https://doi.org/10.22491/2357-9730.105781

Segurança e legitimidade no trabalho remoto: relato de experiência em um hospital público e universitário

Security and legitimacy in remote work: an experience report in a public teaching hospital

Milena de Avila Peres[1], Gabriel Alabarse Hernandez[1], Daniel da Silva Jegorschki Santos[1], Silvia Regina Gralha[1], Renato Falsarella Martins Malvezzi[1]

RESUMO

Este relato de experiência tem como objetivo apresentar os esforços necessários em uma das ações de enfrentamento à COVID-19 no Hospital de Clínicas de Porto Alegre: viabilizar teletrabalho. Na iminência de criar uma estrutura tecnológica de preservação da operacionalidade da força de trabalho, foi necessário adotar medidas que permitissem a atuação remota dos colaboradores em atividades administrativas de apoio à assistência. Com este desafio desenvolveu-se, em curto espaço de tempo, uma solução técnica segura que permitisse acesso externo aos sistemas corporativos e registro eletrônico de frequência em regime de trabalho remoto. Além de ferramentas de apoio como: plataforma em nuvem para reuniões não presenciais, para documentos eletrônicos, etc. Desta forma, foi possível disponibilizar aos colaboradores do hospital, que não atuam na linha de frente, a atuação remota de seu trabalho.

Palavras-chave: *Trabalho remoto; teletrabalho; home office; registro de frequência; acesso externo; Covid-19*

ABSTRACT

This experience report aims to present the necessary efforts in one of the actions to confront COVID-19 at Hospital de Clínicas de Porto Alegre: enabling teleworking. In order to create a technological structure that would preserve the workforce's operability, measures were adopted to allow remote performance of employees in administrative support activities. With this challenge, a secure technical solution was developed in a short period of time, allowing external access to corporate systems and electronic frequency records in a remote work regime. Also developed were support tools such as a cloud platform for non-face-to-face meetings, for electronic documents, etc. Thus, remote performance of activities was made available to hospital employees who do not work at the front line.

Keywords: *Remote work; teleworking; working from home; frequency record; external access; Covid-19*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):71-75

1 Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Autor correspondente:
Milena de Avila Peres
maperes@hcpa.edu.br
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Avenida Protásio Alves, 211
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil

INTRODUÇÃO

No início do ano de 2020, devido a pandemia do Coronavírus, onde o distanciamento social passa a ser a palavra de ordem, empresas que não estavam preparadas para aderir ao modo de trabalho remoto, precisaram se adaptar rapidamente a fim de sustentar aos apelos e as novas rotinas de trabalho do país. Em março, a equipe de Tecnologia da Informação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), iniciou as ações de disponibilização de

CC BY

ferramentas para teletrabalho de forma segura e legítima até então inexistentes. A partir da publicação da Medida Provisória 927/2020[1], todos os setores e colaboradores do hospital que pudessem executar as suas funções de forma remota deveriam assim fazê-lo.

O HCPA por ser um hospital e uma empresa pública tem como compromisso de sua administração uma série de prerrogativas legais que foram estudadas por um grupo de trabalho estabelecido pela direção executiva para gestão da crise e enfrentamento à COVID-19. Como requisito desta avaliação foi colocada a necessidade de fornecer aos colaboradores acesso ao sistema de controle de frequência, fornecendo ao empregado e empregador um meio de controle legítimo da jornada de trabalho, de acordo com as as portarias 373[2] e 1510[3] do Ministério do Trabalho. Outro ponto destacado foi a necessidade de garantir que os colaboradores, ao realizarem acesso remoto nos sistemas corporativos do HCPA, utilizassem uma conexão segura, com múltiplos fatores de autenticação, conforme prevê a norma complementar 07/IN01/DSIC/GSIPR[4], de 2010, do Departamento de Segurança da Informação e Comunicações, que estabelece diretrizes de controles de acesso nos órgãos e entidades da Administração Pública Federal.

Enquanto as demais áreas do HCPA já se organizavam para o trabalho remoto, a equipe de TI precisou elaborar e implementar, em um curto espaço de tempo, uma série de mecanismos para que tal prática pudesse ser realizada.

Diante deste cenário, o objetivo deste artigo é apresentar como a equipe de TI do HCPA se mobilizou na implementação e implantação dos artefatos para que fosse possível a realização do teletrabalho, tendo como desafio estar em conformidade com a legislação trabalhista e a segurança na preservação dos dados e informações confidenciais do sistema hospitalar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste artigo, usou-se a metodologia científica de natureza aplicada, com abordagem qualitativa do tipo exploratória, com métodos adequados, utilizando técnicas de observação participante.

Primeiramente foi analisado o que poderia ser feito com o que já existia, a fim de agilizarmos o processo para dar uma resposta rápida. Foi feita uma avaliação das funcionalidades já existentes no sistema de controle de frequência utilizado pelo HCPA, da qual se tomou conhecimento da existência do módulo de registro remoto, porém o mesmo não pode ser utilizado por não estar incluído nos serviços contratados atualmente pelo hospital. Foi levantada então a possibilidade de se elaborar uma solução de controle de frequência para que os colaboradores, em regime celetista, pudessem registrar seus pontos remotamente. Na sequência foram identificados desafios, onde os aspectos observados ressaltaram o tempo hábil para providenciar as liberações e questionamentos sobre quais as melhores ferramentas de TI utilizadas e recursos disponíveis no momento.

Processo de liberação ao acesso remoto com autenticação de dois fatores

Para atender a necessidade de cada usuário ter o seu acesso liberado à rede virtual privada (VPN) do HCPA foi implementado um sistema de autenticação utilizando a ferramenta *Google Authenticator*, que gera códigos de acesso únicos para cada usuário a partir da importação de um código de barras no formato *QRCode* em um aplicativo de celular. A arquitetura técnica da solução[5] se deu conforme Figura 1 abaixo:

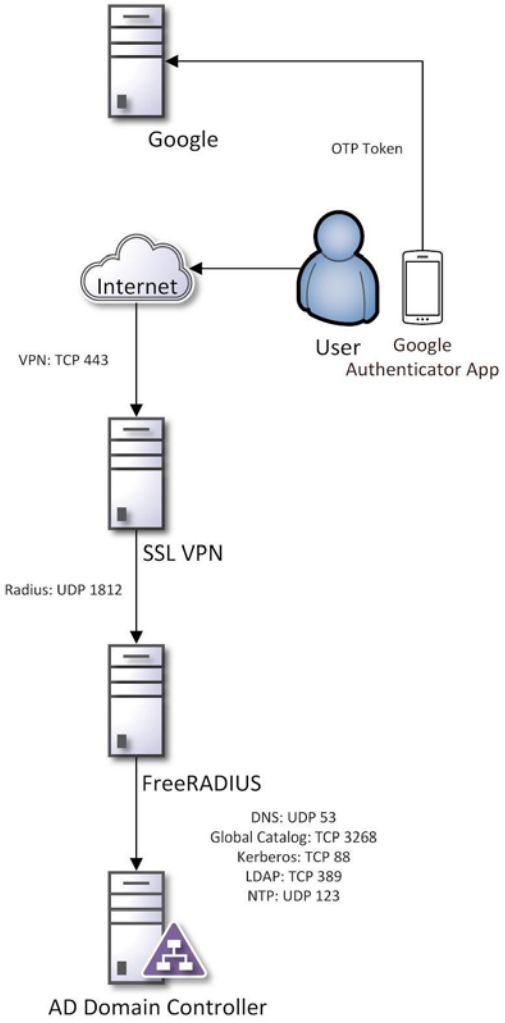

Figura 1: Arquitetura da solução de acesso remoto com dois fatores de autenticação.

Fonte: Harmonson, Richard . 2017. Two Factor Authentication using FreeRADIUS with SSSD (FreeIPA or Active Directory) and Google Authenticator on CentOS 7.

A liberação de acesso para os usuários na VPN se constituiu então de três etapas operacionais: Inclusão do usuário em grupo de acesso; Geração e envio do código *QRCode* para *Google Authenticator*; e Liberação do usuário no *firewall* do HCPA. Para evitar que a operação de liberação dos usuários fosse demasiadamente prolongada, os passos necessários para esta ação foram automatizados através de *scripts* programados e incluídos na rotina de liberação de acesso descrita abaixo.

Controle de liberação de acesso

Fazia-se necessário um mecanismo para cadastrar os usuários que teriam acesso a esta liberação, pois era requisito das áreas gerenciais que a liberação pudesse ser controlada.

Para que fosse possível a liberação do registro de frequência remoto, o colaborador precisa antes, estar ciente e concordar com os termos propostos para essa nova modalidade de trabalho. Para isso, no portal do colaborador, antes de ser disponibilizado o registro de ponto, ele preenche um formulário com suas atividades a serem realizadas, o período de disponibilização do acesso remoto, toma ciência dos termos e realiza o armazenamento das informações. Este preenchimento é encaminhado ao setor de gestão de pessoas, as chefias imediatas e coordenador.

Associada a esse preenchimento do formulário se fazia necessária uma rotina de liberação de acesso, que serviu, também, como amarração dos processos por meio de uma situação que permite o controle da liberação. Com a inclusão do formulário, o usuário recebe o estado 'NOVO', após a execução da rotina e geração do *QRCode* para o acesso à VPN, o estado é alterado para 'LIBERADO', assim também liberando à nova funcionalidade de registro de frequência para o usuário.

Registro de ponto (Controle de Frequência)

Por fim optou-se por construir uma solução proprietária e integrada, bem como o mecanismo de integração desta com o atual sistema de registro de frequência, diminuindo os impactos no restante dos processos que fazem uso da informação de registro de ponto. Funcionalidade esta que também tem controle de liberação sob demanda.

Abaixo estão listados os passos construídos para o registro do ponto remoto:

- O colaborador deve se autenticar no portal e acessar a aba **"Ponto Remoto"**;
- Tela de registro de ponto só será apresentada se colaborador tiver preenchido o formulário de solicitação descrito no item 2.2;
- Ao registrar o ponto, os dados são armazenados em uma tabela no banco de dados com auditoria. Diariamente é realizado um processo para exportar esses registros para o sistema de controle de frequência principal.

RESULTADOS

Como resultado dos estudos e pesquisas desenvolvidos foi construída a solução de forma a atender todas necessidades, de forma rápida, baixo custo e eficaz. Primeiramente foram realizados aprimoramentos na infraestrutura de TI para o acesso à rede e sistemas corporativos do HCPA. Nessa etapa, foi necessário realizar configurações para liberação de acesso no firewall bem como organizar e melhorar o processo de acesso por VPN, agregando um segundo fator de autenticação de forma a manter o mais alto padrão de segurança para proteger os sistemas e dados corporativos de ataques maldosos externos. Visto se tratar de algo novo para a maioria dos colaboradores, foram desenvolvidos manuais, e posteriormente pequenos vídeos, a fim de auxiliar que cada um conseguisse configurar seu próprio ambiente de trabalho remoto e ter acesso aos sistemas do Hospital.

Em segundo lugar se desenvolveu o módulo do 'Ponto Remoto' dentro do Portal do Colaborador na intranet do Hospital. Este viabilizou, de forma integrada, a solução para disponibilização o *QRCode* do colaborador, utilizado na configuração do mecanismo de autenticação conforme descrito no item 2.1, o preenchimento do formulário de solicitação de liberação de acesso relatado no item 2.2 e o registro do ponto propriamente dito de acordo item 2.3.

Na Figura 2 consta a tela para os colaboradores que ainda não obtiveram o acesso remoto e precisam de orientações para fazê-lo. Contém também os links do formulário de liberação e do '*Hotsite*' de manuais, e tutoriais em vídeo.

Na Figura 3 um acesso de usuário que já possui a liberação, desta forma fica disponível o *QRCode* para instalação do mecanismo de autenticação em duas etapas/fatores bem como a opção do registro do ponto, o histórico e acesso ao acordo previamente preenchido.

Por fim a etapa de integração dos registros que são realizados no referido módulo, mediante autorização e autenticação prévias de cada colaborador, armazenados em banco de dados seguro e com auditoria, com o sistema principal de registro de frequência do HCPA.

