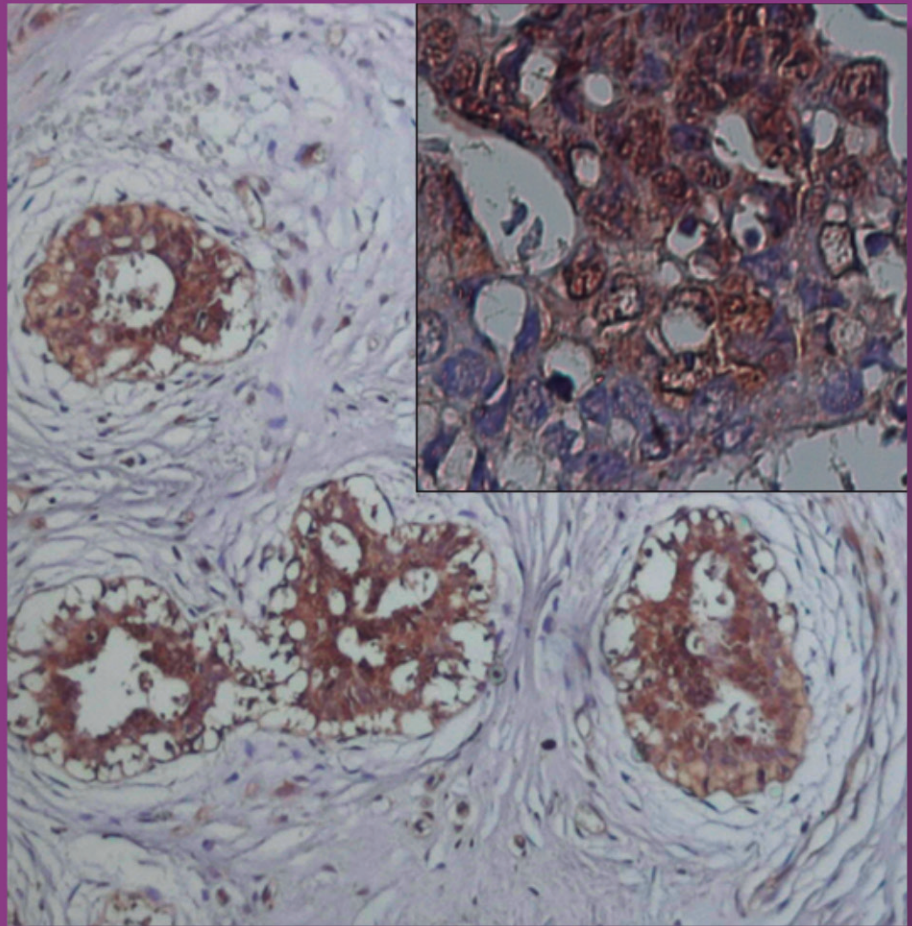


# Ciência, Pesquisa e Consciência

## Revista de Medicina





# Ciência, Pesquisa e Consciência

## Revista de Medicina

ISSN 1984-6177

Volume 6 Número 1 p. 01-56 janeiro/dezembro 2014

Publicação com periodicidade anual, editada pelo Curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino, Catanduva-SP, tem por objetivo proporcionar à comunidade científica a publicação de artigos relacionados à área de saúde.

### FUNDAÇÃO PADRE ALBINO

Conselho de Administração

Presidente: **Antonio Hércules**

Diretoria Administrativa

Presidente: **José Carlos Rodrigues Amarante**

Núcleo Gestor de Educação: **Antonio Carlos de Araujo**

### FACULDADES INTEGRADAS PADRE ALBINO

Diretor-Geral: **Nelson Jimenes**

Vice-Diretor: **Nelson Aparecido Oliani**

Coordenador Pedagógico: **Antonio Carlos de Araujo**

### CURSO DE MEDICINA

Coordenadora: **Terezinha Soares Biscegli**

### EDITORA-CHEFE

**Ana Paula Girol**

### CONSELHO EDITORIAL

**Ayder Anselmo Gomes Vиви**

**Jorge Luis dos Santos Valiatti**

**Luiz Lázaro Ayusso**

**Manzélío Cavazzana Junior**

**Marino Cattalini**

**Nilce Barril**

**Ricardo Santaella Rosa**

**Terezinha Soares Biscegli**

Bibliotecária e Assessora Técnica: **Marisa Centurion Stuchi**



## CONSELHO CIENTÍFICO

**Adriana Paula Sanchez Schiaveto** - Pós-Doutorado em Fisiologia. Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP). Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos Dr. Paulo Prata (FACISB) e Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

**André Lopes Carvalho** - Professor. Livre Docente em Oncologia Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos.

**Antonio Carlos Leitão de Campos Castro** - Livre Docente. Faculdade de Ciências Médicas da Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Disciplina de Nefrologia. Casa de Saúde Campinas.

**Antonio Carlos Lerario** - Livre Docente. Universidade de São Paulo. Pós-Doutorado Universidade de São Paulo (USP). Doutorado em Endocrinologia. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (USP).

**Carla Patrícia Carlos** - Pós-Doutorado em Fisiologia Renal, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP). Doutorado em Ciências Biológicas, UNESP, Instituto de Biociências de Botucatu. Faculdade CERES (FACERES) de São José do Rio Preto-SP.

**Carlos Renato Tirapelli** - Pós-Doutorado *Université de Sherbrooke* (USHERB), Canadá. Doutorado em Farmacologia. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (EERP-USP).

**Celina Santaella Rosa** - Doutorado em Medicina, Clínica Cirúrgica pela Universidade de São Paulo. Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

**Cláudia Maria Padovan** - Doutorado em Ciências. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP-USP).

**Cláudio Elias Kater** - Doutorado em *Clinical Endocrinology, University of California, U.C., Estados Unidos*. Pós-Doutorado. Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

**Cristiane Dams Gil** - Doutorado em Ciências, Morfologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

**Cristina Antoniali Silva** - Doutorado, Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho (UNESP).

**Grazielle Edilaine Crippa** - Pós-Doutorado Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP). Doutorado em Farmacologia.

**João Tadeu Ribeiro Paes** - Doutorado em Genética. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Departamento de Ciências Biológicas (UNESP).

**José Fernando de Castro Figueiredo** - Doutorado em Medicina (Clínica Médica), Universidade de São Paulo (USP). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP).

**Luciana Bernardo Miotto** - Doutorado em Sociologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). Socióloga, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade Integrada Metropolitana de Campinas-SP (METROCAMP, Grupo Ibmecc).

**Marcela Bermudes** - Pós-Doutorado em Anatomia Humana e Psicologia, Universidad de Murcia. Pós-Doutorado em Fisiologia Humana pela Universidade de São Paulo. *Universidad de Murcia*, Murcia - Espanha.

**Mário José Abdala Saad** - Livre Docente. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Doutorado em *Clinical Endocrinology, University of California, U.C., Estados Unidos*. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas (UNICAMP).

**Maurício Feraz de Arruda** - Doutorado em Biociências e Biotecnologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva (IMES).

**Rômulo Leite** - Doutorado em Ciências. Faculdade de Medicina (USP), Ribeirão Preto-SP. Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

**Susilene Maria Tonelli Nardi** - Doutorado em Ciências da Saúde Epidemiologia. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-SP. Instituto Adolfo Lutz, São José do Rio Preto-SP.

**Thaís Santana Gastardelo Bizotto** - Doutorado em Biologia Estrutural e funcional, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Faculdade de CERES (FACERES), São José do Rio Preto-SP.

**Wanessa Silva Garcia Medina** - Pós-doutorado em Farmacologia, Faculdades de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP-USP). Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

## NÚCLEO DE EDITORAÇÃO DE REVISTAS



Componentes do Núcleo:

**Prof. Dr. Marino Cattalini** (Coordenador)

**Profª. Drª. Virtude Maria Soler**

**Marisa Centurion Stuchi** - Bibliotecária e Assessora Técnica

C569 Ciência, Pesquisa e Consciência Revista de Medicina / Faculdades Integradas Padre Albino, Curso de Medicina. - - Vol. 6, n. 1 (jan./dez.2014) - - Catanduva : Faculdades Integradas Padre Albino, Curso de Medicina, 2009-  
v. : il. ; 27 cm

Anual.

ISSN 1984-6177

1. Medicina - periódico. I. Faculdades Integradas Padre Albino. Curso de Medicina.

CDD 610

- Os artigos publicados na **Ciência, Pesquisa e Consciência - Revista de Medicina** são de inteira responsabilidade dos autores.
- É permitida a reprodução parcial desde que citada a fonte.
- Início de circulação: janeiro de 2009 / Circulation start: January 2009
- Data de impressão: dezembro de 2014 / Printing date: December 2014



## **05** Editorial

Terezinha Soares Biscegli

### **ARTIGOS ORIGINAIS**

## **07 SOROPREVALÊNCIA DE CITOMEGALOVIRUS (CMV) E ASPECTOS SOCIECONÔMICOS EM PACIENTES ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE ACONSELHAMENTO GENÉTICO DO HOSPITAL EMILIO CARLOS (HEC) - CATANDUVA-SP**

SEROPREVALENCE OF CYTOMEGALOVIRUS (CMV) AND SOCIOECONOMIC ASPECTS IN PATIENTS TREATED IN GENETIC COUNSELING OF HOSPITAL EMILIO CARLOS (HEC) - CATANDUVA-SP

Nilce Barril, Lilian Audi Goulart, Lívia Scarabel Néia, Leandro Mechi dos Santos

## **11 VERIFICAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS**

VERIFICATION OF SAME QUALITY PARAMETERS OF VEGETAL EXTRACTS

Eduardo Hortolan, Marcos Vinicius Coelho, Jéssica Janaina Simiel, Giovanna Alves de Araújo Braga, Andreia de Haro Moreno

## **17 EXPRESSÃO DIMINUÍDA DA PROTEÍNA ANEXINA A1 EM CARCINOMAS DUCTAIS DE MAMA METASTÁTICOS**

DECREASED EXPRESSION OF THE PROTEIN ANNEXIN A1 IN THE METASTATIC BREAST DUCTAL CARCINOMA

Camila Brambilla de Souza, Bruna Corte Perez, Manuela Duarte Miqueletto, Sara de Souza Costa, Mairto Roberis Geromel, Ana Paula Girol

## **21 CONTROLE DE QUALIDADE DE *Cymbopogon citratus* DC. Stapf. (Poaceae) E VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO EM SABONETE LÍQUIDO**

QUALITY CONTROL OF *Cymbopogon citratus* DC. Stapf. (Poaceae) AND VERIFICATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE EXTRACT IN LIQUID SOAP

Lívia Nagliate Rangel, Mônica Cristina Ferro, Thábata Oliveira Correa, Hérida Regina Nunes Salgado, Andreia de Haro Moreno

## **28 SITUAÇÃO VACINAL EM RELAÇÃO À HEPATITE B DOS ALUNOS DA 1ª SÉRIE DO CURSO DE MEDICINA**

VACCINATION IN RELATION TO HEPATITIS B FROM FIRST GRADERS OF MEDICAL SCHOOL

Brunna Caroline de Lima, Rafaela Cardoso Ribeiro de Barros, Alexandra Martins Moreira, Mariana Magri Magagnini, Maristela Aparecida Magri Magagnini

### **ESPAÇO ACADÊMICO**

## **33 CEFALÉIA NA EMERGÊNCIA**

HEADACHE IN THE EMERGENCY

Lilian Audi Goulart, Talita Alvarez Sucena, Juliana Vilaça Vaz, Pedro Matheus Benelli, Natalia Gonçalves Rodrigues, Izabela Dias Brugugnolli, Eliana Meire Melhado

## **ARTIGO DE REVISÃO**

### **38** **INFECÇÕES POR BACTÉRIAS FORMADORAS DE BIOFILME**

INFECTIONS CAUSED BY BIOFILM FORMING BACTERIA

Arlindo Schiesari Junior, Amanda Melim Bento, Ana Carolina Monezi, Cláudia Mendonça Xavier, Rebeca Florence Portaro Blum

## **RELATOS DE CASOS**

### **43** **DUPLICAÇÃO PILÓRICA: RELATO DE CASO**

PYLORIC DOUBLING: A CASE REPORT

Nazir Elias Chalela Ayub, Estevam Fernandes Luna, Juliana Chalela Ayub, Andreise Martins Paro, José Celso Assef

### **46** **ACHADO INCIDENTAL DE GIST EM PACIENTE DE 32 ANOS DURANTE O INTRAOPERATÓRIO DE GASTROPLASTIA LAPAROSCÓPICA: RELATO DE CASO**

INCIDENTAL FIND OF GIST IN A 32 YEARS OLD PATIENT DURING INTRA OPERATIVE LAPAROSCOPIC GASTROPLASTY: CASE REPORT

Nazir Elias Chalela Ayub, Ednir de Oliveira Vizioli, Bruno Ziade Gil, Sidney Moreno Gil

### **52** **NORMAS PARA PUBLICAÇÃO**

## Editorial

Terezinha Soares Biscegli\*

### Uma longa jornada

Os cursos de Medicina, além de terem como eixo o tripé representado pelo ensino, pesquisa e extensão, estão estritamente relacionados à assistência médica, haja vista a necessidade de atividades de prática profissional para garantir a qualidade do ensino e o desenvolvimento de ideias e projetos para pesquisas.

A projeção maior ou menor de cada uma destas áreas de atuação depende dos objetivos, condições, estrutura básica, suporte hospitalar e da tradição da escola. No Brasil, dentre as 242 escolas médicas já autorizadas, um número significativo não justifica a razão primária da sua existência, limitando-se a uma prestação de assistência razoável, ensino deficiente e ausência de pesquisa. A consequência disto é a graduação indiscriminada de um número cada vez maior de médicos mal formados, despreparados, sem criatividade e o que é ainda mais preocupante, com mínimas possibilidades de reversão desta situação.

Entretanto, considerando-se um lado positivo da questão, observamos que, nos últimos anos, a clássica discussão das relações entre ensino, pesquisa e assistência em escolas de Medicina vem sofrendo mudanças significativas em sua base. Os mecanismos mais rigorosos de avaliação do ensino e as políticas públicas de incentivo da pós-graduação no país têm desencadeado modificações nas relações entre as missões acadêmicas das escolas médicas nacionais, principalmente quanto ao desenvolvimento da pesquisa<sup>1</sup>.

Trabalhos de literatura mostram que, atualmente, a maioria das pesquisas brasileiras é desenvolvida em universidades públicas que concentram não apenas a maior fatia dos pesquisadores, como também dos estudantes e dos programas de pós-graduação, o que apesar de contribuir para um aumento na complexidade do trabalho científico, fundamental para o avanço da ciência<sup>2,3</sup>, acaba inibindo as frágeis iniciativas das escolas menos favorecidas projetarem-se no meio científico.

Analisando-se particularmente a área médica, tanto no que se refere às escolas como aos hospitais universitários, percebe-se que a generalidade dos docentes do país, mesmo em dedicação exclusiva, não tem produção científica regular e de qualidade<sup>1</sup>. O que dizer então dos cursos particulares, independentes ou de centros universitários, onde a maior parte dos professores, por conta de outros compromissos profissionais, desenvolvem apenas jornada parcial de trabalho?

E é esta a realidade do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), originalmente Faculdade de Medicina de Catanduva, que embora exista há mais de 40 anos e esteja entre as melhores escolas médicas do Brasil, segundo recente avaliação do MEC, lamentavelmente não tem tradição em pesquisa. Seu maior contingente de docentes é representado por profissionais médicos, sem titulação universitária, com pequena carga horária dedicada à escola, o que reflete um perfil de professor mais voltado à área assistencial que vinculado à atividade de pesquisa.

\*Pediatra, doutora em Medicina pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, professora nível I da disciplina de Puericultura e Clínica Pediátrica e coordenadora do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: terezinhabiscegli@yahoo.com.br



Felizmente, a partir de 2007, com a criação das FIPA e o incentivo à pesquisa institucional, de forma lenta, mas progressiva, este padrão vem sendo modificado e várias pesquisas institucionais estão em andamento, principalmente na área clínica, campo de atuação da maior parte destes pesquisadores. Entretanto, embora anualmente crescente, o número de trabalhos publicados, divulgando os resultados de pesquisas da casa, ainda é insuficiente, apontando um longo caminho a ser percorrido, na busca de reconhecimento pela comunidade científica.

Dessa forma, esperamos que esta edição, além de servir para ampliar os conhecimentos específicos, contribua também para incentivar a pós-graduação dos docentes ainda não titulados, mas com interesse em praticar não só um ensino de melhor qualidade, como também em atuar na área de pesquisa, fortalecendo, assim, o eixo tripartite ensino/pesquisa/extensão e enaltecendo ainda mais o nome deste curso de Medicina.

---

## **REFERÊNCIAS**

1. Strauss F, Leta J. Entre o ensino, a pesquisa e a assistência médica: um estudo de caso. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*. 2009; 16(4):1027-43.
2. Leta J, Glänzel W, Thijs B. Science in Brazil. Part 2: Sectorial and institutional research profiles. *Scientometrics*. 2006; 67(1):87-105.
3. Louzada RCR, Silva Filho JF. Pós-graduação e trabalho: um estudo sobre projetos e expectativas de doutorandos brasileiros. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*. 2005; 12(2):265-82.

## SOROPREVALÊNCIA DE CITOMEGALOVÍRUS (CMV) E ASPECTOS SOCIECONÔMICOS EM PACIENTES ATENDIDOS NO AMBULATÓRIO DE ACONSELHAMENTO GENÉTICO DO HOSPITAL EMILIO CARLOS (HEC) - CATANDUVA-SP

### SEROPREVALENCE OF CYTOMEGALOVIRUS (CMV) AND SOCIOECONOMIC ASPECTS IN PATIENTS TREATED IN GENETIC COUNSELING OF HOSPITAL EMILIO CARLOS (HEC) - CATANDUVA-SP

Nilce Barril\*, Lílian Audi Goulart\*\*, Lívia Scarabel Néia\*\*, Leandro Mechi dos Santos\*\*

#### RESUMO

A transmissão vertical do CMV representa importante causa de malformações congênitas. A transmissão pode ocorrer durante o período pré-natal, perinatal, no ato do parto ou pós-natal através do leite materno, da saliva na infância e pela via sexual na adolescência. Nos pacientes infectados e assintomáticos, durante o período neonatal, há um risco de 10 a 15% de manifestação tardia dos sintomas. Considerando a citomegalovirose como problema de saúde pública, pela possibilidade de interferência no desenvolvimento infantil e a ausência de dados referentes à prevalência de infecção por CMV em populações brasileiras propôs-se o presente trabalho que teve por objetivo determinar a soroprevalência e os aspectos socioeconômicos dos pacientes com sorologia positiva para citomegalovírus atendidos no ambulatório de Aconselhamento Genético do HEC de Catanduva-SP. Pesquisa retrospectiva, realizada através da análise de prontuários médicos de pacientes que realizaram exame de sorologia IgM e IgG para citomegalovírus no período de 2011 a 2013. A sorologia foi realizada pelos métodos de ensaio imunoenzimático e quimioluminescência. Foram analisados 100 prontuários de pacientes com idade entre 1 e 13 anos. Em 71 amostras houve reatividade para anticorpos da classe IgG contra CMV, evidenciando uma prevalência global de 71%. O padrão epidemiológico revelou ocorrência de contaminação precoce em 61% dos pacientes pertencentes às classes econômicas mais baixas e infecção tardia em 10% dos indivíduos pertencentes aos níveis socioeconômicos mais elevados, e em 52% dos casos com infecção precoce as mães apresentavam baixo grau de escolaridade. Considerando que a maioria dos casos é assintomática e a ausência de vacinas para CMV, os principais mecanismos de prevenção da contaminação relacionam-se à educação em saúde e ao estabelecimento de hábitos de higiene que reduzam o contato com fluidos e secreções corporais.

**Palavras-chave:** Citomegalovírus. Soroprevalência. Classe social. Fatores socioeconômicos.

#### ABSTRACT

The vertical transmission of CMV represents an important cause of congenital malformation. The transmission can occur during the pre natal period, perinatal, at the childbirth or after the child birth, through the maternal milk, childhood saliva and through the sexual life in the teenager hood. In the infected and a symptomatic patients, during the neonatal period, there is a risk of 10 to 15% of late symptoms manifestation. Considering the cytomegalovirus as a public health problem for the possibility of interfering at the child development and the lack the data referring to the prevalence of the infection for CMV into Brazilian population, for this reasons it aims this present work which had for objective determinate the seroprevalence and the socioeconomic aspects of the patients with positive serology for cytomegalovirus assisted at the genetic counseling of Hospital Emilio Carlos (HEC), Catanduva-SP. The research is retroactive and was done in the period of 2011 to 2013 through the analyses of the medical records from the patients who were submitted to serology IgM and IgG exam for cytomegalovirus. The serology was done by the enzyme immuneassay and chemiluminescence methods. 100 medical records were analyzed from patients between 1and 13 years old. In 71 samples there were reactivity for antibodies of IgG class against CVM, showing a global prevalence of 71%. The epidemiologic pattern showed an occurrence of early stages contamination in 61% of the patients who belongs to the lower economic classes and late infection in 10% of them belongs to the highest socio economics level, and in 52% of the cases with early stages infection, them others had low level of education. Considering that most of the cases is a symptomatic and the lack of vaccine for CMV, the main mechanisms of prevention for contamination is related to health education and in setting health habits of hygiene that reduces the contact with fluids and bodies secretions

**Keywords:** Cytomegalovirus. Seroprevalence. Social class. Socioeconomic factors.

\* Mestre e Doutora em Genética pela Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Docente da disciplina de Genética Humana do curso de graduação em Medicina; responsável pelo Laboratório de Citogenética Humana e pelo Ambulatório de Aconselhamento Genético das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: medicinailce@gmail.com.br

\*\* Discentes da 3ª série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.





## INTRODUÇÃO

O Citomegalovírus (CMV), também conhecido como HHV-5, pertencente à família *Herpesviridae* e à subfamília *beta-herpesviridae*, é um adenovírus que apresenta um capsídeo proteico icosaédrico, rodeado por uma camada de proteínas amorfa, denominada tegumento, e envolvido por uma bicamada lipídica, constituída pelas glicoproteínas virais. O seu ciclo de replicação ocorre entre quatorze e vinte e quatro horas após a infecção<sup>1</sup>.

A contaminação no homem ocorre através de secreções biológicas como a saliva, urina, leite materno, sêmen, secreções vaginais e respiratórias, fezes, sangue e lágrima. Outra forma é a via iatrogênica, através de transfusões de sangue ou transplantes de órgãos (transmissão horizontal). Por fim, durante o período pré-natal, por transmissão vertical, ou seja, pela via transplacentária; perinatal, no ato do parto, ou pós-natal através do leite materno, da saliva na infância e por via sexual durante adolescência. A infecção pode apresentar-se clinicamente com sintomas como enfartamento ganglionar, febre, cefaleia, mal-estar, dores articulares e cansaço, além de hepatoesplenomegalia, hepatite, erupções cutâneas, diarreia ou quadros subclínicos<sup>2</sup>.

No Brasil, estudos têm mostrado que a prevalência de anticorpos IgG anti-CMV em gestantes varia de 66,5 a 92%. Porém, a presença de anticorpos maternos para CMV antes da concepção não evita a transmissão do vírus para o feto, entretanto, os riscos de contaminação e sequelas fetais são menores. O risco de contaminação fetal na primo-infecção varia entre 30-40%, sendo de 1 a 2,2% na infecção recorrente, o que evidencia que a infecção congênita em consequência à primo-infecção é mais nociva, embora corresponda a apenas 10% dos casos. Aproximadamente 10% dos recém-nascidos infectados desenvolvem doença sintomática durante o período neonatal. Naqueles gravemente afetados, a mortalidade pode chegar a 30%<sup>3</sup>.

A prevalência de infecção congênita por CMV é variável em diversas partes do mundo, atingindo taxas de 0,2% a 2,6%, com 90% dos recém-nascidos assintomáticos. No Brasil a incidência é de 0,5% a 6,8%, sendo inversamente proporcional ao status socioeconômico, ou seja, 83,5% em gestantes de nível

socioeconômico baixo, contrastando com 49,3% de classe econômica elevada. Também se observa aumento da prevalência com a paridade e faixa etária<sup>4</sup>.

Dentre as possíveis consequências para o recém-nascido infectado pela CMV congênita estão a microcefalia, hidrocefalia, encefalites, disfunção do sistema locomotor, retardo psicomotor, miopatias, coriorretinites, atrofia óptica, estrabismo, petéquias, hepatoesplenomegalia, icterícia, trombocitopenia, anemia, calcificações intracranianas, surdez neuro-sensorial, aumento da densidade placentária, ascite, oligodrômio ou poliidrômio, recém-nascidos pequenos para a idade gestacional, hidropsia fetal, hiperecogenicidade de alças intestinais, dificuldade de sucção, espasticidade, hemiparesia e convulsões tônico-clônicas. A surdez neuro-sensorial atinge 57% dos lactentes infectados, sendo a sequela mais frequentemente observada. Naqueles infectados e assintomáticos no período neonatal há um risco de 10 a 15% de manifestação tardia dos sintomas, especialmente os neurológicos e a surdez neurosensorial. Estas alterações tornam-se aparentes por volta dos três primeiros anos de vida<sup>5</sup>.

## OBJETIVOS

Considerando a citomegalovirose como problema de saúde pública, pela possibilidade de interferência no desenvolvimento infantil e a ausência de dados referentes à prevalência de infecção por CMV em populações brasileiras propôs-se o presente trabalho que teve por objetivo determinar a soroprevalência e os aspectos socioeconômicos dos pacientes com sorologia positiva para citomegalovírus atendidos no ambulatório de Aconselhamento Genético do Hospital Emilio Carlos (HEC) de Catanduva-SP.

## MATERIAL E MÉTODOS

Pesquisa longitudinal retrospectiva, realizada através da análise de prontuários médicos de pacientes atendidos no ambulatório de Aconselhamento Genético do HEC de Catanduva-SP que realizaram exame de sorologia IgM e IgG para citomegalovírus no período de 2011 a 2013. Dos quais foram obtidos dados referentes às condições socioeconômicas das famílias, escolaridade das mães, além de informações sobre idade, gênero e

padrão de sorologia IgM e IgG para citomegalovírus dos constituintes da amostra.

A sorologia para CMV foi realizada no laboratório de análises clínicas do HEC pelos métodos de ensaio imunoenzimático e quimioluminescência. Em ambos os casos foram obtidos títulos de anticorpos das classes IgG e IgM.

A infecção por CMV foi considerada precoce quando diagnosticada na faixa etária entre 1 a 4 anos de idade e tardia na de 5 a 13 anos.

Idade, nível socioeconômico e grau de instrução materna foram considerados fatores de risco para esta infecção.

O poder aquisitivo das famílias foi avaliado pelo critério de classificação econômica proposta pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP). Também foram registrados dados sobre o tipo de parto e o tempo de gestação.

