinta nanquim), para observação de leveduras capsuladas (*Cryptococcus neoformans*).

Cultura

Os meios usados para o isolamento primário são:

- Agar Sabouraud
- Agar Sabouraud + cloranfenicol
- Agar Mycosel
- Agar BHI

Agar Sabouraud

Usado para plantio de diversos materiais biológicos, com exceção de fezes e urina.

Agar Sabouraud + cloranfenicol

Usado para o plantio de fezes e urina. O cloranfenicol é um antimicrobiano de largo espectro de ação, usado para retirar interferentes bacterianos da microbiota normal.

Agar Mycosel

Usado para plantio de escamas de pele, unhas e pêlos. É constituído pela associação de Agar Sabouraud + Cloranfenicol + Ciclo-heximida (um antifúngico que inibe o crescimento de fungos saprófitos e anemófilos).

Agar BHI

Usado para plantio de biópsias, sangue, líquidos nobres, aspirados brônquio-traqueais e líquor.

Temperatura e tempo de incubação

A temperatura para todos os materiais é de 25 a 28° C, com exceção de biópsias, líquidos nobres, aspirados e líquor, que é de 37° C.

O tempo de incubação para fungos leveduriformes é de 48 a 72 horas, enquanto que os fungos filamentosos e dimórfico demandam tempo maior, variando de 7 a 30 dias.

Micoses Superficiais

São quadros infecciosos de etiologia fúngica, caracterizados por lesões geralmente hipocrômicas, sendo algumas hiperocrômicas, com pigmentação específica. Os fungos causadores de tais quadros têm como característica uma propriedade queratolítica (usam a queratina, uma proteína cutânea, como fonte nutricional), gerando a descamação.

As principais micoses superficiais são:

- Ptíriase versicolor
- Piedra branca
- Piedra negra

Ptíriase versicolor

Trata-se de uma micose superficial, benigna e crônica causada pelo fungo leveduriforme *Malassezia furfur*. As lesões mostram-se como máculas

finamente descamativas (ação queratolítica), com bordas bem definidas de tamanho e forma variados.

É uma levedura presente na microbiota corporal.

Ao EMD é possível observar leveduras esferoidais ou ovaladas, isoladas ou em cachos.

O exame cultural torna-se complicado, pois é um fungo nutricionalmente exigente, necessitando o meio estar enriquecido com elementos lipídicos.

A simples visualização das estruturas fúngicas (leveduras), associadas aos achados clínicos, é fator diagnóstico para ptíriase versicolor.

Dermatofitoses

São micoses causadas por fungos queratolíticos, causadores de infecções conhecidas como Tinhas, que acometem vários sítios anatômicos, caracterizando as tinhas como: *Tinea capitis* (cabeça), *Tinea ungueum* (unhas), *Tinea pedis* (pés), *Tinea corporis* (corpo), entre outras. Os fungos são filamentosos, e estão a seguir listados:

- *Microsporum cannis*, *Microsporum gypseum*.
- *Trichophyton mentagrophytes* variedade *mentagrophytes*, *Trichophyton mentagrophytes* variedade *digitalis*, *Trichophyton rubrum*
- *Epidermophyton floccosum*

Esses fungos são, também, classificados como geofílicos (albergam solo e plantas), zoofílicos (albergam animais) e antropofílicos (albergam estruturas corporais).

Diagnóstico Laboratorial

EMD

Verificar a presença de hifas septadas e arthroconídeos (estruturas de reprodução fúngica)

Cultura

Os dermatófitos são identificados pelas características macroscópicas e microscópicas da colônia em meio de cultura, que é preferencialmente o Agar Sabouraud ou Mycosel.

O Agar Sabouraud, meio de cultura padrão para esses fungos, possui pH ácido (pH 5) e alto teor de glicose (4%). Esses dois fatores dificultam o crescimento bacteriano, que entra como contaminante da amostra biológica.

Existe a possibilidade de plantio em Agar Mycosel, dotado de elementos que inviabilizam crescimento de bactérias (uso do cloranfenicol) e de fungos saprófitas.

O meio DTM (Dermatophytes Test médium) é também usado, sendo o Agar Mycosel acrescido do indicador vermelho de fenol. Ao crescer, o dermatófito alcaliniza o meio virando o indicador para vermelho. Vale lembrar que a leitura do DTM deve ser feita até 1 semana pós-crescimento, pois muitos fungos não-dermatófitos podem eventualmente crescer e produzir pigmentos de cor vermelha.

Ao se examinar uma placa de cultura para fungos filamentosos devem ser procuradas colônias, descrevendo-se seu aspecto macroscópico. Feito isso, procede-se o micro cultivo para identificação fúngica. A técnica do micro cultivo baseia-se na análise microscópica das colônias, para evidenciar o aspecto miceliano (hifas septadas ou cenocíticas), corpos de frutificação e esporos.

O micro cultivo consiste em transferir parte das colônias para um pedaço de Agar Fubá, colocado sobre uma lâmina de microscopia. A lâmina é acondicionada em uma câmara úmida, sendo o Agar Fubá coberto com lamínula. A câmara é incubada de 7 a 14 dias, podendo estender até 30 dias, sendo posteriormente visualizada ao microscópio ótico em aumento de 400x.

Pode-se, para identificação de dermatófitos, usar provas bioquímicas, baseadas na capacidade fúngica de fermentar açúcares (zimograma) ou assimilar alguns carboidratos (auxanograma).

No entanto, a maioria das espécies de dermatófitos não necessita serem submetidas a tais provas, sendo o aspecto macroscópico cultural, o aspecto microscópico do micro cultivo e o EMD suficientes para o diagnóstico.

Característica das principais espécies de dermatófitos

Trichophyton rubrum

Colônias

- Textura algodoadosa
- Formam pequenas saliências no centro
- Reverso avermelhado

Microscopia

- Raros macroconídeos cilíndricos
- Microconídeos piriformes regulares
- Urease negativos

Trichophyton mentagrophytes

Colônias

- Pulverulentas
- Coloração branca a creme
- Reverso pigmentado de amarelo a marrom

Microscopia

- Numerosos microconídeos agrupados, de forma redonda.
- Macroconídeos em aspecto de charuto
- Hifas espiraladas

Urease positiva

Microsporum canis

Colônia

- Textura cotonosa
- Reverso amarelo limão

Microscopia

- Macroconídeos fusiformes, com numerosos septos.

Microsporium gypseum

Colônias

- Pulverulenta
- Reverso amarelo, tendendo a castanho.

Microscopia

- Macroconídeos fusiformes, de aspecto pontiagudo.

Epidermophyton floccosum

Colônias

- Textura algodonosa
- Reverso amarelo-esverdeado

Microscopia

- Macroconídeos clavados, agrupados em cachos.

Candidoses

As leveduras do gênero *Cândidas* são pertencentes à microbiota normal, albergando o trato gastrointestinal, pele, mucosa oral, trato genital, couro cabeludo, unhas, entre outros.

São importantes agentes causadores de processos infecciosos, tanto superficiais quanto sistêmicos, com elevada periculosidade.

São fungos extremamente oportunistas, relacionando-se a infecções pós-processos invasivos, como cirurgias, cateteres venosos centrais (CVC) e cateterismo, e características de pacientes imunossuprimidos ou em uso prolongado de antimicrobianos de largo espectro, glicocorticoides sistêmicos, citostáticos e imunomoduladores.

São conhecidos, aproximadamente, 200 espécies, dentre as quais apenas 17 têm importância médica. Dentre essas, algumas merecem destaque epidemiológico e clínico: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. kruseii*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*.

Manifestações clínicas

Onicomicose, candidose oral (sapinho), vulvovaginite (leucorréia), balanopostite (inflamação da glândula e/ou prepúcio), candidose sistêmica, etc.

Diagnóstico Laboratorial

- Exame micológico direto (EMD)
- Coloração do material biológico pelo Gram
- Cultura (Agar Sabouraud, CHROMAGAR).
- Prova do tubo germinativo
- Hemocultura
- Zimograma / auxanogram (provas bioquímicas)
- Método Luminex (citometria de fluxo)

Prova do tubo germinativo

É uma prova para identificação de *Cândida albicans*, baseada na visualização microscópica de pseudohifas.

Para realizá-la, usa-se uma alçada do micro-organismo em cultura e adiciona-se a um tubo de ensaio contendo 0,5mL de soro humano estéril. Coloca-se em estufa a 37° C por 2 horas. Coloca-se uma gota em lâmina e visualiza a estrutura leveduriforme: em caso da presença de pseudohifas (brotamentos alongados que não se desprendem da levedura) temos *C. albicans*. A não visualização das pseudohifas indica *Cândida* não *albicans*.

Esse achado tem papel fundamental clínico, pois define o agente etiológico e orienta o tratamento farmacológico, pois *C. albicans* responde ao tratamento tradicional com fluconazol; já outras espécies, como *C. kruseii*, não responde ao fluconazol, demandando uso de fármacos distintos aos imidazólicos.

É uma prova de simples execução e financeiramente viável, de grande importância diagnóstica.

Zimograma (fermentação de açúcares)

Alguns fungos são capazes de fermentar carboidratos diversos, como fonte de obtenção de carbono. Para essa prova, distribui-se cerca de 2mL de meia base em tubos de ensaio de 13mm de diâmetro e faz-se a autoclavação (120° C por 15 minutos). Após isso, adiciona-se 1mL de solução de um dado carboidrato a 6%. Os carboidratos são diversos, como: glicose, lactose, maltose, rafnose, trealose, sacarose,...

Inocula-se 0,1mL de suspensão de leveduras preparadas em água destilada, com padrão de concentração correspondente a +2 Mcfarland, no tubo de Wickerham. Adiciona-se o tubo e Durham, para verificação de formação de gás, o que indica a fermentação. Há tabela auxiliar para comparação dos resultados obtidos.

Auxanograma (assimilação de carboidratos)

Avalia a capacidade das amostras em assimilar alguns compostos como fonte de carbono. As amostras de levedura são distribuídas no fundo de uma placa de Petri, usando-se, aproximadamente, 2mL de suspensão fúngica (+2 McFarland) por placa.

Sobre a suspensão, coloca-se o meio C (meio de assimilação de fonte de carbono) fundido a, aproximadamente, 40° C. Por fim, colocam-se sobre o Agar pequenas porções dos açúcares, sendo as placas incubadas à temperatura ambiente, com leitura posterior a 24 ou 48 horas.

O crescimento ao redor do açúcar garante a assimilação àquele açúcar, sendo o teste positivo.

Usa-se uma tabela para comparação dos resultados, o que permite definir a espécie infecciosa.

Micoses Sub-Cutâneas

Trata-se de micoses que se localizam na pele e no tecido subcutâneo, próximo ao ponto de inoculação. Os agentes vivem em estado saprofítico no solo e vegetais (geofílicos), além de animais de vida livre.

A infecção ocorre por traumatismo da pele. É muito comum associar essas micoses à questão ocupacional, pois os quadros são frequentes em lavradores e floristas. As micoses subcutâneas são: esporotricose, feohifomicose, cromo micose, rinosporidose, lobomicose e micetomas.

Esporotricose

- Agente etiológico: *Sporothrix schenckii*
- Fungo dimórfico
- Contaminação: traumatismo cutâneo, principalmente por acúleos e ramos de plantas.
- Comum em floristas e jardineiros
- Diagnóstico laboratorial: EMD, cultura, exame histopatológico.

Cromo micose

- Causada por 5 diferentes fungos saprófitas dematiáceos: *Fonsecaea pedrosi*, *Fonsecaea compacta*, *Phialophora verrugosa*, *Cladosporium carrionii*, *Rhinocladiella aquaspersa*.
- Diagnóstico diferencial com feohifomicose
- Lesões mais comuns em membros inferiores
- Diagnóstico laboratorial: EMD, com achado de corpos muriformes; exames histopatológicos.
- Cultura: usar Agar Mycosel, pois esses fungos não são inibidos pela cicloheximida, diferente dos fungos causadores da feo-hifomicose.

Feohifomicose

- São vários os fungos causadores
- Os fungos são produtores de pigmentos castanhos (melanina)
- Diagnóstico laboratorial: hifas com aspecto torulíde e escuras, ao EMD.
- Cultura com Agar Sabouraud
- Microcultivo

Doença de Jorge Lobo

- Agentes etiológicos: *Glenosporella loboii*, *Laboa loboii*, *Paracoccidioides loboii*.
- Formação de nódulos queloidiaos, com formações fibrosas – massas nodulares.
- Diagnóstico laboratorial: EMD, com visualização de hifas fusariformes; exame histopatológico.

Micetoma

Etiologicamente, o termo significa “tumor causado por fungo”. Na realidade, o micetoma pode ser causado por fungos e bactérias. Quando o agente é um fungo, geralmente fungos dematiáceos, temos um eumicetoma (micetoma verdadeiro). Já quando o agente etiológico é uma bactéria, geralmente actinomicetos (*Nocardia* sp, *Streptomyces* sp e *Actinomadura* sp), temos um actinomicetoma.

O diagnóstico laboratorial é realizado pelo EMD, com pesquisa de hifas com aspecto de grãos, que podem ter cor branca, vermelha, marrom e preta.

A cultura mostra-se importante para identificação etiológica, sendo os meios de escolha: Agar Sabouraud, Agar BHI e Agar Mycosel.