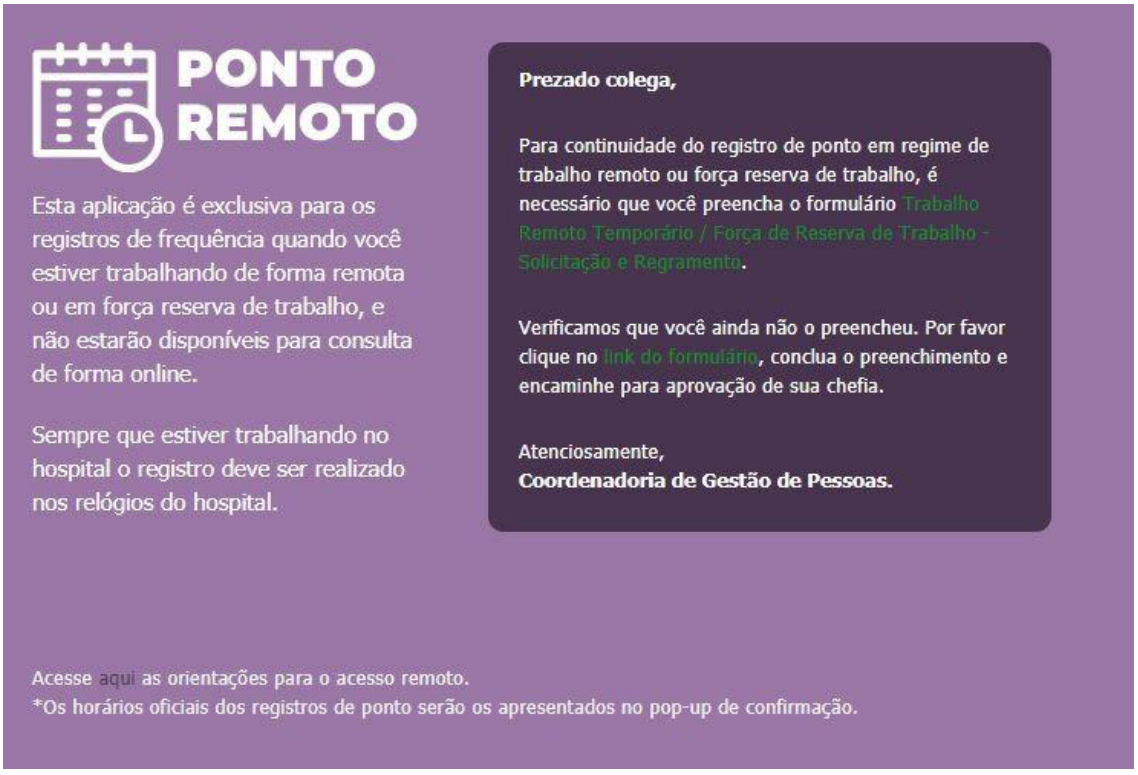

Figura 2: Interface ponto remoto/solicitação de acesso.
Fonte: Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

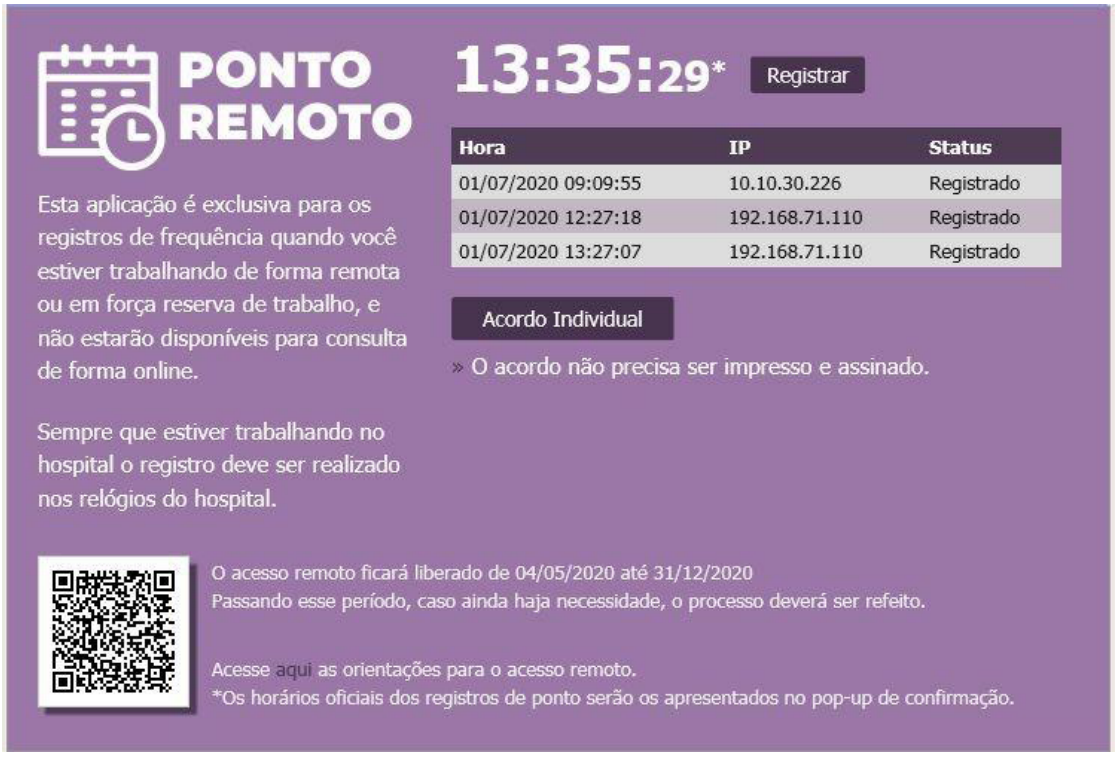

Figura 3: Interface ponto remoto/registro do ponto.
Fonte: Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Tal serviço consiste em um *script* que está agendado para executar automaticamente e que realiza o acesso a esse banco de dados lendo os registros efetuados, dia a dia, e criando um arquivo para troca de dados que é salvo diretamente para o servidor onde é importado pelo sistema principal de controle de frequência.

A solução concebida foi desenvolvida em poucos dias, montado o ambiente e disponibilizado aos colaboradores essa nova modalidade de trabalho. A partir daí, além do acesso aos sistemas corporativos para execução das atividades de rotina, as reuniões de trabalho passaram a ser virtuais. É utilizada principalmente a ferramenta "Google Meeting", um serviço de comunicação por vídeo desenvolvido pelo Google e o "Google Hangout", que permite troca de mensagens rápidas – *'chats'* entre os colaboradores. Com a solução em operação, as chefias de cada setor do hospital passaram a avaliar e direcionar seus colaboradores para a nova modalidade de trabalho.

DISCUSSÃO

Após todos os desafios vencidos pela equipe de TI comprometida com o propósito do HCPA, qualquer colaborador tanto da área assistencial quanto administrativa, pode optar por trabalhar remotamente, diminuindo, assim, as chances de contaminação por Covid-19. Desta maneira, os colaboradores diminuíram os acessos nas dependências do hospital, em respeito ao distanciamento social em virtude das normas governamentais e por se tratar de um local de trabalho com alta probabilidade de contágio.

A criação de vídeos com tutoriais contendo passo a passo, bem como a disponibilização de um hotsite para colaboradores do HCPA minimizaram várias dificuldades enfrentadas durante a implantação deste novo processo de trabalho, facilitando também difundir os novos conhecimentos para mais de 7 mil usuários em poucos dias.

A velocidade de resposta e a organização interna da TI, frente a este cenário adverso, reitera o HCPA como referência na construção de soluções tecnológicas que apoiam a assistência e a gestão de saúde pública da sociedade gaúcha.

Como sugestão para trabalhos futuros, estudar os outros benefícios e impactos, como econômicos, ativos que deixaram de ser consumidos, como luz, água, papel, impressões, refeições e até mesmo a possível diminuição de acidentes de trabalho, afastamentos de saúde e horas extras com esse distanciamento e tempo no trânsito.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Medida Provisória nº 927, de 22 de março de 2020. *Diário Oficial da União* [Internet]. 2020 Mar 22 [acesso 2020 Jul 20]. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/medida-provisoria-n-927-de-22-de-marco-de-2020-249098775

2. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 373, de 27 de fevereiro de 2002. Aprova a Norma Operacional da Assistência à Saúde – NOAS-SUS 01/2002. *Diário Oficial da União*. 2020 Fev 28;89(40E):52.

3. Brasil. Ministério de Estado do Trabalho e Emprego. Portaria nº 1510, de 21 de agosto de 2009. *Diário Oficial da União* [Internet]. 2009 Ago 25 [acesso 2020 Jul 21]. Disponível em: http://www.trtsp.jus.br/geral/tribunal2/ORGAOS/MTE/Portaria/P1510_09.html

4. Brasil. Gabinete de Segurança Institucional. Departamento de Segurança da Informação e Comunicações. *Diretrizes para implementação de controles de acesso relativos à segurança da informação e comunicações* [Internet]. Brasília (DF): GSI; 2014[acesso 2020 Jul 21]. Disponível em: https://livrozilla.com/doc/568829/norma-complementar-n%C2%BA-07-in01-dsic-gsipr

5. Harmonson R. *Two factor authentication using FreeRADIUS with SSSD (FreeIPA or Active Directory) and Google Authenticator on CentOS 7* [Internet]. San Francisco: GitHub; 2017 [acesso 2020 Jun 20]. Disponível em: https://rharmonson.github.io/2factorcos7.html

Recebido: 27 jul 2020
Aceito: 6 ago 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.98431

Federal university hospitals: heterogeneity in the coordination of clinical trials authorized by the National Health Surveillance Agency

Claudia Simone Costa da Cunha[1], Olimpio J Nogueira V Bittar[2], Beatriz H Tess[3]

Clin Biomed Res. 2020;40(2):76-83.

1 Consultora Instituto Israelita Albert Einstein, Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein (SBIBAE). São Paulo, SP, Brasil.

2 Gabinete do Secretário, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP). São Paulo, SP, Brasil.

3 Departamento de Medicina Preventiva, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, SP, Brasil.

Corresponding author:
Claudia Simone Costa da Cunha
claudia.sccunha@gmail.com
Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein (SBIBAE)
Avenida Albert Einstein, 627/701
05652-900, São Paulo, SP, Brasil.

ABSTRACT

Introduction: This study aimed to describe clinical trials approved by the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA) and coordinated by federal university hospitals (FUHs), as well as to investigate the relationship between the number of clinical trials and the assistance provided by these FUHs.

Methods: This is a cross-sectional study based on data obtained from the ANVISA clinical trial consultation system. The National Register of Health Care Facilities and the Ambulatory Care Information System of the Unified Health System (SUS) were used as sources of information on the assistance provided by FUHs, such as the mean number of specialized medical consultations and the number of beds. Scatter plot and Spearman's correlation coefficient analyses were used to verify the association between these aspects of FUHs and the number of clinical trials.

Results: Between 2012 and 2013, ANVISA authorized 209 trials to be coordinated by 23 FUHs; 75% of the trials were coordinated by 7 FUHs, 69.8% were phase III trials, and 94% were multicenter studies. The number of clinical trials presented positive and statistically significant associations with the mean number of specialized medical consultations and the number of beds (Spearman's correlation coefficients r = +0.70 and r = +0.64, respectively).

Conclusion: FUHs have a leadership role in the conduction of clinical trials in Brazil, but showed heterogeneity regarding their assistance capacities and the number of clinical trials. A predominance of phase III trials may be interpreted as a low use of the scientific potentiality of these facilities.

Keywords: *University hospitals; teaching hospitals; clinical trial; Brazilian Health Surveillance Agency*

INTRODUCTION

Federal university hospitals (FUHs) are part of federal universities and are committed to a tripartite mission of health care, research, and teaching. Their financial sources are the Brazilian Ministries of Health and Education[1]. In 2011, the federal government created the Brazilian Company of Hospital Services (EBSERH), a government-sponsored enterprise, to improve management and increase and qualify the workforce of these hospitals[2]. In 2013, there were 47 FUHs linked to 35 federal universities, of which 21 had an agreement with EBSERH[3]. In 2019, out of 50 FUHs linked to 35 federal universities, 40 had EBSERH participating in their management.

FUHs represent 2% of the national public hospital network and account for 3.3% of the beds available in the Unified Health System (SUS)[4]. According to the Directory of Research Groups of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), approximately half of the current research groups in health sciences are based in federal universities and their hospitals[5].

ISSN 2357-9730

CC BY

Clinical trials involve research using human volunteers for testing the efficacy and safety of interventions using medical products, such as drugs or devices, or changes to participants' behaviors, such as diets. These studies aim to produce scientific knowledge to improve health care. These types of studies are classified according to the phase of development of the interventions being studied. Phase I trials assess product safety in healthy individuals; phase II trials analyze the safety and efficacy of the product by comparison to another product or a placebo within a small and homogeneous group of individuals with the disease under study; phase III trials repeat this assessment in a larger and more varied group of sick individuals; finally, phase IV trials are performed after commercialization and monitor adverse effects or events[6].

Many clinical trials are performed in FUHs and their protocols and results are among the documents required by regulatory bodies to support the decision on its registration. The approval of clinical trials with the aim of registering drugs and products for commercialization in Brazil is subject to the authorization of the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA)[7], the institution's Research Ethics Committee (CEP), and the National Commission of Ethics in Research of the National Health Council (CONEP/CNS)[8].