Anteriormente ao início da coleta de dados, foi solicitada autorização ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva SP, em atendimento à resolução 196/98 do CNS.

Finalizada a coleta, os dados foram inseridos em planilha do *Microsoft Excel*, para tabulação e análise dos resultados obtidos que foram apresentados em tabelas de frequência absoluta e relativa.

## RESULTADOS

Foram analisados, retrospectivamente, 100 prontuários de pacientes que tinham entre 1 e 13 anos de idade, com média de  $7,2 \pm 3,5$  anos. A faixa etária mais frequente foi de 5 a 8 anos (41,66%); 63 (63%) eram do gênero masculino e 37 (37%) do feminino.

Em 71 amostras houve reatividade para anticorpos da classe IgG contra CMV e nenhuma para IgM, evidenciando uma prevalência global de 71% desta infecção.

A idade materna variou de 15 a 42 anos, 78% eram donas de casa e o estado civil predominante foi o de casada (85%). Quanto à escolaridade, a maioria das mães não havia completado o ensino fundamental (Tabela 1).

**Tabela 1** - Grau de instrução, número de gestações, abortos e natimortos apresentados pelas mães (N=100)

Grau de instrução	N*	Frequência (%**)
Ensino fundamental completo	9	9
Ensino fundamental incompleto	63	63
Ensino médio completo	7	7
Ensino médio incompleto	5	5
Ensino superior completo	5	5
Escola especial	4	4
Nenhum	7	7

\*N= Número de indivíduos da amostra total.

\*\*%= Percentual de pacientes da amostra total.

Os dados obstétricos referentes ao tipo de parto e duração do período gestacional encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2** - Histórico gestacional da amostra IgG+ para CMV (N=100)

Histórico gestacional Tipo de parto	N*	(%**)
Cesárea	51	51
Normal	19	19
Fórceps	3	3
ND	27	27
<b>Duração da gestação</b>		
Termo	59	59
Pré-termo	10	10
Pós-termo	2	2
ND***	29	29

\*N= Número de indivíduos da amostra total.

\*\*%= Percentual de pacientes da amostra total.

\*\*\*ND= não declarado.

A classificação econômica das famílias, de acordo com a renda familiar média, está apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3** - Classificação econômica dos pacientes constituintes da amostra (N= 100)

Classe	Renda média familiar em salários mínimos	Frequência %*
E	Até 1 salário mínimo	2,5
D e C2	De 1 a 2 salários mínimos	61,3
C1 e B2	De 2 a 5 salários mínimos	34,2
B1	De 5 a 10 salários mínimos	2
A2 e A1	Mais de 10 salários mínimos	0

\*%= Percentual de pacientes da amostra total.

O padrão epidemiológico revelou ocorrência de contaminação precoce em 61% dos pacientes pertencentes às classes econômicas mais baixas (E, D e C2) e infecção tardia em 10% dos indivíduos pertencentes aos níveis socioeconômicos mais elevados (C1 e B2).

Em relação ao grau de escolaridade materna, observou-se que em 52% dos casos com infecção precoce as mães não haviam concluído o ensino fundamental.

## DISCUSSÃO

O CMV é considerado o agente infeccioso mais frequentemente associado a infecções congênitas no homem, principalmente nos países em desenvolvimento. Sendo também incluído entre as mais importantes causas

de retardo mental, alterações do sistema nervoso central e surdez na infância. No entanto, apesar da importância e das possíveis repercussões clínicas desta infecção, poucos estudos foram publicados no Brasil, e pouco tem sido realizado na tentativa de minimizar os riscos desta virose e suas consequências<sup>6-8</sup>. A contaminação ocorre de várias formas, podendo a infecção primária acontecer no período pré-natal, perinatal ou pós-natal, através de vias naturais assim como iatrogênicas. Após a infecção, o CMV pode permanecer em estado latente, em equilíbrio com o organismo hospedeiro, reativando-se em circunstâncias específicas relacionadas especialmente em condições de imunossupressão do hospedeiro<sup>9,10</sup>.

A prevalência de infecção por CMV no presente estudo foi de 71%, embora não tenham sido encontrados na literatura dados associando a faixa etária da amostra do presente trabalho e infecção por CMV. A prevalência observada pode ser considerada elevada quando comparada com aquelas referidas em estudos realizados com recém-nascidos e gestantes, de 30,9% e 5,7%, respectivamente<sup>11-13</sup>. E, inferior à de 84% diagnosticada por Serra e colaboradores<sup>8</sup> em gestantes brasileiras.

A correlação observada entre o *status* socioeconômico, a baixa escolaridade materna e a

ocorrência de infecção precoce pode estar relacionada com o fato de que em populações de nível socioeconômico mais baixo, a infecção, de modo geral, ocorre mais precocemente e de forma mais intensa do que naquelas de nível socioeconômico mais alto<sup>7,14</sup>.

Os resultados evidenciam a possibilidade de infecção adquirida, uma vez que após o período perinatal a principal forma de contaminação ocorre por mecanismo de transmissão horizontal, através do contato de crianças e adultos com secreção contendo o vírus<sup>10</sup>.

Importante observar que, apesar da prevalência elevada encontrada, 29% dos pacientes apresentaram resultados não reativos para IgM e IgG, sendo considerados vulneráveis à infecção. Considerando que a maioria dos casos é assintomática e a ausência de vacinas para CMV, os principais mecanismos de prevenção da contaminação relacionam-se à educação em saúde e ao estabelecimento de hábitos adequados de higiene que reduzam o contato com fluidos e secreções corporais. Neste aspecto, a melhor forma profilática associa-se à lavagem das mãos, principalmente após a manipulação de secreções e contato com crianças, em especial aquelas que frequentam creches.

## REFERÊNCIAS

1. Junqueira J, Sancho T, Santos, V. Citomegalovírus: Revisão de aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos, 2008. [acesso em 2014 ago 20]. Disponível em: <http://www.newslab.com.br/newslab/pdf/artigos86/art01/art01.pdf>
2. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de infectologia. 3ª. ed. São Paulo: Atheneu; 2005. v.1.
3. Hashimoto A, Okuyama R, Watanabe H, Tagami H, Aiba S. Cytomegalovirus infection complicating immunosuppressive therapy for dermatomyositis. *Acta Derm Venereol.* 2006;86(6):535-7.
4. Azevedo P. Citomegalovirose congênita: relato de caso. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005; 27(12):750-8.
5. Graça A, Silvério C, Ferreira J, Brito A, Almeida S, Paixão P, et al. Citomegalovírus: infecção congênita ou neonatal? *Acta Méd. Port.* 2004; 17:335-40.
6. Cannon M, Davis K. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. *BMC Public Health.* 2005; 5:70.
7. Pannuti CS. Infecção por citomegalovírus. *Pediatr.* 1984;6:144-53.
8. Serra FC, Machado J, Nicola MH, Jorge MCAS, Cruz LE, Giardino MV, et al. Soroprevalência de citomegalovírus em gestantes brasileiras de classe socioeconômica favorecida. *DST - J Bras Doenças Sex Transm.* 2009;21(1):12-5.
9. Ho M. Cytomegalovirus infections and diseases. *Dis Mth (Chic.).* 1978; 24:4.
10. Weller TH. The cytomegaloviruses: ubiquitous agents with protean clinical manifestations (first of two parts). *N Engl J Med.* 1971 Jul 29;285(5):267-74.
11. Yamamoto Y, Figueiredo LTM, Mussi-Pinhata MM. Prevalência e aspectos clínicos da infecção congênita por citomegalovírus. *J Pediatr (Rio J.).* 1999; 75(1):23-8.
12. Figueiró-Filho EA, Senefonte FRA, Lopes AHA, Morais OO, Souza Júnior VG, Maia TL et al. Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes, do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007; 40(2):181-7.
13. Machado CM, Fink MCDS, Vilas Boas LS, Sumita LM, Weinberg A, Shiguematsu K et al. Infecção perinatal pelo citomegalovírus em hospital público do município de São Paulo: estudo prospectivo. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1991; 33(2):159-66.
14. Abarca VK, Vial CP, Zamorano JP, Ferrés GM, Villarroel DL, Ferreccio RC. Seroprevalencia de citomegalovirus y toxoplasma gondii en población sana menor de 30 años, en Santiago de Chile. *Rev Méd Chile.* 1997; 125(5): 531-8.

## VERIFICAÇÃO DE ALGUNS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS

### VERIFICATION OF SAME QUALITY PARAMETERS OF VEGETAL EXTRACTS

Eduardo Hortolan\*, Marcos Vinicius Coelho\*, Jéssica Janaina Simiel\*, Giovanna Alves de Araújo Braga\*, Andréia de Haro Moreno\*\*

#### RESUMO

A crescente utilização dos produtos de origem vegetal tem sido observada em todo o mundo, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde essa forma de terapêutica constitui, em muitos casos, o primeiro recurso disponível para o tratamento primário da saúde. Entretanto, nem todas as drogas ou extratos vegetais possuem parâmetros de qualidade estabelecidos, que possam assegurar a presença do constituinte químico de interesse e a ausência de contaminantes químicos ou microbiológicos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar alguns parâmetros de qualidade físico-químicos e microbiológicos de alguns extratos glicólicos vegetais comercializados no Brasil. Os extratos glicólicos foram obtidos comercialmente e submetidos às análises físico-químicas e microbiológicas, as quais foram realizadas segundo métodos farmacopeicos, incluindo descrição, cor, odor, densidade relativa, resíduo seco, cinzas totais, pH e identificação, além da contagem microbiana e pesquisa de patógenos específicos. Os resultados mostraram-se em conformidade com o preconizado na literatura e nas informações dos laudos dos fabricantes, sendo métodos de análise simples e facilmente realizados em laboratório para estabelecer o controle de qualidade inicial dos extratos glicólicos vegetais comercializados no Brasil. O presente estudo demonstrou que a avaliação de alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade para extratos vegetais líquidos pode ser facilmente realizada, contribuindo para a elaboração de formulações farmacêuticas e cosméticas seguras e confiáveis.

**Palavras-chave:** Controle de qualidade. Extratos vegetais. Parâmetros de qualidade. Análise física. Análise química. Análise microbiológica.

#### ABSTRACT

The crescent utilization of vegetal products in the world has been observed, especially in developing countries, where this therapeutic form is the principal resort available to first treatment of healthy. However, all plants or vegetal extracts do not have quality parameters established that contribute to the quality control, to ensure the presence of interest chemical substance and the absence of chemical or microbiological contamination. So, the aim of this work was available same physicochemical and microbiological parameters in vegetal glycolic extracts commercialized in Brazil. Vegetal extracts were obtained by commercial samples and the analysis were realized by the pharmacopeial methods, such as description, taste, odor, relative density, residue on evaporation, total ash, pH, identification and total aerobic microbial count and tests for pathogens. The results showed the conformity with that demanded in the literature and fabricant information, providing simple analysis methods that can be realized in laboratories to establish the initial quality control of the vegetal glycolic extracts commercialized in Brazil. The present work demonstrated the study of physicochemical and microbiological parameters of quality for vegetal extracts can be easily realized, that contribute to the elaboration of pharmaceutical and cosmetic formulations with security and efficacy.

**Keywords:** Quality control. Plant extracts. Quality parameters. Physical analysis. Chemical analysis. Microbiological analysis.

\* Acadêmicos do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\* Farmacêutica, mestre em Ciências Farmacêuticas e doutora em Análise e Controle de Medicamentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara-SP, docente dos cursos de Biomedicina e Enfermagem das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: ahmoreno@bol.com.br.



## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais correspondem, incontestavelmente, às mais antigas armas empregadas no tratamento de enfermidades humanas e de animais. Houve época, entretanto, em que seu uso parecia estar se extinguindo. A indústria químico-farmacêutica produzia os mais diversos tipos de fármacos, que se mostravam eficazes no tratamento de diversos tipos de enfermidades. Entretanto, por causa do alto custo desses medicamentos, grande parte da população ainda permanece marginalizada e sem acesso a esses benefícios<sup>1</sup>.

Nas últimas décadas, têm sido observados o ressurgimento e a crescente utilização das plantas medicinais em todo o mundo. Em diversos países, sobretudo aqueles em desenvolvimento, essa forma de terapêutica constitui o único recurso disponível para o tratamento primário de saúde, totalizando cerca de 65% a 80% da população<sup>2-4</sup>. Outro motivo encontra-se no apelo convidativo ao "produto natural", levando à utilização de drogas vegetais comercializadas na forma *in natura* e de extratos em diversas especialidades farmacêuticas, como cápsulas e comprimidos. Segundo Salgado e colaboradores<sup>5</sup>, os extratos líquidos ou em pó vêm sendo cada vez mais utilizados devido à quantidade de relação droga:extrato, que é de 5:1, respectivamente.

A cosmetologia também vem empregando os extratos vegetais em suas formulações, que se tornam enriquecidas e capazes de desempenhar diversas funções tais como hidratação, emoliência e ação antioxidante, dentre outras. Basta observar a numerosa lista de ingredientes ativos naturais acrescentados nas formulações atuais: óleos e extratos da Amazônia, chá verde e extratos de frutas<sup>6-8</sup>.

Esse fato veio chamar a atenção para a necessidade de garantir a eficácia e segurança desses produtos, que somente por meio de um rígido controle de qualidade podem ser obtidas. No controle de qualidade desses produtos, diversas metodologias analíticas são empregadas com o objetivo de obter informações sobre os aspectos botânico, químico, físico-químico, biológico e microbiológico<sup>9-11</sup>. A validação de todos os métodos analíticos empregados na avaliação de qualidade é indispensável e colabora com as Boas Práticas de Fabricação, integrando os procedimentos relacionados com a Garantia da Qualidade<sup>12</sup>.

Segundo Fischer<sup>13</sup>, dentre as análises físico-químicas recomendadas para extratos fluidos vegetais incluem-se: pH, densidade relativa, determinação do teor de etanol, determinação do teor de metanol e 2-propanol, resíduo seco, determinação do volume médio, viscosidade e conteúdo de substâncias extraíveis por etanol.

Entretanto, nem todas as drogas e extratos vegetais possuem parâmetros estabelecidos que possam contribuir para o controle de qualidade. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade em amostras comerciais de extratos glicólicos vegetais disponíveis no mercado brasileiro.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Obtenção das amostras

Foram analisados vários extratos glicólicos vegetais de algumas marcas disponíveis no mercado brasileiro, dentre eles extratos de abacate (*Persea americana*), aloe vera (*Aloe vera*), arnica (*Arnica montana*), bardana (*Arctium lappa*), caju (*Anacardium occidentale*), camomila (*Matricaria chamomilla*), castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*), confrei (*Symphytum officinale*), hamamélis (*Hamamelis virginiana*), maçã (*Pyros malus*), manga (*Mangifera indica*), maracujá (*Passiflora alata*), pitanga (*Eugenia uniflora*) e urtiga (*Urtica dioica*).

### Parâmetros físico-químicos de qualidade

Foram determinados os seguintes parâmetros para todos os extratos vegetais: descrição, densidade relativa, pH, resíduo seco e cinzas totais. As metodologias empregadas fazem parte dos Métodos de Farmacognosia, preconizadas pela Farmacopeia Brasileira<sup>14</sup> e por manuais de análise de extratos vegetais<sup>15</sup>. Antes da execução das análises e retirada das alíquotas, foi realizada a assepsia na parte externa das embalagens, utilizando etanol a 70% (p/p) e a devida homogeneização dos frascos, sendo que todos os testes foram realizados em triplicata.

Para a caracterização organoléptica, foi transferida uma alíquota de 5mL de cada extrato para tubos de ensaio devidamente identificados. Os tubos foram observados contra fundo branco e verificados o aspecto, cor e odor, sendo os resultados comparados com os laudos dos fabricantes.

A densidade relativa foi determinada pelo método do picnômetro<sup>14</sup>: utilizou-se picnômetro limpo e seco, com capacidade de 25mL, previamente calibrado com água destilada a 20°C. Cada amostra foi colocada no picnômetro, removendo-se o excesso com papel absorvente e pesou-se, ajustando a temperatura para 20°C. A diferença entre a massa da amostra líquida (extrato glicólico) e a massa da água, ambas a 20°C, representa a densidade relativa.

O pH foi determinado pela medição direta a 25°C em alíquotas de 10mL dos respectivos extratos empregando-se pH metro devidamente aferido.

O resíduo seco foi determinado de acordo com a USP Pharmacists' Pharmacopeia<sup>15,16</sup>: foram transferidos 2mL de cada extrato glicólico para cadinhos limpos e secos, sendo os volumes evaporados em banho-maria e os resíduos dessecados em estufa a 100°C durante 3 horas. Após arrefecimento em dessecador, os cadinhos foram pesados e determinados os pesos dos resíduos obtidos, sendo os resultados calculados em porcentagem.

A determinação de cinzas totais foi realizada a partir do resíduo seco obtido, sendo os cadinhos incinerados em temperatura inferior a 450°C até que todo o carvão tivesse sido eliminado. Após, os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados, sendo calculada a porcentagem de cinzas em relação ao volume de extrato glicólico utilizado (2mL).

Para a identificação dos constituintes químicos dos extratos, foram realizadas reações gerais e específicas de coloração e/ou precipitação segundo Harbone<sup>17</sup> e Mouco e colaboradores<sup>18</sup>.

Para a determinação de taninos, foram realizadas as reações com cloreto férrico, acetato de cobre e acetato de chumbo com ácido acético glacial.

*Reação com cloreto férrico:* em tubos de ensaio foi transferido 1mL de cada extrato glicólico e adicionados 5 mL de água destilada e 1 gota de cloreto férrico a 2%, escorrendo-o pelas paredes dos tubos. A formação de precipitado ou coloração marrom-esverdeada indica a presença de taninos.

*Reação com acetato de cobre:* em tubos de ensaio foi transferido 1mL de cada extrato glicólico diluídos na proporção de 1:5 com água destilada e adicionadas 1 ou 2 gotas de solução aquosa de acetato de cobre a 5%. A formação de precipitado castanho-avermelhado indica a

presença de taninos.

*Reação com acetato de chumbo e ácido acético glacial:* em tubos de ensaio foram transferidos 3mL de cada extrato glicólico e adicionados 2mL de ácido acético glacial a 10% e 3mL de solução de acetato de chumbo a 10%. A formação de precipitado castanho-avermelhado indica a presença de taninos.

Para a determinação de flavonoides, foram realizadas as reações de Shinoda, com cloreto férrico e hidróxido de sódio.

*Reação de Shinoda:* foram transferidos 5mL de cada extrato glicólico para tubos de ensaio contendo fragmentos de magnésio metálico. Em seguida, foi adicionado 1mL de ácido clorídrico. A formação de coloração rosa-avermelhada, violeta ou laranja indica a presença de flavonoides.

*Reação com cloreto férrico:* em tubos de ensaio foram transferidos 5mL de cada extrato glicólico e adicionada uma gota de cloreto férrico a 2% pelas paredes dos tubos. A formação de coloração verde, amarelo-castanho e violeta indica a presença de flavonoides.

*Reação com hidróxido de sódio:* em tubos de ensaio foram transferidos 5mL de cada extrato e adicionadas 2 gotas de NaOH 5%. A formação de coloração amarela indica a presença de flavonoides.

Para a determinação de glicosídeos antraquinônicos foi realizada a reação de Borntraeger: alíquotas de 5mL de cada extrato glicólico foram extraídas em funis de separação com 10mL de acetato de etila. Em 5mL de cada fase orgânica foram adicionadas 2 gotas de hidróxido de amônio. A formação de coloração amarela ou vermelha indica a presença de antraquinonas.

Para a determinação de alcaloides, foram realizadas as reações de Sheibler, Bouchardadt, Bertrand, Mayer e Dragendorff, e para a determinação de saponinas, as reações de Rossol, Mitchell e Rosenthalen, segundo Mouco e colaboradores<sup>18</sup>.

### Parâmetros microbiológicos de qualidade

O controle microbiológico desses produtos foi baseado na contagem total de micro-organismos viáveis e na pesquisa de patógenos específicos, como *Escherichia coli* e *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, segundo metodologia disponível na

Farmacopeia Brasileira<sup>14</sup> e USP 31<sup>19</sup>. A técnica utilizada foi a de semeadura em profundidade (*pour plate*), empregando-se os meios de cultura ágar *Sabouraud* e ágar Caseína-soja, incubando-se as placas a 20-25°C durante 7-10 dias e 30-35°C durante 4-7 dias, respectivamente para fungos e bactérias. As amostras foram diluídas em solução tampão fosfato pH 7,2, utilizando-se 10mL de cada extrato e diluindo em 90mL da solução tampão, obtendo-se a diluição 10<sup>-1</sup>; alíquotas de 1mL da diluição 10<sup>-1</sup> foram transferidas para placas de Petri estéreis e o meio de cultura fundido e resfriado a temperatura compatível com a fisiologia celular (45-48°C) adicionado em quantidade de cerca de 20mL, seguido de homogeneização com movimentos em S ou 8 sobre a bancada de trabalho. As placas foram mantidas em temperatura ambiente até solidificação dos meios de cultura e incubadas na temperatura indicada. Na pesquisa de patógenos, empregaram-se meios de cultura seletivos e diferenciais para cada espécie pesquisada, transferindo-se alçadas dos crescimentos anteriores para cada meio de cultura selecionado e procedendo-se à incubação a 30-35°C segundo as metodologias farmacopeicas utilizadas<sup>14,16,19</sup>.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas e microbiológicas dos extratos glicólicos analisados estão indicados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.

**Tabela 1** - Parâmetros físico-químicos analisados em amostras comerciais de extratos glicólicos vegetais

Extratos glicólicos	Densidade relativa (g/cm <sup>3</sup> )	pH	Resíduo seco (%)	Cinzas totais (%)
abacate	1,0124 ± 0,0051	5,27	2,81 ± 0,31	0,59 ± 0,02
aloe vera	0,9918 ± 0,0113	5,35	3,05 ± 0,18	0,36 ± 0,01
arnica	1,0392 ± 0,0084	4,79	2,92 ± 0,26	0,62 ± 0,02
bardana	0,9937 ± 0,0099	4,85	3,45 ± 0,21	0,47 ± 0,02
caju	1,0451 ± 0,0156	4,71	2,73 ± 0,19	0,21 ± 0,01
camomila	1,0335 ± 0,0131	5,47	2,08 ± 0,15	0,08 ± 0,01
castanha-do-pará	1,0197 ± 0,0080	5,58	2,67 ± 0,27	0,38 ± 0,01
confrei	1,0093 ± 0,0107	4,92	3,21 ± 0,23	0,56 ± 0,02
hamamélis	1,0038 ± 0,0085	4,95	2,74 ± 0,11	0,27 ± 0,01
maçã	1,0019 ± 0,0140	4,19	3,24 ± 0,17	0,36 ± 0,01
manga	1,0038 ± 0,0118	4,52	3,19 ± 0,24	0,46 ± 0,02
maracujá	1,0215 ± 0,0179	5,23	2,81 ± 0,12	0,63 ± 0,02
pitanga	1,0062 ± 0,0153	4,61	2,56 ± 0,10	0,42 ± 0,01
urtiga	1,0201 ± 0,0061	4,76	3,76 ± 0,21	0,81 ± 0,02

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas mostraram-se em conformidade com os laudos emitidos pelos fabricantes e fornecedores quanto ao pH, à densidade relativa, ao resíduo seco e ao teor de cinzas (Tabela 1). Os baixos valores de cinzas totais encontrados

confirmaram que as amostras analisadas não apresentam os materiais estranhos previamente mencionados, por se tratarem de extratos líquidos e não da droga vegetal que, geralmente, apresenta valores mais altos, devido, entre outros, à presença das cinzas fisiológicas<sup>20-22</sup>.

**Tabela 2** - Identificação dos constituintes químicos dos extratos através de reações gerais e específicas de coloração e/ou precipitação

Amostras	Alcaloides	Antraquinonas	Taninos	Flavonoides	Saponinas
abacate	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
aloe vera	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
arnica	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
bardana	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
caju	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
camomila	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
castanha-do-pará	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
confrei	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
hamamélis	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
maçã	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
manga	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
maracujá	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
pitanga	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
urtiga	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

(+) = positivo (-) = negativo

As reações de identificação realizadas para a confirmação da presença de constituintes químicos específicos apresentaram resultados positivos de acordo com a literatura utilizada<sup>17,18</sup> através do desenvolvimento de coloração ou formação de precipitado (Tabela 2). A presença de flavonoides e taninos era esperada nos extratos de abacate, bardana, maçã, maracujá e pitanga por causa de seus elementos antioxidantes, assim como nos extratos de arnica, caju, castanha-do-pará, confrei, hamamélis, manga, pitanga e urtiga devido às suas propriedades antiinflamatória, cicatrizante e adstringente, além da presença de antraquinonas e alcaloides esperada no extrato de camomila, e de taninos e saponinas no extrato de aloe vera<sup>17</sup>.

**Tabela 3** - Parâmetros microbiológicos analisados em amostras comerciais de extratos glicólicos vegetais

Amostras (extratos glicólicos)	Contagem total de viáveis* (UFC/mL)	Pesquisa de patógenos** (UFC/mL)
abacate	2	(-)
aloe vera	1	(-)
arnica	(-)	(-)
bardana	3	(-)
caju	(-)	(-)
camomila	(-)	(-)
castanha-do-pará	7	(-)
confrei	4	(-)
hamamélis	3	(-)
maçã	(-)	(-)
manga	9	(-)
maracujá	4	(-)
pitanga	2	(-)
urtiga	1	(-)

\* (-) = ausência de crescimento de micro-organismos aeróbios viáveis.

\*\* (-) = ausência de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*.

Conforme verificado na Tabela 3, os resultados indicaram que na contagem do número total de micro-organismos viáveis houve crescimento inferior a 10UFC/mL e na pesquisa e identificação de patógenos não foi verificada a presença de nenhuma das espécies pesquisadas, o que permitiu a aprovação das amostras de extratos glicólicos vegetais.

## DISCUSSÃO

Dentro do atual contexto de qualidade dos produtos de origem vegetal, diversos parâmetros de qualidade dos extratos glicólicos foram avaliados. Os caracteres organolépticos foram analisados quanto ao aspecto, no sentido de apresentarem possíveis turvações ou precipitações, e quanto à cor e ao odor, todos se apresentaram de acordo com os respectivos laudos dos fabricantes, sem nenhuma alteração perceptível na análise sensorial. Embora se trate de uma análise "subjettiva", fornece indicativa sobre falsificações ou adulterações grosseiras, e sobre avançados estágios de degradação<sup>20</sup>.

A densidade relativa é útil para avaliar a pureza, pois nas misturas a densidade das substâncias adicionadas interfere na densidade final, permitindo determinar possíveis adulterações. A medição do pH também é muito importante, pois vários princípios ativos podem ter seu pH alterado em função de impurezas ou instabilidades, como hidrólise em função do tempo de estocagem e/ou condições inadequadas de transporte e armazenamento. Já a determinação do resíduo seco permite avaliar a quantidade de substâncias extraídas, fornecendo indicativas da concentração do extrato vegetal<sup>13</sup>.