A definição do agente é fundamental para orientação ao médico da conduta terapêutica.

Micoses Profundas

Dentre as infecções fúngicas de caráter sistêmico, 3 merecem destaque: Paracoccidioidomicose (PMC), Histoplasmose e Criptococose.

Paracoccidioidomicose (PMC)

É uma infecção causada pela inalação do fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*, sendo a micose sistêmica mais comum, sendo endêmica em certas regiões da América Latina, em especial nas zonas rurais.

A PMC é uma infecção de caráter masculino, sendo as mulheres em idade fértil protegidas pela ação dos hormônios estrogênicos e progestogênicos.

É uma infecção predominantemente rural, sendo a transmissão via inalação do fungo presente no solo e em plantas (fungo geofílico), em sua forma miceliana, pois se encontra à temperatura ambiental.

Quando nos pulmões, adota a forma leveduriforme, que é a forma infectante, causadora de problemas pulmonares e granulomas. Importante frisar a importância do diagnóstico diferencial para pneumonias bacterianas e tuberculose pulmonar.

Dada forma de transmissão, falamos que é uma doença prevalente em lavradores e trabalhadores braçais que cultivam o solo. Daí a importância, na anamnese médica, o questionamento sobre a tarefa ocupacional do paciente.

Quanto ao diagnóstico laboratorial, o exame de escolha é o EMD, que evidenciamos.

a estrutura leveduriforme em aspecto de “roda de leme” ou “mickey-mouse”.

Histoplasmose

É uma infecção causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, com forma leveduriforme tecidual e forma miceliana (com micro e macroconídeos) à temperatura ambiente, constituindo a forma infectante.

Apesar do nome, esse fungo não possui cápsula.

Acomete a função cardio-respiratória, sendo o contágio muito comum em praticantes de espeleologia (exploração e turismo em cavernas), pois o fungo está presente nas fezes de morcegos, sendo esses inalados quando os aventureiros pisam no excremento.

Em relação ao diagnóstico laboratorial, a detecção do *H. capsulatum* não é viável por EMD, usando o escarro ou lavado brônquio-alveolar. Para o EMD ser representativo e confirmatório de histoplasmose, a punção lombar com pesquisa direta do fungo é preconizada, seguida de miocultura para confirmação.

Para a histoplasmose, já se preconizam as técnicas sorológicas como diagnóstico complementar, como a técnica de Western-blot.

Cabe aqui um alerta para diagnóstico sorológico das infecções fúngicas. Há uma limitação dessa metodologia, devido ao grande número de reações cruzadas, o que torna o método de grande sensibilidade e de baixa especificidade.

Criptococose

O *Cryptococcus neoformans* é o único fungo encapsulado capaz de gerar infecção. A cápsula tem grande importância no escape fúngico ao reconhecimento pelas células do sistema imune celular. É interessante observar também que a infecção progride com baixa dos linfócitos, em especial os linfócitos T, quadro característico de pacientes portadores do HIV.

O *C. neoformans* é um fungo leveduriforme de foco primitivo geralmente pulmonar que pode disseminar para várias partes do corpo, em especial o sistema nervoso central, rompendo as meninges, causando quadro de meningite criptocócica.

Em relação ao diagnóstico laboratorial, o preconizado é a coleta de líquido, com análise celular e bioquímica, e coloração do material com tinta nanquim (tinta da China), visualizando o “céu estrelado” (a imagem negativa equivale à cápsula).

Bibliografia

OPLUSTIL, Carmen Paz, ZOCCOLI, Cássia Maria, SINTO, Sumiko Ikura.
Microbiologia clínica: 156 perguntas e respostas. Ed. Sarvier, 2005.

FERREIRA, Antônio Walter, DE ÁVILA, Sandra do Lago Moraes. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes.** Ed. Guanabara koogan, 2ª edição, 2001.

OPLUSTIL, Carmen Paz, ZOCCOLI, Cássia Maria, SINTO, Sumiko Ikura.
Procedimentos básicos em microbiologia clínica. Ed. Sarvier, 2e ed., 2004.

TRABULSI, Luiz Rachid, ALTERTHUM, Flávio. **Microbiologia,** Ed. Atheneu, 4ª edição, 2005.

CURSO TÉCNICO EM
ANÁLISES CLÍNICAS
ETAPA 3

HEMATOLOGIA

Sumário

CAPITULO I-ANEMIAS	139
CAPÍTULO II-VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO	146
CAPÍTULO III-RETICULÓCITOS.....	149
CAPÍTULO IV-DREPANÓCITOS.....	152
CAPÍTULO V-COAGULOGRAMA.....	155

CAPÍTULO I

ANEMIAS

1- Conceito

Anemia é definida como a diminuição da concentração de hemoglobina sanguínea que costuma ser acompanhada, mas não necessariamente, de diminuição do número de hemácias. O termo anemia refere-se a uma redução na capacidade do sangue de transportar oxigênio, provocada pela concentração reduzida da hemoglobina. Independentemente da causa ou tipo de anemia, os indivíduos afetados manifestam sinais e sintomas resultantes da hipóxia tecidual. Pode-se verificar ocorrência de fadiga, dispneia de esforço, palpitações, cefaleia, vertigem, astenia, anorexia e irregularidades menstruais. O exame físico pode revelar palidez da pele, mucosas e conjuntivas e frequência e profundidade da respiração.

2- Classificação

As anemias mais comuns são assim classificadas:

- **Anemias Hemolíticas:** caracterizadas pela ocorrência de hemólise dentro da corrente sanguínea. Podem ocorrer devido a:
 - Hemoglobinopatias → Anemia falciforme e Talassemias.
 - Por defeito de membrana → Ovalocitose e Esferocitose hereditária.
 - Auto-ímmunes → DHRN, Lúpus Eritematoso Sistêmico, Artrite reumatoide.

- **Anemias Carências:** decorrentes de deficiência de algum nutriente ou matéria-prima importante na formação da hemoglobina ou na maturação dos eritrócitos. Podem ocorrer devido a:
 - Por deficiência de Ferro → Anemia ferropriva.

- Por deficiência de Vitamina B12 e ácido fólico → Anemia megaloblástica.
- Por deficiência de fator intrínseco → Anemia perniciosa.

3- Anemia Ferropriva

É uma anemia que ocorre quando as reservas de ferro do corpo tornam-se inadequadas para formação de hemoglobina. O ferro juntamente com a protoporfirina forma o grupo heme da molécula de hemoglobina. É exatamente a porção heme a responsável pelo transporte de oxigênio.

- Diagnóstico:
 - Redução da hemoglobina proporcionalmente maior que a redução de hemácias e Hematócrito reduzido;
 - VCM e HCM reduzidos refletindo microcitose e hipocromia, respectivamente;
 - Anisocitose;
 - RDW aumentado;
 - Ferro sérico diminuído;
 - CTLF aumentada.

- Tratamento:

O tratamento é feito com Sulfato Ferroso oral e a elevação da hemoglobina começa no 5º dia. Com o tratamento o número de reticulócitos do paciente aumenta, mostrando que a medula está respondendo, produzindo mais hemoglobina e hemácias jovens são liberadas no sangue circulante.

4- Anemia Megaloblástica

Para que a síntese de DNA das células seja normal, é necessária a presença de ácido fólico e vitamina B12. A depleção dos mesmos afeta os

tecidos que produzem novas células, principalmente a medula óssea. A síntese defeituosa de DNA, então, ocasiona o aparecimento de células maiores que o normal, devido a um menor número de divisões celulares durante a maturação.

A vitamina B12 é sintetizada pela flora intestinal, a partir dos alimentos ingeridos. Para que a vitamina B12 seja absorvida é necessária à presença do Fator Intrínseco (FI) que é uma glicoproteína sintetizada pelas células do estômago.

As principais causas de vitamina B12 podem ser alimentar, má absorção, alcoolismo, gravidez (porque há grande utilização de ácido fólico para formação do tubo neural do feto) e deficiência de fator intrínseco.

- Diagnóstico:
 - VCM aumentado refletindo macrocitose;
 - Leucopenia moderada;
 - Neutrófilos hipersegmentados (desvio à direita);
 - Plaquetopenia;
 - Dosagem de vitamina B12 e Ácida Fólica reduzida.

- Tratamento:

O tratamento é feito com ácido fólico ou vitamina B12 e através de dieta rica em folatos: espinafre, banana, melão, etc.

5- Anemia Perniciosa

É uma anemia decorrente da deficiência de fator intrínseco. Sua deficiência leva, primariamente à anemia perniciosa seguida da anemia megaloblástica. As principais causas de deficiência de fator intrínseco são a produção de anticorpos anti-fator intrínseco, gastrite prolongada, úlcera e gastrectomia.

- Diagnóstico:
 - VCM aumentado refletindo macrocitose;
 - Neutrófilos hipersegmentados (desvio à direita);
 - Leucopenia moderada;

- Trombocitopenia (plaquetopenia);
- Sorologia para anticorpos anti-FI positiva.

- Tratamento:
O tratamento é feito a partir de vitamina B12 injetável e deve perdurar por toda a vida.

6- Anemia Aplástica

É uma anemia de lesão das células primitivas da hematopoiese, as quais se tornam insuficientes para a própria replicação, ou seja, há uma lesão na medula óssea. Pode conseqüentemente haver progressiva ocupação da medula óssea por tecido gorduroso.

As principais causas são: o uso de certos medicamentos (cloranfenicol, sulfas), tóxicos industriais como o benzeno, radiação e raramente viroses como a hepatite.

A mortalidade da anemia aplástica severa é considerável e se os pacientes tiverem doador compatível devem ser imediatamente encaminhados para transplante de medula óssea.

- Diagnóstico:
O diagnóstico é principalmente feito através de biópsia de medula óssea e exame anatopatológico. O hemograma e o mielograma revelam pancitopenia (redução de hemácias, plaquetas e leucócitos).

7- Anemia Falciforme

É uma anemia originada por uma variação genética na cadeia da hemoglobina, levando à formação de uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S. A variação genética é a substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia polipeptídica. A hemoglobina S em homozigose é uma grave anemia hemolítica, com acentuado quadro de icterícia.

Assim:

- Indivíduo normal → AA.
- Indivíduo com anemia falciforme → SS.
- Indivíduo com traço falciforme → AS.

Os indivíduos com anemia falciforme apresentam crises hemolíticas descompensadas, o que justifica o quadro de icterícia. Podem ocorrer infecções, pois o sistema imune fica debilitado. Esses pacientes, devido às frequentes transfusões de sangue, têm alto risco de contrair doenças infecto-contagiosas como a Aids. Mas as piores consequências da anemia falciforme são as crises vaso oclusivas que ocorrem devido ao afoijamento *in vivo* das hemácias, formando os drepanócitos. Estes chegam à microcirculação formando êmbolos que podem levar à micro infartos, dos quais decorrem fortes dores. O paciente também pode vir a óbito por acidente vascular cerebral.

- Diagnóstico:
 - Hemoglobina diminuída (entre 6 e 9g/dl);
 - Hemácias normocíticas;
 - Leucocitose (12.000 a 15.000/mm³) devido à hiperplasia da medula em resposta à hemólise;
 - Plaquetas em quantidade aumentada;
 - Reticulocitose (8 a 12%);
 - Presença de drepanócitos;
 - Teste da falcização positivo
 - Eletroforese de hemoglobina: 75 a 100% de hemoglobina S;
 - Aumento de bilirrubina;
 - Aumento da atividade da LDH.

8- Talassemias

É uma doença genética provocada por um defeito quantitativo na cadeia da hemoglobina, na qual há deleção de uma parte da cadeia polipeptídica. Se a deleção ocorre na cadeia alfa, temos a alfa-talassemia. Se a deleção ocorre na cadeia beta, temos a beta-talassemia.

- Diagnóstico da Alfa-talassemia:
 - Anisocitose;
 - Microcitose e hipocromia;
 - Hemácias em alvo;
 - Corpos de Hemoglobina H (com aspecto de “bola de golfe”);
 - Reticulócitos aumentados;
 - Eletroforese de hemoglobina: presença de hemoglobina H;
 - Aumento de bilirrubina e LDH.

- Diagnóstico da Beta-talassemia:
 - Anisocitose;
 - Microcitose e hipocromia;
 - Hemácias em alvo;
 - Aumento de bilirrubina e LDH;
 - Eletroforese de hemoglobina: aumento da hemoglobina A₂.

9- Esferocitose Hereditária

É uma anemia provocada por um defeito genético na membrana das hemácias, fazendo com que a membrana fique mais espessa e a hemácia tome a forma de uma esfera hipercorada, o esferócito. A sobrevivência dos esferócitos é bastante reduzida, pois eles são destruídos precocemente pelo baço. Assim, embora não tenha tratamento medicamentoso, a anemia provocada pela esferocitose pode ser curada com a esplenectomia, entretanto os esferócitos persistem no sangue circulante.

A evidenciação dos esferócitos ao microscópio, que confirma o diagnóstico, lamentavelmente é difícil. Há um conjunto de causas: distorções mal feitas ou mal coradas uso de objetivas a seco e desconhecimento da doença.