According to ClinicalTrials.gov, around 311 000 clinical trials were registered worldwide from 1997 to 2019. North American studies corresponded for 44% of these trials, European trials represented 29%, East Asian studies accounted for 11%, and South American studies were 3.2%. Brazil hosted 70% of approximately 10,000 registered clinical trials in South America, representing 2.3% of the global total[9]. Industry Standard Research reports indicate that global investments on clinical research in 2018 were of around US$ 124 billion and should reach almost US$ 133 billion in 2021[10].

In 2014, the EBSERH Strategic Clinical Research Program for SUS (EpecSUS) was created for implementing a model for clinical research management within FUHs[11]. This program was expected to promote the institutionalization, transparency, and effectiveness of the trial approval process, as well as the development, budgetary execution, and monitoring of clinical research in compliance with Good Clinical Practices (GCP)[12]. EpecSUS also aimed to promote clinical research considering themes that were strategic for the SUS.

Our study aimed to describe the clinical trials approved by ANVISA to be coordinated by FUHs and to investigate the association between the number of clinical trials and the assistance provided by these FUHs.

METHODS

This is a cross-sectional, retrospective study that used information retrieved from the ANVISA clinical trial consultation system. This system can be accessed by filling at least two of the following fields: protocol title, protocol code, name of drug or product under study, disease for which the drug or product will be prescribed (following the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th revision [CID-10]), date of trial authorization, process number, and Special Notice number[13].

With the collaboration of ANVISA's Clinical Research Management (GEPEC), EBSERH obtained the titles of clinical trials authorized to be coordinated by FUHs from January 1, 2012 to December 31, 2013. Searching the database by title and date of authorization, we obtained the therapeutic class of the tested product, CID-10, protocol code, and phase of the clinical trial.

The FUH service was assessed according to the numbers of beds and specialized medical consults conducted in 2012 and 2013. These data were collected from the National Register of Health Care Facilities (CNES) and the SUS Ambulatory Care Information System/Tabwin (SIA)[14] between October and December 2014.

Data were described by means of absolute and relative frequencies, standard deviations, and variation coefficients. An association between the number of clinical trials and the assistance provided by FUHs was investigated through a scatter plot and the Spearman's correlation coefficient test; statistical significance considered $p < 0.05$.

This study was based on secondary and public domain data; therefore, it was not submitted to a CEP in accordance with the CNS Resolution No. 466/2012[8].

RESULTS

According to GEPEC/ANVISA, 209 clinical trials (95 in 2012 and 114 in 2013) were authorized for conduction in 23 FUHs. These trials corresponded to 45% of all trials approved by ANVISA in this 2-year period. Out of these 23 hospitals, 7 were responsible for the coordination of three-quarters (n = 157) of the authorized trials.

Table 1 presents the selected metrics of hospital care and the number of clinical trials authorized per hospital. The number of beds varied from 15 to 687 (mean: 312), and the mean number of specialized medical consultations was 178 000, ranging from 8190 and 1 020 000. Each FUH coordinated up to 34 trials (mean: 9). The characteristics of the analyzed hospitals were highly heterogeneous.

Table 1: Federal university hospitals: numbers of beds and specialized medical consultations compared to the number of clinical trials authorized by the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA) between 2012 and 2013.

Hospital*	No. of beds	No. of specialized consultations 2012	No. of specialized consultations 2013	No. of clinical trials
HCPA/UFRGS	*687*	*374 177*	*406 424*	*34*
HC/UFPR	*474*	*352 001*	*337 216*	*29*
HC/UFG	*384*	*125 595*	*146 178*	*21*
HSP/UNIFESP	*522*	*606 726*	*14 32992*	*21*
HC/UFMG	*511*	*245 382*	*257 122*	*19*
HUCFF/UFRJ	*471*	*239 047*	*216 168*	*18*
HUPES/UFBA	*353*	*19 1555*	*191 457*	*14*
HUGG/UNIRIO	*158*	*94 355*	*81 488*	*9*
HUJBB/UFPA	*284*	*99 945*	*83 685*	*8*
HUWC/UFC	*248*	*123 281*	*137 181*	*8*
HUB/UNB	*268*	*114 746*	*108 262*	*7*
HC/UFPE	*342*	*135 724*	*162966*	*4*
IP/UFRJ	*117*	*40 571*	*37 566*	*3*
HUCAM/UFES	*306*	*150 702*	*172 981*	*3*
HU/UFMA	*573*	*168 400*	*156 429*	*2*
HUMAP/UFMS	*257*	*80 925*	*72 007*	*2*
HUPEST/UFSC	*392*	*92 171*	*98 285*	*1*
HUAP/UFF	*256*	*145 797*	*154 450*	*1*
HE/UFTM	*299*	*122 114*	*109 928*	*1*
HU/UFJF	*140*	*76 508*	*84 269*	*1*
IPPMG/UFRJ	*69*	*49 283*	*51 443*	*1*
HESFA/UFRJ	*15*	*96 18*	*6 759*	*1*
INDC/UFRJ	*40*	*18 070*	*19 266*	*1*
Total				209

**HCPA/UFRGS: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; HC/UFPR: Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná; HU/UFG: Hospital Universitário, Universidade Federal de Goiás; HSP/UNIFESP: Hospital São Paulo, Universidade Federal de São Paulo; HC/UFMG: Hospital de Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais; HUCFF/UFRJ: Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro; HUPES/UFBA: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia; HUGG/UNIRIO: Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro; HUJBB/UFPA: Hospital Universitário João de Barros Barreto, Universidade Federal do Pará; HUWC: Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará; HUB/UNB: Hospital Universitário, Universidade de Brasília; HC/UFPE: Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco; IP/UFRJ: Instituto de Psiquiatria, Universidade Federal do Rio de Janeiro; HUCAM/UFES: Hospital Universitário Cassiano A. de Moraes, Universidade Federal do Espírito Santo; HU/UFMA: Hospital Universitário, Universidade Federal do Maranhão; HUMAP/UFMS: Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; HUPEST/UFSC: Hospital Universitário Polydoro E. de São Thiago, Universidade Federal de Santa Catarina; HUAP/UFF: Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense; HE/UFTM: Hospital Escola, Universidade Federal do Triângulo Mineiro; HUJF/UFJJ: Hospital Universitário, Universidade Federal de Juiz de Fora; IPPMG/UFRJ: Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira, Universidade Federal do Rio de Janeiro; HESFA/UFRJ: Hospital Escola São Francisco de Assis, Universidade Federal do Rio de Janeiro; INDC/UFRJ: Instituto de Neurologia Deolindo Couto, Universidade Federal do Rio de Janeiro.*

Considering the numbers of specialized medical consultations and beds as metrics indicating hospital size, the scatter plot (Figure 1) illustrated a positive correlation between the number of clinical trials and the size of FUHs, that is, bigger hospitals coordinated more trials. The Spearman's correlation coefficient was $r = +0.64$ for the relationship between the numbers of beds and clinical trials. Regarding the relationship between the mean number of consultations and the number of clinical trials, the Spearman's correlation coefficient was $r = +0.70$. Both were statistically significant ($p < 0.05$).

All the evaluated clinical trials were conducted to assess the safety and efficacy of drugs. Figure 2 depicts the frequency distribution of drug therapeutic classes; this information was not available for 28 (13%) of the 209 clinical trials. Antineoplastic, antidiabetic, antiviral, and immunosuppressive drugs were the predominantly tested pharmacological groups. The therapeutic classes with frequencies smaller than 10 were grouped into the "other therapeutic classes" category, representing 49% of the evaluated clinical trials.

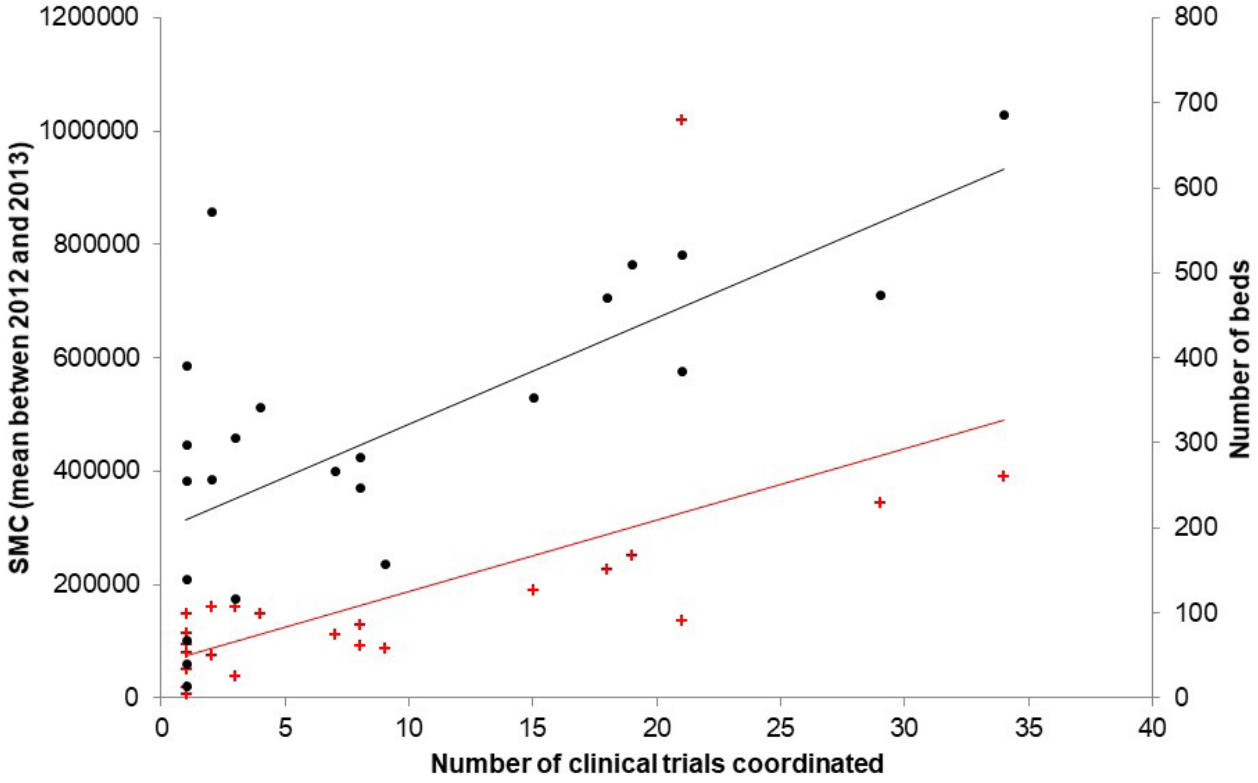

Figure 1: Correlation between number of clinical trials, specialized medical consultations, and number of beds

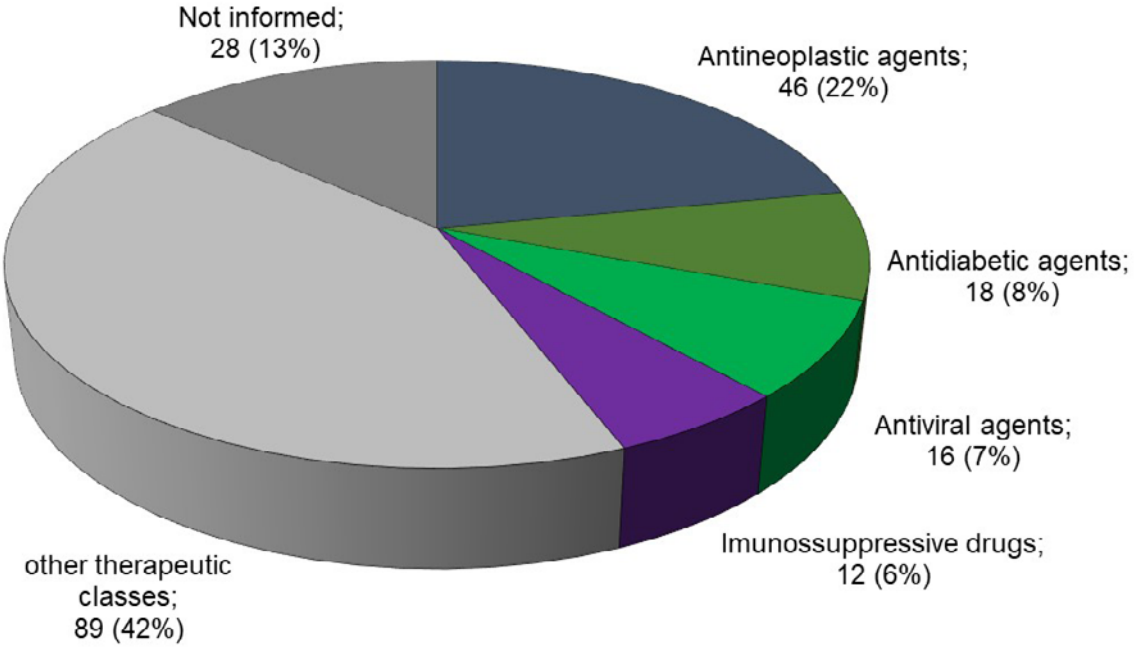

Figure 2: Frequency distribution of drug therapeutic classes

Table 2 shows the diseases (classified according to CID-10) for which the drugs were tested in 199 trials with available information. Endocrine diseases, neoplasms, and viral infections were the object of study in half of the clinical trials. Neoplasms, considering *in situ* and benign neoplasms, represented the most studied disease group (almost one-quarter of the trials).