Outra análise que não pode deixar de ser mencionada é a determinação de cinzas, que tem como finalidade estabelecer a quantidade de substância residual não-volátil no processo de incineração, incluindo as derivadas de tecido fisiológico vegetal e de materiais estranhos, como areia e terra<sup>21</sup>. Embora seja uma determinação aplicada para drogas vegetais, pressupondo-se que durante os processos extrativos esses materiais estranhos tenham sido eliminados, seu emprego aqui foi justificado para avaliar a possível presença de metais ou adulterações criminosas dos extratos com areia ou terra.

Quanto à identificação, é importante lembrar que nem sempre os princípios ativos estão determinados ou,

mesmo, disponíveis na forma de padrões e quando o são, geralmente apresentam custo elevado. Nos casos em que a identidade do princípio ativo não é conhecida, é possível a utilização dos denominados "marcadores", podendo ser constituídos de um componente somente (marcador simples) ou de um grupo destes (marcadores múltiplos), correspondendo às substâncias normalmente encontradas na droga vegetal de referência. Quando os marcadores não estiverem determinados, pode ser feita a avaliação da presença de classes de substâncias características da espécie, sendo utilizados reativos químicos adequados e reações de coloração e/ou precipitação com a finalidade de indicar a presença das referidas classes de compostos presentes. Dentre as principais classes pesquisadas, estão os taninos, flavonoides, alcaloides, antraquinonas, isoflavonas e terpenoides<sup>17,18,22</sup>.

Quanto à análise microbiológica, as matérias-primas vegetais possuem, naturalmente, uma carga microbiana elevada, geralmente proveniente do solo, podendo ser adicionada pela manipulação durante a coleta, o processamento e as etapas de produção<sup>23</sup>. A quantificação desses micro-organismos permite avaliar a qualidade geral do produto, servindo de indicador das condições de cultivo, coleta e processamento. No caso de alto valor de contagem de bolores, corre-se o risco da presença de aflatoxinas, altamente indesejável, mesmo em baixas concentrações, tendo em vista sua elevada toxicidade<sup>24</sup>. Além disso, cargas microbianas elevadas também podem facilmente comprometer a estabilidade do produto e consequências deste comprometimento estão associadas com a perda da eficácia terapêutica, por acelerarem a degradação dos princípios ativos por processos enzimáticos e alterarem as propriedades físico-químicas, afetando a ação terapêutica e comprometendo a biodisponibilidade do produto<sup>25</sup>. Podem ocorrer alterações de pH, resultando em faixas de coloração distintas ou em precipitações; produção de gases, provocando odor desagradável; ação enzimática promovendo a alteração da viscosidade, sem falar na segurança do usuário quanto ao risco de infecções pela presença de cepas patogênicas ou mesmo no que diz respeito ao aspecto quantitativo dos micro-organismos saprófitas, que podem se portar como agentes infectantes oportunistas<sup>6,26</sup>.

O controle microbiológico desses produtos baseia-se na contagem total de micro-organismos viáveis



e na pesquisa de patógenos específicos, como *Escherichia coli* e *Salmonella sp*, considerando tratar-se de produtos para uso oral, além da pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, dependendo do compêndio considerado, complementando a análise e auxiliando na indicação das condições de coleta e produção<sup>14-16,26</sup>.

## CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo verificar alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade de extratos glicólicos vegetais amplamente comercializados no mercado brasileiro. Os parâmetros físico-químicos mostraram-se de fácil execução, podendo ser realizados rotineiramente pelos laboratórios de controle de qualidade. Já os parâmetros microbiológicos devem ser avaliados por laboratórios devidamente equipados e preparados para a execução das referidas análises.

Os produtos de origem vegetal têm tido papel cada vez mais importante dentro do contexto da Medicina e da Cosmetologia, pois cresce a cada ano o número de profissionais e pacientes que procuram este

recurso para amenizar seus males ou usufruir de suas propriedades em produtos cosméticos. Esse fato chama a atenção para a necessidade de garantir a eficácia e segurança desses produtos, que somente por meio de um rígido controle de qualidade, podem ser obtidas. Assim, torna-se importante a verificação de alguns parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade a fim de assegurar a conformidade dos extratos quanto à presença do constituinte químico de interesse, o pH ideal para a conservação, a densidade relativa para a verificação de extrações inadequadas, a caracterização organoléptica para evitar falsificações grosseiras e contaminações geralmente reconhecidas por odor, cor e consistência.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório Multidisciplinar das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), onde foram realizadas as análises físico-químicas, e pelo apoio aos projetos desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Qualidade da FCF-UNESP Araraquara-SP, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

## REFERÊNCIAS

1. Aschwanden C. Herbs for health, but how safe are they? Bull WHO. 2001; 79(7):691-2.
2. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: WHO; 1998.
3. Zaupa C, Carraschil L, Silva EA, Chancke ALS, Ushirobira TMA, Marques LC. Controle de qualidade farmacobotânico e legal de fitoterápicos comercializados nas farmácias de Maringá (PR). Rev Racine. 2000; 58(1):32-7.
4. Turolla MSR, Nascimento ES. Toxicological information of some herbal medicines used in Brazil. Rev Bras Ciências Farm. 2006; 4(2):101-9.
5. Salgado HRN, Hiene MAC, Moreno AH. Qualidade de matérias-primas vegetais em farmácias magistrais. Rev Tec Cient Farm Bioquím Anal Clín Toxicol. 2007; 2(5):379-90.
6. Baby AR, Maciel COM, Salgado-Santos IMN, Dias TCS, Kaneko TM, Consiglieri VO. Uso de extratos de plantas em produtos cosméticos. Cosmetics Toiletries. 2005; 17:78-82.
7. Souza MV. Ativos dermatológicos. São Paulo: Tecnopress; 2005.
8. Batistuzzo AJ, Itaya M, Eto Y. Formulário médico-farmacêutico. 3a ed. São Paulo: Pharmabooks; 2006.
9. Antonelli-Ushirobira TM, Yamaguti E, Ehemura LM, Melo JCP. Controle de qualidade de amostras de Paulinia cupana H.B.K. var. sorbilis (Mart.) Ducke. Acta Farm Bonaerense. 2004; 23(3):383-6.
10. Aragão CFS, Souza FS, Barros ACS, Veras JWE, Barbosa Filho JM, Macedo RO. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos symbolialis* Eichl) Menispermaceae. Rev Bras Farmacogn. 2002; 12:60-1.
11. Medeiros ACD, Oliveira RAG, Melo Diniz MFF. Controle de qualidade de remédios caseiros. Parte 1. Rev Biol Farm. 2007; 1(1):1-9.
12. Brasil. Resolução RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o regulamento técnico sobre Boas Práticas de Manipulação em farmácias. Brasília: Diário Oficial da União, 24 nov 2008.
13. Fischer DCH. Controle de qualidade de matérias-primas vegetais e produtos fitoterápicos. In: Gil ES, Orlando RM, Matias R, Serrano SHP. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. Campo Grande: Uniderp; 2005. p. 245-83.
14. Farmacopéia Brasileira. 5ª ed. Brasília: Anvisa; 2010.
15. Barbosa WLR, Quignard E, Tavares ICC, Pinto LN, Oliveira FQ, Oliveira RM. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. Rev Cient UFPA. 2004; 4:1-19.
16. USP Pharmacists' Pharmacopeia. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2005.
17. Harbone JB. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 2nd ed. London: Chapman Hill; 1998.
18. Mouco G, Bernardino MJ, Cornélio ML. Controle de qualidade de ervas medicinais. Rev Biotecnol Ciência Desenv. 2003; 31:68-73.
19. USP 31. The United States Pharmacopeia. 31st ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2009.
20. Almeida FAC, Goldfarb AC, Gouveia JPG. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de qualidade. Rev Bras Prod Agroind. 1999; 1(1):13-20.
21. Carvalho CMG, Prudente LR, Pereira AC, De Paula JR, Bara MTF. Avaliação da qualidade de extratos vegetais. Rev Eletr Farm. 2006; 3(2):53-62.
22. Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2a ed. Porto Alegre: UFRS Editora; 2000.
23. Santos PRV, Oliveira ACX, Tomassini TCB. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. Rev Farm Bioquím. 1995; 31(1):35-8.
24. Zuccolotto T, Apel M, Rates SMK. Avaliação da qualidade de produtos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre. Rev Inst Adolfo Lutz. 1999; 58(2):25-31.
25. Silva CHPM, Netto HT. Contaminação microbiana em produtos cosméticos e seu controle. Science News. 2004; 1(2):5-7.
26. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2003.

## EXPRESSÃO DIMINUÍDA DA PROTEÍNA ANEXINA A1 EM CARCINOMAS DUCTAIS DE MAMA METASTÁTICOS

### DECREASED EXPRESSION OF THE PROTEIN ANNEXIN A1 IN THE METASTATIC BREAST DUCTAL CARCINOMA

Camila Brambilla de Souza\*, Bruna Corte Perez\*, Manuela Duarte Miqueletto\*\*, Sara de Souza Costa\*\*\*, Mairto Roberis Geromei\*\*\*\*, Ana Paula Giro\*\*\*\*\*

#### RESUMO

O câncer de mama apresenta heterogeneidade morfológica, imuno-histoquímica e molecular, conduzindo ao estudo de novos marcadores preditivos e prognósticos. Nesse cenário, destaca-se a proteína anti-inflamatória anexina A1 (ANXA1) que tem sido associada com a progressão em tumores invasivos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a expressão da ANXA1 em variáveis clínico-patológicas de tumores de mama. As análises foram realizadas em biópsias de fibroadenoma e carcinomas ductais *in situ* e carcinomas ductais invasivos metastáticos ou não. Amostras de mama normal foram usadas como controle. A detecção da ANXA1 foi realizada por imuno-histoquímica e a quantificação da expressão da proteína foi feita por densitometria. As nossas análises mostraram forte expressão da ANXA1 na mama normal e no fibroadenoma, condição benigna. Enquanto nos carcinomas ductais ocorreu diminuição progressiva da proteína, com a menor imunoreatividade para a ANXA1 observada nos carcinomas metastáticos. Esses resultados indicam a ANXA1 como potencial biomarcador prognóstico, e a redução na sua expressão pode ser associada à malignização e promoção de metástases.

**Palavras-chave:** Anexina A1. Tumores de mama. Carcinoma ductal *in situ*. Fibroadenoma. Marcadores biológicos de tumor.

#### ABSTRACT

Breast cancer presents morphological, immunohistochemistry and molecular heterogeneity, which leads to the study of new predictive and prognostic markers. In this scenario we highlight the anti-inflammatory protein annexin A1 (ANXA1) that has been associated with progression in invasive tumors. Thus, the research aimed to evaluate the expression of ANXA1 in clinicopathological variables of breast tumors. The analyzes were performed in biopsies of fibroadenoma, ductal carcinoma *in situ* and invasive ductal carcinoma, metastatic or not. Normal breast samples were used as controls. Detection of ANXA1 was performed by immunohistochemistry and quantification of the protein expression was performed by densitometry. Our analyzes showed strong expression of ANXA1 in normal breast and fibroadenoma, a benign condition. Whereas in ductal carcinomas, there was progressive decrease of the protein, with lowest immunoreactivity for ANXA1 observed in metastatic carcinomas. These results indicate the ANXA1 as a potential prognostic biomarker, with its associated reduction to malignant transformation and promotion of metastasis and the reduction in its expression may be associated with malignant transformation and promotion of metastasis.

**Keywords:** Annexin A1. Breast neoplasms. Carcinoma intraductal noninfiltrating. Fibroadenoma. Tumor markers biological.

\* Acadêmicas da sexta série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva, SP.

\*\* Acadêmica da segunda série do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva, SP.

\*\*\* Acadêmica do curso de bacharelado em Biologia do Instituto Municipal de Ensino Superior (IMES) de Catanduva-SP.

\*\*\*\* Técnico do Laboratório de Histopatologia e Imuno-histoquímica das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\*\*\*\* Bióloga, mestre em Morfologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), doutora em Genética, área de concentração Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) de São José do Rio Preto-SP. Professora (nível I) das disciplinas de Biologia Celular, Histologia e Embriologia das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: anapaulagiro@hotmail.com

Trabalho desenvolvido nos Laboratórios de Histopatologia, Imuno-histoquímica e Multidisciplinar das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Apoio Financeiro: FIPA.



## INTRODUÇÃO

O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres em todo o mundo<sup>1,2</sup>. Essa doença apresenta características de heterogeneidade morfológica, imuno-histoquímica e molecular, o que leva a uma grande variedade de prognósticos e respostas aos tratamentos atuais em diferentes pacientes<sup>3</sup>.

A classificação histopatológica do câncer de mama é muito útil, no entanto, o uso de marcadores prognósticos/preditivos adicionais tem possibilitado a terapia personalizada no tratamento do câncer de mama<sup>3,4</sup>, condição que estimula o estudo de determinantes prognósticos que possam fornecer informações mais precisas sobre as pacientes que estão em risco de progressão ou recorrência da doença<sup>5</sup>.

Nesse cenário, destaca-se a proteína anti-inflamatória Anexina A1 (ANXA1), originalmente descrita como uma proteína induzida por glicocorticoide com ações inibitórias da fosfolipase A<sub>2</sub><sup>6</sup>. A ANXA1 tem sido associada com a progressão em alguns tumores invasivos, sugerindo um papel na regulação da migração/invasão das células epiteliais<sup>6,7</sup>. A expressão da ANXA1 varia em diferentes tumores, tendo sido observada a redução na expressão da proteína em tumores de esôfago, cabeça e pescoço e próstata<sup>8,9</sup>, enquanto a sua expressão é aumentada nos tumores de hipófise, pele, pâncreas, pênis e bexiga<sup>6,10,11</sup>.

Nos tumores de mama a expressão da ANXA1 é controversa. Estudos iniciais mostraram a superexpressão da proteína no adenocarcinoma mamário<sup>12,13</sup>, enquanto outras investigações demonstraram a redução na expressão da ANXA1 correlacionada com a progressão da doença<sup>14</sup>. A diminuição da ANXA1 também foi observada em culturas de células de tumores mamários tratadas com estrogênio<sup>15</sup>, indicando que a função antiproliferativa da ANXA1 pode ser perdida na presença de altos níveis de estrogênio.

Os recentes avanços na pesquisa do câncer de mama aumentaram o entendimento dessa neoplasia e possibilitaram classificações mais refinadas<sup>3,4</sup>. Contudo, estudos de novos marcadores de câncer de mama são sempre úteis e podem propiciar tratamentos mais direcionados. Por essas razões, avaliamos expressão da proteína ANXA1 em variáveis clínico-patológicas de neoplasias mamárias como possibilidade de aplicação

da ANXA1 como um novo marcador prognóstico ou ferramenta terapêutica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção das amostras

As análises foram realizadas em biópsias de neoplasias mamárias benignas e malignas, incluídas em parafina, provenientes do Serviço de Patologia das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), de 2008 a 2012 (CEP-FIPA no. 70/10). Após as buscas nos arquivos foram selecionadas 50 biópsias de fibroadenoma, 50 de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) e 100 de carcinomas ductais invasivos, sendo 50 não metastáticos e 50 com metástases para linfonodos axilares. Também foram usadas 20 amostras de mama normal, como controle.

### Análises imuno-histoquímicas

A detecção da ANXA1 foi feita em secções de 5µm das biópsias selecionadas. Após desparafinização, recuperação antigênica com tampão citrato pH 6,0 e bloqueio da atividade da peroxidase endógena, as secções foram incubadas com o anticorpo primário policlonal rabbit anti-ANXA1 (1:2000) (Invitrogen, Camarillo, Califórnia, EUA), diluído em BSA 1%. A seguir, lavadas com PBS pH 7,4, incubadas com o anticorpo secundário biotinilado, imersas em complexo estreptavidina peroxidase conjugada, reveladas com o substrato diaminobenzidina e contracoradas com Hematoxilina.

Por meio do *software Leica Image Analysis* e da objetiva de 40X do microscópio Leica DM50, foram analisados diferentes pontos das células epiteliais, por lâmina, de cada grupo estudado. Os valores foram obtidos como unidades arbitrárias (u.a.) e a densidade óptica média mostrou a intensidade de imunomarcacão apenas nas áreas imunorreativas. As análises estatísticas foram realizadas pela ANOVA seguidas pelo pós-teste de Bonferroni e os valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

## RESULTADOS

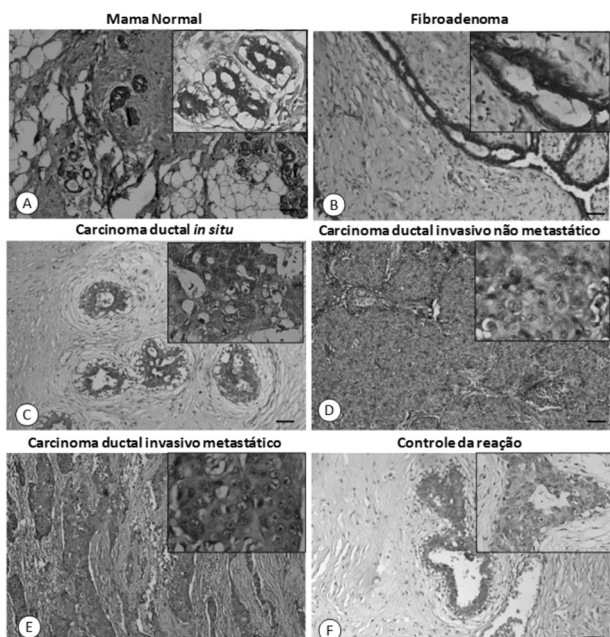
Os nossos resultados demonstraram intensa imunomarcacão para ANXA1 nas células epiteliais e mioepiteliais dos ductos das glândulas mamárias normais e no fibroadenoma (condição benigna) (Figuras 1A e 1B

e Figura 2). No CDIS ocorreu redução significativa da expressão da ANXA1 comparada ao fibroadenoma ( $p < 0,01$ ) e mama normal ( $p < 0,001$ ) (Figura 1C e Figura 2).

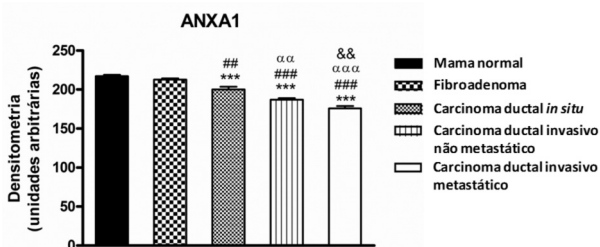
Similarmente, os carcinomas ductais invasivos mostraram imunorreatividade diminuída para ANXA1 comparados ao tecido controle ( $p < 0,001$ ) e tumor benigno ( $p < 0,001$ ) e também ao CDIS ( $p < 0,01$  e  $p < 0,001$ , respectivamente, para não metastáticos e metastáticos) (Figuras 1D e 1E e Figura 2).

Também foi observada a redução significativa da expressão da ANXA1 nos carcinomas ductais invasivos metastáticos ( $p < 0,01$ ) com relação aos não metastáticos (Figura 2). A especificidade do anticorpo foi demonstrada pela ausência de marcação no controle da reação (Figura 1F).

**Figura 1** - Expressão reduzida da proteína Anexina A1 em carcinomas ductais de mama invasivos e metastáticos. Forte expressão da ANXA1 nas glândulas mamárias em condições normais (A) e no fibroadenoma, tumor benigno (B). Diminuição da imunorreatividade no carcinoma ductal *in situ* (C). Redução acentuada na expressão da proteína no carcinoma invasivo não metastático (D). Perda da expressão no carcinoma invasivo metastático (E). Ausência de marcação no controle da reação (F). Contracoloração: Hematoxilina. Secções: 5µm. Barras 10µm.



**Figura 2** - Análise densitométrica da Expressão da Anexina A1 em tumores de mama. Os resultados foram obtidos como média  $\pm$  S.E.M. do índice densitométrico da mama normal, fibroadenoma, carcinoma ductal *in situ*, carcinoma ductal invasivo não metastático e carcinoma ductal invasivo metastático. \*\*\*  $p < 0,001$  versus mama normal, ###  $p < 0,001$  e ##  $p < 0,01$  versus fibroadenoma, aaa  $p < 0,001$  aa  $p < 0,01$  versus carcinoma ductal *in situ*, &&  $p < 0,01$  versus carcinoma ductal invasivo não metastático.



## DISCUSSÃO

A expressão e o papel da proteína ANXA1 no câncer têm sido demonstrados em vários estudos, indicando a ANXA1 na patogênese de neoplasias benignas e malignas de diferentes origens<sup>6,16</sup>. No presente trabalho estudamos a expressão da proteína ANXA1 em tumores de mama benignos e malignos de diferentes graus de progressão.

Nossas análises imuno-histoquímicas e densitométricas mostraram forte expressão da ANXA1 no tecido mamário normal e no fibroadenoma, uma condição benigna. No CDIS, tumor maligno pré-invasivo, ocorre diminuição na expressão da proteína. De modo interessante, redução ainda maior na expressão da ANXA1 foi observada nos carcinomas ductais invasivos, especialmente nos metastáticos.

Clinicamente, o câncer de mama se desenvolve em uma sequência de estágios desde o epitélio ductal normal, para hiperplasia, CDIS, tumor invasivo e carcinoma metastático<sup>17</sup>. Diante disso, nossos dados sugerem que a ANXA1 é um componente essencial na manutenção do fenótipo normal das células epiteliais nas glândulas mamárias.

Vários estudos têm associado a redução ou ausência na expressão da ANXA1 com a progressão em diferentes tumores invasivos, como cânceres de cabeça e pescoço<sup>9,18,19</sup> e próstata<sup>20</sup>, sugerindo a função de supressora de tumor para a proteína. Além disso, o tratamento com o peptídeo Ac2-26 (porção N-terminal da ANXA1), na linhagem celular de câncer de laringe (Hep-2), resultou no aumento da expressão da ANXA1 e na inibição do crescimento tumoral, evidenciando um papel regulatório desta proteína no desenvolvimento do câncer de laringe<sup>18</sup>.

Nos tumores de mama, a expressão da ANXA1 tem sido observada por diferentes pesquisadores com alguns resultados contraditórios. Estudos anteriores mostraram aumento na expressão da ANXA1 no câncer de mama metastático humano e em ratas comparados ao tumor primário e tecido mamário normal<sup>12,13</sup>. Estudos *in vitro* relacionaram a superexpressão da ANXA1 à resistência a drogas antitumorais em linhagens celulares de câncer de mama<sup>21</sup>.

Por outro lado, a perda significativa da expressão da ANXA1 nos CDIS e invasivos comparada a condições

benignas e epitélio normal foi observada por vários pesquisadores<sup>14,15,22-25</sup>. Além disso, a perda na expressão da proteína nos tecidos tumorais foi correlacionada com menor sobrevida<sup>24</sup>.

A ausência da expressão da ANXA1 foi associada à perda da função protetora antiproliferativa da proteína contra níveis elevados de estrogênio, em estudos *in vitro*<sup>15</sup>. Esses mesmos pesquisadores também mostraram que camundongos deficientes para ANXA1 exibem crescimento mais rápido de tumores de mama e sugerem que a ANXA1 pode agir como um gene

supressor de tumor e modular as funções proliferativas dos estrogênios.

Em conclusão, os resultados das nossas análises confirmam a importância da ANXA1 na manutenção do fenótipo normal das células epiteliais mamárias e relacionam a diminuição precoce da expressão ANXA1 no CDIS aos primeiros eventos de transformação maligna. Além disso, a perda gradual da expressão da proteína nos carcinomas de mama invasivos, especialmente nos metastáticos, associa a ANXA1 aos processos de invasão tumoral e progressão da doença.

## REFERÊNCIAS

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 2009; 59(4):225-49.
2. Justo N, Wilking N, Jönsson B, Luciani S, Cazap E. A review of breast cancer care and outcomes in Latin America. *Oncologist*. 2013; 18(3):248-56.
3. Bhargava R, Dabbs DJ, Beriwal S, et al. Semiquantitative hormone receptor level influences response to trastuzumab-containing neoadjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *Mod Pathol*. 2011; 24(3):367-74.
4. Van de Vijver MJ. Molecular tests as prognostic factors in breast cancer. *Virchows Arch*. Mar 2014; 464(3):283-91.
5. Pansrikaew P, Cheewakriangkrai C, Taweewisit M, Khunamornpong S, Siriaunkgul S. Correlation of mast cell density, tumor angiogenesis, and clinical outcomes in patients with endometrioid endometrial cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010; 11(2):309-12.
6. Lim L, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule. *FASEB J*. 2007; 21(4):968-75.
7. Guo C, Liu S, Sun MZ. Potential role of Anxa1 in cancer. *Future Oncol*. 2013; 9(11):1773-93.
8. Paweletz CP, Ornstein DK, Roth MJ, Bichsel VE, Gillespie JW, Calvert VS, et al. Loss of annexin 1 correlates with early onset of tumorigenesis in esophageal and prostate carcinoma. *Cancer Res*. 2000; 60(22):6293-7.
9. Garcia Pedrero JM1, Fernandez MP, Morgan RO, Herrero Zapatero A, Gonzalez MV, Suarez Nieto C, et al. Annexin A1 down-regulation in head and neck cancer is associated with epithelial differentiation status. *Am J Pathol*. 2004; 164(1):73-9.
10. Bai XF, Ni XG, Zhao P, Liu SM, Wang HX, Guo B, et al. Overexpression of annexin 1 in pancreatic cancer and its clinical significance. *World J Gastroenterol*. 2004; 10(10):1466-70.
11. Calmon MF, Mota MT, Babeto E, Candido NM, Girol AP, Mendiburu CF, et al. Overexpression of ANXA1 in penile carcinomas positive for high-risk HPVs. *PLoS One*. 2013; 8(1):e53260.
12. Ahn SH, Sawada H, Ro JY, Nicolson GL. Differential expression of annexin I in human mammary ductal epithelial cells in normal and benign and malignant breast tissues. *Clin Exp Metastasis*. 1997; 15(2):151-6.
13. Pencil SD, Toth M. Elevated levels of annexin I protein in vitro and in vivo in rat and human mammary adenocarcinoma. *Clin Exp Metastasis*. 1998; 16(2):113-21.
14. Shen D, Nooraie F, Elshimali Y, Lonsberry V, He J, Bose S, et al. Decreased expression of annexin A1 is correlated with breast cancer development and progression as determined by a tissue microarray analysis. *Hum Pathol*. 2006; 37(12):1583-91.
15. Ang EZ, Nguyen HT, Sim HL, Putti TC, Lim LH. Annexin-1 regulates growth arrest induced by high levels of estrogen in MCF-7 breast cancer cells. *Mol Cancer Res*. 2009; 7(2):266-74.
16. D'Acquisto F. On the adaptive nature of annexin-A1. *Curr Opin Pharmacol*. 2009; 9(4):521-8.
17. Cadoo KA, Fornier MN, Morris PG. Biological subtypes of breast cancer: current concepts and implications for recurrence patterns. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 57(4):312-21.
18. Silistino-Souza R1, Rodrigues-Lisoni FC, Cury PM, Maniglia JV, Raposo LS, Tajara EH, et al. Annexin 1: differential expression in tumor and mast cells in human larynx cancer. *Int J Cancer*. 2007; 120(12):2582-9.
19. Rodrigo J, Garcia-Pedrero J, Fernandez M, Morgan R, Suárez C, Herrero A. Annexin A1 expression in nasopharyngeal carcinoma correlates with squamous differentiation. *Am J Rhinol*. 2005; 19(5):483-7.
20. Nomura H1, Uzawa K, Yamano Y, Fushimi K, Nakashima D, Kouzu Y, et al. Down-regulation of plasma membranous Annexin A1 protein expression in premalignant and malignant lesions of the oral cavity: correlation with epithelial differentiation. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009; 135(7):943-9.
21. Wang Y, Serfass L, Roy MO, Wong J, Bonneau AM, Georges E. Annexin-I expression modulates drug resistance in tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 314(2):565-70.
22. Yom CK, Han W, Kim SW, Kim HS, Shin HC, Chang JN, et al. Clinical significance of annexin A1 expression in breast cancer. *J Breast Cancer*. 2011; 14(4):262-8.
23. Cao Y, Li Y, Edelweiss M, Arun B, Rosen D, Resetkova E, et al. Loss of annexin A1 expression in breast cancer progression. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2008; 16(6):530-4.
24. Wang LP, Bi J, Yao C, Xu XD, Li XX, Wang SM, et al. Annexin A1 expression and its prognostic significance in human breast cancer. *Neoplasma*. 2010; 57(3):253-9.
25. Khau T, Langenbach SY, Schuliga M, Harris T, Johnstone CN, Anderson RL, et al. Annexin-1 signals mitogen-stimulated breast tumor cell proliferation by activation of the formyl peptide receptors (FPRs) 1 and 2. *FASEB J*. 2011; 25(2):483-96.