A rotina a seguir é indispensável para que a esferocitose seja notada no laboratório:

- Sempre que o CHCM for maior que 35% atentar para esta possibilidade;

- Corar reticulócitos em todas as amostras com anemia não esclarecida;
 - Examinar o soro e o plasma em busca de icterícia.
 - Em casos duvidosos, fazer um teste simplificado de resistência das hemácias em solução hipotônica de NaCl 0,5%. Os esferócitos hemolisam e as hemácias normais não.
- Diagnóstico:
 - Presença de esferócitos no esfregaço;
 - Número de reticulócitos aumentado (podendo chegar a 25%);
 - CHCM maior que 35%;
 - Aumento da fragilidade osmótica das hemácias;
 - Bilirrubina aumentada.

10- Ovalocitose Hereditária

É uma doença hemolítica genética, geralmente assintomática. O encurtamento da sobrevivência das hemácias decorrente da ovalocitose não é tão grave quanto na esferocitose. A hemólise causada pela ovalocitose é compensada e raros são os pacientes anêmicos. O defeito está na membrana das hemácias.

Há raros casos de pacientes que se mostram anêmicos já nas primeiras semanas de vida, com ovalócitos. A anemia, inicialmente grave, melhora com a idade e até torna-se tolerável, embora persistente aos 4 ou 5 anos.

- Diagnóstico:
 - Presença de ovalócitos (mais de 25% das hemácias do esfregaço são ovalócitos);
 - Anemia (hemoglobina, hemácias e hematócrito diminuídos);
 - Reticulócitos aumentados;
 - Bilirrubina aumentada;
 - Fragilidade osmótica aumentada.

CAPÍTULO II

VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO

1- Introdução

O VHS é um dos métodos de investigação laboratorial mais empregado na atualidade, contribuindo para o diagnóstico dos processos infecciosos.

O exame consiste em medir a velocidade de separação entre as hemácias e o plasma, no sangue com anticoagulante. Quando se coloca o sangue com anticoagulante em uma pipeta apropriada, posta em posição vertical, as hemácias tendem a se depositar, enquanto o plasma se desloca para cima. Normalmente este fenômeno, conhecido como hemossedimentação, ocorre lentamente, com velocidade constante. As hemácias se depositam em virtude de serem mais pesadas que o plasma. Essa sedimentação das hemácias ocorre em função da concentração de fibrinogênio e globulinas, tamanho e forma das hemácias.

Nos estados patológicos em que há aumento de fibrinogênio e globulinas, as hemácias depositam-se mais depressa do que o normal. Enfim, é o fibrinogênio o principal fator responsável pela alteração na hemossedimentação. E sabe-se que nos processos infecciosos e de lesões teciduais, há um aumento de fibrinogênio no sangue, pois o fígado produz maior quantidade desse constituinte.

2- Procedimento

Para realizar o exame de VHS o material biológico utilizado é o sangue total colhido em EDTA. Os materiais utilizados são: suporte e pipeta de westergren, relógio e algodão.

O exame é feito seguindo-se os seguintes passos:

- Após homogeneizar o sangue do paciente, aspira-lo com a pipeta de VHS até exatamente a marca zero;

- Com um chumaço de algodão, limpar a parte externa da pipeta;
- Colocar a pipeta no suporte de modo a permanecer na posição vertical;
- Marcar o tempo;
- Fazer a leitura em milímetros (mm) após 1 e 2 horas ao nível de separação do plasma e hemácias.

3- Valores de Referência

Após 1 hora: - Homem: 3 a 5mm.
 - Mulher e criança: 4 a 7mm.

Após 2 horas: - Homem: 7 a 15mm.
 - Mulher e criança: 12 a 17mm.

Normalmente as mulheres têm um VHS maior que os homens devido a uma maior concentração de fibrinogênio plasmático. Assim também, o VHS pode estar fisiologicamente acelerado durante o período menstrual, na gravidez e em pessoas que vivem nos climas quentes.

4- Interpretação

O VHS pode estar acelerado em todos os estados patológicos acompanhados de inflamação ou de destruição de tecidos. É o que ocorre nos processos infecciosos agudos e crônicos, nos ferimentos, fraturas, após cirurgias, nos tumores malignos, no infarto do miocárdio, tuberculose e febre reumática.

O VHS é, portanto, um teste sensível, porém, pouco específico. Pode ser útil no controle de evolução das doenças. Assim, o retorno ao normal de um VHS acelerado é sinal de processo inflamatório em regressão.

O VHS retardado tem pouco valor prático, mas pode ocorrer nas afecções hepáticas extensas e na caquexia grave.

5- Fatores Interferentes

Os principais interferentes no exame de VHS são:

- A heparina pode acelerar o VHS. Neste caso, dá-se preferência ao citrato de sódio e ao EDTA.
- O jejum é importante, uma vez que os lípides podem acelerar o VHS;
- O prolongamento da estase venosa acelera o VHS;
- Sangue mal homogeneizado, ou seja, quando se coloca o sangue na pipeta sem agita-lo previamente pode ocorrer aceleração ou retardamento;
- O tempo entre a coleta e o início do exame é importante fator, pois quanto maior esse tempo, maior é o retardamento no VHS;
- Em altas temperaturas o VHS é acelerado e em baixas temperaturas é retardado.

CAPÍTULO III

RETICULÓCITOS

1- Introdução

Os reticulócitos são os precursores das hemácias e, como tal, são células ainda imaturas produzidas pela medula óssea. Para as primeiras 24 horas após a entrada das células vermelhas na circulação, elas ainda são imaturas e podem ser identificadas pela presença de RNA (ácido ribonucléico) no citoplasma da célula. Quando uma célula vermelha imatura é exposta a certos corantes, o RNA forma um agregado granular ou filamentos chamados de retículo. Por essa razão, as hemácias imaturas são chamadas de reticulócitos.

2- Princípio da Contagem de Reticulócitos

O material reticular presente nos reticulócitos não se cora pelos corantes comuns, sendo sua demonstração feita pela coloração supra vital. A técnica de coloração é chamada de supra vital porque as células são coradas enquanto vivas. Dois corantes são comumente usados para este fim: o novo azul de metileno e o azul de cresil brilhante. Os reticulócitos aparecem como hemácias azuladas, com grânulos ou filamentos azul-escuros a violeta. As células maduras aparecem simplesmente azuladas.

3- Valores de Referência

A contagem normal de reticulócitos varia de acordo com a idade. Recém-nascidos têm altas contagens de reticulócitos, com decréscimo a níveis de adultos em duas semanas de vida. Em um adulto sadio, aproximadamente 1% de suas hemácias se coram como reticulócitos, quando é aplicado um dos

corantes supra vitais ao sangue. Uma contagem acima de 3% em adulto indica que as hemácias estão sendo produzidas a uma velocidade aumentada. Esse aumento de reticulócitos é denominado **reticulocitose** e pode ser devido à perda aguda de sangue por hemorragia, à perda crônica por úlcera ou em resposta ao tratamento de anemia. Na gravidez pode ocorrer também aumento de reticulócitos.

Os valores de reticulócitos abaixo de 0,5% indicam que a produção de hemácias está diminuída e é denominado **reticulopenia**. A reticulopenia pode ocorrer nas anemias ferropriva, megaloblástica, perniciosa e aplástica.

Idade Normal	Valores de referência	Limite Superior
Adulto	0,5 a 1,5 %	3%
Recém-nascido	2,5 a 6,5 %	10%

4- Procedimento

Uma contagem de reticulócitos deve ser feita usando sangue total. 100µl de sangue são misturados com volume igual de azul de cresil brilhante ou novo azul de metileno em um pequeno tubo de ensaio. Após homogeneizar, a mistura é deixada em banho-maria (37°C) por quinze minutos. Este sangue é então usado para preparar um esfregaço sanguíneo.

Após o esfregaço ter secado ao ar, é examinado no microscópio usando a lente de imersão em óleo. Um total de 1000 hemácias é contado e o número de reticulócitos vistos nestas 1000 hemácias é registrado. O reticulócito é também contado como hemácia. A porcentagem de reticulócitos é então calculada.

Uma contagem de reticulócitos é informada como porcentagem de hemácias que são reticulócitos. Esta contagem é somente uma estimativa. A porcentagem de reticulócitos é calculada usando a fórmula:

$$\% \text{ de reticulócitos} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de reticulócitos contados}}{\text{N}^{\circ} \text{ de hemácias contadas}} \times 100$$

- Exemplo:

Foram contados 12 reticulócitos no esfregaço de um paciente:

Assim:

$$\% \text{ reticulócitos} = \frac{12}{1000} \times 100 = 1,2\%$$

CAPÍTULO IV

DREPANÓCITOS

1- Introdução

A drepanocitose ou anemia falciforme é uma anemia resultante de uma alteração da hemoglobina. Esta anemia ataca quase que exclusivamente os negros e mestiços. É hereditária e se caracteriza pela presença de hemácias em forma de foice ou meia lua, os drepanócitos. Esta deformação da hemácia se deve a uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S, que provoca a retração da célula ao liberar o seu oxigênio. A hemoglobina S ocorre em 8% da população negra brasileira, tornando a sua pesquisa um exame bastante solicitado em nosso meio. A demonstração desta hemoglobina anormal é feita por três tipos de exames: a eletroforese de hemoglobina que é o método mais eficaz, porém, trabalhoso e caro para ser usado rotineiramente; pelo teste de solubilidade para a hemoglobina S, e pela pesquisa de drepanócitos.

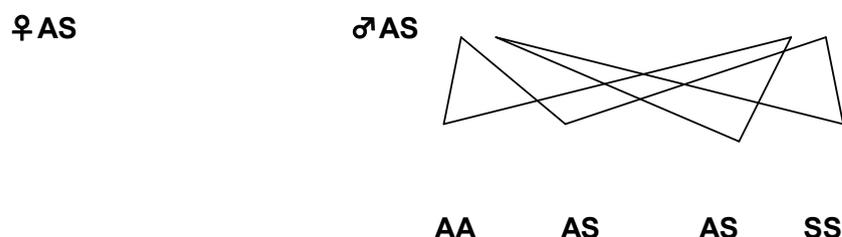
As hemácias contendo hemoglobina S sofrem falcização em presença de baixa tensão de oxigênio produzida pelo metabissulfito de sódio. A hemoglobina S reduzida (sem oxigênio) apresenta baixa viscosidade e solubilidade, formando um gel semissólido responsável pela falcização, favorecida também pela estase venosa com acúmulo de gás carbônico e abaixamento de pH. A eletroforese completa o estudo da hemoglobina anormal.

O fenômeno da falcização trata-se de uma reorganização das moléculas de hemoglobina em estado reduzido, formando longas cadeias denominadas tactóides, isto é, massas cristalinas. In vitro, o fenômeno é demonstrado pelo uso de agentes redutores como o metabissulfito de sódio. In vivo a falcização ocorre pela baixa tensão de Oxigênio nos capilares, levando ao aparecimento de hemácias falciformes circulantes, o que ocasiona a anemia hemolítica.

A drepanocitose manifesta-se na criança por volta dos 8 anos de idade e os sintomas são: anemia, dores abdominais fortes, ulceração dos membros inferiores, dilatação do baço e do fígado.

As principais complicações são: trombose, infarto do miocárdio e isquemia cerebral. Estas complicações ocorrem porque as hemácias falcizadas se tornam suficientemente sólidas para ocluir os vasos. A anemia é surpreendentemente intensa, sendo comuns números de hemácias abaixo de 2,5 milhões. E como o paciente com anemia falciforme recebe muitas transfusões de sangue, há um alto risco de adquirir doenças infecto contagiosas como a Aids e a Hepatite.

Trata-se de uma anemia hemolítica crônica hereditária devida à herança, de cada um dos progenitores, de um gene para a Hemoglobina S. Quando se herda apenas de um dos progenitores o gene para a HbS, tem-se o traço falciforme, condição na qual o paciente vive normalmente.



Assim, os genótipos AA representam um indivíduo normal, AS um indivíduo com traço falciforme e SS um indivíduo com anemia falciforme. No traço falciforme, a proporção de HbS no sangue varia de 20 a 45%, enquanto na anemia falciforme varia de 76 a 100%.

As hemácias contendo HbS sofrem falcização em presença de baixos teores de O₂. O processo da falcização trata-se de uma reorganização das moléculas de hemoglobina quando sem oxigênio, formando longas cadeias denominadas tactóides. Isso explica o motivo pelo qual as hemácias se tornam falcizadas (em forma de foice) quando são aprisionadas no interior dos pequenos vasos, ou quando o sangue sofre estase e desoxigenação. *In vitro*, o fenômeno da falcização é demonstrado pelo uso de agentes redutores como o metabissulfito de sódio.

Alguns testes laboratoriais procuram evidenciar a presença de hemoglobina S. Dentre eles destacam-se a pesquisa de drepanócitos, o teste de solubilidade e a eletroforese de hemoglobina.

2- Pesquisa de Drepanócitos

A pesquisa de Drepanócitos consiste em colocar sobre uma lâmina 1 gota de sangue. Adicionar ao sangue 2 gotas de metabissulfito de sódio. Misturar e cobrir com lamínula. Deixar em repouso por 30 minutos. Observar ao microscópio no aumento de 40x.

Resultado:

É dado como positivo ou negativo, conforme presença ou ausência de células falciformes. Antes de fornecer um resultado negativo, reexaminar a lâmina após 6 e 24 horas.