The classification of clinical trials according to the phase of clinical development is presented in Table 3. We observed that the majority (69.8%) were phase III studies and 94% of the trials were multicenter. This information was not available for 10 of the evaluated trials.

Table 2: Number of clinical trials by groups of diseases targeted by the tested drugs.

Disease groups*	No.	(%)
A – Infectious Diseases: tuberculosis	1	(0.5)
B – Viral infections characterized by lesions of the skin and mucosa, hepatitis; human immunodeficiency virus disease	22	(11.1)
C – Neoplasms	40	(20.1)
D – *In situ* neoplasms and benign neoplasms	8	(4.0)
E – Nutritional and metabolic endocrine diseases	41	(20.6)
F – Mental disorders	7	(3.5)
G – Nervous system diseases	13	(6.5)
H –Diseases of the eye and its annexes	8	(4.0)
I – Circulatory system diseases	15	(7.5)
J – Respiratory system diseases	16	(8.0)
K – Digestive system diseases	3	(1.5)
L – Skin and subcutaneous tissue diseases	4	(2.0)
M – Diseases of the osteomuscular system and conjunctive tissue	14	(7.0)
N – Genitourinary system diseases	4	(2.0)
P – Affections of the perinatal period	2	(1.0)
Z – Factors that influence health conditions and the contact with health services	1	(0.5)
Total	199**	

*Disease groups according to the International Statistical Classification of Diseases and Health-Related Problems – 10th revision (CID-10).

**This information was not available for 10 of the clinical trials.

Table 3: Number of clinical trials according to their development phases.

Study phase	No.	(%)
I	3	(1.5)
II	31	(15.6)
III	139	(69.8)
IV	26	(13.1)
Total	199*	

*This information was not available for 10 of the clinical trials.

DISCUSSION

Even though FUHs account for a small fraction of the public health care network, they coordinated 45% of the clinical trials authorized by ANVISA between 2012 and 2013, playing an important role in the Brazilian process of registration and commercialization of new therapeutic products. We also found a significant heterogeneity in the number of trials per FUH. These trials most frequently studied endocrine and metabolic diseases, neoplasms, and viral infections, and the most assessed therapeutic classes of drugs were antineoplastic, antidiabetic, antiviral, and immunosuppressive medications. Our results also indicated that 94% of the trials were multicenter and most were phase III studies.

The central position of FUHs in the coordination of clinical trials has already been described by Quental & Salles. Their study reported that six FUHs coordinated 22% of 538 trials registered by 20 organizations[15]. The capacity of recruiting research participants and the presence of qualified professionals are characteristics that make institutions more competitive for clinical trials[15,16]. Considering that FUHs are distinct from other non-university hospitals or health services due to their research and teaching activities, their researchers' qualifications may explain why these institutions are highly sought to coordinate clinical trials despite their low participation in the national health care network. This hypothesis is further supported by the fact that the 4 FUHs that coordinated most clinical trials in our study were between the second and fifth positions of the national ranking of the CNPq Health Sciences Directory of Research Groups[5].

The coordination of 75% of the clinical trials was performed by 7 hospitals, which may be due to their capacity to recruit research participants. Overall, we found a positive relationship between the hospital assistance profile and the number of coordinated trials, but this relationship presented exceptions and a high heterogeneity. Some hospitals, such as Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, presented high values of assistance

metrics but coordinated only a small number of clinical trials, suggesting that other factors might influence the dominance of the 7 main hospitals.

In 2009, the Brazilian federal government provided financial support for the establishment of clinical research centers in public hospitals. This initiative aimed to increase the national capacity of conducting clinical research and included the creation of the National Clinical Research Network[17]. Among the FUHs analyzed in this study, 13 took part in this initiative. Further studies are needed to identify why some sponsored FUHs did not engage in research activities in this period or, conversely, conducted clinical trials without receiving these resources, such as Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

In addition, we have found a collaboration network among FUHs. This is an important finding and it is corroborated by the British experience, where the Clinical Research Network has supported and coordinated high-quality clinical investigations and facilitated the implementation of clinical trials in the scope of the National Health Services[18]. Functioning as a network may be an effective strategy to overcome challenges and barriers in patient recruitment. The adoption of this strategy has been proposed by EpecSUS[11], and this has been an ongoing process.

Our results also showed that the therapeutic classes of the studied drugs and the groups of target diseases were similar to those reported in other national[15] and international[19] studies. The development of drugs that treat progressive chronic diseases has been prioritized globally.

The stage of clinical development of the evaluated studies was mainly phase III (69.8%), followed by phases II (15.6%), IV (13.1%), and I (1.5%). This finding was in accordance with other national studies[15,20] that have shown the dominance of phase III studies. On the other hand, international studies have reported different distributions of stages of development. According to the analysis of 26 000 clinical trials registered in the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations between 2005 and 2010, 32% of these trials were phase I, 27% were phase II, and 21% were phase IV studies[21]. Phase III clinical trials are more frequent in middle-income countries, probably because they demand lower scientific density and present less technological risks; in addition, multinational drug companies usually prioritize phases I and II trials in their home countries[17]. We did not collect data regarding the sponsorship of the analyzed trials due to limitations of our search tool. However, other studies have reported that clinical trials with registration purposes in Brazil are often financially supported by multinational pharmaceutical industries[15,20].

The large number of phase III studies in FUHs suggested that their participation was mostly operational, as opposed to the idea that these trials are necessarily linked to the scientific competence of university hospitals. Brazilian pharmaceutical companies have a limited capacity of promoting all steps (pre-clinical and phases I-II) of technological development and innovation[16], whereas phase III trials have lower technological requirements and involve other competences such as GCP. Clinical investigators in Brazil are usually experienced in complying to these technical guidelines, which is essential to ensure the quality of clinical trial results[22].

Clinical trials are the methodological gold standard in testing the efficacy and safety of products for human health. They are required for the registration and commercialization of health products, being part of the technological innovation process in the health sciences[23]. Hence, these types of studies comprise guidelines and policies related to health, science, technology, and innovation and industrial development[24-26]. From an institutional perspective, clinical trials qualify professionals and research centers, improve assistance, organize health services[27], and provide new therapeutic options[28] even though they are a scientific validation step. The participation of institutions in these studies should, however, be prudent regarding ethical questions on the vulnerability of participants[29], eventual researchers' conflicts of interests[30], and transparency issues[31]. Especially in FUHs, commercial interests in the participation in clinical trials raise concerns regarding their lack of alignment with academic performance[32] and an unsatisfactory institutional financial management[33].

The limitations of this study include, firstly, the lack of information on the trial sponsors, which did not allow a thorough interpretation of our findings. Secondly, we only analyzed trials coordinated by FUHs, and not those in which FUHs were collaborators. Finally, although the data collection was performed several years ago, we believe that extending the study period would not introduce variance that would significantly change our findings.

In summary, we found that FUHs have a leadership role in the conduction of clinical trials in Brazil, but showed heterogeneity regarding their assistance capacities and the number of clinical trials. This could be better understood through studies identifying factors that influence the creation of diverse institutional operational cultures. The predominance of phase III trials may be interpreted as a low use of the scientific

potentiality of these institutions. The promotion of national collaborative studies could help FUHs in the establishment of an effective cooperation network for improving their capacity of conducting clinical trials, especially considering the EpecSUS program.

This article was produced based on a Master's dissertation in Health Innovation and Technology Management presented in 2016 to the Teaching and Research Institute of Hospital Sírio-Libanês.

Acknowledgements

We thank Flávia Sobral from Clinical Research Management at ANVISA and Thais Valadares from the Board of Directors in Attention to Health at EBSERH for their helpful contributions.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Reis AA, Cecílio LC. A política de reestruturação dos hospitais de ensino: notas preliminares sobre os seus impactos na micropolítica da organização hospitalar. *Saude Debate*. 2009;33(81):88-97.

2. Brasil. Presidência da República. *Lei nº 12.550, de 15 de dezembro de 2011*. Autoriza o Poder Executivo a criar a empresa pública denominada Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – EBSERH. Diário Oficial da União [Internet]. 2011 Dec 15 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2011/Lei/L12550.htm.

3. Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. *Sobre os hospitais universitários federais* [Internet]. Brasília, DF: EBSERH; 2019 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://www.gov.br/ebserh/pt-br/acesso-a-informacao/hospitais-universitarios-federais/rede-ebserh/mapa-da-rede-ebserh/mapa-da-rede-ebserh-2020.png/view.

4. Brasil. Ministério da Saúde. *Rede Assistencial* [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2008 [cited 2019 Nov 15]. Available from: http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0204.

5. Diretório dos Grupos de Pesquisas no Brasil. Lattes. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. *Plano tabular* [Internet]. Brasília, DF: CNPq; 2010 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://lattes.cnpq.br/web/dgp/sobre12;jsessionid=RAfY5GjmDLFI8Xccy6cIVAu+.undefined

6. U.S. National Library of Medicine. *Learn about clinical studies* [Internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2015 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn

7. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 9, de 20 de fevereiro de 2015*. Dispõe sobre o Regulamento para a realização de ensaios clínicos com medicamentos no Brasil [Internet]. Brasília, DF: Anvisa; 2015 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://www.jusbrasil.com.br/diarios/86911532/dou-secao-1-03-03-2015-pg-69

8. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012* [Internet]. Brasília, DF: Diário Oficial da União; 2012 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf

9. U.S. National Library of Medicine. *See studies on map* [Internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2015 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/search/map/click?map.x=256&map.y=317

10. ISR Reports. *Preview of 2017 CRO market size projection 2016-2021* [Internet]. USA: Raleigh; 2017 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://isrreports.com/wp-content/uploads/2017/03/Preview-2017-CRO-Market-Size-final-1.pdf

11. Brasil. Ministério da Educação. *Portaria Interministerial nº 9, de 13 de agosto de 2014* [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Educação; 2014 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://www.lex.com.br/legis_25838627_PORTARIA_INTERMINISTERIAL_N_9_DE_13_DE_AGOSTO_DE_2014.aspx

12. U.S. Food & Drug Administration. *ICH guidance documents* [Internet]. USA: Silver Spring; 2013 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://www.fda.gov/scienceresearch/specialtopics/runningclinicaltrials/guidancesinformationsheetsandnotices/ucm219488.htm

13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Consulta de ensaios clínicos autorizados* [Internet]. Brasília, DF: ANVISA; 2014 [cited 2019 Nov 1]. Disponível em: http://www7.anvisa.gov.br/Datavisa/Consulta_Comunicados/Consulta_CE_Autorizados.asp

14. Brasil. Ministério da Saúde. Portal da Saúde SUS. *Tabwin* [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; c2008 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area= 060805

15. Quental C, Salles Filho S. Ensaios clínicos: capacitação nacional para avaliação de medicamentos e vacinas. *Rev Bras Epidemiol*. 2006;9(4):408-24.

16. Gomes RP, Pimentel VP, Landim AB, Pieroni JP. *Ensaios clínicos no Brasil* [Internet]. Rio de Janeiro, RJ: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social; 2012 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/1504

17. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. Rede nacional de pesquisa clínica no Brasil: respostas e redução da dependência estrangeira. *Rev Saude Publica*. 2010;44(3):575-8.

18. Ng SM, Weindling AM. The impact of networks on clinical trials in the United Kingdom. *Trials*. 2009;10(100):1-6.

19. Braend AM, Jensen KB, Klovning A, Straand J. Clinical drug trials in general practice: a 10-year overview of protocols. *Trials*. 2013;14(162):1-10.

20. Zuccheti C, Morrone FB. Perfil da pesquisa clínica no Brasil. *Rev HCPA*. 2012;32(3):340-7.

21. International Federation of Pharmaceutical Manufacturers & Associations. *Facts & Figures 2015* [Internet]. Gênova: EFPIA; 2015

[cited 2015 Mar 25]. Available from: https://www.ifpma.org/wp-content/uploads/2016/02/IFPMA_-_Facts_And_Figures_2015_web.pdf

22. Paschoale HS. *Perfil da pesquisa clínica*: identificação de oportunidades e desafios para o futuro [thesis] [Internet]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5147/tde-07122009-182348/publico/HelenaSCavonePaschoale2009.pdf

23. Moreira NV, Almeida FA, Cota M, Sbragia R. Technological innovation in Brazil: a new framework for innovation and management of sectorial funds. *REGE Rev Gestão*. 2007;14:31-44.

24. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. *Pesquisas estratégicas para o sistema de saúde – PESS* [Internet]. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2011 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro_pesquisas_estrategicas_para_o_sus.pdf

25. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. *Estratégia Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação 2012-2015*: balanços das atividades estruturantes 2011 [Internet]. Brasília, DF: MCTI; 2012 [cited 2019 Nov 1]. Available from: http://livroaberto.ibict.br/218981.pdf

26. Brasil. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial. *Relatório de acompanhamento das agendas estratégicas setoriais* [Internet]. Brasília, DF: ABDI; 2014 [cited 2019 Nov 1]. Available from: https://docplayer.com.br/84529459-Relatorio-de-acompanhamento-das-agendas-estrategicas-setoriais-agosto-2014.html

27. Miyaoka TM, Cesar MB, Laranjeira LN, Guimarães HP, Avezum A. Hospitais envolvidos em pesquisa clínica oferecem melhores resultados aos seus pacientes? *Rev Bras Hipertens*. 2008;15(4):225-7.

28. Dainesi SM, Goldbaum M. Pesquisa clínica como estratégia de desenvolvimento em saúde. *Rev Assoc Med Bras*. 2012;58(1):2-6.

29. Schramm FR, Palacios M, Rego S. O modelo bioético principialista para a análise da moralidade da pesquisa científica envolvendo seres humanos ainda é satisfatório?. *Cien Saude Colet*. 2008;13(2):361-70.

30. Boyd EA, Cho MK, Bero LA. Financial conflict-of-interest policies in clinical research: issues for clinical investigators. *Acad Med*. 2003;78(8):769-74.

31. Ghersi D, Pang T. En route to international clinical trial transparency. *Lancet*. 2008;372(9649):1531-2.

32. Zago MA. A pesquisa clínica no Brasil. *Cien Saude Colet*. 2004;9(2):363-74.

33. Brasil. Tribunal de Contas da União. *Acórdão 2813/2009* [Internet]. Brasília, DF: Tribunal de Contas da União; 2009 [cited 2019 Nov 15]. Available from: https://www.lexml.gov.br/urn/urn:lex:br:tribunal.contas.uniao;camara.2:acordao:2009-06-02;2813

Received: Nov 25, 2019
Accepted: Apr 17, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.103797

Avaliação individual e correlação dos marcadores sorológicos e do teste de amplificação de ácido nucléico para os vírus da hepatite B e hepatite C na triagem de doadores de um banco de sangue de Porto Alegre – RS

Individual evaluation and correlation of serological markers and nucleic acid amplification testing for hepatitis B and hepatitis C viruses in donor screening at a blood bank in Porto Alegre, southern Brazil

Mellyzie Assucena de Souza Calegaro[1], Deborah Veiga Santos[2], Cristine Blume Brietzke[2], Laura Vicedo Jacociunas[1]

Clin Biomed Res. 2020;40(2):84-90

1 Curso de Biomedicina, Centro Universitário Metodista – IPA. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Hemoterapia, Laboratório Marques Pereira. Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:
Laura Vicedo Jacociunas
lauralvj@yahoo.com.br
Centro Universitário Metodista
Rua Cel. Joaquim Pedro Salgado, 80
90240-060, Porto Alegre, RS, Brasil

RESUMO

Introdução: A hemoterapia consiste no tratamento terapêutico através da transfusão sanguínea. Considerando à vasta quantidade de doenças infecciosas que podem ser transmitidas pelo sangue, se faz necessária a realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade para minimizar os riscos transfusionais aos doadores e receptores. Assim, no estudo foi avaliada a prevalência de marcadores sorológicos para Hepatite B e C em um banco de sangue de Porto Alegre- RS, bem como a correlação entre a sorologia e o teste de amplificação de ácido nucléico (NAT).

Métodos: Estudo quantitativo, descritivo e retrospectivo que foi realizado através da análise das informações de todos os doadores de sangue contidas em um banco de dados de um Banco de Sangue de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, nos anos de 2017 e 2018, avaliando resultados da sorologia e o teste NAT para hepatite B e Hepatite C.

Resultados: Das 17.181 doações de sangue, o total de bolsas sorologicamente reagentes foi 162 (0,94%) reagentes para o Anti-HBc, 20 (0,12%) amostras foram positivas para o HbsAg e 62 (0,36%) reagentes para o Anti-HCV. Apenas 4 (0,02%) amostras foram reagentes simultaneamente para o Anti-HBC e para o HbsAg, as quais foram também positivas no teste NAT. Já o teste NAT nas amostras reagente para Hepatite C, corresponderam a 18 (0,10%).

Conclusões: A evolução da biotecnologia vem auxiliando a biossegurança nas transfusões de sangue. Considerando que a implementação do teste NAT é relativamente recente nos bancos de sangue, sugere-se mais estudos com períodos diferentes de tempo para a pesquisa de resultados satisfatórios, além disso, possibilitando elucidar ainda mais os resultados voltados à segurança transfusional e a associação dos testes sorológicos e o teste NAT nos bancos de sangue.

Palavras-chave: *Sorologia; Nat; hepatites; banco de sangue; hemoterapia*

ABSTRACT

Introduction: Hemotherapy consists of therapeutic treatment using blood transfusion. Because of the vast amount of bloodborne infectious diseases, highly sensitive laboratory

ISSN 2357-9730

CC BY

tests must be conducted to minimize the transfusion risks for donors and recipients. Thus, the present study aimed to evaluate the prevalence of hepatitis B and C serological markers in samples from a blood bank in Porto Alegre, southern Brazil, as well as the correlation between serology and nucleic acid amplification testing (NAT).

Methods: A quantitative, descriptive, retrospective study was conducted to analyze blood donor information obtained from a blood bank database in Porto Alegre, southern Brazil, concerning 2017 and 2018. Serology and NAT results for hepatitis B and C were examined.

Results: Of 17,181 blood donations, the total number of serologically reactive samples was 162 (0.94%) for anti-HBc, 20 (0.12%) for HbsAg, and 62 (0.36%) for anti-HCV. Only 4 (0.02%) samples were simultaneously reactive for anti-HBc and HbsAg, being also positive in NAT. The number of samples reactive to hepatitis C in NAT was 18 (0.10%).

Conclusions: Biotechnological evolution has contributed to biosafety in blood transfusions. Considering that NAT is relatively recent in blood banks, further studies using different time periods are suggested for yielding satisfactory results for transfusion safety and elucidating the combination of serological testing and NAT at blood banks.

Keywords: *Serology; NAT; hepatitis; blood bank; hemotherapy*

INTRODUÇÃO

A doação de sangue é uma questão de interesse mundial, principalmente no que se refere à falta de doadores e contaminação na transfusão de componentes e derivados do sangue humano[1]. Os procedimentos hemoterápicos são realizados no Brasil desde o início do século XX, quando se teve os primeiros relatos de hepatite pós transfusional. Com o desenvolvimento da biotecnologia, a transmissão de doenças pelo sangue nestes processos passou a ser relativamente rara, visto que este avanço permitiu o desenvolvimento de testes sorológicos para triagem, utilizados em banco de sangue, com uma alta sensibilidade, garantindo mais segurança no que tange aos componentes transfundidos[2]. Os serviços de hemoterapia tem como objetivo minimizar os riscos transfusionais aos doadores e receptores de sangue, especialmente quanto à prevenção da disseminação de agentes infectocontagiosos, adotando medidas quantitativas e qualitativas de segurança e agilidade na detecção de infecção nas doações de sangue[3,4].

O vírus da hepatite B (VHB) é responsável por 1,4 milhões de óbitos por ano. Devido sua alta prevalência, estima-se que cerca de 5% da população mundial sejam portadores do vírus da Hepatite B. Estudos afirmam que em cerca de 95% dos casos a infecção evolui para cura, e nos demais casos o indivíduo apresenta um quadro crônico que, quando persistente, pode evoluir para cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular, de forma que as hepatites ainda são um desafio à saúde pública, embora a vacina para a hepatite B esteja bem consolidada há cerca de 240 milhões de portadores crônicos no mundo[5,6].

O vírus da hepatite C (VHC) foi descoberto na década de 1970, pelo Departamento de Medicina de Transfusão, no Instituto Nacional de Saúde, inicialmente foi denominado como “não-A não-B”, sendo evidenciada sua transmissão em bancos de sangue. Hoje, denominado vírus da hepatite C, sabemos que trata-se de um vírus de RNA, da família *Flaviviridae*, e que apresenta como marcador sorológico o anticorpo anti-HCV. A transmissão pode ocorrer através de transplantes de órgãos de doadores infectados, uso de drogas injetáveis, terapias injetáveis com equipamento contaminado (ou não seguro), hemodiálise, exposição ocupacional ao sangue, transmissão perinatal e transmissão sexual. No período 1999 a 2018, foram notificados no Brasil 359.673 casos de hepatite C, sendo o maior percentual de provável fonte de infecção referente ao uso de drogas injetáveis (12,6%), seguido de transfusão sanguínea (10,8%) e de relação sexual desprotegida (8,9%). Os óbitos por hepatite C são a maior causa de morte entre as hepatites virais e o número de óbitos vem aumentando ao longo dos anos em todas as regiões do Brasil. De 2000 a 2017, foram identificados 53.715 óbitos associados à hepatite C. Considerada umas das formas mais importantes de contaminação, a transfusão de sangue e hemoderivados, após a padronização dos serviços de hemoterapia e introdução de novos

métodos de detecção, juntamente com a legislação vigente, se obteve uma redução significativa na disseminação do vírus da hepatite C[6,7].

Devido à vasta quantidade de doenças infecciosas que são transmitidas por transfusão sanguínea, se faz necessária a obrigatoriedade da realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade para a detecção de marcadores sorológicos de vírus nas bolsas de sangue[5,8]. No Brasil, as normas que garantem a segurança nas doações constam na Portaria nº158, de 4 de Fevereiro de 2016, Diário Oficial da União (DOU) de 05/02/2016 (Nº 25, Seção 1, pág. 37) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)[9,10].

O diagnóstico laboratorial da hepatite B e C é feito através da detecção dos elementos constituintes do vírus, por meio de testes sorológicos na pesquisa de antígenos e anticorpos, e moleculares onde se pesquisa qualitativamente e quantitativamente o material genético viral. As técnicas mais utilizadas atualmente para o diagnóstico sorológico são os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), quimiluminescência, e teste de amplificação do ácido nucleico (NAT) que inclui técnicas de PCR[11,12]. A triagem sorológica inicia-se com dois testes, um para detectar o HBsAg e outro para detectar o anticorpos IgM e IgG, ao apresentarem resultados negativos, se exclui a possibilidade de infecção do vírus da Hepatite B. Se ambos resultados apresentarem positividade, é realizada então testes para diferenciar os casos agudos (IgM anti-HBC positivo), dos crônicos ou curados (IgM anti-HBC negativo). Já para a hepatite C, é feita a pesquisa sorológica do anticorpo Anti-HBC[13]. A Portaria nº 158, de 2016 tornou obrigatória a realização do teste NAT em bancos de sangue. A técnica de NAT possui elevada sensibilidade e especificidade, o que ajuda no prognóstico, visto que reduz o período da janela imunológica. A técnica se torna complementar aos testes sorológicos sendo capaz de detectar a presença do DNA ou RNA viral, através da reação em cadeia de polimerase (PCR), pela técnica de amplificação medida por transcrição (TMA) a não-amplificação, técnica de hibridação e de captura híbrida[13,14].

O presente estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de marcadores sorológicos para Hepatite B e Hepatite C em um banco de sangue de Porto Alegre-RS bem como a correlação entre a sorologia e o teste NAT em doadores com marcadores sorológicos ou moleculares reagentes nos anos de 2017 e 2018.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e retrospectivo que foi realizado através da análise das informações de todos os doadores de sangue contidas no banco de dados do Banco de Sangue do Laboratório Marques Pereira - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, nos anos de 2017 e 2018. Este estudo está registrado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IPA, via Plataforma Brasil, com parecer número 2.777.727.

A amostra do presente estudo foi constituída pelos dados de 17.181 usuários do serviço de hemoterapia do Laboratório Marques Pereira. Os registros dos dados foram avaliados através de um software de gestão para serviços de hemoterapia (Hemodot), assim, as informações referentes aos marcadores sorológicos, Anti-HBC, HbsAg e anti-HCV, e teste NAT foram coletadas, a fim de promover uma análise da frequência destes dados na população estudada, sendo os resultados expressos em número total e porcentagem.