## CONTROLE DE QUALIDADE DE *Cymbopogon Citratus* DC. Stapf. (Poaceae) E VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO EM SABONETE LÍQUIDO

### QUALITY CONTROL OF *Cymbopogon Citratus* DC. Stapf. (Poaceae) AND VERIFICATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE EXTRACT IN LIQUID SOAP

Livia Nagliate Rangel\*, Mônica Cristina Ferro\*, Tháбата Oliveira Correa\*, Hérida Regina Nunes Salgado\*\*, Andreia de Haro Moreno\*\*\*

#### RESUMO

O *Cymbopogon citratus* DC. Stapf. (Poaceae), conhecido popularmente como capim-limão, é amplamente utilizado no preparo de chás devido às ações sedativa e febrífuga, porém, estudos demonstraram que seu óleo essencial possui ação antifúngica e antibacteriana. Como os microrganismos estão adquirindo resistência aos antibióticos tradicionais, a procura por novos agentes, a partir de plantas, vem sendo intensificada. Assim, o objetivo deste trabalho foi comprovar a atividade antimicrobiana de extrato de *C. citratus* e sua incorporação em sabonete líquido, oferecendo uma alternativa de baixo custo e comprovada ação antisséptica. Os resultados obtidos no controle de qualidade indicaram a integridade e identificação da droga vegetal, enquanto no ensaio de difusão em ágar verificou-se o potencial antimicrobiano do extrato contra *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp* e *C. albicans*. Porém, no sabonete líquido, não foi verificada ação antifúngica contra *C. albicans*. Desta forma, o potencial antimicrobiano exibido pelo extrato de *C. citratus* deve ser investigado com mais detalhes, podendo contribuir para a descoberta de novos agentes antimicrobianos ou antissépticos naturais, alternativas de baixo custo no tratamento de processos infecciosos quando incorporados em formulações cosméticas ou dermatológicas.

**Palavras-chave:** Controle de qualidade. Produtos com ação antimicrobiana. Sabonete líquido. Capim-limão.

#### ABSTRACT

*Cymbopogon citratus* DC. Stapf. (Poaceae), known in popular medicine as lemongrass, is commonly used to prepare teas due to its sedative and antipyretic actions, however, studies demonstrated that its essential oil present antifungal and antibacterial properties. As most microorganisms are acquiring resistance to traditional antibiotics, the search for new antimicrobial agents, specially from plants, is being intensified. For this reason, the aim of this work was prove the antimicrobial activity of the crude extract of *C. citratus* and this incorporation in liquid soap, providing a low cost alternative and proved antiseptic action. Results from quality control assays showed the integrity and identification of the vegetal drug, and from agar diffusion assay showed the potential effect of the extract against *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella sp* and *C. albicans*. However, in liquid soap not be verified antifungal action against *C. albicans*. Based on this, the antimicrobial potential of *C. citratus* extract must be more investigate and contribute to new natural antimicrobial and antiseptic agent discovery, low cost alternatives for infection treatments when incorporated in cosmetic and dermatological formulations.

**Keywords:** Quality control. Products with antimicrobial action. Liquid soap. Cymbopogon

\* Farmacêutica diplomadas pelo Centro Universitário de Araraquara – UNIARA, Curso de Farmácia.

\*\* Farmacêutica, mestre em Farmacognosia e doutora em Análise e Controle de Medicamentos pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRS, Porto Alegre-RS; professora titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara-SP.

\*\*\* Farmacêutica, mestre em Ciências Farmacêuticas e doutora em Análise e Controle de Medicamentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara-SP; docente dos cursos de Farmácia, Biomedicina e Fisioterapia do Centro Universitário de Araraquara – UNIARA e docente dos cursos de Biomedicina e Enfermagem das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: ahmoreno@bol.com.br.



## INTRODUÇÃO

Durante a evolução, as plantas adquiriram grande importância na medicina popular por causa de suas propriedades terapêuticas e/ou tóxicas e vêm sendo utilizadas principalmente dentro de um contexto cultural na medicina popular e na fitoterapia, muitas vezes como única opção pelas populações mais carentes ou como opção alternativa pelos países mais ricos e desenvolvidos, além de constituir variada fonte de novas estruturas químicas para a indústria farmacêutica<sup>1</sup>.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), por conta da pobreza e falta de acesso aos medicamentos modernos, estima-se que 65 a 80% da população mundial que vive em países em desenvolvimento dependem essencialmente das plantas medicinais como primeiro tratamento de saúde<sup>2</sup>. No Brasil o uso de plantas no tratamento de doenças apresenta influência das culturas indígena, africana e europeia; essas influências formam a base da medicina popular brasileira. Nos dias atuais, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais<sup>3</sup>.

Apenas uma pequena porcentagem das espécies vegetais conhecidas foi adequadamente estudada quanto à atividade farmacológica. As plantas medicinais devem ser também consideradas quanto ao risco associado ao uso, pois várias podem apresentar toxicidade<sup>4</sup>.

O *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, popularmente conhecido como capim-limão, capim-santo, capim-cidreira ou erva-cidreira, é uma erva perene, pertencente à Família *Poaceae*, originária da Ásia e sua introdução no Brasil é muito antiga, sendo usada no preparo de chás. Possivelmente, ainda no tempo colonial, já era utilizada como planta ornamental, sendo encontrada cultivada em todo o país<sup>4</sup>. Também é usada como sedativo, sudorífero, carminativo, febrífugo, diurético, antipirético e antirreumático. Em países da África é utilizada como bebida tônica e, industrialmente, como aromatizante de alimentos, bebidas e produtos de higiene bucal<sup>5,6</sup>.

O óleo essencial de *C. citratus* possui elevado conteúdo de citral, sendo muito utilizado pelas suas ações antifúngica e antibacteriana. Apresenta, também, pequenas quantidades de aldeídos (citronelal,

isovaleraldeído e decilaldeído), cetonas (principalmente metil-heptenona) e álcoois (geraniol, nerol, citronelol, metil-heptenol, farnesol). Os terpenos (dipenteno, mirceno etc) são encontrados em percentagens reduzidas<sup>7,8</sup>.

Embora apresente inúmeras indicações, conforme descrito anteriormente, verifica-se um crescente interesse em usufruir de sua atividade antimicrobiana, tendo em vista o desenvolvimento de resistência dos microrganismos aos diversos compostos utilizados no tratamento de infecções ou como antissépticos. Assim, o presente trabalho teve como objetivo comprovar a atividade antimicrobiana de extrato de *C. citratus* e sua incorporação em sabonete líquido, oferecendo uma alternativa de baixo custo e comprovada ação antisséptica.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Controle de qualidade e preparação do extrato

#### a) Coleta e secagem da planta

A planta *C. citratus* foi coletada na região de Araraquara, localizada no interior de São Paulo, devidamente identificada, com aproximadamente dois anos de idade. A colheita foi realizada em 05 de julho de 2007 pela manhã, no horário das 8 às 10 horas. De acordo com Choudhury<sup>9</sup>, a altura de corte foi definida em 20cm, a partir da extremidade da folha. O produto foi homogeneizado e as folhas foram divididas em pequenos fragmentos de, aproximadamente, 1cm de comprimento. A determinação do teor de umidade foi realizada segundo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>, utilizando-se 10g de amostra fragmentada, em 3 repetições. As amostras foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar, na temperatura de 40±2°C até massa constante.

#### b) Determinação de material estranho

A quantidade utilizada para a determinação de material estranho, segundo a Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>, foi de 250g de folhas fragmentadas da planta. Procedeu-se à coleta manual por quarteamento dos materiais estranhos à droga vegetal, inicialmente a olho nu e, em seguida, com auxílio de lente de aumento (5 a 10 vezes), e foi determinada sua porcentagem.

#### c) Determinação de cinzas totais

Pesou-se exatamente cerca de 3g da droga

fragmentada, transferiu-se para cadinho de porcelana previamente calcinado, resfriado e pesado. Após, a amostra foi uniformemente distribuída no cadinho e incinerada, aumentando paulatinamente a temperatura (não ultrapassando 450°C), até eliminação de todo o carvão. Calculou-se a porcentagem de cinzas em relação à droga seca. Esse procedimento foi realizado em triplicata<sup>10</sup>.

#### **d) Determinação de cinzas insolúveis em ácido**

O resíduo obtido na determinação de cinzas totais foi fervido durante 5 minutos com 25mL de ácido clorídrico 7% (v/v) em cadinho coberto com vidro de relógio. Lavou-se o vidro de relógio com 5mL de água quente, juntando esta água ao cadinho e recolheu-se o resíduo insolúvel em ácido sobre papel de filtro isento de cinzas, lavando-o com água quente até que o filtrado se mostrasse neutro ao papel de tornassol. Em seguida, o papel de filtro contendo o resíduo foi transferido para o cadinho original, secando-o sobre chapa quente e incinerado a cerca de 800°C até peso constante. Calculou-se a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga seca. Este procedimento foi realizado em triplicata<sup>10</sup>.

#### **e) Cromatografia em camada delgada**

O procedimento foi realizado conforme Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>, utilizando placas de sílica-gel GF<sub>254</sub> (10 x 20cm), com espessura de 0,25mm como suporte e mistura de tolueno e acetato de etila (93:7, v/v), como sistema eluente. As placas foram desenvolvidas em cuba saturada com o sistema eluente durante uma hora à temperatura ambiente. A amostra foi preparada agitando-se cerca de 0,5g da droga, triturada com 10mL de diclorometano, em recipiente fechado, por 10 minutos. Após filtração, o filtrado foi concentrado até *secura* em banho-maria, em temperatura não superior a 60°C. O resíduo assim obtido foi ressuspenso com 10mL de tolueno e a solução do marcador foi preparada pela diluição de 2µL de citral (Merck, Darmstadt) em 1mL de tolueno.

As soluções foram aplicadas com capilares na forma de manchas circulares com cerca de 1cm de largura sobre a placa, à distância de 2cm das bordas laterais e inferior. Após evaporação do solvente ao ar, foi marcada uma distância de 15cm a partir do ponto de aplicação das amostras e introduziu-se a placa na cuba, colocando-a na

posição tão próxima da vertical quanto possível, de modo tal que os pontos de aplicação ficassem acima do nível do sistema eluente. Após secagem do solvente ao ar, a placa foi observada sob luz ultravioleta (365nm) e, em seguida, nebulizada com solução metanólica de vanilina sulfúrica 1% (p/v) para secagem em estufa na temperatura de 100-105°C, durante 5 minutos para o desenvolvimento de coloração nas manchas. A solução de vanilina sulfúrica foi preparada pela dissolução de 1g de vanilina em 100mL de metanol. Em seguida, foram adicionados 4mL de ácido clorídrico e 5mL de ácido sulfúrico.

#### **f) Identificação de óleos voláteis**

Segundo Simões e Spitzer<sup>11</sup> os óleos voláteis são definidos como misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, obtidos de partes da planta por meio da destilação por arraste com vapor de água. Em um gral de vidro, 1g da amostra foi triturado com 1mL de etanol absoluto; posteriormente, pingou-se uma gota desse extrato em papel de filtro que, ao evaporar, deve exalar o aroma característico de capim-limão, o que indica a presença de óleos voláteis.

#### **g) Preparação do extrato bruto etanólico**

Para a preparação do extrato bruto foram transferidos 20 gramas da planta dessecada, triturada por turbólise (liquidificador), para percolador contendo 100mL de etanol 70% (p/p), onde foi realizada a extração total dos constituintes da planta por dois dias. Em seguida, o extrato obtido foi transferido para evaporador rotatório sob pressão reduzida (40°C) e concentrado, até a retirada de todo álcool. O concentrado obtido foi utilizado na verificação e comprovação da atividade antimicrobiana.

### **Ensaio antimicrobiano**

#### **a) Preparação dos inóculos**

Foram utilizadas cinco cepas de microrganismos, pertencentes ao Laboratório de Controle Biológico de Qualidade de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP): *Candida albicans* (ATCC 64550), *Escherichia coli* (ATCC 25922 P), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27859), *Salmonella sp* (ATCC 19196) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 26923). As cepas cultivadas em ágar *Brain Heart Infusion* (Acumedia,



Baltimore) foram mantidas em temperatura de 4°C a 10°C e repicadas em tubos contendo 5mL de caldo *Brain Heart Infusion* (Acumedia, Baltimore) e incubadas a 35°C±2°C, 24 horas antes do teste. Para o preparo do inóculo, as culturas jovens de cada microrganismo foram padronizadas em solução salina estéril segundo a escala 0,5 de MacFarland, que corresponde aproximadamente a 1,5x10<sup>6</sup>UFC/mL.

Alíquotas de 1mL de cada suspensão padronizada foram adicionadas a 100mL de ágar *Brain Heart Infusion* fundido, à temperatura de 45°C, e 4mL de meio inoculado foram transferidos para a superfície de meio *Brain Heart Infusion* solidificado (21mL).

### **b) Preparo do sabonete líquido**

O sabonete líquido foi preparado no Laboratório de Farmácia do Centro Universitário de Araraquara (UNIARA), contendo 5, 10 e 20% do extrato bruto concentrado de *C. citratus*. A fórmula e a técnica de preparo do sabonete líquido utilizado estão descritas a seguir: lauril éter sulfato de sódio (25g), anfótero betaínico (10g), dietanolamina de ácido graxo de coco (3g), cloreto de sódio (1g), extrato de *C. citratus* (5, 10 e 20mL) e água q.s.p 100mL. Em um béquer foi dissolvido o cloreto de sódio em cerca de 20mL de água destilada. Os componentes foram adicionados em um cálice de 100mL na seguinte ordem: lauril éter sulfato de sódio, anfótero betaínico e a dietanolamina de ácido graxo de coco. A solução de cloreto de sódio foi adicionada para acertar a viscosidade. Posteriormente, foi adicionado o extrato bruto concentrado de *C. citratus* e o volume completado com água destilada para 100mL. Após homogeneização, o pH foi conferido e mantido entre 5,5 e 6,5.

### **c) Ensaio de antibiose no extrato e no sabonete líquido**

Para a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de capim-limão foi empregado o método da difusão em ágar, descrito por Bauer e colaboradores<sup>12</sup>, utilizando discos de papel de filtro estéreis de 6mm de diâmetro. Os discos foram impregnados com 10µL de extrato bruto concentrado e distribuídos sobre a superfície do meio inoculado com o auxílio de pinças estéreis. Como controles positivos, foram utilizados 10µL de solução salina de cloranfenicol a 3mg/mL (para as cepas bacterianas) e

10µL de solução salina de nistatina a 40UI/mL (para a cepa leveduriforme). Para o sabonete líquido, alíquotas de 10µL das formulações obtidas conforme procedimento descrito acima (sabonetes contendo 5, 10 e 20% de extrato) foram transferidas para discos de papel com o auxílio de micropipetas. Os discos foram depositados sobre a superfície do meio de cultura inoculado. Utilizou-se como controle negativo a mesma formulação de sabonete líquido sem a adição de extrato, diluída e preparada de forma semelhante à amostra. Foi mantida distância mínima de 40mm entre os discos para evitar interferências entre os halos de inibição. As placas foram incubadas a 35°C±2°C durante 24 horas e procedeu-se à leitura dos halos de inibição, quando presentes, incluindo o próprio disco de 6mm, utilizando-se paquímetro digital (Starrett®), São Paulo, Brasil).

## **RESULTADOS**

### **Controle de qualidade dos extratos obtidos**

#### **a) Determinação de material estranho**

Segundo a Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>, matéria estranha à droga compreende partes do organismo do qual a droga deriva, organismos estranhos ou ainda impurezas de natureza mineral (areia, sílica, pedras) ou orgânica (insetos, pêlos, cabelos, pó-de-serra). Na determinação desse parâmetro, é importante que o analista esteja atento para a possível presença de contaminações de natureza microbiana, por insetos e outros animais, bem como das fezes destes, servindo de indicação de más condições de obtenção ou conservação da matéria-prima, havendo grande possibilidade de deterioração da droga vegetal. A Farmacopeia Portuguesa<sup>13</sup> estabelece limite máximo de 2% para elementos estranhos, enquanto a Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup> estabelece o limite máximo de 1%. Não foram identificados materiais estranhos como terra, pedra, poeira, insetos e outros, estando, portanto, ausentes na amostra analisada.

#### **b) Determinação de cinzas totais**

A determinação de cinzas totais destina-se a estabelecer a quantidade de substância residual não-volátil no processo de incineração, e inclui as cinzas derivadas do tecido vegetal (cinzas fisiológicas) e de material estranho, especialmente areia e terra aderente à superfície da droga

(cinza não-fisiológica). Desta forma, a determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido representam um indicador importante da idoneidade do fornecedor, que pode adicionar resíduos desta natureza, mascarando a quantidade real da droga. Foram realizados os testes em triplicata para a verificação da porcentagem de cinzas. O resultado obtido foi de  $5,01 \pm 1,06\%$  e está de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>, que admite 9% como valor máximo tolerável.

### c) Determinação de cinzas insolúveis em ácido

As cinzas insolúveis em ácido compreendem o resíduo obtido, após fervura das cinzas totais ou sulfatadas com ácido clorídrico diluído e posterior filtração, lavagem e incineração. O método destina-se à determinação de sílica e constituintes silicosos da droga. A adição de ácido clorídrico elimina interferência de metais como sódio e potássio, cujos sais de cloreto são solúveis. O teste foi realizado em triplicata e o resultado obtido ( $0,049 \pm 0,011\%$ ) revelou quantidade insignificante de cinzas insolúveis em ácido, de acordo com o limite máximo de 0,1% permitido pela Farmacopeia Brasileira<sup>10</sup>.

### d) Identificação de óleos voláteis

Foi identificada a presença de óleos voláteis devido ao odor característico do capim-limão após realização do teste específico. Esse teste faz parte do processo de identificação da droga vegetal, sendo complementado pela cromatografia em camada delgada, discutida a seguir.

### e) Cromatografia em camada delgada

A cromatografia em camada delgada representa uma opção muito valiosa na identificação de drogas vegetais. Por causa de sua relativa simplicidade, grande praticidade e rapidez, permite trabalhar com substâncias puras ou misturas de componentes, sendo uma das técnicas mais utilizadas no mundo, descrita na maioria das farmacopeias e demais compêndios. Foi identificada a presença do citral, utilizado como marcador para o *C. citratus*, devido à coloração azul apresentada pelas manchas desenvolvidas para o marcador (citral) e para o extrato, correspondentes em posição e intensidade, e após exposição à luz ultravioleta (365nm).

## Ensaio antimicrobiano

Na Tabela 1 estão representados os resultados obtidos para o ensaio de atividade antimicrobiana do extrato bruto concentrado de *C. citratus*, contra as cepas bacterianas (gram-positivas e gram-negativas) e leveduriforme testadas.

**Tabela 1** - Medidas dos halos de inibição (mm) do extrato bruto concentrado de *Cymbopogon citratus* contra *Candida albicans* (ATCC 64550), *Escherichia coli* (ATCC 25922 P), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27859), *Salmonella sp* (ATCC 19196) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 26923)

Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Extrato bruto	9,04	+	8,76	9,25	6,28
Sabonete (5%)	6,98	+	6,69	6,89	+
Sabonete (10%)	7,45	+	7,03	7,21	+
Sabonete (20%)	7,98	+	7,28	7,50	+
Controle (-)	+	+	+	+	+
Controle (+)	12,26	11,15	10,85	10,79	9,94

\* As medidas dos halos de inibição incluem o diâmetro dos discos (6mm).

\* Crescimento microbiano (+)

De acordo com a Tabela 1, o extrato mostrou atividade contra uma das cepas gram-positivas (*S. aureus*) e todas as gram-negativas (*Salmonella sp* e *E. coli*), tanto no extrato bruto quanto no sabonete líquido, porém não apresentou atividade contra *C. albicans* nas concentrações usadas na formulação do sabonete. Contra *P. aeruginosa*, não foi verificada atividade antimicrobiana no extrato bruto ou no sabonete líquido.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, apesar de modestos, comprovaram o potencial antimicrobiano do capim-limão frente a alguns dos microrganismos testados, demonstrando que extratos brutos de plantas podem apresentar perspectivas para a obtenção de antibióticos naturais<sup>14-18</sup>. Vale ressaltar também que o método de difusão em ágar, embora muito utilizado na avaliação de atividade antimicrobiana, apresenta limitações para substâncias com baixa difusibilidade no meio de cultura, o que pode ter contribuído para o crescimento de *C. albicans* e *P. aeruginosa*.

Segundo Carriconde e colaboradores<sup>19</sup>, o óleo essencial de capim-limão tem como propriedades terapêuticas ação antifúngica e antibacteriana. O principal componente do óleo essencial é o citral e, devido a sua capacidade de ação antimicrobiana, este pode ser explorado como um método alternativo na antisepsia, pois é extremamente distribuído e não-fitotóxico<sup>20</sup>.

Esse trabalho também demonstrou a importância em valorizar o conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais que, sob vários enfoques, possibilita entender suas culturas, bem como a utilização prática das plantas. Segundo Elisabetsky<sup>21</sup>, a etnobotânica é uma verdadeira investigação científica utilizando conhecimentos tradicionais empíricos em prol do melhoramento da qualidade de vida, não só dos homens, como do ambiente, pois com o conhecimento das propriedades úteis em termos antropológicos tem como consequência a conservação das plantas. Entretanto, as plantas utilizadas só passam a ter um valor agregado e podem ser consideradas como medicinais após a realização de pesquisas que vão validar o seu uso popular pela demonstração científica de sua eficácia e determinação da sua segurança<sup>14,22</sup>.

Porém, apesar da grande utilização das plantas medicinais e dos estudos que comprovam seus efeitos farmacológicos, ainda é necessário um trabalho de orientação profissional tanto com os comerciantes quanto com a população, a fim de que a utilização seja segura e eficaz. A ideia de que "por ser natural não faz mal" predomina entre os usuários de plantas medicinais, pois mesmo sem conhecimento comprovado das propriedades e/ou toxicidade, muitas pessoas acabam usando-as como forma de atenção primária a saúde.

Assim, é importante ressaltar que o emprego de plantas medicinais no tratamento ou prevenção

de determinadas enfermidades deve ser orientado e acompanhado por profissionais de saúde, evitando riscos de toxicidade e possibilitando a descoberta e/ou comprovação de outras milhares de ações terapêuticas que podem ser oferecidas pelas plantas.

## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, o potencial antimicrobiano exibido pelo extrato de *C. citratus* mostrou-se satisfatório e deve ser investigado com mais detalhes, pois pode contribuir para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos naturais, os quais, se viáveis, representarão alternativas aplicáveis no tratamento de processos infecciosos ou mesmo como antissépticos naturais incorporados em formulações cosméticas ou dermatológicas, apresentando custo acessível a grande parte da população, principalmente a de reduzido poder aquisitivo que necessita de alternativas viáveis e seguras para a prevenção de contaminações e infecções.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Farmácia do Centro Universitário de Araraquara (UNIARA), onde foram realizadas as análises físico-químicas, e pelo apoio aos projetos desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Qualidade da FCF-UNESP Araraquara-SP, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

## REFERÊNCIAS

1. Reis MS, Mariot A, Steenbock W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: Simões CMM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC Editoras; 2000. p. 45-74.
2. Calixto JB. Medicamentos fitoterápicos. In: Younes RA, Calixto JB. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos; 2001.
3. Maciel MAM. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova. 2002; 25:429-38.
4. Araújo AA. Principais gramíneas do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Sulina; 1971.
5. Silva PA. Efeitos da adubação orgânica e mineral na produção de biomassa e óleo essencial do capim-limão [*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf]. Rev Ciênc Agron. 2003; 34(1):10-5.
6. Gomes EC, Rucker NGA, Negrelle RRB. Estudos prospectivos da cadeia produtiva do capim-limão, estado do Paraná. Rev Econ Social Rural. 2004; 42(4):137-44.
7. Leal TCAB. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). Rev Ceres. 2001; 48(278):445-53.
8. Costa AF. Farmacognosia. 6ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2002.
9. Choudhury SN. Effect of clipping height on herb and essential oil yield of lemongrass. Ind J Agron. 1994. 39:592-8.
10. Farmacopeia Brasileira. 5ª ed. Brasília: Anvisa; 2010.
11. Simões CMO, Spitzer V. Óleos voláteis. In: Simões CMM. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2ª. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC Editoras; 2000.
12. Bauer AW, Kirby WM, Sherris TC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single method. Am J Clin Pathol. 1996; 45(4):493-6.
13. Farmacopeia Portuguesa. 8ª. ed. Lisboa: Infarmed; 2005.
14. Younes RN, Varella D, Sufreddini IB. Extração e rastreamento de novas drogas em plantas brasileiras. Acta Oncol Bras. 2000; 20:15-9.
15. Belem LF. Atividade antifúngica de oleos essenciais in vitro contra cepas de *Malessezia furfur*. Rev Bras Plantas Med. 2003; 6(1):77-83.
16. Santos SC. Antifungal activity of *Eugenia uniflora* L fractions against *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida. Rev Bras Plantas Med. 2004. 7(1):30-3.
17. Souza AA, Wiest JM. Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupa, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Bras Plantas Med. 2007; 9(3):23-9.