3- Teste de solubilidade para HbS

A hemoglobina S pode promover a falcização das hemácias no estado desoxigenado (reduzido), ficando insolúveis quando colocadas em tampão de sulfato de amônio/fosfato de alta molaridade e formam polímeros de cristais (tactóides) que se precipitam após centrifugação.

Material: 0,5ml de sangue colhido em EDTA, ditionito de sódio, saponina p.a., di-potássio hidrogeno fosfato.

Em três tubos de kahn identificados como controle positivo, controle negativo e teste, pipetar 2ml da solução tampão sulfato de amônio/fosfato; Acrescentar uma pequena alíquota de ditionito de sódio e saponina; Homogeneizar; Pipetar 0,1ml de amostra, cada uma em seu respectivo tubo (controle positivo, controle negativo e teste); Homogeneizar e aguardar 5 minutos; Centrifugar por 10 minutos a 2500 rpm.

Resultado:

- Precipitado vinho no fundo com sobrenadante rosa claro = positivo (AS).
- Precipitado vinho no fundo com sobrenadante claro = positivo (SS).
- Precipitado branco no fundo com sobrenadante vinho escuro = negativo (AA)

CAPÍTULO V

COAGULOGRAMA

1- O Mecanismo de Hemostasia

Sabemos que a função básica da circulação é nutrir os tecidos. Então, para que os nutrientes, gases, hormônios, catabólitos e anticorpos sejam distribuídos ou removidos dos tecidos é necessário que o sangue possa fluir dentro de um vaso sanguíneo qualquer. Assim, a fluidez sanguínea deve ser mantida e garantida, de modo que se evite o extravasamento de sangue e também a deposição intravascular de células e substâncias formando um coágulo chamado **trombo**. O extravasamento de sangue é o que origina as hemorragias e a formação de trombos pode ocluir um vaso. Com isso, o tecido que se encontra depois do local ocluído vai sofrer falta de oxigênio, ocorrendo necrose que nada mais é do que um enfarto.

Assim, deve haver um equilíbrio que evite o extravasamento ou perda de sangue e a formação de trombos. A esse equilíbrio chamamos **Hemostasia**. Esse processo envolve quatro sistemas relacionados: os vasos sanguíneos, as plaquetas, os fatores da coagulação e a fibrinólise.

2- O Papel dos Vasos Sanguíneos na Hemostasia

Os vasos sanguíneos são recobertos internamente por uma camada celular chamada **endotélio**, e logo abaixo deste endotélio temos uma camada rica em **colágeno**. A integridade desse endotélio pode garantir o perfeito funcionamento do mecanismo de hemostasia. Porém, quando um vaso sanguíneo é lesado, para que seja contido o extravasamento de sangue, inicia-se uma série de reações. Uma dessas reações é a **vasoconstrição**, ou seja, o estreitamento do diâmetro do vaso para reduzir a quantidade de sangue que chega naquele ponto lesado. Se o vaso é pequeno, como os capilares, pode selar-se, se as pontas cortadas se tocarem.

Mas se o vaso é de maior calibre a lesão não é contida apenas com a vasoconstrição. Neste caso, o colágeno exposto com a lesão vai estimular a ação das plaquetas sobre o local lesado.

3- O Papel das Plaquetas na Hemostasia

As plaquetas têm o formato de um disco redondo enquanto circulam na corrente sanguínea. Todavia, as plaquetas sofrem uma mudança no formato quando entram em contato com o colágeno exposto na parede do vaso sanguíneo lesado. Este contato com o colágeno inicia a **adesão plaquetária**, o ato em que as plaquetas individualmente aderem à ponta lesada do vaso. Para essa adesão plaquetária ocorrer de forma efetiva, é necessária uma proteína do plasma denominada fator de Von Willebrand.

Assim que as plaquetas aderem à superfície do vaso, tornam-se ativadas. Estas plaquetas ativadas perdem sua forma normal de disco e intumescem, tornando-se mais esféricas. Ao mesmo tempo, formam numerosas projeções espiculares, tornam-se pegajosas e começam a se unir uma às outras. Este processo é chamado de **agregação plaquetária**. Por causa do grande número de plaquetas presentes no sangue circulante, um tampão de plaquetas forma-se em poucos segundos para estancar o sangramento, em casos de pequenas lesões. O tampão plaquetário, embora seja um agregado frouxo de plaquetas, pode interromper o sangramento, se o orifício do vaso lesado for pequeno. Nas lesões maiores, porém, o tampão plaquetário que se formou, apesar de aumentar e se organizar, é ainda instável e pode ser arrastado pela corrente sanguínea e diluir-se. Torna-se necessária, portanto, a formação de um coágulo sanguíneo para completar a hemostasia.

4- A Formação do Coágulo

A modificação de um conjunto de proteínas do plasma constitui o mecanismo final da hemostasia, que forma um coágulo no local da lesão do vaso. Estas proteínas são denominadas **Fatores da Coagulação**. O coágulo,

então, é o resultado de alterações complexas nos fatores da coagulação, cuja etapa final é a transformação do fibrinogênio em fibrina.

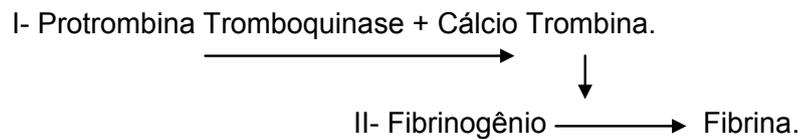
O fibrinogênio é um importante fator da coagulação produzido pelo fígado e a fibrina é a matriz proteica do coágulo. Esta forma um emaranhado semelhante a uma rede, na qual ficam retidas as plaquetas e as hemácias que participam da composição do coágulo. Após qualquer lesão vascular, um coágulo começa a ser formado em 15 a 20 segundos. Em cerca de 3 a 6 minutos, a lesão do vaso é completamente ocluída pelo coágulo.

5- Os Fatores da Coagulação

Os fatores da coagulação são proteínas do plasma que circulam no sangue sob a forma inativa, exceto o fator IV que é o mineral **Cálcio**. Quando um vaso é lesado, uma série de reações complexas leva à ativação dos fatores da coagulação, resultando na formação de um coágulo de fibrina. Os fatores da coagulação são numerados de I a XIII, na ordem pela qual foram descobertos e não em sua ordem de ação. Assim, a forma inativa circulante do fator de coagulação é designada pelo seu número e a forma ativa, pelo seu número seguido da letra **a**. Por exemplo, o fator XII ativado é o fator XIIa. Os fatores da coagulação estão listados na tabela abaixo.

Número do Fator	Nome
Fator I	Fibrinogênio
Fator II.....	Protrombina
Fator III	Tromboplastina/ Fator tissular
Fator IV	Cálcio
Fator V	Ativador da Protrombina
Fator VII	Proconvertina
Fator VIII	Fator anti-hemofílico
Fator IX	Fator Christmas
Fator X	Fator Stuart Prower
Fator XI	Precursor da tromboplastina do plasma
Fator XII	Fator Hageman/ Fator do contato
Fator XIII	Fator estabilizador da fibrina.

A interação dos fatores da coagulação envolve reações muito complexas. Todavia, a reação inteira pode ser resumida nas duas equações seguintes:



O resultado final \u00e9 um co\u00e1gulo de fibrina est\u00e1vel para estancar a sangria e ap\u00f3s a dissolu\u00e7\u00e3o do co\u00e1gulo quando n\u00e3o \u00e9 mais necess\u00e1rio.

6- As Vias Metab\u00f3licas da Coagula\u00e7\u00e3o

O processo de coagula\u00e7\u00e3o que leva \u00e0 forma\u00e7\u00e3o do co\u00e1gulo de fibrina envolve tr\u00eas importantes vias metab\u00f3licas: a via intr\u00ednseca, a via extr\u00ednseca e a via comum.

A **Via Extr\u00ednseca** \u00e9 assim chamada porque um dos fatores da coagula\u00e7\u00e3o que a comp\u00f5e n\u00e3o est\u00e1 presente na circula\u00e7\u00e3o sangu\u00ednea. \u00c9 o fator III ou fator tissular (tromboplastina), que \u00e9 liberado quando o vaso sangu\u00edneo \u00e9 lesado. A tromboplastina age ativando o fator VII. O c\u00e1lcio \u00e9 necess\u00e1rio para que ocorra esta ativa\u00e7\u00e3o. O fator VII ativado (fator VIIa) participa da ativa\u00e7\u00e3o do fator X a fator Xa.

A **Via Intr\u00ednseca** \u00e9 composta por fatores essencialmente circulantes, ou seja, todos os seus fatores est\u00e3o presentes na circula\u00e7\u00e3o sangu\u00ednea. Esta via \u00e9 iniciada quando o fator XII, o chamado fator de contato, entra em contato com certas superf\u00edcies que o ativam para formar o fator XIIa. A rea\u00e7\u00e3o final da via intr\u00ednseca \u00e9 a ativa\u00e7\u00e3o do fator VIII a fator VIIIa. Este \u00faltimo, por sua vez, ativa, juntamente com o fator VIIa (da via extr\u00ednseca), o fator X a fator Xa. A via intr\u00ednseca pode ser ativada pelo contato do fator XII com v\u00e1rias superf\u00edcies como, por exemplo, a agulha e a seringa ou o tubo de vidro usado durante a coleta de sangue.

A **Via Comum** \u00e9 ativada quando, ou pela via intr\u00ednseca ou pela extr\u00ednseca, o fator X \u00e9 ativado a fator Xa. O restante da cadeia de ativa\u00e7\u00e3o de

fatores segue uma via comum. Uma reação complexa resultante da atuação do fator Xa, do cálcio e do fator Va leva à ativação da protrombina a trombina. A trombina, então, age como ativadora do fibrinogênio, levando à formação da fibrina. O coágulo de fibrina, porém, não é estável até que o fator XIII ativado (fator XIIIa) a torne suficientemente estável para conter uma hemorragia. O fator XIIIa é também muito importante no processo de cicatrização. Tem sido observado que pacientes com deficiência do fator XIII demoram a cicatrizar.

7- A Fibrinólise

Após o coágulo de sangue ter servido na função de estancar a hemorragia, deverá ser dissolvido. Este processo é chamado **fibrinólise**. Dois importantes componentes atuam neste processo: o plasminogênio e a plasmina. O plasminogênio encontra-se na circulação e deve ser ativado para chegar a plasmina que vai acelerar o processo de destruição do coágulo.

8- Testes da Coagulação

Os métodos laboratoriais para o diagnóstico das desordens hematológicas são considerados a seguir. Para este estudo, porém, torna-se importante dividi-los em dois grupos. O primeiro grupo que corresponde aos testes que avaliam o primeiro momento do sistema hemostático, no qual atuam os vasos sanguíneos e as plaquetas e o segundo grupo que corresponde aos testes que avaliam o segundo momento no qual atuam os fatores da coagulação.

Para avaliar o primeiro tempo de hemostasia, os principais exames são o tempo de sangria, a prova do laço, a contagem de plaquetas e a agregação plaquetária. Para avaliar o segundo tempo de hemostasia, também chamado de tempo plasmático, os principais exames são o teste de coagulação, o tempo de protrombina (PT), o tempo de tromboplastina parcial (PTT) e a dosagem de fibrinogênio.

8.1- Tempo de Sangria

O teste do tempo de sangria mede o tempo necessário para ocorrer estancamento da hemorragia provocada após uma pequena incisão na ponta do dedo. O teste é simples, porém grosseiro e a menos que seja realizado com muito cuidado, pode dar resultado falsamente normal. É um teste de triagem para anormalidades quantitativas ou qualitativas nas plaquetas e também pode avaliar a integridade vascular.

O tempo de sangria mostra-se prolongado quando há dificuldade em se formar o tampão plaquetário como ocorre na púrpura trombocitopênica, onde a atividade das plaquetas é deficiente.

VR: 1 a 3 minutos.

Interpretação:

Menor que 1 minuto: erro técnico, devendo-se fazer com outro dedo;

De 3 a 5 minutos: Faixa suspeita, devendo-se questionar sobre o uso de medicamentos como o AAS;

Acima de 5 minutos: Patologias relacionadas a defeito na integridade dos vasos sanguíneos ou na quantidade ou qualidade das plaquetas.

8.2- Contagem de plaquetas

As plaquetas são as células sanguíneas responsáveis pela coagulação do sangue. Quando ativadas vão fazer parte da composição do coágulo sanguíneo juntamente com outros constituintes. Essas células são produzidas na medula óssea juntamente com hemácias e leucócitos. Assim sendo, avaliar a quantidade de plaquetas pode auxiliar tanto no diagnóstico de doenças relacionadas à coagulação sanguínea, quanto na avaliação do funcionamento geral da medula óssea.

A contagem de plaquetas pode ser feita por diferentes metodologias, sendo os métodos de fônio e o de Ress-Ecker os mais divulgados. O primeiro utiliza um esfregaço sanguíneo e o segundo a câmara de Neubauer. Porém em qualquer das metodologias utilizadas sabe-se que a contagem de plaquetas requer certo rigor na padronização, pois é um exame muito passível de erros.

Devido ao seu pequeno tamanho, as plaquetas têm uma tendência a aderir a superfícies estranhas ao endotélio vascular e a uma rápida

desintegração. Por isso, a contagem de plaquetas torna-se problemática por qualquer método.