Os testes sorológicos utilizados pelo banco de sangue são qualitativos tratando-se de imunoensaios de micropartículas por quimioluminescência com especificidade de 99,5% e sensibilidade de 100% e estão de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde. O valor de índice a ser considerado, recomendado pelo fabricante é ≥ a 1 sorologia reagente e < 1 sorologia não reagente, no entanto o serviço trabalha com uma margem de segurança de 15% (zona cinza), onde os resultados que estiverem nesta faixa serão liberados como indeterminados, e o doador será convocado a retornar ao serviço para nova coleta. Com relação ao teste NAT, o Serviço de Hemoterapia terceiriza os testes ao Laboratório Imunolab e Hemosc, ambos atendem as normativas estipuladas pela legislação vigente – Portaria 158, de 4 de fevereiro de 2016.

RESULTADOS

O número total de candidatos à doação no período estudado foi de 17.181, sendo 9.147 doadores no ano de 2017 e 8.034 em 2018. O total de bolsas sorologicamente reagentes para um ou ambos os marcadores sorológicos da hepatite B foi de 186 (1,08%), sendo 162 (0,94%) reagentes para o Anti-HBc e 20 (0,12%) amostras foram positivas para o HbsAg. Tanto as bolsas reagentes para o Anti-HBv quando para o HbsAg foram negativas quando realizado o NAT. Apenas 4 (0,02%) amostras foram reagentes simultaneamente para o Anti-HBc e para o HbsAg, as quais foram também positivas no teste NAT. No que se refere a sorologia para hepatite C, 34 (0,37%) amostras foram reagentes em 2017 e 28 (0,30%) em 2018. Destas, 10 (0,11%) foram confirmadas pelo NAT em 2017 e 9 (0,11%) em 2018. Os dados de sorologia reagentes, separados por ano em número total e percentegem, estão demonstrados na Tabela 1. A Figura 1 ilustra o comparativo destes marcadores sorológicos com o teste NAT para as hepatites.

Tabela 1: Marcadores sorológicos para hepatite B e hepatite C separados por ano.

		2017	
		Total	**%**
HEPATITE B	Anti-HBC reagente	85	0,92
	HbsAg reagente	11	0,12
	Anti-HBC + HbsAg reagente	2	0,02
HEPATITE C	Anti-HCV	34	0,37
		2018	
		Total	**%**
HEPATITE B	Anti-HBC reagente	77	0,96
	HbsAg reagente	9	0,11
	Anti-HBC + HbsAg reagente	2	0,02
HEPATITE C	Anti-HCV	28	0,35

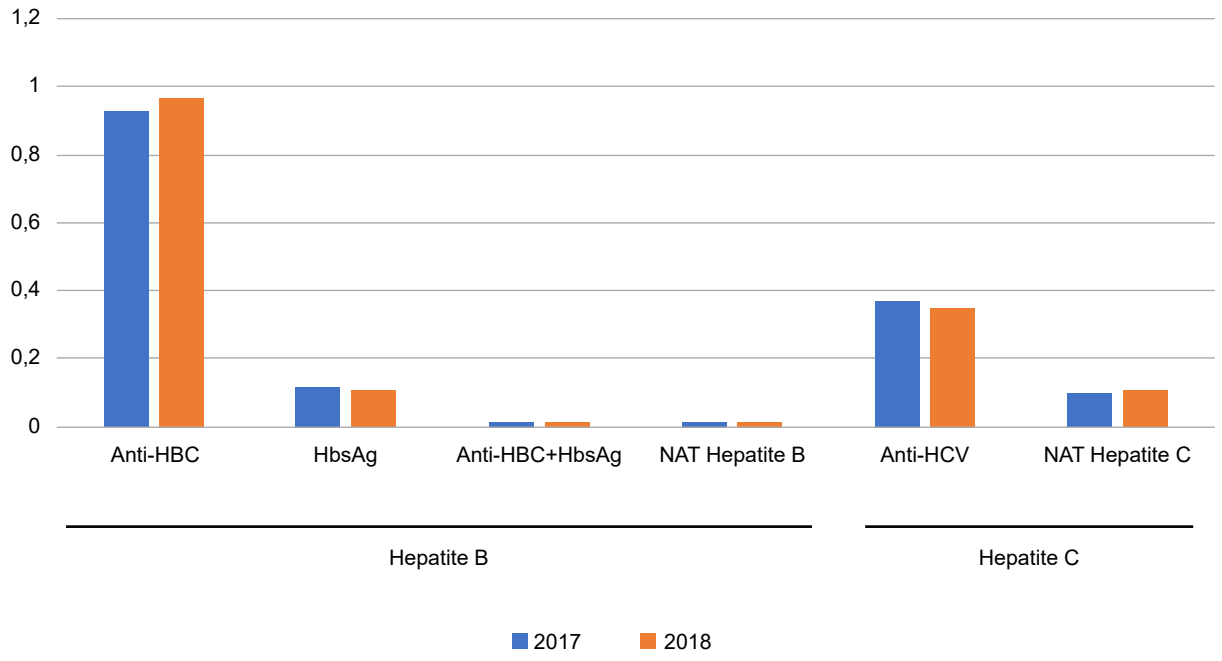

Figura 1: Marcadores sorológicos isolados e teste NAT para as Hepatites B e C.

DISCUSSÃO

Os Bancos de Sangue fornecem serviços vitais para indivíduos que necessitam de transfusão sanguínea, seja em procedimentos cirúrgicos ou até mesmo em traumas que levem a perda significativa de sangue. Neste sentido, a segurança transfusional é um quesito bastante significativo, sendo importante a realização de testes de triagem para patologias que possam ser veiculadas via transfusão sanguínea.

Nas décadas de 60 e 70, embora já houvesse legislação para processos de transfusão sanguínea, essa era responsável por grande parte da propagação de doenças infecciosas, pois alguns bancos de sangue não tinham um adequado controle de qualidade, aumentando a probabilidade de contaminação. Em 1980 foi criado o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados (Pró-Sangue) com medidas de segurança à saúde do doador e receptor. Atualmente o doador deve ser submetido a triagem clínica, hematológica e sorológica com o objetivo de minimizar o risco de transmissão de doenças via transfusão sanguínea, conforme a legislação brasileira[9,15].

A transmissão das hepatite B e C via transfusão sanguínea representam um problema de saúde pública e um desafio para os serviços hemoterápicos de forma que a constante adequação dos bancos de sangue, em consonância com a legislação vigente, vem tornando o processo de transfusão sanguínea cada vez mais seguro[10]. Avaliando os resultados obtidos

no presente estudo, constatamos que a prevalência de bolsas de sangue reagentes para os marcadores sorológicos das hepatite B e C foram maiores do que os resultados apresentados pelo teste NAT. Todos os parâmetros avaliados não apresentaram diferença significativa entre os anos. Com base nos padrões de sensibilidade e especificidade de ambas as metodologias, ressalta-se que numa infecção recente o organismo apresenta os antígenos aumentados, sendo estes detectados pela sorologia, o que explica os resultados do marcador HbsAg para a hepatite B.

Segundo o estudo de Atef et al.[16], houve uma drástica diminuição na prevalência de HBsAg nos últimos anos no Egito, uma das causas foi a melhoria dos métodos de triagem, e foi reforçado a importância da introdução do NAT em outros países para a melhor segurança transfusional, em vista da melhor capacidade desse método detectar componentes sanguíneos que contém carga viral. Os resultados apresentados nesse estudo, demonstram que 0,04% das amostras não foram reativas para HbsAg, mas positivas para o teste NAT, viabilizando a importância do NAT para detectar a fase aguda precoce de infecções pelo vírus da hepatiute B.

O estudo de Behal et al.[17] na India, mostrou que de 20.000 doadores, 450 (2,25%) foram HBsAg positivo, e os picos foram detectados em doadores do sexo masculino com idade entre 35 e 45 anos e em mulheres com idade entre 25 e 35 anos, quando os resultados deste estudo foram comparados com os relatados dos doadores de sangue semelhantes de outros países como Camarões 11,72% (35), Taiwan 4,5% (32), Etiópia 14,4% (27), Mauritânia 20,3% (20), Tailândia 4,51 % (21), Djibuti 10,4% (8), Mangolia 8,2% (33), ele mostrou prevalência relativamente menor do HbsAg.

Já um estudo realizado por de Okoroiwu et al.[18] avaliou a prevalência de HBsAg em um banco de sangue do Hospital Universitário de Calabar (UCTH), Calabar, Nigéria, no período de 2005 à 2016, o resultado encontrado foi de 3,6%, demonstrando uma decrescente na prevalência comparado a outros estudos, como na Nigéria e em Burkina Fasa, que tinham 19,3 e 19,3%, respectivamente[19].

No presente estudo, salientamos ainda, que os achados sorológicos variam de acordo com as fases de evolução da doença, o HBsAg é o antígeno de superfície do vírus, sendo o primeiro marcador sorológico a ser detectado na infecção aguda, e corresponde à presença do vírus da hepatite B, podendo ser detectado nas primeiras semanas, antes da presença dos sintomas, ou somente após a 11º semana, pois seu período de incubação é de 50 à 180 dias. O HBsAg positivo indica que o indivíduo infectado pode transmitir o vírus[12].

O anti-HBs, normalmente é detectado entre 1º a 10º semana após a negativação do HBsAg, e associa-se à imunidade. O período que compreende a não detecção do HBsAg e do anti-HBs corresponde a uma janela, sendo de muita importância e obrigatória a detecção de anti-HBc na triagem em doadores de sangue, pois nessa fase o indivíduo é potencialmente transmissor e os testes de detecção de HBsAg não são positivos[8].

Com o passar do tempo, e maturação da resposta imune, diminuem os antígenos e ocorre a elevação dos anticorpos que, neste caso, a sorologia é capaz de detectar. Portanto, quando referimos o anti-HBc reagente estamos tratando do anticorpo, podendo tanto ser um indivíduo crônico, e com títulos baixos, os quais não foram confirmados pelo NAT, que é um teste mais específico do que sensível, não determinando falsos positivos. Assim, ficam elucidados os resultados encontrados no presente estudo quando avaliamos os marcadores sorológicos, anti-HBc e HbsAg, bem como a sua associação com o NAT.

O mesmo ocorre na resposta para a hepatite C, o marcador avaliado foi o anti-HCV, teste sorológico de anticorpos. No período avaliado, não houve diferença significativa entre os anos, e o NAT foi confirmado com prevalência maior do que na Hepatite B. Tal cenário ocorre uma vez que o anti-HCV está presente em indivíduos crônicos, e por muitas vezes a titulação é baixa, passível de reações cruzadas gerando resultados falso-positivos. Entretanto, facilmente a metodologia NAT complementa os resultados sorológicos positivos através de PCR, identificando o DNA viral, sendo então um teste mais específico para doença. De acordo do estudo de Junior et al., que avaliou 799 candidatos a doação, 2,1% apresentaram sorologia reagente para hepatite C. DE acordo com o estudo, os candidatos a doadores brasileiros parecem ser acometidos simultânea ou sequencialmente, pelos vírus B e C das hepatites, pois, 44,4% dos doadores anti-HCV positivos, também foram anti-HBc positivos[17].

Os resultados reagentes para o HbsAg, estamos tratando da detecção do antígeno, indicativo de infecção aguda inicial, que não foram confirmados pelo NAT. Nos resultados, é possível observar que as amostras que apresentaram tanto detecção de anticorpos quanto de antígenos (HbsAg+anti-HBc) reagentes, foram também confirmadas pelo NAT. Salientamos ainda, que não houve diferença significativa entre os anos de 2017 e 2018, o que reforça ainda mais os resultados do presente estudo. O estudo de Houareau et al.[19] demonstrou que das 31.562.556 doações rastreadas, 70.671 eram anti-HBc reativas, em todo o período do estudo foram identificadas 82 doações positivas para o NAT.

Um total de 54.203 unidades anti-HBc reativas foram descartadas devido a possível infecciosidade. Sendo assim presume-se que a triagem anti-HBc melhorou a segurança do sangue da Alemanha[20]. Valente et al.[19], em estudo de marcadores sorológicos para as hepatites B e C em banco de sangue, demonstraram que apesar da semelhança de alguns dos seus mecanismos de transmissão, presença simultânea do HBsAg e do anti-HCV foi encontrada em apenas 2 doadores, que também apresentavam o anti-HBc. Ao mesmo tempo, observaram ainda que, dos 164 doadores positivos para o HBsAg, 136 apresentaram positividade concomitante para o anti-HBc[19].

Estudo realizado por D'Avila et al.[21] avaliou o teste NAT em banco de sangue no período entre 2015 a 2017 para o HIV, que obteve resultados semelhantes com o presente estudo. Tal fato pode ser explicado pelos padrões de sensibilidade e especificidade do teste NAT. Em ambos os estudos as amostras que apresentaram tanto detecção de anticorpos quanto de antígenos, apresentaram também reatividade para o NAT. É importante salientar que em bancos de sangue dá-se preferência por testes de triagem de alta sensibilidade, justamente para evitar que uma amostra potencialmente contaminada venha a ser transfundida, aumentando assim a segurança transfusional. Já a pesquisa, de Busch et al.[22] afirma que após a implementação do NAT para HIV, HCV e HBV, foi reduzido o risco do período de janela infecciosa, de modo que os riscos por unidade sejam < 1 em 1.000.000 nos EUA e a triagem NAT é atualmente a opção preferida para a detecção de doenças infeciosas.