18. Avancini CAM, Wiest JM. Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. E Schlecht.-Gutiferae ("escadinha"/"sinapismo"), frente diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). Rev Bras Plantas Med. 2008; 10(1):64-9.
19. Carriconde C, Mores D, Von Fritschen M, Cardozo EL. Plantas medicinais e alimentícias. Olinda: UFPE; 1996.
20. Olejede F. Decrease of growth and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* by spices. World J Microbiol Biotechnol. 1993; 9:605-6.
21. Elisabetsky E. Etnofarmacologia de algumas tribos brasileiras. In: Ribeiro D. Suma etnológica brasileira. Petrópolis: Vozes; 1997.
22. Viana GSB. Antinocicetive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice. J Ethnopharm. 2000; 70:323-7.

## SITUAÇÃO VACINAL EM RELAÇÃO À HEPATITE B DOS ALUNOS DA 1ª SÉRIE DO CURSO DE MEDICINA<sup>1</sup>

### VACCINATION IN RELATION TO HEPATITIS B FROM FIRST GRADERS OF MEDICAL SCHOOL

Brunna Caroline de Lima\*, Rafaela Cardoso Ribeiro de Barros\*, Alexandra Martins Moreira\*, Mariana Magri Magagnini\*\*, Maristela Aparecida Magri Magagnini\*\*\*

#### RESUMO

A hepatite B constitui um grave problema de saúde pública no mundo, sendo a infecção viral mais importante entre profissionais de saúde. Com o objetivo de verificar o conhecimento e a situação vacinal em relação à hepatite B dos graduandos da 1ª série do curso de Medicina, foi realizado um estudo exploratório, descritivo com abordagem quantitativa, em uma Instituição de Ensino do noroeste paulista. Os sujeitos foram compostos por 61 alunos da 1ª série do curso de Medicina. Para coleta de dados foram utilizados um questionário e a carteira de vacinação. Dos sujeitos do estudo, 59,9% são do sexo feminino; faixa etária de 21 a 24 anos; 93,4% têm conhecimento referente às formas de transmissão da hepatite B e a contaminação através do contato com sangue e outros fluidos biológicos contaminados; 82% estão cientes de a vacina constar no calendário de vacinação; 78% que o esquema consta de três doses e a realização do teste anti-HBs é importante; dos alunos que estavam com o esquema completo de vacinação, 82% apresentaram anti-HBs reagente. Para a proteção e segurança dos alunos ingressantes, faz-se necessário que a instituição de ensino realize uma averiguação do cartão de vacinação, oriente em relação às doses da vacina e, posteriormente, comprove a sua imunização.

**Palavras-chave:** Estudantes de medicina. Imunização. Hepatite B.

#### ABSTRACT

Hepatitis B is a serious public health problem worldwide, and the most important viral infection among health professionals. With the aim of verifying the knowledge and vaccination in relation to hepatitis B students from the 1st series of Medical school, an exploratory, descriptive study with a quantitative approach, performed in a Teaching Institution of the northwest region was performed. The subjects were composed of 61 students of the 1st series of Medical school. For data collection a questionnaire and vaccination card was used. Of the study subjects, 59.9 % were female; aged 21-24 years, 93.4 % have knowledge concerning the forms of transmission of hepatitis B and contamination through contact with blood and other biological fluids contaminated, 82% are aware of the vaccine included in the vaccination schedule, 78% that the scheme consists of three doses and realization of anti - HBs testing is important, the students who were with the full vaccination, 82% had anti - HBs reagent. For the safety and security of students entering, it is necessary that the education institution perform an investigation of the vaccination, guided in relation to the doses of the vaccine and, subsequently, demonstrate its immunization.

**Keywords:** Medical students. Immunization. Hepatitis B.

\* Discentes da 3ª série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\* Discente da 6ª série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\*\* Mestre em Enfermagem pela Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, docente do curso de graduação em Enfermagem, Medicina e Biomedicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva - SP.

1 Artigo extraído da Pesquisa Institucional, desenvolvida e apresentada no curso de graduação em Medicina. Subsidiada pelas Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: maristela.magri@hotmail.com



## INTRODUÇÃO

A hepatite B constitui um grave problema de saúde pública no mundo, sendo a infecção viral mais importante entre os profissionais de saúde, estes podendo desenvolver um estado de portador crônico. O vírus da hepatite B (HBV) circula em altas concentrações no sangue e em títulos baixos nos outros fluidos orgânicos. O sangue e outros líquidos orgânicos de uma pessoa portadora de HBV já podem ser infectantes duas a três semanas antes de aparecerem os primeiros sinais da doença, e se mantêm assim durante a fase aguda. Apesar de ser pequeno o risco de transmissão para os pacientes, não é apropriada a permanência destes profissionais exercendo procedimentos que possam trazer risco ao paciente<sup>1</sup>.

No Brasil, atualmente, a vacina da hepatite B está disponível em todo território nacional e a faixa etária foi expandida para indivíduos até 49 anos<sup>2</sup>. O Serviço Único de Saúde (SUS) oferece a vacina contra a hepatite B para grupos vulneráveis, independentes de faixa etária, em que estão incluídos os profissionais da saúde. Estes profissionais têm risco aumentado para doenças imunopreveníveis, com possibilidade de transmissão intra-hospitalar e risco significativo de contraí-las e/ou transmiti-las, conforme sua suscetibilidade<sup>3</sup>. A Norma Regulamentadora nº 32 orienta sobre a importância da vacinação dos trabalhadores da área da saúde<sup>4</sup>.

A vacina contra hepatite B combate uma das mais nocivas e temíveis doenças virais a que os profissionais da saúde estão expostos. O esquema vacinal padrão inclui três doses de 20µg, sendo administradas nos meses 0, 1 e 6 de vida. A detecção de anticorpos anti-HBs  $\geq 10$ UI/L indica imunidade contra essa infecção. A proteção da vacina é derivada da memória imunológica estabelecida, os níveis de anticorpos derivados da vacina normalmente declinam com o passar do tempo, mas permanecem pelo menos 15 anos após a série completa de vacinação e são reativados, quando necessário, pela memória imunológica<sup>5</sup>.

O Ministério da Saúde do Brasil, no ano de 2004 com a Portaria nº 597, tornou obrigatória, em todo território nacional, a apresentação do comprovante de vacinação atualizado para efeito de matrícula em universidades. Entre as preconizadas estava a vacina contra a hepatite B<sup>6</sup>. Entretanto, em 2006, esta portaria

foi revogada, expondo principalmente graduandos de cursos da área de saúde aos riscos ocupacionais inerentes às suas atividades assistenciais<sup>7</sup>. Em especial, pode-se destacar os alunos de Medicina por causa de sua proximidade com o paciente. Neste caso, é preciso maior atenção por parte dos alunos, não só por sua ansiedade em assimilar e manipular novos procedimentos, mas também pela falta de experiência e pela não utilização de medidas universais de biossegurança, o que não é intencional na maioria dos casos, ocorrendo por pressa ou esquecimento<sup>8</sup>.

Os alunos de Medicina geralmente estão inseridos na rede de saúde, em atividades desenvolvidas com a comunidade já no primeiro ano. Por exemplo, as atividades de extensão colocam os alunos em contato com os indivíduos, como uma simples coleta de sangue para glicemia capilar, e como eles ainda não dominam a técnica, podem sofrer lesões percutâneas. Outro ponto preocupante é devido a não obrigatoriedade por parte da Instituição de Ensino Superior (IES) da apresentação do cartão de vacinação completo no ato da matrícula e, posteriormente, a comprovação de uma possível imunidade contra a hepatite B, uma vez que se tem disponível o exame no mercado, assim podendo evitar possíveis danos à saúde dos alunos e futuros profissionais. Portanto, acredita-se ser importante no primeiro contato com os ingressantes, fazer um levantamento da carteira de vacinação para verificar a sua situação em relação à vacina contra a hepatite B.

Esse levantamento é importante por conta das atividades que serão desenvolvidas durante a graduação e que expõem os alunos a situações que poderão ocasionar lesões percutâneas, além do contato com fluidos corporais, podendo levar a uma possível contaminação com o vírus da hepatite B. Vê-se a necessidade de organizar/orientar a carteira de vacinação dos alunos ingressantes no que diz respeito à vacina contra a hepatite B e à sua resposta imunológica, uma vez que na IES em estudo não é exigida a carteira de vacinação no ato da matrícula.

## OBJETIVO

Verificar o conhecimento e a situação vacinal em relação à hepatite B dos graduandos da 1ª série do curso de Medicina de uma IES do noroeste paulista.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estudo de caráter exploratório, descritivo com abordagem quantitativa, desenvolvido em uma IES do noroeste paulista. Os sujeitos do estudo foram 61 alunos da graduação da 1ª série do curso de Medicina. Os critérios de inclusão foram alunos de ambos os sexos que concordaram em participar da pesquisa.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), sob o parecer nº 228.146. Os dados foram coletados mediante o consentimento da coordenação do curso de Medicina e após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos sujeitos do estudo, conforme o artigo nº 35, da Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

A coleta de dados ocorreu entre os meses de maio a agosto de 2013 e foi dividida em três etapas. Na primeira, os alunos foram reunidos em sala de aula, em horário de atividade curricular, e foram apresentados ao tema e aos objetivos do estudo pelos pesquisadores; posteriormente, responderam a um questionário contendo perguntas referentes ao conhecimento sobre a hepatite B. Na segunda etapa, solicitou-se o cartão de vacinação, do qual foram retiradas informações sobre o esquema vacinal da hepatite B. Na terceira etapa, os alunos que estavam com o esquema completo de vacina (três doses para hepatite B) foram orientados a realizar o exame anti-HBs, cujos resultados foram utilizados na finalização do estudo. Os dados obtidos foram apresentados de forma descritiva em tabelas, baseados na análise de frequência simples e relativa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à faixa etária, 42,7% dos alunos tinham entre 18 a 20 anos, 55,7% entre 21 a 24 anos e 1,6% acima de 25 anos; sendo a idade média equivalente a 21,34 anos. Quanto ao sexo, 40,9% pertenciam ao sexo masculino e 59,9% ao sexo feminino.

Na Tabela 1 estão as formas de transmissão da hepatite B, segundo o conhecimento dos alunos do 1ª série do curso de Medicina.

**Tabela 1** - Distribuição numérica e percentual referente às formas de transmissão da hepatite B, segundo conhecimento dos graduandos da 1ª série do curso de Medicina, Catanduva-SP, 2013

Formas de transmissão Hepatite B	N=61	%
Relação sexual		
Contato com sangue e fluidos contaminados	17	27,9
Contato com sangue e fluidos contaminados	15	24,6
Relação sexual		
Transmissão vertical (mãe-filho)		
Contato com sangue e fluidos contaminados	14	23,0
Relação sexual		
Aleitamento materno		
Transmissão vertical (mãe-filho)		
Contato com sangue e fluidos contaminados	6	9,8
Relação sexual	3	5,0
Relação sexual		
Aleitamento materno		
Contato com sangue e fluidos contaminados	2	3,3
Transmissão fecal-oral	1	1,6
Aleitamento materno		
Transmissão vertical (mãe-filho)		
Contato com sangue e fluidos contaminados	1	1,6
Transmissão vertical (mãe-filho)		
Contato com sangue e fluidos contaminados	1	1,6

Quanto às formas de transmissão da hepatite B, 27,9% responderam ser através da relação sexual e do contato com sangue e fluidos contaminados; 24,6% somente através do contato com sangue e fluidos contaminados; 23,0% através da relação sexual, da transmissão vertical (mãe-filho) e do contato com sangue e fluidos contaminados; 9,8% através da relação sexual, do aleitamento materno, da transmissão vertical (mãe-filho) e do contato com sangue e fluidos contaminados; 5,0% através da relação sexual; 3,3% através da relação sexual, do aleitamento materno e do contato com sangue e fluidos contaminados; 1,6% através do aleitamento materno e do contato com sangue e fluidos contaminados; 1,6% através da transmissão fecal-oral; 1,6% através do aleitamento materno, da transmissão vertical (mãe-filho) e do contato com sangue e fluidos contaminados; 1,6% através da transmissão vertical (mãe-filho) e do contato com sangue e fluidos contaminados. Os sujeitos do estudo na maioria responderam mais de uma forma de transmissão e, entre elas, a opção de contaminação através do contato com sangue e fluidos contaminados totalizou 93,4%, demonstrando que os discentes têm o esclarecimento que podem se contaminar durante a graduação e ao exercerem a profissão.

A hepatite B é transmitida através de exposição percutânea ou de mucosas a sangue ou fluidos corpóreos contaminados pelo vírus. As formas de contágio mais significativas são através da transmissão vertical (da mãe

para a criança), de relação sexual desprotegida e por inoculação percutânea<sup>9</sup>.

Durante os estágios, os alunos são submetidos a procedimentos que exigem habilidade e técnica, o que, muitas vezes, não ocorre em virtude da falta de prática e da ânsia de executarem-nos. Além disso, a falta de educação e supervisão quanto ao uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) são fatores agravantes para a infecção, muito mais que a disponibilidade de tais instrumentos pela instituição de ensino<sup>8</sup>.

A Tabela 2 ilustra os resultados obtidos em relação ao autoconhecimento dos alunos acerca da hepatite B ser uma infecção que pode acometer os profissionais de saúde. A vacina consta no calendário nacional de vacinação e é administrada em três doses, sendo realizado o exame anti-HBs para confirmação da imunização.

**Tabela 2** - Distribuição numérica e percentual referente ao conhecimento da hepatite B como infecção que acomete profissionais da saúde, vacinação e imunização, dos graduandos da 1ª série do curso de Medicina, Catanduva, SP, 2013

Variáveis	N=61	%
<b>Hepatite B infecção viral entre profissionais da saúde</b>		
Sim	38	62%
Não	23	38%
<b>Conhecimento da vacina contra HBV: calendário de vacinação</b>		
Sim	50	82%
Não	11	18%
<b>Conhecimento vacina hepatite B: 3 doses</b>		
Sim	48	78%
Não	13	22%
<b>Conhecimento de imunização - teste anti-HBs</b>		
Sim	60	98%
Não	1	2%

Dos sujeitos do estudo, 62% (n=38) têm conhecimento que a hepatite B é a infecção viral mais importante para os profissionais da saúde; enquanto 38% negam conhecer tal informação.

Sabe-se que a alta exposição a amostras sanguíneas no ambiente de trabalho e a outros fluidos corporais contaminados pelo HBV e a prevalência da infecção na população assistida correlacionam-se diretamente ao risco de se tornar portador do vírus e potencial veículo de transmissão de tal patógeno<sup>5</sup>. O manuseio incorreto de materiais contaminados pelo vírus da hepatite B e o contato interpessoal com secreções são fatores de risco para a infecção. Os profissionais e os estudantes da área da saúde estão sujeitos à contaminação de doenças imunopreveníveis no ato de prestação dos

serviços à população, em virtude do ambiente nosocomial e do contato interpessoal exigido pela profissão.

Os estudantes brasileiros matriculados no curso de Medicina iniciam estágios extracurriculares precoce e desordenadamente, geralmente sem treinamento em biossegurança e sem a verificação de sua situação vacinal. Faz-se necessário que tais alunos estejam imunizados antes mesmo de entrarem no internato médico, na residência médica ou no mercado de trabalho, já que não há uma política de prevenção por parte das IES para incentivar a vacinação desse setor social especificamente<sup>10</sup>.

Quando questionados sobre o conhecimento da vacina contra hepatite B no calendário de vacinação, 82% estavam conscientes, e sobre o esquema de vacinação, 78% afirmaram que conheciam que este constava de três doses.

O Ministério da Saúde ampliou a faixa etária de vacinação contra a hepatite B, anteriormente a idade para vacinação disponibilizada pelo SUS era de indivíduos até 29 anos. A partir de julho de 2013, entrou em vigor a Portaria nº 1.498, pela qual homens e mulheres com até 49 anos poderão receber a vacina gratuitamente em qualquer unidade de saúde. A medida beneficia um público-alvo de 150 milhões de pessoas, 75,6% da população total do Brasil<sup>11</sup>.

A vacinação contra hepatite B é oferecida gratuitamente e sem restrição de idade aos profissionais que abrangem o grupo de exposição, como médicos, enfermeiros, bombeiros, policiais, manicures, entre outros. E também está disponível para que cidadãos que não estão inseridos neste grupo possam ser imunizados. Quando administrada na adolescência ou na fase adulta, deve seguir os intervalos de 0, 1 e 6 meses<sup>2</sup>.

Sobre a existência do teste anti-HBs para comprovação da imunização, 98% (n=60) dos alunos referem ser importante a sua realização. Recomenda-se a sorologia para avaliação da soroconversão um a dois meses após a última dose da vacinação. Títulos maiores ou iguais a 10mUI/mL de anti-HBs conferem proteção contra a infecção. A vacina é segura e garante imunidade prolongada. A proteção contra a infecção persiste mesmo com a queda de título de anticorpos que ocorre com o passar dos anos<sup>12</sup>.

Segundo o Ministério da Saúde, caso este título não seja atingido após as três doses, é necessário tomar



mais uma dose e realizar o teste novamente. Se o indivíduo ainda não for imunizado, então deverá seguir o programa completo novamente. Entre os alunos pesquisados, 82% apresentaram o esquema vacinal completo, ou seja, tomaram as três doses da vacina contra o vírus da hepatite B, e destes, 83% realizaram o teste anti-HBs para comprovar a imunização, sendo que 82% apresentaram anti-HBs. Dos alunos que participaram do estudo, 18% não apresentaram o cartão de vacinação.

A vacina é considerada eficaz com taxas de proteção de 95%, com variações de 80 a 100% entre os indivíduos que receberam as três doses da vacina<sup>13</sup>. Os alunos que apresentaram o resultado como não reagente provavelmente são portadores com baixo nível de HBV devido à tolerância imunológica ao HBsAg, e não possuem capacidade de produção de anti-HBs<sup>5</sup>.

## CONCLUSÃO

A maioria dos alunos da 1ª série do curso de Medicina tem conhecimento que a hepatite B pode ser transmitida através do contato com sangue e outros fluidos biológicos contaminados, ser uma infecção viral que pode acometer profissionais da saúde, que consta no calendário de vacinação e que a vacina deve ser administrada em três doses, e após, realizar-se o anti-HBs. Entretanto, existe uma parcela desses alunos que não estava imunizada e alguns com as doses da vacina incompletas.

Para a proteção e segurança dos alunos ingressantes, faz-se necessário que a IES realize uma averiguação do cartão de vacinação, oriente em relação às doses da vacina e, posteriormente, realize o exame anti-HBs, a fim de constatar a imunidade em relação à hepatite B, logo no início do ano letivo.

## REFERÊNCIAS

1. Sanches GBS, Honer MR, Pontes ERJC, Aguiar JI, Ivo ML. Caracterização soroepidemiológica da infecção pelo vírus da hepatite B em profissionais de saúde da atenção básica no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Panam Infectol.* 2008;10(2):17-22.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Imunização. Saúde amplia faixa etária para vacinação de Hepatite B. [acesso em 2013 fev 4]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/3890/162/saude-amplia-faixa-etaria-para-vacinacao-de-hepatite-b.html/>.
3. Cabrera EMS, Merege CES. Inquérito vacinal de alunos da graduação em medicina e enfermagem da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (SP, Brasil) nos anos de 2006 e 2007 e suas possíveis implicações na atuação discente. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2011;16(2):547-52.
4. Brasil. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma regulamentadora NR 32: segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde. [acesso em 2013 fev 19]. Disponível em: [http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A350AC8820135161931EE29A3/NR-32%20\(atualizada%202011\).pdf](http://portal.mte.gov.br/data/files/8A7C816A350AC8820135161931EE29A3/NR-32%20(atualizada%202011).pdf).
5. Vieira TB, Pereira R, Santos KF, Leal DBR. Soroconversão após a vacinação para hepatite B em acadêmicos da área da saúde. *Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria.* 2006; 7(1):13-21.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 597, de 8 de Abril de 2004. Institui, em todo território nacional, os calendários de vacinação. [acesso 2012 jan 12]. Disponível em <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-597.htm/>.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº1602, de 17 de Julho de 2006. Institui em todo o território nacional, os calendários de Vacinação da Criança, do Adolescente, do Adulto e do Idoso. [acesso em 2013 mar 1]. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2006/GM/GM-1602.htm/>.
8. Chehuen Neto JA, Sirimarco MT, Leite ICG, Gonçalves MPC, Delgado AAA, Camilo GB, et al. Situação vacinal dos discentes da Faculdade de Medicina da UFJF-MG. *Rev Bras Educ Med.* 2010; 34(2):270-7.
9. Perim EB, Passos ADC. Hepatite B em gestantes atendidas pelo programa Pré-Natal da Secretaria Mundial da Saúde de Ribeirão Preto, Brasil: prevalência da infecção e cuidados prestados aos recém-nascidos. *Rev Bras Epidemiol.* 2005; 8(3):272-81.
10. Moreira MCB, Lima GZ. Evolução dos conhecimentos sobre doenças imunopreveníveis de alunos no curso de Medicina da Universidade Estadual de Londrina. *Semina Cien Biol Saúde.* 2007; 28(1):15-22.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.498, de 19 de julho de 2013. Redefine o calendário nacional de vacinação. [acesso em 2013 ago 1]. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt1498\\_19\\_07\\_2013.html/](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt1498_19_07_2013.html/).
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e hepatites virais. Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV- 200. Tratamento e prevenção. Brasília; 2010.
13. Davis JP. Experience white hepatitis A and B vaccine. *Am J Med.* 2005; 10:7-15.

## CEFALEIA NA EMERGÊNCIA

### HEADACHE IN EMERGENCY

Lilian Audi Goulart\*, Talita Alvarez Sucena\*, Juliana Vilaça Vaz\*\*, Pedro Matheus Benelli\*\*, Natalia Gonçalves Rodrigues\*\*, Izabela Dias Brugugnolli\*\*, Eliana Meire Melhado\*\*\*

#### RESUMO

A cefaleia é uma queixa comum na emergência. A prevalência de cefaleia ao longo da vida na população é de 90%. O objetivo do estudo é traçar uma diretriz para o tratamento médico das cefaleias nas unidades de pronto atendimento e emergência. Neste trabalho foi desenvolvido um algoritmo, com base na análise da literatura científica de artigos de referência, que visa a padronização para o tratamento da cefaleia nas Unidades de Urgência e Emergência (UUE). Na abordagem inicial, excluem-se causas de cefaleia secundária, então administra-se Dipirona 1g IV (intravenoso). Se evoluir bem, o paciente é liberado da UUE e orienta-se investigação ambulatorial. Caso contrário, opta-se por Clorpromazina 0,5-1mg/kg IV diluída em SF 0,9% em bomba de infusão contínua por 6h, ou Clorpromazina 0,1 mg/kg em bolo IV, repetindo a dose, se necessário, em ambas as opções. Caso paciente apresente vômito, considerar uso de Ondansetrona 8mg em SF 0,9% 100ml em 15min, ou Dimenidrinato IV e caso desconheça efeitos extra-piramidais, usar Metoclopramida ou Bromoprida. Caso resposta desfavorável usar Cetoprofeno 100mg IV em SF 0,9% em 30min com protetor gástrico. Caso persista, utilizar Dexametasona 10mg IV e, se necessário, repetir 4mg IV. Se a crise não passou após essas medidas, pode-se utilizar Valproato de Sódio IV. O uso de derivados opioides é desencorajado. Quando a resposta for favorável (remissão total ou parcial do quadro doloroso que permite ao paciente retornar suas atividades cotidianas), o paciente recebe alta. A abordagem da cefaleia primária na UUE deve se basear em protocolos padrões que sistematizem o atendimento ao paciente de maneira a minimizar os custos e efetivar o tratamento.

**Palavras-chave:** Cefaleia. Tratamento. Emergência.

#### ABSTRACT

The headache is a common complaint in the emergency. The headache life prevalence in the population is 90%. This study aim trace a guideline for the medical treatment of headaches in the units of smart attention and emergency. This work developed an algorithm based on the analysis of the scientific literature of reference articles, aimed at standardization for the treatment of headache in the Units of Urgency and Emergency (UUE). In the initial boarding, to exclude causes of secondary headaches, then it will be administer Dipirona 1g IV (intravenous). If it evolves well, the patient is released of the UUE and orients investigation. Of the other hand, it will be opt by Clorpromazina 0,5-1mg/kg IV in SF 0,9% in infusion bomb continuous by 6h, or Clorpromazina 0,1 mg/kg in skittle IV, repeating the dose, if necessary, in both options. If patient presents vomiting, consider use of Ondansetrona 8mg in SF 0,9% 100ml in 15min, or Dimenidrinato IV and if it is not be extra effects-piramidais, use Metoclopramida or Bromoprida. If answer desfavorable use Cetoprofeno 100mg IV in SF 0,9% in 30min with protective gastric. If it persist, use Dexametasona 10mg IV and, if necessary, repeat 4mg IV. If the crisis did not happen after these measures, it can use Valproex IV. The use of derivative opioides is despondent. When the answer was adequate (total or partial remission of the painful picture that allows to the patient return his daily activities), the patient receives high medical. The boarding of the primary headache in the UUE has to base in protocols patterns that systematize the attention to the patient of way to minimize the costs and realize the treatment.

**Keywords:** Headache. Management. Emergency.

\* Discentes da 3ª série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\* Discentes da 4ª série do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\*\* Médicas Residentes (R2) dos Hospitais Padre Albino e Emílio Carlos, em Catanduva-SP.

\*\*\*\* Doutora em Ciências Médicas, área de Neurologia, pela UNICAMP; docente nível I do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP, Brasil. Contato: neuroeliana@hotmail.com



## INTRODUÇÃO

Dentre os sintomas mais comuns na prática clínica, a cefaleia se constitui um dos principais, visto que, na maioria das vezes, pode se relacionar a patologias graves. Mesmo as cefaleias consideradas benignas são prejudiciais para os indivíduos que as possuem, pois em grande parcela tornam-se o agente incapacitante para realização de suas funções cotidianas. Em pequena escala, a cefaleia acarreta problemas pessoais como a própria abstenção no trabalho, nas relações sociais e atividades. Já em grande escala, trata-se de um problema de saúde pública com impacto socioeconômico<sup>1,2</sup>.