As plaquetas são contadas por métodos diretos e indiretos. Nos métodos diretos, elas são contadas na câmara de Neubauer pelo método de Rees-Ecker.

No método indireto de Fônio, plaquetas e hemácias são contadas simultaneamente no mesmo esfregaço. Posteriormente faz-se o relacionamento entre essa contagem e o número de hemácias por mm^3 de sangue obtido, à parte, pela câmara. Estes métodos fornecem contagem um pouco mais alta que os diretos.

Na prática, o método mais divulgado para contar plaquetas é o de Rees-Ecker, em que o sangue é devidamente diluído e colocado numa câmara de Neubauer para a contagem. A diluição e a região para a contagem no retículo são os mesmos que os usados para as hemácias. Assim, o resultado obtido na contagem deve ser multiplicado por 10.000.

Os valores normais de plaquetas variam entre 150.000 a 450.000 plaquetas por milímetros cúbicos de sangue.

Valores acima de 450.000 plaquetas/ mm^3 são considerados trombocitose e ocorrem como resposta medular a hemorragias, anemias hemolíticas, leucemias, infecções agudas, etc. E os valores abaixo de 150.000 plaquetas/ mm^3 caracterizam um quadro de trombocitopenia e ocorrem em infecções como pneumonia e malária, radiações (raio X), medicamentos e substâncias químicas (cloranfenicol e benzeno), anemia perniciosa, anemia aplástica, lupus eritematoso sistêmico, etc.

As principais causas de erros na contagem de plaquetas são:

- Coleta mal feita;
- Vidraria suja;
- Solução diluidora sem filtração prévia;
- Sangue parcialmente ou totalmente coagulado;
- Esfregaços impropriamente confeccionados, mostrando aglutinados de plaquetas não oferecem exatidão necessária ao método indireto;
- Coloração deficiente;
- Não realizar as contagens em sangue recentemente colhido;

- Usar sangue hemolisado;

O erro permitido oscila entre 10 e 205. Para uma contagem normal em torno de 350000/mm³ pode haver diferença de até 70000 plaquetas /mm³.

Os valores de referência para as plaquetas variam de 150.000 a 450.000/mm³.

Valores acima de 450.000 plaquetas por ml de sangue significam trombocitose e podem ocorrer devido a:

- Hemorragias;
- Fraturas ósseas;
- Transfusão de sangue;
- Hemólise;
- Infecções agudas como a febre reumática e a mononucleose;
- Policitemia Vera;
- Leucemia mielóide;
- Caquexia;
- Esplenectomia;

Valores abaixo de 150.000 plaquetas por ml de sangue indicam trombocitopenia e podem ocorrer devido a;

- Infecções agudas como a pneumonia e malária;
- Carencial: escorbuto;
- Virose como a dengue.

8.3- Tempo de coagulação

O tempo de coagulação é uma medida da capacidade do sangue em coagular depois de retirado do organismo. O teste é feito em tubos de ensaio de calibre uniforme. O problema é a padronização, pois o teste deve ser feito imediatamente após a coleta, no “leito do paciente”.

VR: 5 a 11 minutos.

Interpretação:

Acima de 11 minutos, dizemos que o tempo de coagulação está prolongado.

O contato do sangue com a parede do tubo ativa o fator XII da via intrínseca. A via extrínseca não é ativada, pois depende do fator tissular

(tromboplastina). Assim, podemos dizer que o Tempo de Coagulação estará prolongado nas deficiências dos fatores que compõem a via intrínseca (XII, XI, IX e VII) e a via comum (X, V, protrombina e fibrinogênio), nas doenças hepáticas e em pacientes que fazem uso de anticoagulantes como a heparina.

8.4- Tempo de Protrombina

O tempo de protrombina ou tempo de Quick é realizado adicionando-se ao plasma descalcificado pelo citrato, um excesso de fator tecidual (tromboplastina). Considerando que a protrombina é convertida em trombina num tempo uniforme, a adição de cálcio com quantidade conhecida de cloreto de cálcio produz a coagulação do plasma. O tempo entre a adição do cálcio e a coagulação é chamado tempo de protrombina.

O resultado é expresso em segundos tanto para o tempo do plasma normal quanto para o tempo do plasma teste.

Exemplo: Plasma normal..... 13 segundos
Plasma teste 15 segundos
Relação PT/PN 1,15
% de atividade: Tempo do teste..... X
Tempo normal 100%

VR: Os valores normais estão entre 11 e 15 segundos e atividade normal está entre 70 e 100% do padrão normal.

O tempo de protrombina é um teste para avaliar a via extrínseca e a via comum, ou seja, os fatores VII, X, V, II e o fibrinogênio. Assim, o tempo de protrombina estará aumentado em casos de deficiência de fibrinogênio e de qualquer um dos fatores mencionados anteriormente, em pacientes que fazem uso de anticoagulantes, nas doenças hepáticas e deficiência de vitamina K, pois os fatores II, VII e X são dependentes desta vitamina.

O teste pode auxiliar no acompanhamento do uso de anticoagulantes e na avaliação do risco cirúrgico. É considerado risco cirúrgico uma atividade inferior a 50%. No tratamento com anticoagulante, a atividade deve ser mantida entre 15 e 30% do normal.

8.5- Tempo de Tromboplastina Parcial

É o tempo medido entre a adição de cálcio, na presença de uma cefalina (fator de contato) e a coagulação do plasma. A presença de um fator de contato (cefalina) ativa as reações da via intrínseca da coagulação. O tempo de tromboplastina parcial corresponde ao tempo gasto para ocorrer à coagulação do plasma recalcificado em presença de cefalina.

O resultado é expresso em segundos, de acordo com o exemplo abaixo:

Tempo do plasma normal.....	32 segundos
Tempo do plasma teste.....	32 segundos
Relação PT/PN.....	1,0

VR: Os valores normais estão entre 30 e 45 segundos. A diferença entre o plasma normal e o teste não deve exceder 10 segundos.

O PTTa estará aumentado quando o paciente tiver deficiência de fatores da via intrínseca (XII, XI, IX e VII) e de fatores da via comum (X, V, II e fibrinogênio). É o caso de pacientes com hemofilias A e B, doenças hepáticas, uso de anticoagulantes e deficiência de vitamina K, uma vez que os fatores II, IX e X dependem desta vitamina.

9- Desordens na Coagulação

9.1- Hemofilias

As hemofilias são doenças hereditárias em que há uma deficiência em um ou mais fatores da coagulação. A hemofilia clássica, chamada **hemofilia A** é causada por uma deficiência do fator VIII. A **hemofilia B**, por sua vez, também chamada de doença de Christmas é causada por deficiência do fator IX.

As hemofilias A e B são hereditárias e vinculadas aos genes sexuais recessivos carregados pelo cromossomo X. Os homens carregam um cromossomo X e outro Y, tendo as manifestações clínicas da doença. As mulheres, com dois cromossomos X, mesmo portadoras do gene da hemofilia, não mostram sintomas da doença.

Os sintomas da doença são sangramentos anormais nas juntas, boca, músculos, trato renal, após extrações dentárias e intestino.

9.2- Desordens Plaquetárias Hereditárias

Existem várias desordens plaquetárias que causam prolongadas hemorragias nos pacientes.

A **Síndrome de Bernard-Soulier** é uma doença em que as plaquetas são grandes e a sua contagem é baixa. O defeito está na adesão plaquetária.

A **doença de Von Willebrand** ocorre devido à deficiência do fator de Von Willebrand que é um segmento do fator VIII. Este defeito altera a capacidade de agregação entre as plaquetas.

9.3- Coagulação Intravascular Disseminada

A coagulação intravascular disseminada (CID) é uma séria condição na qual a coagulação indesejada ocorre e, mais tarde, hemorragias. A CID pode se desencadear por lesões por esmagamentos, infecções virais e algumas bacterianas e algumas drogas.

A CID ocorre quando a coagulação intravascular é disparada, causando depósitos de fibrina nos vasos sanguíneos. Formam-se trombos em órgãos vitais como os rins, pulmões, coração e cérebro. O sistema fibrinolítico é então ativado, e o processo de eliminação do coágulo pode produzir realmente um problema de sangramento.

9.4- Púrpura Trombocitopênica

A púrpura trombocitopênica ocorre quando o sistema imune produz anticorpos contra as plaquetas do próprio paciente. As consequências são trombocitopenia e aumento do baço.

9.5- Deficiência de Vitamina K

A deficiência severa de vitamina K causa produção diminuída dos fatores de coagulação dependentes da vitamina K. Os fatores dependentes da vitamina K são o II e o X (da via comum), o VII (da via extrínseca) e o IX (da via intrínseca).

9.6- Medicamentos

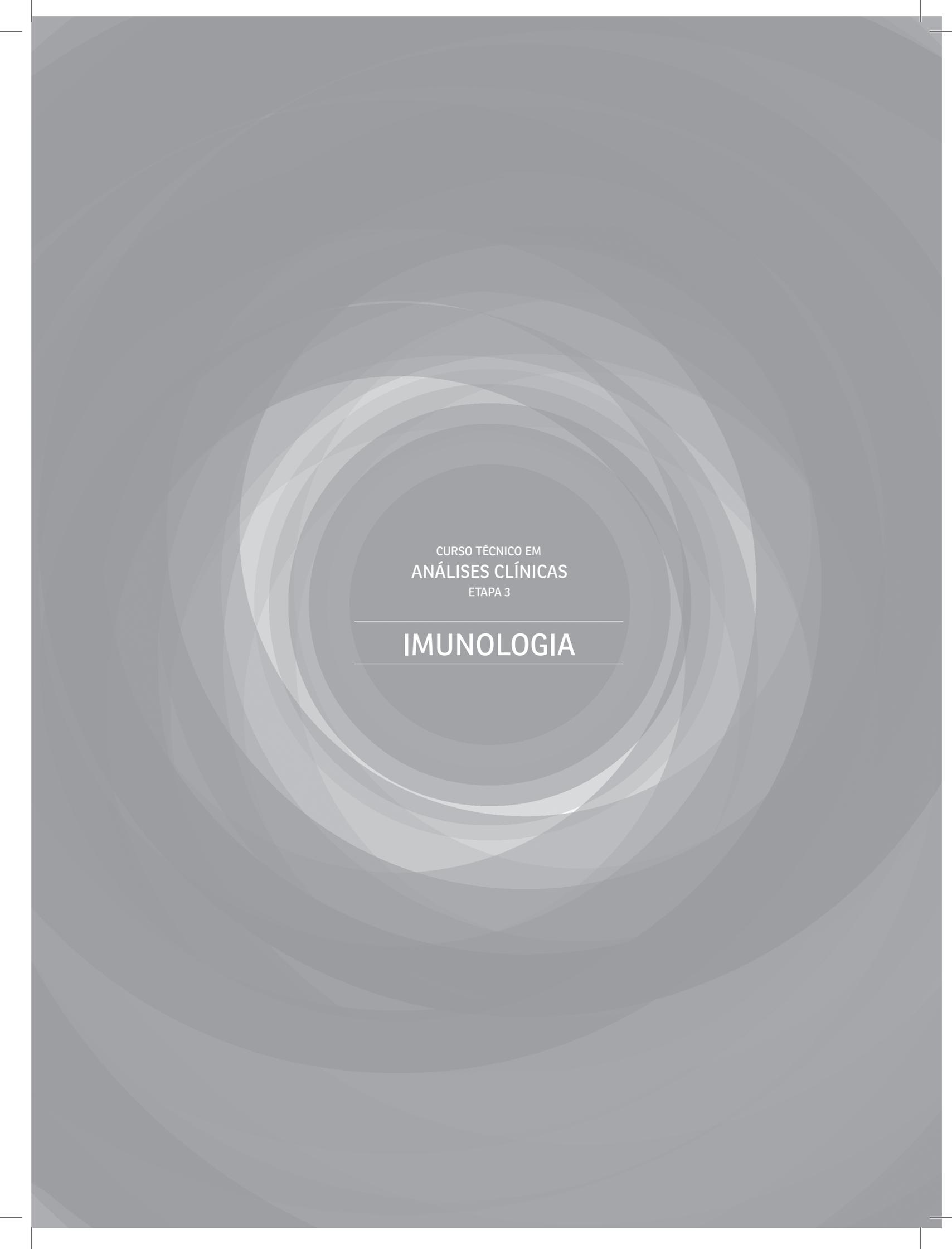
A ingestão de aspirina afeta a agregação plaquetária por mais de oito dias por causa do efeito sobre a reação de liberação das plaquetas.

Condição	Resultados de Exames			
	T. de sangria	PT	PTTa	Plaquetas
Hemofilia A	Normal	Normal	Anormal	Normal
Hemofilia B	Normal	Normal	Anormal	Normal
Doença de Von Willebrand	Anormal	Anormal	Anormal	Normal
Síndrome de Bernard-Soulier	Anormal	Normal	Normal	Diminuídas
Púrpura trombocitopênica	Anormal	Normal	Normal	Diminuídas
Uso de anticoagulantes	Normal	Anormal	Anormal	Normal

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VERRASTRO, Terezinha. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica.** 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 303 p.
- CARVALHO, Willian de Freitas. **Técnicas Médicas de Hematologia e Imunoematologia.** 7. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2002. 345 p.
- CARVALHO, Maria das Graças; SILVA, Maria Belkys Sarmiento. 1.ed. Belo Horizonte, 1988. 139p.