Deve-se salientar que este estudo teve como objetivo avaliar a prevalência de hepatites através de testes sorológicos e teste complementar NAT, em doadores de sangue, sendo este último teste com poucos dados na literatura, visto que tornou-se obrigatório no Brasil somente em 2016, a fim de demonstrar a correlação de detecção de antígeno e anticorpo de ambas as metodologias. Observamos que o teste NAT corrobora com a sorologia nos casos em que tanto o teste de antígeno quanto de anticorpo se apresentaram positivos. Contudo a diferença entre os resultados sorológicos e do teste NAT demonstrados podem ser explicada por duas situações: a primeira relacionada com resultados falso-positivos encontrados no teste de triagem sorológica e a segunda, está relacionada com a existência de indivíduos que portam o vírus e que apresentam um alto título de anticorpos circulantes, detectáveis pela sorologia, e baixa carga viral, não sendo detectáveis pelo teste NAT. É evidente que a evolução tecnológica e científica vem auxiliando muito no que diz respeito às tentativas de minimizar os riscos oferecidos por transfusão de sangue. Considerando que o teste NAT ainda é relativamente recente nos bancos de sangue, sugere-se mais estudo com períodos diferentes de tempo para a pesquisa de resultados satisfatórios, possibilitando elucidar ainda mais os resultados voltados à segurança transfusional e a associação dos testes sorológicos e o teste NAT nos serviços de hemoterapia. Dessa forma ressaltamos a importância na pesquisa devido à quantidade de indivíduos contaminados pelos vírus das hepatites B e C que descobrem a infecção muitas vezes por meio de ações solidárias, como a doação de sangue, onde indivíduos poderão ter resultados satisfatórios em transfusões, não havendo falsos negativos nos resultados de bolsas de sangue com implantação do teste NAT nos bancos de sangue.

REFERÊNCIAS

1. Rodrigues RSM, Reibnitz KS. Estratégias de captação de doadores de sangue: uma revisão integrativa da literatura. *Texto Contexto Enferm*. 2011;20(2):384-91.
2. Monteiro D, Comparsi B. Principais fatores associados à inaptidão temporária e permanente de candidatos à doação de sangue. *Rev Sau Int*. 2015;8(15-16):1-13.
3. Carrazzone CF V, Brito AM, Gomes YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2005;26(2):93-8.
4. Zago A, Silveira MF, Dumith SC. Prevalência de doação de sangue e fatores associados, Pelotas, RS. *Rev Saude Publica*. 2010;44(1):112-20.
5. Ferreira MS. Diagnóstico e tratamento da hepatite B. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000;33(4):389-400.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim Epidemiológico de Hepatites Virais – 2017* [Internet]. Brasília (DF); 2017. [citado em 2020 Mar 20]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-de-hepatites-virais-2017
7. Busch MP, Kleinman SH, Nemi GJ. Current and emerging infectious risks of blood transfusions. *JAMA*. 2003;289(8):959-62.
8. Santos NSO, Romanos MTV, Wigg MD. *Virologia humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2015.
9. Covas DT, Ubiali EMA, Santis GC. *Manual de medicina transfusional*. São Paulo: Atheneu; 2009
10. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. *Diário Oficial da União*. 2016 Fev 5;1:37.
11. Lopes TGSL, Schinoni MI. Aspectos gerais da hepatite B. *R Ci Med Biol*. 2011;10(3):337-44.
12. Fonseca JCF. História natural da hepatite crônica B. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(6):672-7.
13. Vaz AJ, Takei K, Bueno EC. *Imunoensaios: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.

14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de aconselhamento em hepatites virais*. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005.

15. Martins PRJ, Martins RA, Moraes-Souza H, Barbosa VF, Pereira GA, Eustáquio JMJ, et al. Perfil do doador de sangue autoexcluído no Hemocentro Regional de Uberaba-MG (HRU) no período de 1996 a 2006. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2009;31(4):222-7.

16. Atef DM, Atef RM. Usefulness of nucleic acid testing among negative HBs Ag blood donors in Egypt. *Transfus Apher Sci*. 2019;58(4)468-71.

17. Gonçales FL Jr, Pedro RJ, Silva LJ, Boccato RSBS, Gonçales NSL. Hepatites pós-transfusionais na cidade de Campinas, SP, Brasil. II. Presença dos anticorpos anti-HBc e anti-HCV em candidatos a doadores de sangue e ocorrência de hepatites pós-transfusionais pelo vírus C nos receptores de sangue ou derivados. *Rev Inst Med Trop*. 1993;35(1):63-71.

18. Okoroiwu HU, Okafor IM, Asemota EA, Okpokam DC. Seroprevalence of transfusion-transmissible infections (HBV, HCV, syphilis and HIV) among prospective blood donors in a tertiary health care facility in Calabar, Nigeria; an eleven years evaluation. *BMC Public Health*. 2018;18(1):645.

19. Houareau C, Offergeld R. Anti-HBc screening – is it worth the effort? Results of a 10-year surveillance programme covering more than 30 million donations in Germany. *Vox Sang*. 2019;114(5):459-66.

20. Valente VB, Covas DT, Passos ADC. Marcadores sorológicos das hepatites B e C em doadores de sangue do Hemocentro de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(6):488-92.

21. D'Avila TF, Santos DV, Brietzke CB, Jacociunas LV. Avaliação da correlação de sorologia e teste de ácido nucleico em doadores de sangue reagentes para o vírus da imunodeficiência humana. *Clin Biomed Res*. 2018;38(4):332-8.

22. Busch MP, Bloch EM, Kleinman S. Prevention of transfusion-transmitted infections. *Blood*. 2019;133(17):1854-64.

Recebido: 1 jun, 2020
Aceito: 23 jun, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.102374

Original Article

Prevalence of red blood cell alloimmunization in multiply transfused patients

Fernanda Marcante Carlotto[1], Bruna Schmitt Puhl[1], Antônio Albuquerque Beninca[1], Bruna Accorsi Machado[2], Cristiane da Silva Rodrigues de Araujo[1,2]

ABSTRACT

Introduction: To analyze the prevalence of alloantibodies in multiply transfused patients.

Methods: This study was a retrospective, exploratory and descriptive study with a quantitative approach. The study sample comprised 185 patients transfused at a referral service in the city of Passo Fundo, Rio Grande do Sul, from January 2016 to February 2018.

Results: Overall, the antibodies identified were as follows: anti-E in 47 patients (18%), anti-D and anti-K in 28 patients each (11%), anti-C in 21 patients (8.1%), and inconclusive antibody results in 23 patients (8.9%). Females were a majority (55.7%), mean age was 48.8 years and mean quantity of blood transfused was 7.2 bags. Cardiovascular disorders were the most common comorbidities, in 39 patients (21.2%), followed by oncological disorders, in 38 patients (18.4%).

Conclusion: Alloimmunization is an important and frequent clinical condition that increases the risk of hemolytic reactions and is associated with significant patient morbidity and mortality.

Keywords: *Red blood cells; erythrocytes; alloimmunization; alloantibodies; transfusion; elderly*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):91-95

1 Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul. Passo Fundo, RS, Brasil.

2 Serviço de Hemoterapia do Hospital São Vicente de Paulo, Laboratório de Imuno-hematologia. Passo Fundo, RS, Brasil.

Autor correspondente:
Fernanda Marcante Carlotto
fmcarlotto@gmail.com
Rua Fagundes dos Reis, 466.
99010-070, Passo Fundo, RS, Brasil.

INTRODUCTION

Alloimmunization is defined as an immune response to foreign antigens after exposure to genetically different cells or tissues[1]. The increases in life expectancy and consequent population aging, has led to a greater risk of developing chronic-degenerative and oncological diseases and this, in common with the need for more complex surgeries that can require blood transfusions, has led to an increased frequency of anti-erythrocyte alloantibodies not belonging to the ABO system in the elderly population (over 60 years), demanding greater care with ensuring blood compatibility[2,3].

Chronic infectious and inflammatory diseases, neoplasms and myelodysplastic syndromes are chronic diseases that often require blood-based treatments, predisposing patients to alloimmunization. Moreover, there are also diseases such as hemoglobinopathies and autoimmune diseases that naturally predispose to alloimmunization, increasing rates of erythrocyte sensitization, to which multiparous women are also prone[4].

It is extremely important to take precautions with phenotyping and pre-transfusional compatibility testing for erythrocyte antigens, especially in the elderly population and those with critical comorbidities. Transfusion reactions in these patients can be significantly harmful, given the inherently reduced functional reserves in the elderly and the higher rate of concomitant comorbidities, which can compromise patients' general health status and aggravate possible reactions. Therefore, if blood transfusion is really necessary, it is recommended that phenotypical red blood cells should be used, identifying at least the Rh system (antigens C, c, E, and e) and Kell (K antigen), which are most strongly involved in alloimmunization and transfusion reactions[5,6].

CC BY

Alloantibodies may prove clinically significant in future transfusions or pregnancy. These antibodies can cause acute or delayed hemolytic transfusion reactions or hemolytic disease of the fetus and newborn. They can also provoke lengthy and costly investigations in the blood bank and delays in locating compatible units for future transfusions. Only a fraction of the alloantibodies formed are identified. As such, the morbidity and mortality burden of RBC alloimmunization is likely underestimated[7].

This study was motivated by the facts outlined above. The objectives were to analyze the results of routine alloantibody testing performed by the Hemotherapy service at the Hospital São Vicente de Paulo (in the northern region of Rio Grande do Sul, Brazil), highlighting the prevalence rates of alloantibodies in transfused patients and correlating them with the patients' preexisting pathologies.

METHODS

This study was a retrospective, exploratory and descriptive study using quantitative methods. The study sample comprised 185 patients transfused at a referral service in the city of Passo Fundo (RS, Brazil), from January 2016 to February 2018. The results were input to an Excel spreadsheet (Microsoft, United States). Statistical analysis of the data was performed using SPSS Statistics 20.0 (IBM, United States). Qualitative variables were expressed as frequencies and percentages while quantitative variables were expressed as means ± standard deviations. The level of significance was set at 5% ($p = 0.05$). A total of 185 patients were included and no patients were excluded.

RESULTS

A total of 22,850 red blood cell transfusions were performed during the period analyzed. We identified 259 alloantibodies, found in 185 patients. Female patients accounted for 55.7% of the sample (103 patients), mean age was 48.8 years (± 21.1), with 53.9% classified as elderly (102 patients). The most common pathologies associated with detection of alloantibodies were as follows: 39 patients (21.2%) had cardiovascular disorders, 38 patients (20.5%) had oncological pathologies, and 34 patients (18.4%) had infections and traumas. Other data are shown in Table 1. The mean blood transfusion count in this group of alloimmunized patients was 7.2 bags of blood components, with a standard deviation of + 10.4.

The antibodies identified were, in descending order of frequency: anti-E in 47 patients (18%), anti-D and anti-K in 28 patients each (11%), anti-C in 21 patients (8.1%), anti-M in 14 patients (5.4%), anti-P1 in 12 patients (4.6%), anti-c and anti-Le^a in 11 patients each (4.2%), anti-Jk^a in 10 patients (3.9%), anti-S in 9 patients (3.5%), anti-Le^b in 8 patients (3.1%), anti-Lu^a and anti-Di^a in 7 patients each (2.7%), anti-Jk^b and anti-Fy^a in 6 patients each (2.3%), anti-C^w in 4 patients (1.5%), anti-s in 3 patients (1.2%), and anti-Kp^a and anti-e in 2 patients each (0.8%). The results for 23 patients (8.9%) were inconclusive, as shown in Table 2.

DISCUSSION

Alloimmunization is an adverse effect of exposure to erythrocyte antigens and is caused by genetic disparities between donor and recipient. Formation of antibodies against one or more of these antigens is one of the risks of blood transfusion and can elicit transfusional hemolytic reactions with severities ranging from mild, with reduced effectiveness of transfusion therapy, to extremely severe, with the potential to cause the transfused patient's death[8].

The risk of alloimmunization is dependent on the recipient's exposure to the foreign antigen and its immunogenicity, defined as a given antigen's ability to stimulate production of antibodies in a patient who is not an antigen carrier[6]. Some donors express antigens in a number of copies that is so low that alloantibodies are not create in the recipient. However, others may express larger numbers of copies of the antigen, forming alloantibodies after a single transfusion[9]. Nevertheless, exposure to non-self-antigens is a necessary but not a sufficient condition of formation of alloantibodies. Genetic differences between blood donors and recipients, the dose and the form of administration, and the number and frequency of transfusions all directly impact on the alloimmunization risk[10].