Segundo o Subcomitê de Classificação das Cefaleias da Sociedade Internacional de Cefaleia<sup>3</sup>, há mais de 200 tipos de cefaleias descritas. É fundamental que o médico possa primeiramente dividir as cefaleias entre primárias, quando não está presente nenhuma outra doença subjacente, e secundárias, quando a dor existe como sintoma de outra condição. A cefaleia primária possui como subtipos a migrânea, cefaleia do tipo tensional, cefaleias em salvas ou trigêmino-autonômicas e outros tipos de cefaleias primárias, enquanto as secundárias englobam transtornos atribuídos a um determinado fator<sup>3,4</sup>.

Estima-se que a prevalência da cefaleia ao longo da vida na população seja superior a 90%. As cefaleias primárias são causas comuns de procura por auxílio médico, estando responsável por aproximadamente 7% dos atendimentos não agendados em unidades básicas de saúde e 1% a 3% dos atendimentos em unidades de emergência. A prevalência da migrânea é estimada em 12% da população, acometendo mais mulheres do que homens, numa proporção de cinco para dois, e pode se iniciar na infância ou adolescência, acompanhando o paciente por toda vida. Alguns estudos apontam que as cefaleias são predominantes na infância, sendo que a prevalência desta aumenta diretamente proporcional à idade das crianças. Antes dos 10 anos de idade há maior incidência no sexo masculino e, após esse período, o perfil se inverte<sup>5-7</sup>. Outros estudos mostram que a prevalência de migrânea entre meninos e meninas é semelhante e, durante a puberdade, ela se torna três vezes mais comum nas mulheres que em homens<sup>8</sup>.

Dada a grande importância desse sintoma e sua elevada prevalência, a anamnese é indispensável para se

chegar ao diagnóstico, devendo ser baseada no protocolo de atendimento de cefaleias. Isso é comprovado pela ausência de exames complementares capazes de realizar o diagnóstico por si<sup>9</sup>.

O diário de acompanhamento da dor de cabeça é uma ferramenta útil para a detecção de fatores desencadeantes, bem como a verificação de melhora com o tratamento estabelecido. Porém, este acompanhamento é ambulatorial, portanto, fora da emergência<sup>10</sup>.

O objetivo desta revisão é direcionar os médicos que atendem cefaleias que chegam na unidade de emergência e traçar um algoritmo que possa auxiliá-los na melhor conduta aos pacientes que sofrem desse mal.

Após esse atendimento de emergência, o médico deve encaminhar esses pacientes ao especialista, que fará o tratamento abordando a saúde de vida geral do indivíduo, o que inclui, além de medicamentos, o diário de cefaleia. O tratamento com o especialista tende a evitar a necessidade de procurar pela emergência.

## OBJETIVO

Tomando por base uma revisão da literatura, o objetivo do estudo foi criar uma diretriz para o tratamento das cefaleias, em geral, para os médicos que atendem em serviços de emergência.

## MATERIAL E MÉTODO

Foi realizada pesquisa bibliográfica na literatura científica, através dos *sites* da Bireme, MedLine, SciELO, LILACS e PubMed. Utilizou-se também o método da troca de informação com os serviços de emergência da USP de Ribeirão Preto-SP.

## RESULTADOS

### Tratamento da cefaleia na unidade de emergência

O manejo adequado da cefaleia na Unidade de Urgência e Emergência (UUE) depende primeiramente de um diagnóstico adequado, de acordo com os critérios da *International Headache Society (IHS)*<sup>3</sup>, o qual deve excluir causas de cefaleia secundária, por exemplo, traumas, infecções, massas intracranianas, hemorragias. Dessa maneira, o tratamento para abortamento ou abolição da crise deve ser prontamente iniciado, de acordo com o tipo de dor, sendo que as cefaleias primárias mais comuns são

a migrânea, a cefaleia tensional e a cefaleia em salvas. Achados clínicos como febre e rigidez de nuca, cefaleia súbita ou a pior da vida, hipertensão arterial grave, papiledema ou edema de papila, hiperemia ocular, perda de campos visuais, pupilas medianas, sinais neurológicos focais sugerem causas secundárias de cefaleia e devem ser investigados obrigatoriamente.

São os sinais de alarme ou alerta para uma cefaleia na UUE (*Red Flags*):

- primeiro episódio de cefaleia de início súbito ou pior cefaleia da vida;
- cefaleia de início súbito (atinge a intensidade máxima em até 1 minuto);
- evolução subaguda (dias a semanas) com intensidade e/ou frequência crescentes;
- mudança de padrão ou surgimento de nova cefaleia superposta a antiga ou em paciente enxaquecoso;
- cefaleia iniciada em paciente com idade superior a 50 anos;
- cefaleia em pacientes com sintomas sistêmicos (febre, perda de peso, descarga nasal purulenta, elevação súbita da pressão arterial, espessamento das artérias temporais superficiais);
- cefaleia em paciente com história de HIV ou câncer;
- cefaleia em paciente com glaucoma ou outras afecções oculares agudas;
- mudança de padrão da aura e aura persistente e prolongada;
- cefaleia que surge ou desaparece com mudança postural;
- cefaleia em pacientes com história de convulsões ou traumatismo crânio-encefálico (TCE recente);
- anormalidade no exame neurológico (incluindo alterações da consciência ou linguagem, da motricidade ocular, do campo visual e das funções motoras e sensitivas além de papiledema e sinais de irritação meníngea);
- lateralidade fixa ou localização exclusivamente occipital;
- ausência de melhora com tratamento adequado;
- cefaleia desencadeada por tosse, exercício físico, atividade sexual ou manobra de Valsalva<sup>10,11</sup>;

- acompanhada por distúrbio de consciência, febre, rigidez de nuca;
- alterações na frequência, na intensidade, ou nas características clínicas da crise de cefaleia;
- exame neurológico anormal (acompanhada por sintomas/sinais neurológicos irritativos ou deficitários) ou déficit neurológico persistente;
- cefaleia progressiva ou nova, diária e persistente;
- sintomas neurológicos que não preenchem os critérios para migrânea com aura típica;
- alteração na pele ou órbita sugestivas de má formação arteriovenosa;
- comorbidade de crises epilépticas parciais;
- acompanhada de distúrbios endócrinos ou hipertensão arterial sistêmica.

Sinais de benignidade da cefaleia são descritos a seguir:

- cefaleias anteriores idênticas;
- sem outros sintomas (exceto náuseas, vômitos, fotofobia e fonofobia);
- nível de consciência preservado e comportamento adequado;
- sem qualquer dúvida quanto aos sinais meníngeos;
- exame clínico normal incluindo sinais vitais.

Os exames mais apropriados para investigação são:

- tomografia computadorizada de crânio e/ou seios da face, de acordo com a indicação de cada caso;
- ressonância magnética de crânio, incluindo sequências adequadas a cada caso;
- punção lombar com exame completo do líquido cefalorraquidiano, de acordo com a indicação de cada caso;
- exames laboratoriais e/ou radiológicos na suspeita de doenças sistêmicas;
- não há indicação para realização de eletroencefalograma ou radiografia de seios da face nesse contexto.

A abordagem da cefaleia primária na UUE deve ser baseada em protocolos padrões que sistematizem o atendimento ao paciente de maneira a minimizar os custos e efetivar o tratamento. Ademais, é no atendimento das cefaleias primárias na UUEs que se deve alertar o paciente quanto à necessidade de acompanhamento

clínico para investigação e minimização da recorrência das crises.

A via parenteral é comumente a via de escolha para administração de drogas, pois a estase gástrica existente na vigência de dor diminui a absorção de drogas por via oral. Deve-se considerar a hidratação intravenosa desses pacientes já que a desidratação pode estar presente, bem como, prevenir complicações como a hipotensão postural induzida pela clorpromazina. Anti-heméticos podem ser utilizados caso haja necessidade.

Quanto ao tratamento farmacológico, deve-se seguir o protocolo descrito a seguir<sup>12</sup>.

Na abordagem inicial, após excluir causas de cefaleia secundária, deve-se administrar Dipirona 1g IV (intravenoso). Se evoluir bem, o paciente é liberado da UUE e orienta-se investigação ambulatorial. Caso contrário, opta-se por Clorpromazina 0,5-1mg/kg IV diluída em SF 0,9% em bomba de infusão contínua por 6h, ou Clorpromazina 0,1mg/kg em bolo IV<sup>13</sup>, repetindo a dose, se necessário, em ambas as opções. Caso paciente apresente vômito, considerar uso de Ondansetrona 8mg em SF 0,9% 100ml em 15min, ou Dimenidrinato IV. Usar Metoclopramida e/ou Bromoprida se não houver história de efeitos extra-piramidais. Caso resposta desfavorável, usar Cetoprofeno 100mg IV em SF 0,9% em 30min com protetor gástrico. Caso persista, utilizar Dexametasona 10mg IV e, se necessário, repetir 4mg IV. Se após todas essas medidas a crise não passou pode-se utilizar o Valproato de Sódio IV 500mg dose única ou 60mg/kg/d e investigar. O uso de derivados opioides é desencorajado. Quando a resposta for boa libera-se o paciente. Uma resposta favorável compreende na remissão total ou parcial do quadro doloroso, que permita ao paciente retornar suas atividades cotidianas. Deve-se então desencorajar o abuso crônico de analgésicos e orientar o paciente e sua família quanto aos sinais de alarme para retorno a UUE.

Em geral, no Brasil se utiliza o Cetoprofeno como anti-inflamatório, mas existem opções como o Clonixilato de lisina 200mg endovenoso<sup>14</sup> e Tenoxicam 20 a 40mg por dia também endovenoso.

Para as crises refratárias pode-se utilizar o Valproato de Sódio intravenoso na dose de 0,5-1g em 30 minutos (não é considerado fármaco de escolha). O

uso de corticosteroides (dexametasona intravenosa na dose de 10-24mg) é prática frequente nas UUEs, já que diminui o índice de recorrência de crises nas próximas 72h seguintes. Por isso, atualmente é considerado fármaco de primeira linha, porém o custo-benefício deve ser analisado com cautela por se tratar de uma droga com potencial efeito imunossupressor quando usada repetidas vezes, fato esse comum nos pacientes com crises refratárias com diversas idas e vindas às UUEs. Usar 500mg dose única ou no máximo 60mg/Kg/dia.

Nas cefaleias tensionais, o uso de anti-inflamatórios é recomendado, a eficácia da clorpromazina e metoclopramida é relatada em 78,81% dos casos<sup>12</sup>. Nos casos de cluster (cefaleias em salva), com menor incidência nas UUEs, deve ser prontamente diagnosticado pelo médico atendente e o tratamento consiste na administração de oxigênio em máscara de alta concentração e alto fluxo 7 a 10L/min por volta de 15 minutos com uma taxa de resposta de aproximadamente 70%. Os demais fármacos já descritos também podem ser utilizados, em especial o sumatriptano subcutâneo, o qual já evidencia benefício 5-7minutos após a injeção<sup>12</sup>.

### **Tratamento medicamentoso: observações**

- a) A hidratação intravenosa é importante para o manejo da migrânea na emergência por dois motivos: desidratação inerente a doença e para prevenção da hipotensão postural induzida pela clorpromazina.
- b) O uso de dexametasona intravenosa nas crises migranasas prolongadas parece reduzir o índice de recorrência nas 72 horas seguintes, porém o benefício desta medida é questionável frente ao risco do uso disseminado de um agente imunossupressor em pacientes com condição recorrente, e frente ao risco de supressão do eixo hipotálamo-hipofisário que pode levar a um choque por falta desse hormônio endógeno com o uso crônico.
- c) A utilização de opioides no tratamento da crise migranosa na sala de emergência deve ser desencorajada, tanto pela falta de comprovação de eficácia como pelo risco de induzir a cronificação da migrânea. Uma possível exceção

a essa regra será o tramadol para o qual existe alguma evidência de eficácia<sup>15</sup>.

Todo paciente com crise migranosa ou de cefaleia primária deve ser investigado ambulatorialmente para que haja manejo adequado da recorrência de crises. Desencorajar o abuso crônico de analgésicos e orientar o paciente e sua família quanto aos sinais de alarme para retorno a UUE: piora ou mudança do padrão de dor, febre, vômitos incoercíveis, instabilidade postural, alterações de fala, motricidade ou visuais. Deve-se caracterizar a resposta favorável e instruir a alta como a seguir.

### Caracterização da resposta favorável

- Alívio total ou significativo da dor (permite retorno às atividades rotineiras).
- Ausência ou diminuição suficiente de náuseas, vômitos, desconforto e/ou mal estar, bem como quaisquer outros sintomas associados à migrânea.
- Reassegurar que o(a) paciente e seus familiares

estão cientes e esclarecidos quanto ao diagnóstico e seguros quanto à conduta adequada.

### Instruções pós-alta

- Encaminhar para consulta médica ambulatorial (Unidade de Saúde da Família).
- Orientar o retorno a emergência em caso de: piora ou mudança do padrão da cefaleia, febre, vômitos ou incapacidade de ingerir líquidos, tonteira ou tontuta, vertigem, desequilíbrio ou dificuldade de marcha; alterações visuais, motoras ou de linguagem; outras anormalidades que o perturbem.

### CONCLUSÃO

A abordagem da cefaleia primária na UUE deve se basear em protocolos padrões que sistematizem o atendimento ao paciente de maneira a minimizar os custos e efetivar o tratamento.

### REFERÊNCIAS

1. Speciali JG. Classificação das cefaléias. Medicina, Ribeirão Preto. 1997; 30: 421-7.
2. Raskin NH. Headache. In: Harrison TR, editor. Principles of Internal Medicine. 3th ed. New York: McGraw-Hill; 1994. p. 65-71.
3. The International Classification of Headache Disorders. 3rd ed. Cephalalgia. 2013; 33(9):629-808.
4. Porto CC. Semiologia médica. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
5. Sillanpää M. Changes in the prevalence of migraine and other headaches during the first seven school years. Headache. 1983; 23:15-9.
6. Barea LM, Tannhauser M, Rotta NT. An epidemiologic study of headache among children and adolescents of southern Brazil. Cephalalgia. 1996; 16:545-9.
7. Mortimer MJ, Kay J, Gawkrödger DJ, Jaron A, Barker DC. The prevalence of headache and migraine in atopic children: an epidemiologic study in general practice. Headache. 1993; 33:427-31.
8. Melhado EM. Epidemiologia da cefaleia nas mulheres. In: Sanvito WL, editor. Cefaleia na mulher. São Paulo: Atheneu; 2011. p. 5-15.
9. Dhopes V, Anwar R, Herring C. A retrospective assessment of emergency department patients with complaint of headache. Headache. 1979; 9:37-42.
10. Melhado EM. Diário de cefaleia. In: Sanvito WL, editor. Cefaleia na mulher. São Paulo: Atheneu; 2011. p. 245-6.
11. Contag SA, Mertz HL, Bushnell CD. Migraine during pregnancy: is it more than a headache? Nat Rev Neurol. 2009; 5:449-56.
12. Friedman BW, Grosberg BM. Diagnosis and management of the primary headache disorders in the emergency department setting. Emerg Med Clin North Am. 2009; 27(1):71.
13. Cerbo R, Villani V, Bruti G, Di Stani F, Mostardini C. Primary headache in Emergency Department: prevalence, clinical features and therapeutic approach. J Headache Pain. 2005; 6(4):287-9.
14. Krymchantowski AV, Carneiro H, Barbosa J, Jevoux C. Lysine clonixinate versus dipyrone (metamizole) for the acute treatment of severe migraine attacks: a single-blind, randomized study. Arq Neuropsiquiatr. 2008; 66(2a):216-20.
15. Consenso da Sociedade Brasileira de Cefaleia. Recomendações para o tratamento da crise migranosa. Arq Neuropsiquiatr. 2000; 58:371-89.

## INFEÇÕES POR BACTÉRIAS FORMADORAS DE BIOFILME

### INFECTIONS CAUSED BY BIOFILM FORMING BACTERIA

Arlindo Schiesari Junior\*, Amanda Melim Bento\*\*, Ana Carolina Monezi\*\*, Cláudia Mendonça Xavier\*\*, Rebeca Florence Portaro Blum\*\*

#### RESUMO

A presente revisão tem como foco descrever os mecanismos envolvidos na formação de biofilme, o seu impacto na patogênese de infecções humanas, bem como o diagnóstico e tratamento das infecções relacionadas a essa estrutura. Foi realizado um estudo de revisão através de levantamento bibliográfico com os descritores *biofilm*, *implant infections*, *antibiotic resistance* e *medical device infections* nas bases de dados Medline, LILACS e SciELO. Das 40 publicações encontradas, 17 trabalhos entre 2006 e 2014 foram considerados relevantes para o propósito do estudo. O reconhecimento da existência do biofilme é importante na área médica, assim como seu mecanismo de formação e manutenção. O tratamento cirúrgico com desbridamento ou retirada de implantes é, até o momento, o mais efetivo no combate ao biofilme.

**Palavras-chave:** Biofilme. Bactérias. Implantes. Infecção crônica. Resistência microbiana.

#### ABSTRACT

This review will focus on describing the mechanisms involved in biofilm formation, its impact in the pathogenesis of human infections, and the diagnosis and treatment of infections related to this structure. We performed a review study through literature with the keywords: *biofilm*, *implant infections*, *antibiotic resistance* and *medical device infections* in Medline, LILACS and SciELO. Of the 40 publications found, 17 papers between 1999 and 2014 were considered relevant to the purpose of the study. The recognition of the existence of the biofilm is important in the medical field, as well as its mechanism of formation and maintenance. Surgical treatment with debridement or removal of implants is the most effective in combating biofilm yet.

**Keywords:** Biofilm. Bacteria. Implants. Chronic infection. Microbial resistance.

Artigo de Revisão



\* Mestre em Ciências da Saúde. Docente da disciplina de Infectologia do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: arlindo107@terra.com.br

\*\*Discentes do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

## INTRODUÇÃO

Em 1978, Costerton e colaboradores publicaram um estudo que revolucionou a microbiologia tradicional. Demonstraram que a maioria das bactérias encontradas nos ecossistemas não está na sua forma livre, mas sim aderida às superfícies ambientais, embebida em uma matriz protetora. Nascia assim o conceito de biofilme<sup>1</sup>. O termo biofilme refere-se a uma comunidade microbiana caracterizada por células que estão irreversivelmente aderidas a um substrato e interligadas entre si, embebidas por uma matriz extracelular polimérica produzida por elas. As células aderidas e envoltas por essa matriz são conhecidas como "micro-organismos sésseis", e aquelas que se encontram livres, fora dessa estrutura, são chamadas de "micro-organismos planctônicos". Ao saírem da vida livre (forma planctônica) para formarem o biofilme (forma sésil), os micro-organismos alteram o seu fenótipo e transcrição genética, ou seja, mudam a sua forma de se expressar e de se relacionar com os outros membros da comunidade<sup>2</sup>.

Interessantemente, descobriu-se também que os micro-organismos formadores de biofilme podem causar infecções em humanos, devido a sua capacidade de adesão às superfícies de dispositivos e implantes. Sabe-se hoje que aproximadamente 60% das infecções adquiridas em hospitais são causadas por biofilmes que aderem aos dispositivos médicos, tais como próteses, cateteres, sondas, tubos endotraqueais etc. Além disso, infecções associadas ao biofilme (IAB) também podem ocorrer em tecidos vivos, tal como acontece nas otites médias, nas endocardites e nas osteomielites, dentre outras<sup>2,3</sup>.

Inúmeros patógenos podem causar IAB, sendo que os *Staphylococcus aureus*, os *Staphylococcus* coagulase-negativos, os bacilos gram negativos e os fungos (*Candida spp*) são os mais estudados. Vale ressaltar também que as comunidades celulares podem ser mono ou polimicrobianas, ou seja, podem conter uma ou mais espécies diferentes de micro-organismos. Já foram relatadas colônias de bactérias e fungos compartilhando o mesmo biofilme<sup>2,4</sup>.

## MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo de revisão narrativa, realizado através de levantamento bibliográfico com os

descritores *biofilm*, *implant infections*, *antibiotic resistance*, *medical device infections* e *chronic infections* nas bases de dados Medline, LILACS e SciELO. Foram considerados 17 artigos relevantes, das 40 publicações encontradas entre 2006 e 2014. Foram incluídos apenas os artigos que foram publicados em inglês.

## Mecanismos de formação e regulação de biofilmes

O processo de formação do biofilme depende da capacidade de adesão dos micro-organismos às superfícies dos implantes e dos dispositivos médicos, e também da capacidade de adesão às proteínas humanas que revestem esses materiais, tais como a fibrina, fibrinogênio, colágeno e a fibronectina. Superfícies mais ásperas e hidrofóbicas são mais propensas à adesão microbiana e à formação de biofilmes, tal como acontece com os materiais plásticos. Como a adesão é irreversível após poucas horas da chegada desses patógenos à superfície de contato, a infecção tende a se tornar crônica e, como regra, acarreta na perda desses dispositivos<sup>5-7</sup>.

Geralmente, o biofilme torna-se "maduro" em poucos dias após a adesão celular<sup>3</sup>. Quando pronto, apresenta uma arquitetura tridimensional composta por microcolônias aderidas ao substrato, rodeadas por exopolissacarídeo (EPS). A matriz do biofilme contém EPS, proteínas e DNA secretados pelos micro-organismos sésseis. Entre as microcolônias e o aglomerado celular formam-se os canais de água que protegem os patógenos do acúmulo de metabólitos tóxicos e proporcionam uma fonte de nutrientes<sup>2,8</sup>. Apesar disso, a estrutura do biofilme costuma apresentar baixo teor de oxigênio e de nutrientes no seu interior, o que provoca uma situação de hipometabolismo ou até mesmo de latência celular<sup>4</sup>. De maneira figurativa, pode-se dizer que existe um altruísmo nesse processo, pois cada indivíduo (célula) se sacrifica metabolicamente pelo bem de toda a comunidade.

Chama a atenção que a etapa de crescimento e de maturação do biofilme não ocorre aleatoriamente, nem mesmo desordenadamente. Ao contrário, existe um mecanismo de comunicação intercelular denominado *quórum sensing* que regula coordenadamente todo esse processo, o que permite o bom desempenho dessa estrutura. Nesse meio de comunicação estão presentes feromônios, peptídeos, mediadores químicos e fatores



genéticos de cada célula. Quando se torna muito espesso ou com dificuldades para manter o metabolismo comunitário, o *quórum sensing* regula também o destacamento das camadas mais superficiais, de modo que as células ligadas ao biofilme são convertidas na forma planctônica, num mecanismo reversível, e que permite a colonização de novos ambientes<sup>4,6-8</sup>.

### **Por que as infecções associadas aos biofilmes são um desafio?**

Os biofilmes possuem alguns mecanismos patogênicos que promovem a persistência da infecção e reduzem a efetividade da terapia antimicrobiana. Esses mecanismos são<sup>6</sup>:

- permitir a adesão irreversível de micro-organismos às superfícies sólidas;
- a eficiência metabólica da comunidade frente às adversidades geradas pelo hospedeiro;
- evitar a ação das defesas do indivíduo, tal como a fagocitose;
- agrupar uma alta densidade de organismos;
- encorajar a troca de genes que pode resultar em uma virulência maior e maior resistência antimicrobiana;
- produção de uma grande concentração de toxinas;
- a matriz extracelular protege contra agentes antimicrobianos. Sabe-se que a concentração inibitória mínima de antimicrobianos necessária para inibir/matar os patógenos do biofilme pode ser 500 vezes maior que aquela necessária para causar os mesmos efeitos nos micro-organismos planctônicos<sup>7</sup>; e
- fragmentos de biofilme podem se destacar e se disseminar a outros locais. Quando uma parte dos patógenos se destaca, alguns organismos que eram sésseis tornam-se planctônicos, aumentando a virulência dessa colônia.

De maneira resumida, é possível descrever a implicação resultante da interação desses mecanismos patogênicos na prática médica: nos biofilmes, a atividade metabólica e a taxa de crescimento, especialmente da camada mais interna, diminuem pelas limitações aos nutrientes e oxigênio. Por conta disso, algumas

subpopulações de micro-organismos ficam em estado de limitação nutricional e em baixo crescimento ou até mesmo latentes, o que as torna muito pouco suscetíveis aos antibióticos e ao sistema imune. Mesmo assim, elas sobrevivem (fenômeno conhecido como persistência)<sup>4,8</sup>. Além disso, a maior facilidade de trocar informações genéticas de resistência em uma comunidade altamente densa também contribui para a sobrevivência celular e perpetuação da infecção<sup>6</sup>. Ou seja, quando existe uma IAB bem estabelecida, o tratamento antimicrobiano conservador mostra-se muito pouco efetivo e não consegue erradicar definitivamente a infecção. Nesse sentido, as IAB geralmente requerem tratamento cirúrgico (desbridamento ou retirada do implante e do dispositivo) associado à terapia antimicrobiana, para melhor desfecho clínico<sup>9</sup>.

### **Diagnóstico das infecções associadas ao biofilme**

Como as IAB são causadas por micro-organismos que se encontram em situação de hipometabolismo e baixo ritmo de multiplicação celular, o quadro clínico resultante disso costuma ser pobre, com pouca sintomatologia e pouca indução de atividade inflamatória. Não raramente, o paciente queixa-se apenas de dor crônica no local do implante, sem o aparecimento de sinais flogísticos clássicos encontrados nas infecções por germes planctônicos<sup>10</sup>. Além disso, as IAB evoluem de maneira lenta e arrastada, às vezes por anos, até que ocorra a perda do implante. Infelizmente, exames simples e pouco invasivos como o leucograma, a proteína C-reativa e a velocidade de hemossedimentação são pouco específicos para o diagnóstico dessas infecções<sup>11</sup>.

Sabe-se que o padrão-ouro do diagnóstico das infecções como um todo é o isolamento do agente etiológico em cultura, seja de tecido ou de qualquer outro material biológico. No entanto, estudos têm demonstrado que até 30% das IAB podem apresentar resultados de cultura falsos negativos, uma vez que os métodos microbiológicos tradicionais são adequados para isolar agentes planctônicos, mas são menos eficazes na recuperação de organismos envoltos e protegidos em um biofilme<sup>12,13</sup>. Dessa forma, várias pesquisas têm sido desenvolvidas para melhorar a identificação dos micro-organismos que estão dentro dessa estrutura. Atualmente,

o método mais estudado e que já é aplicado na prática médica para o diagnóstico das IAB é a sonicação<sup>12,14,15</sup>.

A sonicação é um método físico que envolve a aplicação de ultrassom. O implante ou dispositivo a ser sonicado é colocado em um recipiente estéril que contém solução Ringer e, primeiramente, é submetido a um vórtex para iniciar o processo de descolamento do biofilme. Em seguida, esse recipiente é colocado dentro do sonicador, onde as ondas ultrassonográficas, aplicadas em uma frequência específica sobre o dispositivo ou o implante, conseguem descolar o biofilme preservando a viabilidade dos patógenos. Seguidamente, é realizado um novo vórtex e o fluido sonicado é finalmente cultivado, preferencialmente em meios de cultura líquidos, tal como o tioglicolato<sup>12-15</sup>.