CURSO TÉCNICO EM
ANÁLISES CLÍNICAS
ETAPA 3

IMUNOLOGIA

Sumário

CAPÍTULO I	171
CAPÍTULO II	172
CAPÍTULO III	174
CAPÍTULO IV	176
CAPÍTULO V	178
CAPÍTULO VI	183
CAPÍTULO VII	188
CAPÍTULO VIII	191

CAPÍTULO I

Reações de aglutinação pelo látex:

O diagnóstico de várias doenças é feito através da detecção de anticorpos ou antígenos no soro do paciente. Os anticorpos se encaixam especificamente nos antígenos, em um esquema chave/fechadura, e esse princípio foi utilizado para criação dos testes de aglutinação pelo látex. As partículas de látex sensibilizadas “ancoram” os antígenos ou anticorpos e se aglutinam ao formarem pontes com a molécula específica detectada no soro, permitindo a visualização através da aglutinação com formação de grumos.

Exemplos de testes de aglutinação pelo látex:

Pesquisa do fator reumatóide

Pesquisa de proteína C reativa

Pesquisa da anti-estreptolisina O (AEO)

Pesquisa de β -HCG

Os testes podem ser qualitativos, quando se determina a detecção de um analito em uma amostra, ou seja, quando se define se uma amostra é positiva ou negativa. Sempre que um resultado é positivo, é necessário que se defina a concentração deste analito na amostra, esta análise quantitativa permite uma comparação entre o valor encontrado, a partir de um valor de referência, que irá definir o significado clínico do valor detectado, além disso, estes valores comparativos permitem o acompanhamento clínico do paciente.

Efeito pró-zona:

Juntamente ao teste da amostra integral, os testes de aglutinação devem ser feitos usando uma amostra previamente diluída para evitar o efeito pró-zona. O efeito pró-zona pode causar um resultado falso negativo e pode ocorrer quando há a grande quantidade de antígenos ou anticorpos na amostra testada que podem saturar e bloquear o látex do reagente, impedindo a formação de pontes, não sendo visualizada a aglutinação.

CAPÍTULO II

Pesquisa do fator reumatoide:

A artrite reumatoide é uma doença autoimune, sistêmica, crônica, caracterizada pela inflamação nas articulações que causa edema, dor e pode levar até a deformações definitivas nas pequenas e grandes articulações.

A artrite reumatoide é causada por anticorpos autoimunes que se acumulam nas articulações causando a inflamação e conseqüentemente a destruição óssea. O fator desencadeante desta resposta é desconhecido, mas está associado a uma predisposição genética do paciente e mais de 60% dos casos acometem o sexo feminino.

O diagnóstico da artrite reumatoide é feito principalmente pela detecção do **fator reumatoide** no soro do paciente.

O **fator reumatoide** é um anticorpo produzido pelos linfócitos B contra as células das articulações. É encontrado principalmente como o isótopo IgM que tem a forma pentamérica.

Princípio do teste para pesquisa do fator reumatoide:

Uma das características do fator reumatoide é sua capacidade em se ligar à região Fc da IgG, em função disso, o diagnóstico é realizado usando partículas de látex recobertas com IgG, que serão aglutinadas se houver a presença do fator reumatoide no soro testado.

Procedimento técnico:

Amostra: Soro

Reagente: Látex recoberto com IgG

- Em uma lâmina escura adicionar 50 µl de soro
- Colocar uma gota do látex previamente homogeneizado ao lado da amostra
- Misturar com auxílio de bastões

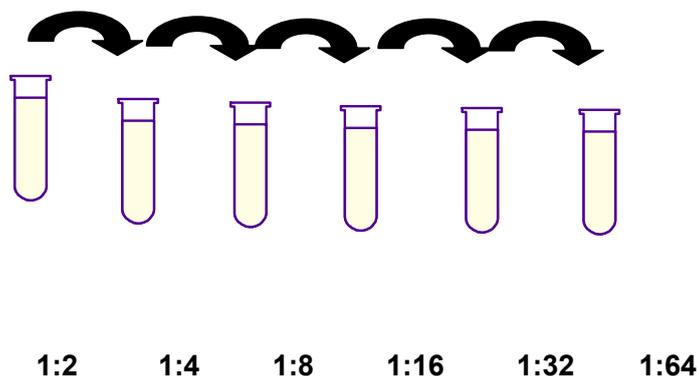
- Inclinar a lâmina em movimentos circulares por dois minutos e observar se houve aglutinação

Resultados:

- Negativo: Suspensão homogênea
- Positivo: Aglutinação com formação de grumos. Realizar a titulação da amostra com diluição seriada.

A diluição seriada deve ser feita adicionando 100 μ l de solução salina em 6 tubos de Khan numerados.

Coloca-se 100 μ l da amostra no primeiro tubo que terá a diluição de 1:2, homogeneiza a solução com a própria pipeta, passa-se 100 μ l para o tubo seguinte, e assim sucessivamente até o sexto tubo que terá diluição de 1:64. De cada tubo retira-se 50 μ l de solução, que é colocada em lâmina escura e repete-se o procedimento adicionando a cada diluição uma gota do látex. O resultado é dado observando a maior diluição em que houve aglutinação, e multiplicando o valor da diluição pela sensibilidade do reagente.



Exemplo: Foi observada aglutinação até a diluição de 1: 16.

Sensibilidade do reagente: 8 UI/ml.

Positivo para fator reumatoide até a concentração de 128 UI/ml.

CAPÍTULO III

Proteína C reativa:

A proteína C reativa é uma glicoproteína produzida pelo fígado durante as inflamações. Sua elevação na corrente sanguínea pode ser detectada 4 a 6 horas após o início do processo inflamatório, antecedendo até mesmo outros marcadores como leucocitose ou febre alta. Portanto, a sua detecção é um indicador importante e sensível de inflamação, e o aumento ou diminuição de sua concentração no soro segue de perto processos inflamatórios de natureza infecciosa e não infecciosa.

Significado clínico da proteína C reativa:

A detecção da proteína C reativa indica processo inflamatório, e associada à quantificação e ao exame clínico do paciente, auxilia no diagnóstico.

- Diagnóstico de infecções virais e bacterianas:

Quando uma inflamação é decorrente de um processo infeccioso, a quantificação da proteína C reativa pode indicar a natureza do agente. Níveis de proteína C reativa superiores a 48 mg/l indicam inflamação decorrente de infecção bacteriana.

- Diagnóstico de infecção transplacentária:

Em recém nascidos com suspeita de infecção transplacentária é comumente realizado o teste para pesquisa da proteína C reativa. Sua detecção confirma a suspeita de infecção, e quando não é encontrada se descarta completamente essa possibilidade.

- Acompanhamento de pacientes com risco cardíaco:

A detecção de proteína C reativa também pode ser feita em pacientes cardíacos com níveis elevados de colesterol. A deposição de gordura nas artérias gera um processo inflamatório, e o monitoramento dos níveis de proteína C reativa pode indicar a evolução da obstrução arterial ou a regressão deste processo. Nos casos mais graves sua concentração pode chegar a 300 mg/l.

Princípio do teste para pesquisa da proteína C reativa:

Para pesquisa da proteína C reativa é utilizado o látex recoberto por anticorpos anti-proteína C reativa, que se aglutina na sua presença.

Procedimento técnico:

Amostra: Soro

Reagente: Látex recoberto com anti-proteína C reativa

- Em uma lâmina escura adicionar 50 μ l de soro
- Colocar uma gota do látex previamente homogeneizado ao lado da amostra
- Misturar com auxílio de bastões
- Inclinar a lâmina em movimentos circulares por dois minutos e observar se houve aglutinação

Resultados:

- Negativo: Suspensão homogênea
- Positivo: Aglutinação com formação de grumos. Realizar a titulação da amostra com diluição seriada. O resultado é dado observando a maior diluição em que houve aglutinação, e multiplicando o valor da diluição por 6 (fator de conversão) em mg/l.

CAPÍTULO IV

Antiestreptolisina O (AEO):

A febre reumática é uma doença decorrente da infecção da região orofaríngea pela bactéria *Streptococcus pyogenes*, um coco gram positivo. A doença tem maior incidência em crianças de 5 a 15 anos, após amigdalites recorrentes e pode causar eritemas disseminados na pele (escarlatina), inflamações nas articulações (artrite), lesões cardíacas (endocardite e pericardite) e glomerulares (glomerulonefrite pós-estreptocócica).

A bactéria produz a estreptolisina O, uma enzima que causa a lise das hemácias por ser altamente tóxica. Contra a estreptolisina O são secretados anticorpos **antiestreptolisina O (AEO)** no sangue, e a sua detecção nos testes sorológicos é importante no diagnóstico da febre reumática, associado a exames clínicos do paciente e histórico de amigdalites recorrentes.

Princípio do teste para pesquisa da antiestreptolisina O:

Nesse teste as partículas de látex são recobertas (sensibilizadas) com estreptolisina O purificada. Se existirem anticorpos antiestreptolisina O no soro testado eles se ligarão às moléculas do látex formando grumos.

Procedimento técnico:

Amostra: Soro

Reagente: Látex recoberto com estreptolisina O

- Em uma lâmina escura adicionar 50 µl de soro
- Colocar uma gota do látex previamente homogeneizado ao lado da amostra
- Misturar com auxílio de bastões
- Inclinare a lâmina em movimentos circulares por dois minutos e observar se houve aglutinação

Resultados:

- Negativo: Suspensão homogênea
- Positivo: Aglutinação com formação de grumos. Realizar a titulação da amostra com diluição seriada. O resultado é dado observando a maior diluição em que houve aglutinação, e multiplicando o valor da diluição pela sensibilidade do reagente em UI/ml.

Exemplo: Foi observada aglutinação até a diluição de 1: 32.

Sensibilidade do reagente: 200 UI/ml.

Positivo para A.E.O.na concentração de 6400 UI/ml.

CAPÍTULO V

Sífilis:

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível, que pode evoluir até a forma crônica se não tratada e alterna períodos de latência e períodos de agudização. A partir de uma lesão genital a sífilis pode comprometer múltiplos órgãos como olhos, pele, mucosas, ossos, articulações, sistema cardiovascular e sistema nervoso. O agente causador da sífilis é uma bactéria do tipo espiroqueta, o *Treponema pallidum* e sua principal forma de contágio é através de relações sexuais sem uso de preservativos, pela transfusão de sangue contaminado e transmissão transplacentária. De acordo com a evolução da doença, a sífilis pode ser classificada em primária, secundária, terciária e congênita. Como a sífilis pode ser transmitida da mãe para o feto, durante o pré-natal é feito o VDRL, pois a sífilis pode levar ao aborto ou a más formações congênitas como cegueira, surdez, más formações dentais e ósseas, e retardo mental. Caso o resultado seja positivo, se inicia imediatamente o tratamento evitando que a doença acometa o feto.

- **Etapas da sífilis:**

A sífilis é uma doença que, se não tratada, evolui continuamente, apresentando manifestações clínicas bem diversas.

- **Sífilis primária ou cancro duro:** lesão ulcerada, geralmente única, com borda endurecida e pouca secreção, localizada principalmente na região genital. Normalmente surge 10 dias após o contato infectante, mas esse tempo pode se estender até 90 dias após.

- **Sífilis secundária:** geralmente caracteriza-se pela presença de manchas cutâneo mucosas, 6 a 8 semanas após o surgimento da sífilis primária. Essas manchas são acastanhadas e escamosas, são denominadas sífilides papulosas e se localizam na palma das mãos e plantas dos pés.

- **Sífilis terciária:** as manifestações podem surgir 3 a 12 anos após o contato infectante. São comuns lesões cutâneo mucosas em platô denominadas tubérculos ou gomas, lesões articulares que causam deformações, lesões cardiovasculares irreversíveis e lesões neurológicas que levam o paciente à demência.

Pesquisa de anticorpos na sífilis:

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível, que pode evoluir até a forma crônica se não tratada e alterna períodos de latência e períodos de agudização. A partir de uma lesão genital a sífilis pode comprometer múltiplos órgãos como olhos, pele, mucosas, ossos, articulações, sistema cardiovascular e sistema nervoso. O agente causador da sífilis é uma bactéria do tipo espiroqueta, o *Treponema pallidum* e sua principal forma de contágio é através de relações sexuais sem uso de preservativos, pela transfusão de sangue contaminado e transmissão transplacentária. De acordo com a evolução da doença, a sífilis pode ser classificada em primária, secundária, terciária e congênita. Como a sífilis pode ser transmitida da mãe para o feto, durante o pré-natal é feito o VDRL, pois a sífilis pode levar ao aborto ou a más formações congênitas como cegueira, surdez, más formações dentais e ósseas, e retardo mental. Caso o resultado seja positivo, se inicia imediatamente o tratamento evitando que a doença acometa o feto.

Resposta imunológica na sífilis:

Alguns antígenos são fracos estimuladores da resposta imune, principalmente em função de suas dimensões reduzidas. Estes antígenos são denominados haptenos, e como exemplo de haptenos estão os antígenos do *Treponema pallidum*.

Embora a resposta imunológica como a produção de anticorpos seja menor, ela será produzida. Os anticorpos produzidos contra o hapteno do *Treponema pallidum* são classificados em **anticorpos treponêmicos** e são pesquisados no **FTA-abs**.

Como recurso para tornar o hapteno do *Treponema pallidum* mais visível, os tecidos lesados do hospedeiro liberam uma fração lipídica, uma molécula carreadora que se combina com o hapteno, estimulando a produção de anticorpos nos pacientes. Esses anticorpos são, portanto, produzidos contra a molécula final formada pela associação do hapteno + molécula carreadora, e são denominados **anticorpos não treponêmicos**. Os anticorpos não treponêmicos também chamados **reaginas** são pesquisados no **VDRL**.

Diagnóstico da sífilis:

FTA-abs (Fluorescent treponema antigen absorvent):

Princípio do teste:

Através da **imunofluorescência indireta**, o FTA-abs detecta a presença de **anticorpos treponêmicos** no soro do paciente, sensibilizando a lâmina com antígenos do *T. pallidum* e usando um anti- anticorpo marcado com fluoresceína como conjugado, o que permite a visualização da reação positiva pela fluorescência formada.

Procedimento técnico:

- A lâmina é sensibilizada com antígenos do *T. pallidum*
- É adicionado o soro teste
- A lâmina é incubada, se houver anticorpos treponêmicos no soro estes se ligarão aos antígenos
- Depois de incubada a lâmina é lavada para a retirada dos anticorpos não específicos
- O conjugado é adicionado, formado por um anti-anticorpo marcado com molécula fluorescente, o conjugado se liga à região Fc do anticorpo treponêmico.
- A lâmina é novamente incubada para que essa ligação possa ocorrer

- Lavagem da lâmina para a retirada dos conjugados excedentes ou não ligantes
- Leitura da lâmina em microscópio de fluorescência que emite luz ultra-violeta e permite visualizar a fluorescência da lâmina nos casos de positividade

Resultados:

Negativo: Lâmina sem fluorescência

Positivo: Observada fluorescência da lâmina, a amostra deve ser quantificada.

V.D.R.L. (Venereal disease research laboratory):**Princípio do teste:**

O V.D.R.L. é um teste de **floculação** que pesquisa a presença de **anticorpos não treponêmicos, as reaginas**, no soro do paciente. É constituído por uma mistura balanceada de cardiolipina, lecitina e colesterol. A cardiolipina tem a função antigênica, pois sua forma mimetiza a molécula final formada no paciente pela associação do hapteno do *T. pallidum* + molécula carreadora. Quando há a presença dos anticorpos não treponêmicos no soro testado, estes se ligam à cardiolipina que precipita com a lecitina e colesterol formando grumos grosseiros.

Procedimento técnico:

Amostra: Soro ou líquido cefalorraquidiano. Se o reagente não for composto por cloreto de colina, a amostra deve ser inativada previamente em banho-maria a 56 °C por 30 minutos.

Reagente: Suspensão de V.D.R.L.

- Em uma lâmina escavada adicionar 50 µl de soro
- Colocar 20 µl da suspensão de V.D.R.L. previamente homogeneizado e em temperatura ambiente
- Inclinar a lâmina em movimentos circulares por cinco minutos e observar em microscópio, na objetiva de 10X

Resultados:

Negativo ou não reagente: Não há floculação, a suspensão tem aspecto homogêneo.

Positivo ou reagente: Presença de floculação com a formação de grumos. Quantificar a amostra através de diluições seriadas.

CAPÍTULO VI

Diagnóstico da gravidez pela detecção de β -HCG na urina através da aglutinação pelo látex:

Hormônios femininos:

Hormônios gonadotrópicos hipofisários:

Hormônio folículo estimulante (FSH):

O hormônio folículo estimulante é produzido na hipófise e atua estimulando o crescimento dos folículos ovarianos todo mês na mulher. Os folículos são formados pelo ovócito em desenvolvimento e células foliculares que circundam o ovócito e são responsáveis pela nutrição do ovócito. Quando os folículos atingem metade de seu tamanho, as células foliculares iniciam sua atividade secretora, produzindo estrógeno.

Portanto o FSH tem como função promover o crescimento dos folículos ovarianos, e estimular as células foliculares a secretar estrógeno.

Hormônio luteinizante (LH):

Quando os níveis de estrógeno atingem seu máximo, a hipófise passa a secretar outro hormônio, o hormônio luteinizante. O LH faz com o óvulo maduro seja liberado e depois da ovulação há a formação do corpo lúteo, quando as células foliculares passam por mudanças morfológicas e bioquímicas, aumentam de tamanho, adquirem aparência amarelada e passam a secretar além de estrógeno, grandes quantidades de progesterona.

Hormônios ovarianos:

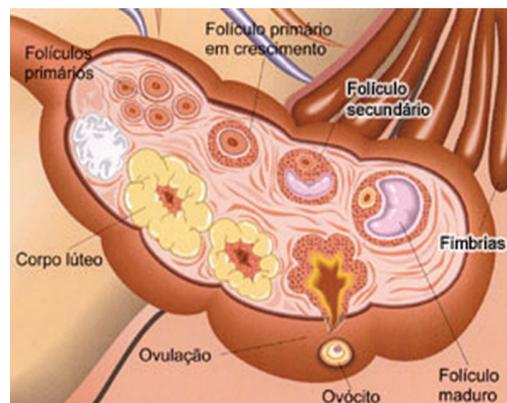
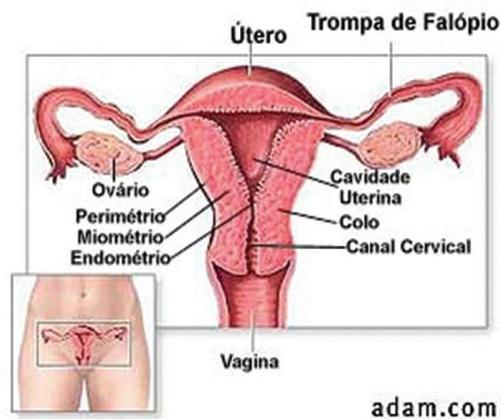
Estrógeno:

O estrógeno é um esteroide que começa a ser produzido na puberdade e é responsável pelos caracteres sexuais femininos que surgem na

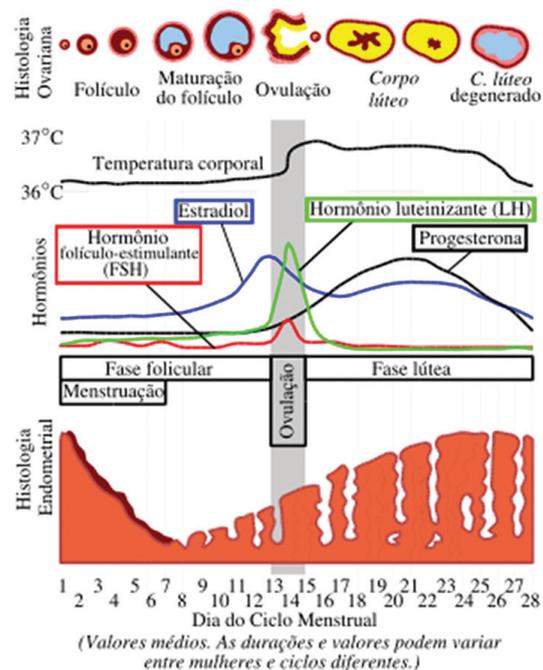
adolescência, como crescimento de mamas, deposição de gordura nos quadris, surgimento de pêlos axilares e pubianos. Além disso, o estrógeno atua regulando o ciclo feminino.

Progesterona:

Além de também regular o ciclo feminino, a progesterona é o hormônio responsável pelo preparo do corpo feminino para a gravidez, aumenta a produção do endométrio que se torna altamente vascularizado, intensifica o crescimento das glândulas mamárias, além de impedir as contrações uterinas quando a mulher está grávida, impedindo que o óvulo fecundado seja expulso. Quando não ocorre a fertilização do óvulo, há a regressão do corpo lúteo que para de produzir progesterona e ocorre a descamação do endométrio que é a menstruação.



Fonte: cienciahoje.uol.com.br



Fonte: cienciahoje.uol.com.br

Gravidez

Quando o óvulo fertilizado se implanta no útero, as células que darão origem à placenta, chamadas trofoblastos começam a secretar o hormônio gonadotrofina coriônica humana (HCG).

A função da gonadotrofina coriônica (HCG) é a de prolongar a atividade funcional do corpo lúteo no ovário, permitindo a continuidade de produção de progesterona e estrógeno, mantendo-os em nível que sustente a gestação até que a placenta desenvolva sua atividade estrogênica.

A gonadotrofina coriônica (HCG) é uma glicoproteína secretada pela placenta. O aparecimento de HCG, tanto na urina quanto no soro, após a concepção, assim como a sua rápida elevação são excelentes marcadores de confirmação de gravidez. Além da elevação normal de HCG durante a gravidez, altas concentrações do hormônio podem ser detectadas em pacientes com neoplasias de origem trofoblástica como mola hidatiforme, câncer de próstata, câncer de pâncreas, estômago, de intestino delgado e colo retal, câncer de pulmão, hepatoma, melanoma maligno, teratoma e câncer de mama.

O HCG é um heterodímero composto de duas subunidades heterogêneas, α e β , de ligação não covalente. A subunidade α é similar à

subunidade α de outros hormônios como TSH, LH e FSH, enquanto a subunidade β é específica da molécula de HCG, por isso foram produzidos anticorpos monoclonais que reagem somente com a subunidade β , para se testar a presença de HCG na urina.

Testes de aglutinação pelo látex para pesquisa de β -HCG na urina:

Princípio do teste de aglutinação ativa ou direta:

Neste teste o látex é recoberto por anticorpos monoclonais anti-HCG, se há a presença de HCG na urina testada, ela se liga aos anticorpos aglutinando o látex, e será visualizada a formação de grumos.

Procedimento técnico:

Amostra: Urina. Usar preferencialmente a primeira amostra da manhã. Essa contém maior concentração de HCG, igualando-se aos níveis sanguíneos. Os recipientes utilizados na coleta deverão estar limpos e secos, isentos de detergentes que podem interferir no teste e falsear o resultado. Quando refrigerada (2-6 °C), a amostra se conserva por 72 horas. Se mantida a 20 °C negativos, conserva-se por três meses. **A amostra deverá estar à temperatura ambiente (20–30°C) antes da realização do teste.** Urinas turvas ou hemorrágicas devem ser filtradas ou centrifugadas.

Reagente: Látex recoberto com anti-HCG

- Em uma lâmina escura adicionar 50 μ l de urina
- Colocar uma gota do látex previamente homogeneizado ao lado da amostra
- Misturar com auxílio de bastões
- Inclinare a lâmina em movimentos circulares por dois minutos e observar se houve aglutinação

Resultados:

- Negativo: Suspensão homogênea
- Positivo: Aglutinação com formação de grumos.

Princípio do teste de aglutinação passiva ou indireta:

Essa reação usa reagentes diferentes, e, portanto a leitura do resultado também é distinta. Primeiramente, à urina testada é colocado o anti-HCG, reagente composto por anticorpos monoclonais anti-HCG. Se há HCG na urina testada, esse HCG solúvel se liga aos anticorpos, bloqueando-os. Em seguida é adicionado o látex HCG. Se o anticorpo foi bloqueado pelo HCG solúvel na urina, ele não se liga ao HCG na superfície do látex, e não há aglutinação no resultado positivo. Quando não há HCG na urina testada, não há bloqueio dos anticorpos anti-HCG, e estes se ligam ao HCG presente na superfície do látex formando grumos. Nesse caso o resultado é negativo.

Procedimento técnico:

Amostra: Urina.

Reagentes: Anti-HCG solúvel e látex-HCG

- Em uma lâmina escura adicionar 50 µl de urina
- Colocar uma gota de anti-HCG
- Misturar com auxílio de bastões por 2 minutos
- Colocar uma gota do látex previamente homogeneizado
- Misturar com auxílio de bastões
- Inclinare a lâmina em movimentos circulares por dois minutos e observar se houve aglutinação

Resultados:

- Negativo: Aglutinação com formação de grumos.
- Positivo: Suspensão homogênea, sem grumos.

CAPÍTULO VII

Técnicas de imunodiagnóstico:

O imunodiagnóstico permite que indiretamente seja concluída qual patologia acomete um indivíduo através da resposta imunológica produzida por esse paciente.

A resposta imunológica é caracterizada principalmente pela produção de anticorpos, proteínas específicas produzidas pelos linfócitos B contra um antígeno. Presentes na corrente sanguínea, os anticorpos não são iguais na sua forma. Cada um se encaixa especificamente a um antígeno, portanto, sua detecção nos testes sorológicos permite diagnosticar a patologia que acomete o indivíduo.

No imunodiagnóstico são usados os próprios antígenos como “isca” e outros reagentes que permitem a visualização da reação.

Os principais testes sorológicos usados no imunodiagnóstico são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), e o ensaio imunoenzimático (ELISA). Esses testes também são usados no acompanhamento clínico do paciente, através da quantificação dos anticorpos.

Pesquisa de isótipos de anticorpos:

Nem sempre a presença de um anticorpo define um diagnóstico. Na maioria das vezes é necessário identificar a classe (isótipo) do anticorpo.