Essa nova ferramenta tem sido bastante utilizada na Europa e já é utilizada também no Brasil, especialmente no campo das infecções em implantes ortopédicos, onde as evidências de sua eficácia são mais robustas. Trampuz e colaboradores publicaram um estudo que comparou o desempenho diagnóstico da sonicação com a cultura convencional de pelo menos duas amostras de tecido periprotético, em 331 pacientes com artroplastias de joelho e quadril. Os resultados mostraram que a cultura do fluido sonicado apresentou maior sensibilidade para detectar os agentes infecciosos (78,5%), em relação à cultura de tecido (60,8%). Essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ), mesmo naqueles pacientes que haviam feito uso recente de antimicrobianos. O estudo mostrou também que a sonicação apresenta alta especificidade (98,2%) e alto valor preditivo negativo (93,6%) para identificar micro-organismos do biofilme<sup>14</sup>. Recentemente, Yano e colaboradores conduziram uma pesquisa na capital paulista e também encontraram resultados favoráveis à sonicação no diagnóstico de infecções osteoarticulares. Nesse estudo, foram alocados 180 pacientes com diferentes materiais de síntese ortopédica, incluindo placas, parafusos, hastes intramedulares, dentre outros, e foram comparados os resultados das culturas de tecido com os resultados da cultura do fluido sonicado. A sensibilidade para a detecção de infecção foi de 90,4% para a cultura do fluido sonicado e de 56,8% para a cultura do tecido periprotético ( $p < 0,05$ ), e as especificidades foram de 90,9% e 96,4%, respectivamente. A sonicação

detectou mais agentes patogênicos que a cultura de tecido *peri-implantae* (113 contra 71;  $p < 0,001$ ), enquanto a identificação de infecções polimicrobianas foi mais evidente pelo método de sonicação (20,8%) que pelas culturas de tecido (8%), com diferença estatisticamente significativa entre os métodos ( $p < 0,001$ )<sup>16</sup>.

Esses estudos, assim como vários outros publicados nessa área, demonstraram que os métodos convencionais de diagnóstico microbiológico não são suficientemente sensíveis para identificar os micro-organismos que se alojam dentro do biofilme, especialmente se a infecção for polimicrobiana. Assim como a sonicação, novas tecnologias são necessárias para melhorar a capacidade de identificação desses patógenos.

## Tratamento

Uma vez que os patógenos aderem irreversivelmente ao implante e formam uma matriz extracelular que os envolve e os protege, a ação dos antimicrobianos e do sistema imunológico sobre esses agentes infecciosos torna-se bastante prejudicada. Como citado anteriormente, os biofilmes são capazes de sobreviver na presença de altas concentrações de agentes antimicrobianos. Por isso, os pacientes tratados sem a remoção do implante tendem a apresentar infecção crônica ou recorrente, apesar do uso desses medicamentos<sup>9,10</sup>. Contudo, em algumas situações específicas, as infecções diagnosticadas precocemente podem ser tratadas com desbridamento cirúrgico sem a necessidade da retirada do implante<sup>10</sup>.

Nesse sentido, o tratamento atual das IAB envolve algum tipo de procedimento cirúrgico, geralmente a retirada do implante ou do dispositivo, combinado à antibioticoterapia com drogas que apresentem a melhor penetração e atuação dentro do biofilme.

Até o momento, a rifampicina é considerada a melhor droga anti-biofilme<sup>17</sup>. No entanto, apresenta algumas limitações. Primeiro, ela não deve ser utilizada como monoterapia, devido ao alto risco de desenvolvimento de resistência microbiana. Segundo, a maioria dos estudos demonstram a ação eficaz desse medicamento contra biofilmes de estafilococos, mas há pouca informação sobre a sua ação em biofilmes de outras espécies bacterianas<sup>10,17</sup>. Outras drogas com ação

satisfatória em biofilmes são as fluorquinolonas (em particular o ciprofloxacino), sulfametoxazol-trimetoprim, clindamicina, linezolid, daptomicina (idealmente combinadas com a rifampicina) e as equinocandinas<sup>9</sup>. Em geral, as IAB requerem tratamento prolongado, mas não existem ensaios clínicos randomizados que determinem qual o tempo ideal de antibioticoterapia nesse cenário, de modo que cada tratamento deverá ser individualizado.

## CONCLUSÃO

O reconhecimento da existência do biofilme é importante na área médica, assim como seu mecanismo de formação e manutenção. A partir dessa realidade,

novos métodos diagnósticos estão em desenvolvimento e as estratégias de tratamento dessas infecções estão sendo reavaliadas, já que a estrutura do biofilme frustra as tentativas convencionais de diagnóstico microbiológico e de antibioticoterapia. Nesse sentido, o tratamento cirúrgico com desbridamento ou retirada de implantes é, até o momento, o mais efetivo no combate ao biofilme. Novas tecnologias para o diagnóstico dessas infecções e a pesquisa de novos medicamentos capazes de tratar bactérias formadoras de biofilme, sem a necessidade de cirurgias, são fundamentais para melhorar o prognóstico clínico e para a redução de custos envolvidos na abordagem desses pacientes.

## REFERÊNCIAS

1. Costerton JW, Geesey GG, Cheng GK. How bacteria stick. *Sci Am*. 1978; 238:86-95.
2. Donlan RM. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15(2):167-93.
3. Shirtliff M, Leid JG. The role of biofilms in device-related infections. New York: Springer eBooks; 2009.
4. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284(5418):1318-22. Review.
5. Ribeiro M, Monteiro F, Ferraz M. Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. *Rev Biomater*. 2012; 2:(4): 176-94.
6. Sharma AM, Sarita Y. Biofilms: microbes and disease. *Braz J Infect Dis [serial on the Internet]*. 2008 Dec [cited 2014 July; 12(6):526-30.
7. Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis*. 2001; 33:1387-92.
8. Costerton J, Montonaro L, Arciola C. Biofilm in implant infections: Its production and regulation. *Intern J Artificial Organs*. 2005; 28(11):1062-8.
9. Esteban J, Cordero-Ampuero J. Treatment of prosthetic osteoarticular infections. *Expert Opin Pharmacother*. 2011; 12(6):899-912.
10. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-Joint Infections. *N Engl J Med*. 2005; 352(1):95-7.
11. Esteban JI, Sorlí L, Alentorn-Geli E, Puig L, Horcajada JP. Conventional and molecular diagnostic strategies for prosthetic joint infections. *Expert Rev Mol Diagn*. 2014;14(1):83-96.
12. Portillo ME, Salvadó M, Alier A, Martínez S, Sorli L, Horcajada JP, Puig L Advantages of sonication fluid culture for the diagnosis of prosthetic joint infection. *J Infect*. 2014; 69(1):35-41.
13. Berbari EF, Marculescu C, Sia I, Lahr BD, Hanssen AD,Steckelberg JM, et al. Culture-negative prosthetic joint infection. *Clin Infect Dis*. 2007; 45(9):1113e9.
14. Trampuz, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*. 2007; 357(7):654-63.
15. Janz V1, Wassilew GI, Hasart O, Matziolis G, Tohtz S, Perka C. Evaluation of sonicate fluid cultures in comparison to histological analysis of the periprosthetic membrane for the detection of periprosthetic joint infection. *Int Orthop*. 2013; 37(5):931-6.
16. Yano MH, Klautau GB, Silva CB, Nigro S, Avanzi O, Mercadante MT, Salles MJ. Improved diagnosis of infection associated with osteosynthesis by use of sonication of fracture fixation implants. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(12):4176-82.
17. Sendi P, Zimmerli W. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(12):1176-84.

## DUPLICAÇÃO PILÓRICA: RELATO DE CASO

### PYLORIC DOUBLING: A CASE REPORT

Nazir Elias Chalela Ayub\*, Estevam Fernandes Luna\*\*, Juliana Chalela Ayub\*\*\*, Andreise Martins Paro\*\*\*\*, José Celso Assef\*\*\*\*\*

#### RESUMO

A duplicação pilórica descrita pela primeira vez em 1971 é uma entidade rara (prevalência 0,06 a 0,4%) caracterizada pela presença de uma dupla comunicação entre o antro gástrico e o bulbo duodenal, que ocorre com maior frequência em homens (2:1). Apresenta-se usualmente na curvatura menor do antro gástrico e na parede superior do bulbo duodenal. Pode ser congênita ou adquirida como complicação de doença cloridropéptica. Relatar o caso de um paciente com duplicidade do piloro. As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário, entrevista com o paciente, registro fotográfico do método de diagnóstico no qual o paciente foi submetido e revisão da literatura. O caso relatado e as publicações levantadas trazem à luz a discussão da terapêutica e o diagnóstico de uma situação incomum que é a duplicidade pilórica. Trata-se de um achado em uma endoscopia digestiva alta e evidencia que, embora adotada em uma minoria de casos, quando diagnosticada precocemente é capaz de programar uma estratégia de acompanhamento e tratamento a fim de se obter resultados satisfatórios e duradouros nos sintomas da duplicidade pilórica.

**Palavras-chave:** Endoscopia gastrointestinal. Piloro. Dispepsia. Úlcera duodenal.

#### ABSTRACT

Pyloric duplication first described in 1971 is a rare disease (prevalence 0.06 to 0.4%) characterized by the presence of a double communication between the gastric antrum and the duodenal bulb, which occurs more frequently in men (2:1). It usually presents in the lesser curvature of the gastric antrum and the upper wall of the duodenal bulb. It can be congenital or acquired as a complication of disease cloridropéptica. To report a case of a patient with double pylorus. Data were obtained by review of medical records, interviews with patients, photographic record of the diagnostic method in which the patient underwent and literature. This case raised and publications shed light on the discussion of therapy and the diagnosis of an unusual situation that is the pyloric duplication. This is a finding in an upper endoscopy, and show that, although adopted in a minority of cases, when diagnosed early are able to plan a strategy for monitoring and treatment in order to obtain satisfactory and lasting results in symptoms of duplicity pyloric.

**Keywords:** Endoscopy gastrointestinal. Pylorus. Dyspepsia. Duodenal ulcer.



\*Residente do 2º ano de Cirurgia Geral do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA). Contato: nazirchalela@gmail.com

\*\*Residente do 1º ano de Cirurgia Geral do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA).

\*\*\*Acadêmica do 6º ano de Medicina da Faculdade Souza Marques, Rio de Janeiro-RJ.

\*\*\*\*Médica formada pela Faculdade de Medicina de Presidente Prudente-SP.

\*\*\*\*\*Docente da disciplina de Anatomia do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: jcassef@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A duplicação pilórica, também chamada de fístula gastroduodenal peripilórica, fístula piloro duodenal e fístula antro-duodenal, primeiramente descrita em 1971<sup>1</sup>, é uma entidade de rara prevalência (de 0,06 a 0,4%)<sup>2</sup> e mais frequente em homens (2:1)<sup>3,4</sup>. Essa condição clínica é caracterizada pela presença de uma dupla comunicação entre o antro gástrico e o bulbo duodenal, usualmente na curvatura menor do antro gástrico e na parede superior do bulbo duodenal<sup>2</sup>. A duplicação pilórica pode ser congênita ou adquirida como complicação de doença cloridropéptica<sup>2</sup> e, neste último caso, é frequentemente uma complicação de úlcera pré-pilórica penetrante.

Pode ser assintomática, consequentemente sendo um achado endoscópico incidental. Coexistem aspectos de fibrose e inflamação quando associados a doença péptica<sup>2</sup>. A maioria dos casos reportados de duplicidade pilórica é adquirida e atribuída às complicações de úlceras de área do antro - piloro ou no bulbo duodenal. A maioria deles é consequência de úlcera gástrica, e apenas alguns casos são devidos à úlcera duodenal<sup>4-8</sup>. Neste paciente, a história de síndrome dispéptica há cinco anos, associada à visualização da úlcera duodenal no exame endoscópico, reforçam a hipótese de lesão adquirida, compatível com as estatísticas bibliográficas.

## OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo relatar o caso de um paciente com duplicidade do piloro.

## MATERIAL E MÉTODO

As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário, entrevista com o paciente, registro fotográfico do método de diagnóstico, no qual o paciente foi submetido e revisão da literatura.

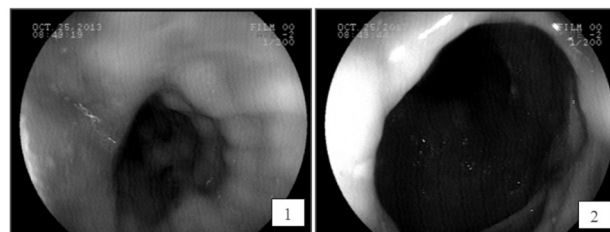
## RELATO DO CASO

Paciente A.B.S., 70 anos, caucasiano, referenciado ao serviço de endoscopia digestiva alta de um hospital do interior paulista, pela presença de sintomas dispépticos como epigastralgia e plenitude pós-prandial há cinco anos, com melhora parcial com uso de antagonista-H2 e pró-cinético gástrico. Sem comorbidades associadas ou

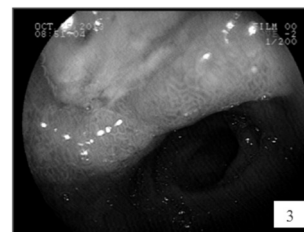
antecedentes pessoais de outras patologias. Exame físico sem alterações dignas de nota.

Realizada endoscopia digestiva alta no dia 25/10/13 que demonstrou presença de grande hérnia de hiato com esofagite erosiva tipo B de Los Angeles (Figuras 1 e 2), grande lesão ulcerada no bulbo duodenal (Figura 3) e duplicidade de piloro (Figuras 4, 5, 6 e 7) com pesquisa para *H. pylori* negativa.

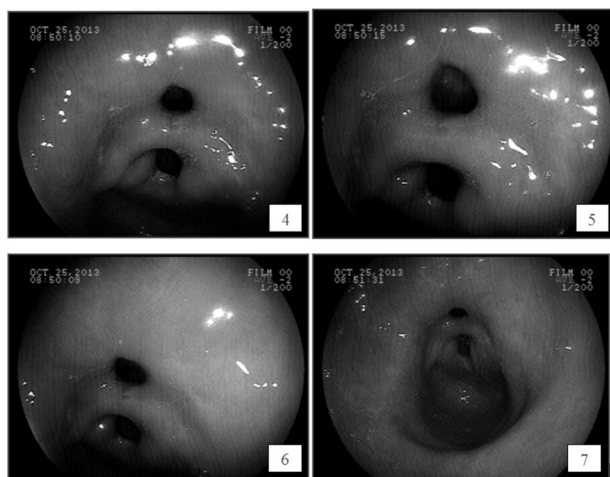
**Figuras 1 e 2** - Presença de grande hérnia de hiato com esofagite erosiva tipo B de Los Angeles



**Figura 3** - Grande lesão ulcerada no bulbo duodenal



**Figuras 4, 5, 6 e 7** - Duplicidade de piloro com pesquisa para *H. pylori* negativo



## DISCUSSÃO

O diagnóstico de duplicação pilórica é importante por causa da possibilidade de úlceras recorrentes que podem ocorrer, provavelmente devido a uma falha de formação do epitélio no trato fistuloso<sup>1,2,5</sup>. As razões para o desenvolvimento da duplicação pilórica não são totalmente conhecidas, mas muitas doenças sistêmicas que contribuem para a má cicatrização podem estar

associadas, tal como a diabetes *mellitus* em que ocorre falta de microcirculações<sup>2</sup>.

Outras afecções como doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal crônica, reumatismo crônico e lúpus eritematoso sistêmico podem também estar relacionadas à má circulação e, conseqüentemente, à formação da duplicação pilórica<sup>2,7</sup>.

Além disso, medicamentos como os Anti-Inflamatórios Não Esteroidais Sistêmicos (AINES), usados por muito tempo pelos pacientes, podem desempenhar um papel importante na sua formação por estarem relacionados diretamente com a etiopatogenia das úlceras gástricas. No presente caso, o paciente durante a anamnese negou qualquer um dos fatores de risco descritos acima.

Os sintomas clínicos da duplicação pilórica adquirida são semelhantes aos causados pela úlcera péptica e podem ocorrer antes de, no momento de, ou mesmo após a formação de fístulas. Alguns pacientes relatam alívio dos sintomas após a formação de fístula, o qual é atribuído ao melhor e mais rápido esvaziamento gástrico através da fístula, que atua como uma gastroduodenostomia. Por outro lado, quando estes

sintomas persistirem mesmo após a formação da fístula, pode-se entender que o piloro acessório não tem função adequada, resultando em refluxo e manutenção da úlcera duodenal<sup>2,3,5</sup>.

A maioria dos pacientes com duplicidade pilórica respondem bem ao tratamento médico, com antagonista-H2, antiácido, ou inibidores da bomba de prótons, independentemente da fístula ser aberta ou fechada<sup>3</sup>. No entanto, os sintomas refratários podem ocorrer em cerca de 20% dos pacientes, e o tratamento cirúrgico é necessário<sup>2,5,8</sup>.

## CONCLUSÃO

O caso relatado e as publicações levantadas trazem à luz a discussão da terapêutica e o diagnóstico de uma situação incomum que é o da duplicidade pilórica. Trata-se de um achado em uma endoscopia digestiva alta e evidencia que, embora adotada em uma minoria de casos, quando diagnosticada precocemente é capaz de programar uma estratégia de acompanhamento e tratamento a fim de se obter resultados satisfatórios e duradouros nos sintomas da duplicidade pilórica.

## REFERÊNCIAS

1. Smith VM, Tuttle KW. Gastroduodenal (pyloric) band. Endoscopic findings and first reported case. *Gastroenterology*. 1969; 56(2):331-6.
2. Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro Júnior U, Habr-Gama A, Gama-Rodrigues JJ. Double pylorus: case report and review of the literature. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. 1999; 54(4):131-4.
3. Hunt R, Day R, Jewell D. Acquired double pylorus. *Br Med J*. 1978; 1:759.
4. Hegedus V, Poulsen PE, Reichardt J. The natural history of the double pylorus. *Radiology*. 1978;126(1):29-34.
5. Kothandaraman KR, Kutty KP, Hawken KA, Barrowman JA. Double pylorus-in evolution. *J Clin Gastroenterol*. 1983;5(4):335-8.
6. Jamshidnejad J, Koehler RE, Narayan D. Double channel pylorus. *AJR Am J Roentgenol*. 1978 Jun;130(6):1047-50.
7. Santos JOM, Varanda E, Montes CG, Yamanaka A, Brandalise NA, Zeitune JMR. Dados clínicos e endoscópicos de sete casos de duplo canal pilórico e revisão da literatura. *GED Gastroenterol Endosc Dig*. 1995; 14(6):254-6.
8. Yoshimura Y, Yasutake K, Imamura Y, Oimomi M. Double pylorus accompanied by gastric ulcer resistant to H2-receptor antagonist - a case report and review of the literature. *Kobe J Med Sci*. 1988; 34(4):151-9.

## ACHADO INCIDENTAL DE GIST EM PACIENTE DE 32 ANOS DURANTE O INTRAOPERATÓRIO DE GASTROPLASTIA LAPAROSCÓPICA: RELATO DE CASO

### INCIDENTAL FIND OF GIST IN A 32 YEARS OLD PATIENT DURING INTRA OPERATIVE LAPAROSCOPIC GASTROPLASTY: CASE REPORT

Nazir Elias Chalela Ayub\*, Ednir de Oliveira Vizioli\*\*, Bruno Ziade Gil\*\*\*, Sidney Moreno Gil\*\*\*

#### RESUMO

Os tumores do estroma gastrointestinal (GISTs - *Gastrintestinal Stromal Tumors*) são as lesões neoplásicas mesenquimatosas mais comuns do trato gastrointestinal. Representam 1% de todos os tumores do tubo digestório, localizados preferencialmente no estômago (50-70%), provocando sangramento intestinal, dor abdominal e dispepsia, sendo diagnosticados por exame endoscópico. Acometem principalmente indivíduos de meia-idade e idosos, sem preferência por sexo, porém, GIST <1cm (micro GIST) assintomáticos são observados em 20-30% de idosos. O objetivo deste trabalho é relatar o caso de um paciente de 32 anos, portador de GIST gástrico precoce (0,4cm), diagnosticado em um achado incidental, em uma gastroplastia com reconstrução em "Y" de Roux vídeo laparoscópico. As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário, entrevista com o paciente, registro fotográfico dos métodos diagnósticos e cirúrgico aos quais o paciente foi submetido e revisão da literatura.

**Palavras-chave:** Neoplasias gastrointestinais. Tumores do estroma gastrointestinal. Laparoscopia. Gastroplastia.

#### ABSTRACT

Introduction: Gastrointestinal stromal tumors (GISTs - *Gastrointestinal Stromal Tumors*) are the most common mesenchymal neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. It represents 1% of all tumors of the digestive tract, they are located preferentially in the stomach (50-70%). The major symptoms include intestinal bleeding, abdominal pain and dyspepsia and the diagnosis is usually given by endoscopic examination and affects mostly people of middle age and older, regardless of gender, however, early asymptomatic GIST <0,1cm (micro GIST) are found in 20-30% of the elderly. The purpose of these work is to report a case of early gastric GIST in a 32 years old patient diagnosed in an incidental finding (0.4cm), in a gastroplasty reconstruction "Y" of laparoscopic Roux. Data were obtained by review of medical records, interviews with patients, photographic record of diagnoses and surgical methods for which the patient underwent and literature review.

**Keywords:** Gastrointestinal neoplasms. Gastrointestinal stromal tumors. Laparoscopy. Gastroplasty.

\* Médico residente R2 em Cirurgia Geral nas Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP. Contato: nazirchalela@gmail.com

\*\* Médico residente R1 em Cirurgia Geral nas Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP.

\*\*\* Médico cirurgião bariátrico, professor de Cirurgia Geral do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA), Catanduva-SP



## INTRODUÇÃO

Entre as lesões neoplásicas mesenquimais mais comuns do trato gastrintestinal encontram-se os tumores do estroma gastrintestinal (GISTs - *Gastrintestinal Stromal Tumors*) os quais estão localizados preferencialmente no estômago (50-70%). Tais tumorações já foram confundidas com outros tipos de tumores, especialmente os leiomiomas e leiomiossarcomas<sup>1-3</sup>. Representam 1% de todos os tumores do tubo digestório, acometendo principalmente indivíduos de meia-idade e idosos, sem preferência por sexo<sup>2</sup>. Porém, estudos epidemiológicos e genéticos demonstram que os GISTs <1cm (micro GISTs) assintomáticos são encontrados em 20-30% dos idosos<sup>4</sup>.

Com o avanço da imuno-histoquímica e da microscopia eletrônica descobriu-se que é uma neoplasia que se origina das células intersticiais de Cajal, localizadas na camada muscular própria e consideradas o "marca-passo" do tubo digestivo. As células tumorais se caracterizam por possuir o CD-117, um marcador de superfície celular ou proto-oncogene Kit, que as diferencia das células musculares lisas. A proteína KIT é um receptor transmembrana tirosina quinase, capaz de se ligar a fatores de crescimento tumoral. Assim, as mutações oncogênicas, ao promoverem a ativação descontrolada da tirosina quinase, levam ao aumento da proliferação celular e, portanto, ao crescimento tumoral. Outros marcadores dos GISTs seriam o CD 34 e uma mutação ativadora de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)<sup>5</sup>.

As principais manifestações da GIST são sangramento intestinal, dor abdominal e dispepsia e o diagnóstico costuma ser confirmado após exame endoscópico. Os exames de imagem, especialmente a tomografia computadorizada, permitem definir a localização, dimensão do tumor e sua relação com as estruturas vizinhas, embora a avaliação imuno-histoquímica seja sempre necessária para o diagnóstico etiológico. A remoção cirúrgica é o tratamento de escolha, sendo o tratamento farmacológico utilizado apenas em casos avançados ou complementares ao tratamento cirúrgico<sup>6,7</sup>.

## OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo relatar o caso de uma paciente de 32 anos, portadora de GIST

gástrico precoce, diagnosticado em um achado incidental, durante uma gastroplastia com reconstrução em "Y" de Roux videolaparoscópica.

## MÉTODO

As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário, entrevista com o paciente, registro fotográfico dos métodos diagnósticos e cirúrgico aos quais o paciente foi submetido e revisão da literatura.

## RELATO DO CASO

Paciente D.C.M.P., sexo feminino, 32 anos, procurou a equipe de cirurgia geral especializada no tratamento da Obesidade Mórbida pela queixa de Obesidade Grau III ("Mórbida"), refratária ao tratamento clínico multidisciplinar, sem outras queixas, apresentando IMC inicial de 42Kg/m<sup>2</sup>. Sem comorbidades associadas ou antecedentes pessoais de outras patologias. Ausência de alterações dignas de nota no exame físico de admissão. Como conduta inicial foi proposta a cirurgia bariátrica (gastroplastia com reconstrução em "Y" de Roux) e exames pré-operatórios, assim como avaliação multidisciplinar da equipe: psicológica, nutricional, cardiológica e endocrinológica.

Não havendo alterações nos exames e avaliações pré-operatórias solicitados que contraindicassem a cirurgia, foi, então, realizado o agendamento da gastroplastia com reconstrução em "Y" de Roux videolaparoscópica.

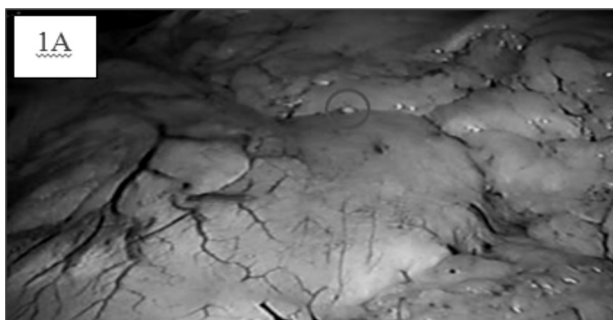
O procedimento cirúrgico iniciou-se com a assepsia, antisepsia e colocação de campos operatórios. Foi confeccionado o pneumoperitônio e colocados os trocartes no andar superior do abdome. No inventário da cavidade abdominal com a laparoscopia, foi aberto o grande eplipon com tesoura coaguladora Harmonic e identificado o ângulo de Treitz com secção da alça jejunal a 40cm deste com endogrampeador. A partir desse ponto, foi realizada a medida da alça alimentar com 120cm de extensão e confeccionado enteroanastomose latero-lateral com endogrampeador e, logo após, o fechamento do espaço mesentérico com vicryl 3.0.