Os dois anticorpos mais pesquisados são os do tipo IgM e IgG. A IgM por ser a primeira classe de anticorpo produzida pelo linfócito B indica um processo infeccioso recente, e a IgG indica memória imunológica que pode indicar uma infecção crônica, dependendo da patologia pesquisada, ou uma infecção passada e ainda imunização pela vacina.

Nas patologias do aparelho digestório pode ser pesquisada a IgA; e a IgE é pesquisada no diagnóstico das alergias.

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI):**Princípio do teste:**

A RIFI é um teste sorológico que detecta a presença de anticorpos através de uma reação fluorescente.

Procedimento técnico:

- A lâmina é sensibilizada com o antígeno
- O soro é adicionado
- A lâmina é incubada, para que ocorra a ligação do anticorpo específico ao antígeno.
- A lâmina é lavada para a retirada dos anticorpos não específicos
- É adicionado o conjugado, formado por um anti-anticorpo marcado com fluoresceína que se liga à região Fc do anticorpo específico.
- A lâmina é novamente incubada para que ocorra essa ligação
- A lâmina é lavada para a retirada dos conjugados excedentes ou não ligados
- A lâmina é lida em microscópio de fluorescência que emite luz ultravioleta que ao incidir sobre a molécula de fluoresceína permite visualizar a fluorescência nos casos de positividade

ELISA (Enzyme linked immunosorbant assay):**Princípio do teste:**

O teste de ELISA é hoje um dos principais testes sorológicos que detectam a presença de anticorpos no sangue do paciente, utilizando uma reação enzimática que permite a formação de cor.

Procedimento técnico:

- Uma placa de poliestireno é sensibilizada com o antígeno que se liga covalentemente a ela
- O soro teste é adicionado
- A placa é incubada para permitir a ligação dos anticorpos específicos ao antígeno
- Lava-se a placa para se retirar os anticorpos não específicos
- Para detectar a presença dos anticorpos é utilizado o conjugado. No teste de ELISA o conjugado é formado por um anti-anticorpo ligado a uma enzima.
- A placa é incubada para que ocorra a ligação do anti-anticorpo à região Fc do anticorpo específico
- A placa é lavada para a retirada do conjugado excedente ou não ligante
- Para que seja visualizada a reação, é adicionado o substrato, um cromógeno transparente que só se colore na presença da enzima.
- A placa é lida em um espectrofotômetro que lê o comprimento de onda da coloração decorrente da reação enzimática. A intensidade da cor é usada para quantificar a amostra, quanto mais intensa é a cor, maior a quantidade de anticorpos na amostra.

ELISA sandwich:

Princípio do teste:

O ELISA sandwich é um teste sorológico que pesquisa a presença de antígenos no soro. Para que isso ocorra à placa é sensibilizada com o anticorpo específico. O antígeno presente no soro se liga ao anticorpo específico, e o anticorpo do conjugado se liga ao antígeno formando um “sanduíche”. O conjugado é basicamente o mesmo do ELISA comum, é formado por um anticorpo marcado com uma enzima que age sobre um substrato cromógeno que se torna colorido na reação positiva.

CAPÍTULO VIII

Hepatites virais:

A hepatite é uma inflamação do fígado causada principalmente por vírus. Os principais tipos de hepatites são: Hepatite A, Hepatite B, Hepatite C, Hepatite D e Hepatite E. Apesar de ser causada por tipos diferentes de vírus, os sintomas da doença são semelhantes: mal estar, náuseas, vômitos, dores abdominais, urina colúrica, fezes esbranquiçadas e icterícia.

Nomenclatura dos vírus causadores das hepatites:

As hepatites são classificadas usando a sigla relacionada ao tipo de vírus:

Hepatite ← H X V → Vírus Lê-se: vírus da hepatite X

↓

Tipo de vírus: A, B, C, D ou E.

Hepatite	Tipo de vírus e material genético	Vias de transmissão	Risco de cronificação
A	HAV (RNA)	Fecal-oral	Inexistente
B	HBV (DNA)	Sexual, parenteral, sangue contaminado e via vertical	Casos neonatais 90% Adultos 10%
C	HCV (RNA)	Parenteral, sangue contaminado, durante o parto	Alto 85%
D	HDV (vírion RNA)	Sexual, parenteral, sangue contaminado	Alto 85%
E	HEV (RNA)	Fecal-oral	Inexistente

Sorologia das hepatites:

O diagnóstico das hepatites pode ser bioquímico ou sorológico. No diagnóstico bioquímico é pesquisada no sangue a presença de dois compostos que indicam lesão hepática: bilirrubina e transaminase. No diagnóstico bioquímico não é possível especificar o tipo de hepatite.

O diagnóstico sorológico das hepatites é feito principalmente pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) pode-se detectar no sangue os antígenos do vírus, ou se pesquisa os anticorpos específicos. A presença desses marcadores no soro testado permite o desenho do quadro clínico do paciente.

O isótipo do anticorpo também é fundamental, pois a IgM define a infecção em andamento ou infecção aguda, e a IgG que define memória imunológica pode também indicar cronificação, dependendo do tipo de hepatite, ou infecção já curada ou ainda imunização pela vacina.

Hepatite A:

Conhecida como hepatite infecciosa, é uma hepatite sem risco de cronificação. Os marcadores pesquisados no diagnóstico são:

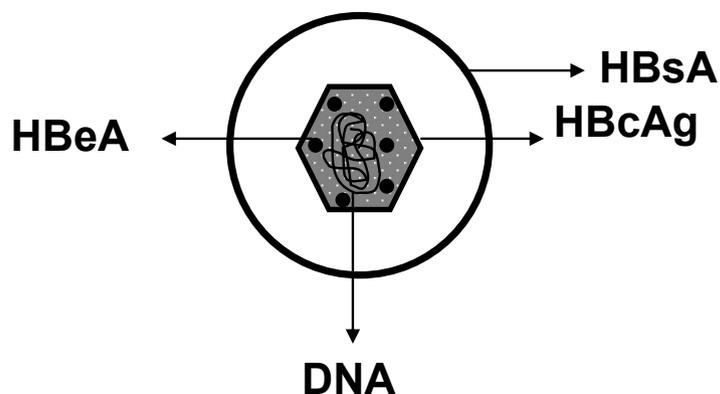
- **IgM anti-HAV:** indica que o paciente está com a doença.
- **IgG anti-HAV:** indica memória imunológica, adquirida através de uma infecção passada ou pela imunização com a vacina.

Hepatite B:

A hepatite B é causada por um vírus de DNA que recebe o nome de partícula Dane. É um dos tipos de hepatite que pode se cronificar, sendo uma das principais causas de câncer hepático.

O vírus da hepatite B tem uma estrutura complexa, com duplo envoltório:

- O envoltório externo (envelope) contém proteínas antigênicas denominadas “antígeno de superfície” ou antígeno Austrália.
- O envoltório interno ou capsídeo é denominado core e apresenta o “antígeno c”.
- Internamente ao core, há uma proteína de replicação, o “antígeno e”.



Marcadores da hepatite B:

Antígenos:

-HbsAg (antígeno Austrália):

Esse antígeno pode ser detectado no soro antes das manifestações dos sintomas, e é, portanto, o mais precoce marcador de infecção aguda. Desaparece quando os níveis de transaminase se normalizam, e se persistir por mais de 6 meses significa hepatite B crônica.

-HbeAg:

Esse antígeno pode ser detectado na fase aguda, é uma proteína de replicação do HBV e indica replicação ativa do vírus, e alto risco de transmissão. Sua detecção é indicada em crianças nascidas de mães infectadas.

Anticorpos:

- Anti-HBs:

Esses anticorpos são detectáveis após o desaparecimento do HbsAg e persistem por muitos anos. A sua detecção isolada indica imunização pela vacina.

- Anti-HBe:

Esses anticorpos são detectáveis após o desaparecimento do HbeAg e podem indicar recuperação do paciente.

- IgM anti-HBc:

Produzidos contra o “core” do HBV, sua produção se eleva juntamente com os níveis de transaminase. Sua detecção indica infecção aguda.

- IgG anti-HBc:

Anticorpo de memória, sua detecção indica infecção crônica, mas se detectado isoladamente indica cura da hepatite B.

Hepatite C:

Na hepatite C o anticorpo pesquisado é o anti-HCV que só será detectado após 6 meses de infecção (janela imunológica). A positividade do teste de ELISA para sua detecção deve ser confirmada por exames mais específicos como a pesquisa do RNA viral através do PCR (reação em cadeia da polimerase).

Hepatite D:

A hepatite D quase sempre evolui para a forma crônica, sendo extremamente letal. O vírus da hepatite D, também chamado vírus delta, é um vírion que precisa do HBV para sua replicação.

Os anticorpos que diagnosticam a hepatite D são os anti-HDV e podem ser detectados 5 a 7 semanas após o início da infecção, sempre associados à pesquisa do HbsAg e do anti-HBc total (IgM + IgG).

Hepatite E:

A hepatite E é benigna sem risco de cronificação. Para seu diagnóstico são pesquisados os anticorpos anti-HEV, que começam a serem produzidos 30 dias após a elevação da transaminase e permanecem por muitos anos após a cura.

Bibliografia

- ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.
Imunologia celular e molecular
5ª- edição. Editora Elsevier, 2005.
- CALICH, Vera; VAZ, Celidéia
Imunologia
1ª- edição. Editora Revinter, 2001.

Curso Técnico

ANÁLISES CLÍNICAS

Etapa 3

AUTORIDADES UTRAMIG

JOSÉ MURILO RESENDE
Presidente

FELIPE MOREIRA CARRARA
Chefe de Gabinete

MARIA LÚCIA SOARES DE MOURA
Diretora de Planejamento, Gestão e Finanças

JUSSARA SILVA NEGROMONTE
Diretora de Ensino Pesquisa

FILIPE GALGANI GOMES
Diretor de Qualificação e Extensão

VANESSA LOPES TEIXEIRA NEVES
Diretora de Ensino a Distância

DIVA HELENA SALES WARDI SILVA
Diretora da Unidade Nova Lima

JANES MARIA FERREIRA
Diretora da Unidade de Uberlândia

WENDERSON HARLLEY ASSIS CURVELLO
Gerente Responsável pelo Projeto

LÉA VICENTINA COSTA MELO
Supervisora Pedagógica Responsável pelo Projeto

EXPEDIENTE

Impressão
EDITORA AZUL

Projeto Gráfico/Diagramação
GABRIEL SEBASTIAN FLEITAS CORTIGLIA

A Fundação de Educação para o Trabalho de Minas Gerais UTRAMIG

tem a missão de formar profissionais competentes para o mercado de trabalho e promover educação em diversas áreas do conhecimento. Neste âmbito, realiza qualificação profissional, formação técnica, pós-graduação (Lato Sensu) e formação superior especial para professores. É referência na Licenciatura Plena em todo o Estado e busca estar sempre inovando e oferecendo à sociedade respostas educacionais atinentes à realidade atual, como o Ensino a Distância. A Instituição conta com uma equipe altamente qualificada, formada por doutores e mestres, apta a formar profissionais preparados para o mercado de trabalho atual.

Além da sede em Belo Horizonte, a UTRAMIG está presente em Nova Lima, São João Del Rei e Uberlândia onde são ofertados cursos técnicos em Eletrônica, Enfermagem, Informática, Análises Clínicas, Segurança do Trabalho, Telecomunicações, Meio Ambiente, Recursos Humanos e Especialização Técnica de Ensino Médio em Instrumentação Cirúrgica.

UNIDADE UTRAMIG BELO HORIZONTE SEDE

Endereço: Avenida Afonso Pena, nº 3400
Bairro: Cruzeiro
CEP: 30.130-009
Horário de funcionamento:
07:20 as 22:40
Telefone: (31) 3263.7500
faleconosco@utramig.mg.gov.br

Cursos Oferecidos:

Eletrônica
Informática
Segurança do Trabalho
Enfermagem
Análises Clínicas
Recursos Humanos
Telecomunicações
Meio Ambiente
Especialização em Instrumentação Cirúrgica



UNIDADE UTRAMIG NOVA LIMA

Endereço: Rua 32, nº 36
Bairro: Oswaldo Barbosa Pena
CEP: 34.000-000
Horário de funcionamento:
07:20 as 22:40
Telefone: (31) 3542.5647
faleconosco@utramig.mg.gov.br

Cursos Oferecidos:

Eletrônica
Informática
Segurança do Trabalho
Enfermagem



UNIDADE UTRAMIG UBERLÂNDIA

Avenida Vinícius de Moraes, nº 40
Bairro Residencial Liberdade
CEP 38.401-274.
Horário de funcionamento:
07:20 as 22:40
Telefone: (34) 3210-6546
faleconosco@utramig.mg.gov.br

Cursos Oferecidos:

Informática
Segurança do Trabalho
Recursos Humanos



UNIDADE UTRAMIG SÃO JOÃO DEL REY

Rua Doutor Elói Reis, nº 04
Bairro Matozinhos
CEP 36.300-000
Horário de funcionamento:
07:20 as 22:40
faleconosco@utramig.mg.gov.br

Cursos Oferecidos:

Informática
Segurança do Trabalho
Recursos Humanos
Enfermagem