Ao se iniciar a gastroplastia, foi visualizada pequena tumoração em região anterior da parede gástrica no corpo gástrico de, aproximadamente, 0,4cm, assim

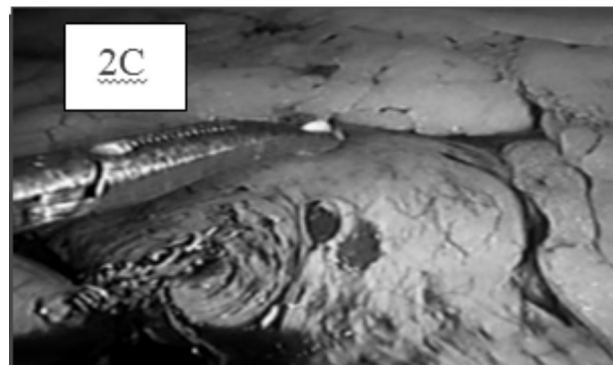
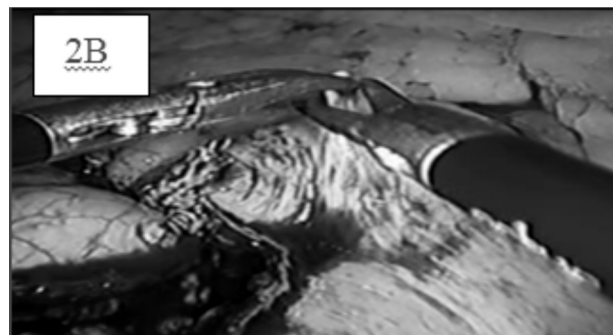
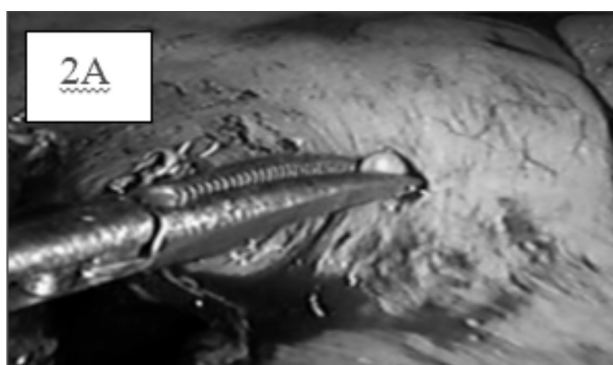


como mostram as Figuras 1A e 1B. Foi, então, colocada a sonda de Fouchet número 32 em posição gástrica moldando o neoreservatório gástrico para grampeamento transversal do estômago, na pequena curvatura, a 10cm da transição esôfago-gástrica. Logo após, feito grampeamento vertical gástrico, justo à sonda de Fouchet até a separação completa, formando o estômago excluído, local onde foi realizada biópsia excisional da tumoração observada nas Figuras 1A e 1B, demonstrada nas Figuras 2A, 2B e 2C. Por fim, foi feita a gastroenteroanastomose com a alça alimentar e realizado a teste com azul de metileno (10mL diluídos em 250mL de S.F. 0,9%) para avaliação da anastomose gastroentérica, deixando no local dreno de penrose.

**Figuras 1A e 1B** - Pequena tumoração gástrica localizada na região anterior gástrica na videolaparoscopia



**Figuras 2A, 2B e 2C** - Sequência da biópsia excisional da tumoração observada nas Figuras 1A e 1B



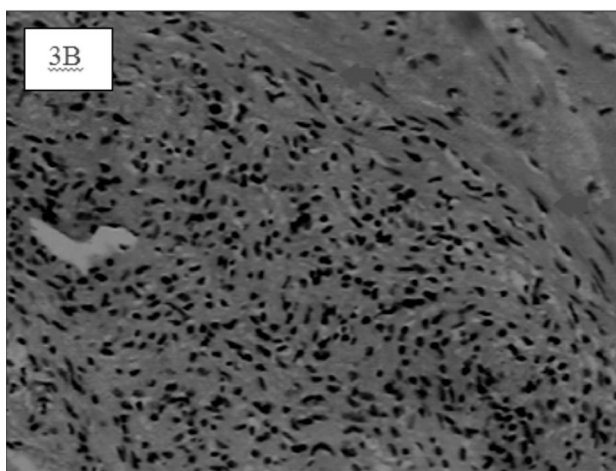
### Evolução

No pós-operatório imediato a paciente foi encaminhada para recuperação pós-anestésica, e foi monitorada por quatro horas, evoluindo bem clinicamente, sendo encaminhada para enfermaria sem intercorrência.

No primeiro dia pós-operatório, a paciente não apresentou intercorrências, mantendo sinais vitais estáveis, sem queixas clínicas. No segundo dia pós-operatório foi realizado teste para avaliação das anastomoses feitas na cirurgia utilizando-se por via oral 60mL de uma solução contendo 100mL de água e 1 ampola de azul de metileno, sendo administrados 30mL às 6h da manhã e mais 30mL às 6h30min, não apresentando sinais externos de fístula pelo dreno.

No mesmo dia, com relato da presença de flatos e ruídos hidroaéreos na ausculta abdominal, foi liberada dieta sob orientação nutricional específica para cirurgias bariátricas. Paciente estável hemodinamicamente, sem queixas e com orientações gerais, recebeu alta, no segundo dia pós-operatório. No oitavo dia do pós-operatório, a biópsia demonstrou conjuntivo fibroso e muscular liso compatível com tumor estromal gastrointestinal de 0,4cm (Figuras 3A e 3B), confirmado pelo ensaio imuno-histoquímico com C-Kit positivo.

**Figura 3** - Biópsia gástrica mostrando tecido conjuntivo fibroso e muscular liso compatível com tumor estromal gastrointestinal; **3A**: Lesão delimitada pelas setas em vermelho (40x); **3B**: Proliferação de células fusiformes, sem atipias nucleares evidentes, direcionadas nos mais variados sentidos (100x)



## DISCUSSÃO

Nos EUA, cerca de dois a cada 100.000 indivíduos são diagnosticados com GIST por ano<sup>2</sup>. Estes tumores são originários de células mesenquimais, ou seja, as células intersticiais de Cajal (células marca-passo da motilidade gastrointestinal) ou a partir de uma célula precursora comum ao longo do intestino. Cerca de 50-70% dos tumores clinicamente manifestados surgem no estômago, 20-30% no intestino delgado, 5-15% no intestino grosso e menos de 5% no esôfago ou outras localizações. A idade média de diagnóstico é entre 66 e 69 anos para mulheres e homens. Apenas cerca de 3% dos GISTs são diagnosticados antes de 21 anos de idade, sendo sua ocorrência predominantemente esporádica<sup>8,9</sup>. Pode haver uma ligação com doenças hereditárias como a neurofibromatose tipo 1, tríade de Carney, GIST familiar e mastocitose, em uma pequena porcentagem dos casos. Como diagnóstico diferencial entre os tumores do estroma

gastrointestinal, os leiomiomas e os leiomiossarcomas, o CD117 e o CD34 encontram-se positivos em até 72% dos casos de GIST<sup>1</sup>.

Os GISTs clinicamente manifestados são raros, com uma taxa de incidência anual de 10 a 20 casos por milhão de habitantes<sup>10</sup>. Por outro lado, os GISTs gástricos assintomáticos precoces (até 1cm de largura), também chamado micro GIST, são mais comuns, sendo encontrados em 20-30% dos idosos<sup>11</sup>. Histologicamente, ocorrem mutações nas proteínas c-Kit proto-oncogene, transformando-a em c-Kit ativado, passando a estimular a proliferação irregular e descontrolada das células e alterando os mecanismos de apoptose<sup>1</sup>.

Os GISTs do estômago precoce (<1cm, ou micro GIST) difere clínica e patologicamente de tumores clinicamente relevantes, tendo em vista que possuem uma taxa de proliferação significativamente menor. Além disso, geralmente podem ocorrer lesões hipocelulares compostas de células fusiformes e frequentemente mostram esclerose marcado. Apresentam características genéticas moleculares distintas: a incidência de mutações KIT/PDGFR $\alpha$ , e particularmente mutações KIT exon 11 são significativamente menores no estágio inicial do que no GIST clinicamente manifestado. O estudo de Rossi e colaboradores<sup>12</sup> identificou cinco novas mutações, sendo três em KIT (p.Phe506Leu, p.Ser692Leu, p.Glu695Lys) e dois em PDGFR $\alpha$  (p.Ser847X, p.Ser667Pro), bem como quatro duplas mutações. Estas mutações aparentemente só causam baixa atividade proliferativa em GIST. Há também mutações consistentes com GIST clinicamente relevantes<sup>13</sup>.

As principais manifestações clínicas são sangramento intestinal, dor abdominal e dispepsia. A paciente em questão apresentava-se assintomática.

A ressecção cirúrgica com margens livres é o método de escolha em todos os casos de GIST<sup>6</sup>. Como as metástases para linfonodos são raras, não há a necessidade de ressecção linfonodal. Contudo, o resultado desta estratégia dependerá do comportamento biológico do tumor (tamanho e número de mitoses)<sup>2,3-7</sup>. A maior parte das recidivas ocorre nos primeiros dois anos, apresentando-se com doença local associada a metástase para fígado ou peritônio em 50%.

Os GISTs não respondem bem ao tratamento quimioterápico usual e a radioterapia. No entanto, o fármaco mais eficaz atualmente é o mesilato de imatinibe (GLIVEC®), um inibidor seletivo da tirosina quinase expressa na proteína c-Kit 3, capaz de bloquear o crescimento tumoral. Tem sido utilizada com sucesso nos casos de tumores inoperáveis, ressecção cirúrgica incompleta ou metastáticos<sup>6-7,14</sup>.

Estudos recentes demonstraram que o uso do imatinibe adjuvante pelo período de três anos reduz consideravelmente o risco de recidiva dos GISTs maiores que 3cm. Um estudo escandinavo também sugeriu benefício em tumores com maior índice mitótico e ressecados com ruptura capsular<sup>14</sup>.

Quanto aos tumores menores de 1cm (micro GISTs), são encontrados em 20-30% dos idosos, sendo que não há descrição na literatura sobre a evolução clínica. Em jovens, a literatura também é limitante. De acordo com Scherübl e colaboradores<sup>15</sup>, os micro GIST gástricos possuem bom prognóstico, sendo que diferem clínica e patologicamente dos tumores clinicamente relevantes, tendo em vista sua taxa de proliferação ser bem menor.

Para a paciente deste relato de caso, de 32 anos, durante o ato operatório, e na conclusão da biópsia, não foram observados critérios para terapia com imatinibe, mantendo a programação com acompanhamento clínico.

O comportamento biológico dos GISTs é variável e se apresenta imprevisível, portanto é necessário um seguimento de longa duração independente do grupo de risco<sup>16</sup>.

A ressecção completa ainda se constitui no tratamento padrão para o GIST não metastático, pois é a única modalidade capaz de proporcionar cura.

O objetivo primordial da cirurgia é a ressecção completa do tumor, estando o tipo de ressecção a ser empregada na dependência da localização e do tamanho do tumor. Todavia, as lesões com suspeita de invasão de órgãos adjacentes devem ser tratadas por cirurgia radical através da ressecção em monobloco dos órgãos acometidos.

É fundamental uma técnica cirúrgica meticulosa visando prevenir a rotura tumoral durante o ato cirúrgico, pois a cápsula do tumor se rompe com facilidade, podendo resultar em disseminação neoplásica, concorrendo para o aumento da chance de recidivas e a redução da sobrevida<sup>17,18</sup>.

Segundo Bennett e Rubino, não existem estudos clínicos que demonstraram qualquer vantagem (em termos de qualidade de vida ou na sobrevivência) da cirurgia sobre a vigilância endoscópica em pacientes com precoce GIST gástrico (<1cm)<sup>19</sup>.

## CONCLUSÃO

O diagnóstico de micro GIST em jovens é raro, não havendo descrições acerca de sua evolução clínica na literatura mundial. Este é um achado incidental em uma paciente de 32 anos, durante uma cirurgia videolaparoscópica, situação também incomum. O seu acompanhamento irá contribuir para a literatura médica na área.

## REFERÊNCIAS

1. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol.* 2002; 33(5):459-65.
2. Machairas A, Karamitopoulou E, Tsapralis D, Karatzas T, Machairas N, Misiakos EP. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): an updated experience. *Diag Surg.* 2010; 55(12):3315-27.
3. Krajcinovic K, Germer CT, Agaimy A, Wünsch PH, Isbert C. Outcome after resection of one hundred gastrointestinal stromal tumors. *Diag Surg.* 2010; 27(4):313-9.
4. Scherübl H, Faiss S, Knoefel WT, Wardelmann E. Management of early asymptomatic gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *World J Gastrointest Endosc* 2014, 6(7): 266-71.
5. Berman J, O'Leary TJ. Gastrointestinal stromal tumor workshop. *Hum Pathol.* 2001; 32(6):578-82.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Tratamento do tumor de estroma gastrointestinal (GIST) pelo SUS. Portaria n. 1655. Diário Oficial da União. 2002 set 19, n. 182, seção 1.
7. Linhares E, Valadão M. Atualização em GIST. *Rev Col Bras Cir.* 2006; 33(1):51-4.
8. Wardelmann E, Hohenberger P, Reichardt P, Merkelbach-Bruse S, Schildhaus HU, Büttner R. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach. Updates and differences compared to other locations. *Pathologe.* 2010; 31:195-8.
9. Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, Hishima T, Iwasaki Y, Saito K, Hosoya Y, Nakajima T, Funata N. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol.* 2006; 37:1527-35.
10. Nilsson B, Bümbling P, Meis-Kindblom JM, Odén A, Dortok A, Gustavsson B, Sablinska K, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era - a population-based study in western Sweden. *Cancer.* 2005;103:821-9.
11. Agaimy A, Wünsch PH, Hofstaedter F, Blaszyk H, Rümmele P, Gaumann A, Dietmaier W, Hartmann A. Minute gastric sclerosing stromal tumors (GIST tumorlets) are common in adults and frequently show c-KIT mutations. *Am J Surg Pathol.* 2007; 31:113-20.

12. Rossi S, Gasparotto D, Toffolatti L, Pastrello C, Gallina G, Marzotto A, Sartor C, Barbareschi M, Cantaloni C, Messerini L. Molecular and clinicopathologic characterization of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) of small size. *Am J Surg Pathol.* 2010; 34:1480-91.
13. Mikami T, Nemoto Y, Numata Y, Hana K, Nakada N, Ichinoe M, Murakumo Y, Okayasu I. Small gastrointestinal stromal tumor in the stomach: identification of precursor for clinical gastrointestinal stromal tumor using c-kit and  $\alpha$ -smooth muscle actin expression. *Hum Pathol.* 2013; 44:2628-35.
14. Demetri GD, Morgan J, Chandrajit PR. Adjuvant and neoadjuvant imatinib for gastrointestinal stromal tumors [acesso em 2014 jul 02]. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/adjuvant-and-neoadjuvant-imatinib-for-gastrointestinal-stromal-tumors>.
15. Scherübl H, Faiss S, Jahn HU, Knoefel WT, Liehr RM, Schwertner C, Steinberg J, Stölzel U, Weinke T, Zimmer T. Early asymptomatic GIST of the stomach. *Dtsch Med Wochenschr.* 2012; 137:1650-3.
16. Liegl-Atzwanger B, Fletcher JA, Fletcher CD. Gastrointestinal stromal tumors. *Virchows Arch.* 2010; 456(2):111-27.
17. DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg.* 2000; 231(1):51-8.
18. Roberts PJ, Eisenberg B. Clinical presentation of gastrointestinal stromal tumors and treatment of operable disease. *Eur J Cancer.* 2002; 38 (Suppl 5):S37-8.
19. Bennett JJ, Rubino MS. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Surg Oncol Clin N Am.* 2012; 21:21-33.

## NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A **Ciência, Pesquisa e Consciência** revista do curso de Medicina das Faculdades Integradas Padre Albino de Catanduva, com periodicidade anual, tem por objetivo proporcionar à comunidade científica a publicação de artigos relacionados à área da saúde. Objetiva também publicar suplementos sob a forma de coleções de artigos que abordem tópicos ou temas relacionados à saúde. O artigo deve ser inédito, isto é, não publicado em outros meios de comunicação.

As normas de um periódico estabelecem os princípios éticos na condução e no relatório da pesquisa e fornecem recomendações com relação aos elementos específicos da edição e da escrita. Visa melhorar a qualidade e a clareza dos textos dos artigos submetidos à revista, além de facilitar a edição. Os Editores recomendam que os critérios para autoria sejam contribuições substanciais à concepção e ao desenho, ou à coleta, análise e à interpretação de dados; redação do artigo ou revisão crítica visando manter a qualidade do conteúdo intelectual; e aprovação final da versão a publicar.

### CATEGORIAS DE ARTIGOS DA REVISTA

**ARTIGOS ORIGINAIS:** trabalho de pesquisa com resultados inéditos que agreguem valores à área da saúde. Sua estrutura deve conter: resumo, descritores (palavras-chave), introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão, conclusões e referências. Sua extensão limita-se a 15 páginas. O artigo original não deve ter sido divulgado em nenhuma outra forma de publicação ou em revista nacional.

**ARTIGOS DE REVISÃO:** avaliação crítica e abrangente sobre assuntos específicos e de interesse da área médica, já cientificamente publicados. Os artigos deverão conter até 15 páginas. Recomenda-se que o número de referências bibliográficas seja de, no mínimo, 30.

**ARTIGOS DE ATUALIZAÇÃO OU DIVULGAÇÃO:** trabalhos descritivos e interpretativos sobre novas técnicas ou procedimentos globais e atuais em que se encontram determinados assuntos investigativos. Os artigos deverão conter até 10 páginas.

**ESPAÇO ACADÊMICO:** destinado à divulgação

de estudos desenvolvidos durante a graduação, em obediência às mesmas normas exigidas para os artigos originais. O nome do orientador deverá ser indicado em nota de rodapé e deverão conter, no máximo, 10 páginas.

**RELATO DE CASO:** descrição de casos envolvendo pacientes, ou situações singulares, doenças raras ou nunca descritas, assim como formas inovadoras de diagnóstico ou tratamento. O texto em questão aborda os aspectos relevantes que devem ser comparados com os disponíveis na literatura. Deverá ser enviada cópia do Parecer do CEP.

**RESENHAS E REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS:** análise crítica da literatura científica, publicada recentemente. Os artigos deverão conter até 3 páginas.

**Os artigos devem ser encaminhados ao editor-chefe da revista, especificando a sua categoria.**

**DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS:**

Eu (nós), abaixo assinado(s) transfiro(emos) todos os direitos autorais do artigo intitulado (título) à **Ciência, Pesquisa e Consciência** Revista de Medicina Declaro(amos) ainda que o trabalho é original e que não está sendo considerado para publicação em outra revista, quer seja no formato impresso ou eletrônico. Data e Assinatura(s).

Cada artigo deverá indicar o nome do autor responsável pela correspondência junto à Revista e seu respectivo endereço, incluindo telefone e e-mail, e a este autor será enviado um exemplar da revista.

**ASPECTOS ÉTICOS:** todas as pesquisas envolvendo estudos com seres humanos deverão estar de acordo com a Resolução CNS-196/96, devendo constar o consentimento por escrito do sujeito e a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. Caso a pesquisa não envolva humanos, especificar no ofício encaminhado. Deverá ser enviada cópia do Parecer do CEP. Quando relatam experimentos com animais, os autores devem mencionar se foram seguidas as diretrizes institucionais e nacionais para os cuidados e a utilização dos animais de laboratório.

**ENVIO DE ORIGINAL:** ao Editor-Chefe responsável pela **Ciência, Pesquisa e Consciência** Revista de Medicina. O artigo deve ser enviado pelo endereço eletrônico (e-mail: [revistamedicina@fipa.com.br](mailto:revistamedicina@fipa.com.br)) digitado no programa Microsoft Office Word da

versão 2007 ou 2010. Recomenda-se que os autores retenham uma cópia do artigo. Após o recebimento do material será enviado e-mail de confirmação ao autor responsável.

**SELEÇÃO DOS ARTIGOS:** inicialmente, todo artigo submetido à Revista será apreciado pelo Conselho Científico nos seus aspectos gerais, normativos e sua qualidade científica. Ao ser aprovado, o artigo será encaminhado para avaliação de dois revisores do Conselho Científico com reconhecida competência no assunto abordado. Caso os pareceres sejam divergentes o artigo será encaminhado a um terceiro conselheiro para desempate (o Conselho Editorial pode, a seu critério, emitir o terceiro parecer). Os artigos aceitos ou sob restrições poderão ser devolvidos aos autores para correções ou adequação à normalização segundo as normas da Revista. Artigos não aceitos serão devolvidos aos autores, com o parecer do Conselho Editorial, sendo omitidos os nomes dos revisores. Aos artigos serão preservados a confidencialidade e sigilo, assim como, respeitados os princípios éticos.

#### PREPARAÇÃO DO ARTIGO

**Formatação do Artigo:** a formatação deverá obedecer às seguintes características: impressão e configuração em folha A4 (210 X 297 mm) com margem esquerda e superior de 3 cm e margem direita e inferior de 2 cm. Digitados em fonte Times New Roman tamanho 12, espaço 1,5 entrelinhas, com todas as páginas numeradas no canto superior direito. Devem ser redigidos em português. Se for necessário incluir depoimentos dos sujeitos, estes deverão ser em itálico, em letra tamanho 10, na sequência do texto. Citação *ipsis litteris* usar aspas na sequência do texto.

**Autoria, Título e Subtítulo do Artigo:** apresentar o título do trabalho (também em inglês) conciso e informativo, contendo o nome dos autores (no máximo 6). No rodapé, deverá constar a ordem em que devem aparecer os autores na publicação, a maior titulação acadêmica obtida, filiação institucional, onde o trabalho foi realizado (se foi subvencionado, indicar o tipo de auxílio e nome da agência financiadora) e o endereço eletrônico.

**Resumo:** deverá ser apresentado em português e inglês (Abstract). Deve vir após a folha de rosto, limitar-se ao máximo de 250 palavras e conter: objetivo do estudo, procedimentos básicos (seleção dos sujeitos, métodos

de observação e análise, principais resultados e as conclusões). Redigir em parágrafo único, espaço simples, fonte 10, sem recuo de parágrafo.

**Palavras-chave:** devem aparecer abaixo do resumo, fonte tamanho 10, conter no mínimo 3 e, no máximo, 6 termos que identifiquem o tema, limitando-se aos descritores recomendados no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) e apresentados pela BIREME na forma trilingue, disponível à página URL: <http://decs.bvs.br>. Apresentá-los em letra inicial maiúscula, separados por ponto. Ex: Palavras-chave: Genética. Coração fetal. Pesquisa fetal.

**Tabelas:** as tabelas (fonte 10) limitadas a cinco no conjunto, devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto, com a inicial do título em letra maiúscula e sem grifo, evitando-se traços internos horizontais ou verticais. Notas explicativas deverão ser colocadas no rodapé das tabelas. Seguir Normas de Apresentação Tabular do IBGE. Há uma diferença entre Quadro e Tabela. Nos quadros colocam-se as grades laterais e são usados para dados e informações de caráter qualitativo. Nas tabelas não se utilizam as grades laterais e são usadas para dados quantitativos.

**Ilustrações:** deverão usar as palavras designadas (fotografias, quadros, desenhos, gráficos etc) e devem ser limitadas ao mínimo, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto, e inseridas o mais próximo da citação. As legendas devem ser claras, concisas e localizadas abaixo das ilustrações. Figuras que representem os mesmos dados que as tabelas não serão aceitas. Para utilização de ilustrações extraídas de outros estudos, já publicados, os autores devem solicitar a permissão, por escrito, para reprodução das mesmas. As autorizações devem ser enviadas junto ao material por ocasião da submissão. Figuras coloridas não serão publicadas.

As ilustrações, além de inseridas no texto, deverão ser enviadas juntamente com os artigos em uma pasta denominada figuras, no formato BMP ou TIF com resolução mínima de 300 DPI. A revista não se responsabilizará por eventual extravio durante o envio do material.

**Abreviações/Nomenclatura:** o uso de abreviações deve ser mínimo e utilizadas segundo a padronização da literatura. Indicar o termo por extenso, seguido da

abreviatura entre parênteses, na primeira vez que aparecer no texto. Quando necessário, citar apenas a denominação química ou a designação científica do produto.

**Citações no Texto:** devem ser numeradas com algarismos arábicos sobrescritos, de acordo com a ordem de aparecimento no texto. Quando o autor é novamente citado manter o identificador inicial. No caso de citação no final da frase, esta deverá vir antes do ponto final e no decorrer do texto, antes da vírgula. Exemplo 1: citações com numeração sequencial "...de acordo com vários estudos<sup>1-9</sup>". – Exemplo 2: citações com números intercalados "...de acordo com vários estudos<sup>1,3,7-10,12</sup>". Excepcionalmente pode ser empregado o nome do autor da referência como, por exemplo, no início de frases, destacando sua importância.

**Agradecimentos:** deverão, quando necessário, ocupar um parágrafo separado antes das referências.

**Referências:** as referências devem estar numeradas consecutivamente na ordem que aparecem no texto pela primeira vez e de acordo com o "Estilo Vancouver" Requisitos Uniformes do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (*International Committee of Medical Journal Editors* – ICMJE). Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html) ou também disponível em: <http://www.bu.ufsc.br/bccsm/vancouver.html> traduzido e adaptado por Maria Gorete M. Savi e Eliane Aparecida Neto.

## EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS

Devem ser citados até seis autores, acima deste número, citam-se apenas os seis primeiros autores seguidos de et al.

### Livro

Baird SB, Mccorkle R, Grant M. Cancer nursing: a comprehensive textbook. Philadelphia: WB. Saunders; 1991.

### Capítulo de livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p.465-78.

### Artigo de periódico com mais de 6 autores

Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. Br J Cancer. 1996; 73:1006-12.

### Artigo de periódico

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N Engl J Med. 2002 Jul 25;347(4):284-7.

### Artigo de periódico em formato eletrônico

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [periódico na Internet]. 2002 Jun [acesso em 2002 Aug 12];102(6):[aproximadamente 3 p.]. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

### Trabalho apresentado em congresso

Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editores. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer; 2002.

### Documentos jurídicos

Brasil. Lei No 7.498, de 25 de junho de 1986. Dispõe sobre a regulamentação do exercício da enfermagem e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 26 jun 1986. Seção 1, p.1.

### Tese/Dissertação

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertação]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

### Material eletrônico

Foley KM, Gelband H, editores. Improving palliative care for cancer [monografia na Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [acesso em 2002 Jul 9]. Disponível em: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>

## ENDEREÇO PARA ENCAMINHAMENTO DE ARTIGOS

AO EDITOR CHEFE

 **Ciência, Pesquisa e Consciência**  
Revista de Medicina

Secretaria das Faculdades Integradas Padre Albino - FIPA  
Rua dos Estudantes, 225 - Parque Iracema  
Catanduva - SP  
CEP 15809-144

Contato: e-mail: [revistamedicina@fipa.com.br](mailto:revistamedicina@fipa.com.br)

Fone: (017)3311-3328







**Ramon Nobalbos**  
Gráfica e Editora

Tel.: (17) 3522-4453

E-mail: [atendimento@nobalbos.com.br](mailto:atendimento@nobalbos.com.br)

Rua 7 de Setembro, 342 - Higienópolis - CATANDUVA - SP