Alloimmunization is one cause of transfusion associated mortality, although mortality resulting directly from alloimmunization is relatively rare. More common transfusion-related complications of red blood cell (RBC) alloimmunization include 1) transfusion delays as new alloantibodies are being identified, 2) difficulties in locating compatible blood for highly alloimmunized individuals, and 3) delayed hemolytic or serologic reactions. Acute hemolytic transfusion reactions, though rare, are also possible in alloimmunized patients. However, in the absence of future transfusions, pregnancies, or transplantation, RBC alloantibodies are not inherently dangerous[7].

Clinically significant erythrocyte alloantibodies develop in more than 30% of patients given multiple transfusions, which can represent serious problems in the case of long-term transfusional therapy. Alloimmunization increases as the number of blood units transfused rises and approximately 2 to 9% of patients may develop new alloantibodies,

while anti-K formation appears to be increased in multiply transfused patients[10]. One study showed that 50% of the population studied who received more than 10 transfusions were alloimmunized, with alloimmunized patients receiving on average 6.2 transfusions of packed red blood cells, whereas in non-alloimmunized patients the mean number of blood transfusion was 3.6[2]. In our study, alloimmunized patients had received a mean of 7.2 (SD +10.4) bags of blood components.

When clinically significant non-ABO antibodies are detected in the plasma of patients requiring red blood cell transfusions, transfusion services must find and administer erythrocytes without the corresponding antigens. Thus, in transfusion medicine, much time and effort is spent on detection and identification of blood group antibodies and on selection of a compatible product. In addition to ABO, the most clinically important antibodies are those of the Rh, Kell, Duffy, and Kidd blood group systems.[2] In a Chilean study, the most frequently identified alloantibodies were anti-E (30.8%), anti-K (26.9%), anti-D (7.7%), and anti-Fy^a (5.8%)[7]. In a Brazilian study, formation of anti-K was observed in 26.68% and antibodies against Rh system antigens were found in 20% of alloimmunized patients[2]. A Dutch study found anti-E alloantibodies in 34% of the sample, anti-K in 24.9%, anti-Fy^a in 9% and anti-c in 8.5% as the most prevalent alloantibodies[10]. In another Brazilian study, anti-E (22%), anti-D (13.18%), anti-K (11.75%), and anti-C (9.17%) were the most common[11]. In our series, the most frequently identified antibodies were: anti-E (18%), anti-D (11%), anti-K (11%), and anti-C (8.1%), while inconclusive antibody results were also prevalent (8.9%). These results confirm and are in agreement with Brazilian and international literature, showing the prevalence of antibodies with specificity for the Rh system and Kell antigen.

Additionally, some studies have shown that female patients have an increased risk of alloimmunization, mainly due to multiparity[8]. One study reports that red blood cell alloantibodies can be induced by pregnancy, being potentially harmful to fetuses and newborns. Fetal anemia, hyperbilirubinemia, and even fetal hydrops and death can result from maternal alloimmunization, with up to 1 in 300 to 1 in 600 births affected[12].

Some pathologies are also linked to a higher risk of alloimmunization, either due to the patient's immune status or due to the need for greater quantities of blood transfusions. In one study it was demonstrated that there is a higher risk of alloimmunization in patients with malignancies and digestive bleeding, followed by kidney disease, heart surgery and traumas[8]. The risk of alloimmunization is also greater in patients with autoimmune diseases (16%) and myeloid diseases (15-59%), solid tumors (up to 10%), and transplant patients, especially liver tumors (4-23%)[10]. Another study reports that alloimmunization rates are around 44% in patients with hematological neoplasms such as myelodysplastic syndrome, 20% in patients with thalassemia, and 18.7% in people with sickle cell disease[6]. Alloimmunization and autoimmunity are also linked, with an association with alloimmunization in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and ulcerative colitis[12]. On the other hand, immunosuppressed patients with leukemia have lower rates of alloimmunization[10,12].

It was demonstrated in another study that there is a greater probability that white rather than black or Asian individuals (regardless of Rh-D status) will respond to antibodies, as well as relatively high rates of red blood cell alloimmunization in patients with sickle cell disease (SCD)[12]. Patients with SCD have some of the highest rates of RBC alloimmunization of any population. This may be due in part to the relatively high transfusion burden of patients, and may also be due in part to the number of Rh variants (of D, E/e, or C/c) known to occur in patients of African descent.

However, some studies show no difference in the occurrence of alloimmunization when comparing by gender, age, or comorbid pathologies[2,10]. In our study, cardiovascular (21.2%), oncological (20.5%), infectious, and traumatic conditions (18.4%) were prevalent in patients with alloantibodies, while rheumatological diseases, chronic kidney disease, and anemia accounted for another 22.7% of the patients.

Knowledge of the clinical conditions that predispose to alloimmunization is important for two reasons: it can influence the treatment of a patient and can lead to a better understanding of the etiology of the transfusion reaction[13]. It is therefore necessary to evaluate previous surgery and past and current comorbidities, research the patient's family history and, in female patients, ask questions about gestational history. The clinical circumstances surrounding RBC transfusion are thought to impact the likelihood of the recipient becoming alloimmunized. Patients transfused in their baseline states of health are thought to be less likely to become alloimmunized than patients transfused in a state of inflammation[14]. In contrast, having acute chest syndrome at the time of a transfusion is a significant risk factor for becoming alloimmunized[15], as is having a viral illness or other inflammatory disorder[16,17].

The clinical consequence of transfusing RBCs expressing an antigen against which a recipient has alloantibodies varies by situation. Some seemingly incompatible RBCs may continue to circulate in the transfusion recipient for the remainder of their lives. In contrast, other RBCs may be completely cleared within days after transfusion in the form of a delayed hemolytic transfusion reaction. In delayed hemolytic transfusion reaction, the clinical team may observe

fever, dark urine, or hemoglobin that drops back to the pre-transfusion level. Blood bank work-up may reveal a seemingly new antibody, which was likely present pre-transfusion but below the level of detection[7].

Increases in life expectancy and technological developments have led to an increase in the number of people with chronic-degenerative diseases and to more complex surgeries that require greater amounts of blood transfusions. Thus, multiply transfused patients are highly likely to form erythrocyte alloantibodies alone or in combination, autoantibodies, and antibodies to low-incidence antigens[7,11,12].

Judicious transfusion or transfusion avoidance is one strategy for preventing RBC alloimmunization. However, this is often not feasible. Matching for some blood group antigens is recommended for patients with SCD, to reduce formation of alloantibodies to matched immunogenic antigens such as D, C/c, E/e, and K91[18].

CONCLUSION

Alloimmunization is an important and frequent clinical condition that increases the risk of hemolytic reactions and is associated with significant patient morbidity and mortality. It is an important possibility in multiply transfused patients, mainly among those with onco-hematological diseases, hemoglobinopathies, and chronic renal failure, among other pathologies and should always be remembered as a differential diagnosis.

Erythrocyte phenotyping for the antigens of the Rh (D, C, E, e), Kell (K), Duffy (Fy^a, Fy^b), and Kidd (Jk^a, Jk^b) systems is an important procedure and aims to offer the patient the blood group with the lowest possible antigenic rate. Signs and symptoms of transfusion reactions should be observed and the possibility of emergency procedures should be considered in cases of hemolytic reaction, excluding other types of transfusion reactions such as Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI), transfusion-related anaphylaxis, and sepsis.

Significant attention must be drawn to the elderly population, since they are more likely to have alloantibodies on account of previous blood transfusions, medical pathologies, and multiple pregnancies. Thus, clinical and transfusional history should be carefully investigated in order to minimize the risks of transfusion reactions, and when there is a risk that the patient is alloimmunized, transfusion of phenotyped blood components should be indicated.

Table 1: Distribution of pathologies in alloimmunized patients seen at the Hospital São Vicente de Paulo Hemotherapy Service

Disease	N	%
Cardiovascular Diseases	39	21.2
Malignant Diseases	38	20.5
Infections and Traumas	34	18.4
Gastrointestinal Diseases, Respiratory Diseases, Myelofibrosis or Malformations	32	17.3
Rheumatological and Renal Diseases	30	16.
Benign Hematological Diseases	12	6.4
	185	100%

Table 2: Frequency of alloantibodies identified in multiply transfused patients.

Alloantibodies	N	%
Anti-E	47	18
Anti-D	28	11
Anti-K	28	11
Inconclusive	23	8.9
Anti-C	21	8.1
Anti-M	14	5.4
Anti-P1	12	4.6
Anti-c	11	4.2
Anti-Le^a	11	4.2
Anti-Jk^a	10	3.9
Anti-S	9	3.5
Anti-Le^b	8	3.1
Anti-Lu^a	7	2.7
Anti-Di^a	7	2.7
Anti-Jk^b	6	2.3
Anti-Fy^a	6	2.3
Anti-C^w	4	1.5
Anti-s	3	1.2
Anti-Kp^a	2	0.8
Anti-e	2	0.8
	259	100%

Conflict of Interests

Autores declaram não ter conflito de interesse.

REFERENCES

1. Mota MA. Red cell and human leukocyte antigen alloimmunization in candidates for renal transplantation: a reality. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2013;35(3):160-1.

2. Alves VM, Martins PRJ, Soares S, Araújo G, Schmidt LC, Costa SSM, et al. Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2012;34(3):206-11.

3. Popovsky MA. Transfusion and lung injury. *Transfus Clin Biol*. 2001;8(3):272-7.

4. Williamson LM. Systems Contributing to the assurance of transfusion safety in the United Kingdom. *Vox Sang*. 1999;77(2):82-7.

5. Machado FO, Basso G, Margarida CS, Moritz RD. Evaluation the quality and satisfaction of life of patients, before admission in Intensive Care Unit and after hospital discharge. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2007;19(1):60-6.

6. Pessoni LL, Ferreira MA, Silva JCR, Alcantara KC. Red blood cell alloimmunization amonghospitalized patients: transfusion reactions and low alloantibody identification rate. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2018;40(4):326-31.

7. Tormey CA, Hendrickson JE. Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. *Blood*. 2019;133(17):1821-30.

8. Caamaño J, Musante E, Contreras M, Ulloa H, Reyes C, Inaipil V, et al. Frequency and specificity of red blood cell alloimmunization in Chilean transfused patients. *Transfus Med Hemother*. 2015;42(1):4-7.

9 Hendrickson JE, Tormey CA. Understanding red blood cell alloimmunization triggers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):446-51.

10. Schonewille H, Watering LMGV, Loomans DSE, Brand A. Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion*. 2006;46(2):250-6.

11. Cruz RO, Mota MA, Conti FM, Pereira RAA, Kutner JM, Aravechia MG, Castilho L. Prevalence of erythrocyte alloimmunization in polytransfused patients. *Einstein (Sao Paulo)*. 2011;9(2):173-8.

12. Karafin MS, Westlake W, Hauser RG, Tormey CA, Norris PJ, Roubinian NH, et al. Risk factors for red blood cell alloimmunization in the Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study (REDS-III) database. *Br J Haematol*. 2018;181(5):672-81.

13. Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus M, Vandenbroucke JP, Briet E. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion. *Transfusion*. 2007;47(11):2066-71.

14. Fasano RM, Booth GS, Miles M, Du L, Koyama T, Meier ER, et al. Red blood cell alloimmunization is influenced by inflammatory status at the time of transfusion in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2015;168(2):291-300.

15. Evers D, van der Bom JG, Tijmensen J, Middelburg RA, Haas M, Zalpuri S, et al. Red cell alloimmunisation in patients with different types of infections. *Br J Haematol*. 2016;175(5):956-66.

16. Celli R, Schulz W, Hendrickson JE, Tormey CA. A novel network analysis tool to identify relationships between disease states and risks for red blood cell alloimmunization. *Vox Sang*. 2017;112(5):469-72.

17. Ryder AB, Hendrickson JE, Tormey CA. Chronic inflammatory autoimmune disorders are a risk factor for red blood cell alloimmunization. *Br J Haematol*. 2016;174(3):483-5.

18. Tormey CA, Hendrickson JE. Irradiation of red blood cells and alloimmunization. *Lab Med*. 2017;48(2):172-7.

Received: April 20, 2020
Accepted: July 22, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.95646

Avaliação da economia gerada por meio das intervenções farmacêuticas realizadas em um hospital universitário terciário de grande porte

Evaluation of cost savings generated through pharmaceutical interventions performed in a large tertiary university hospital

Tiago Arantes[1], Cilene Cristina Durval[1], Vanusa Barbosa Pinto[1]

Clin Biomed Res. 2020;40(2):96-104

1 Divisão de Farmácia do Instituto Central, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente:
Tiago Arantes
drtiagoarantes@hotmail.com
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 255.
05403-000, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Introdução: A farmácia clínica tem como objetivo garantir uma farmacoterapia adequada ao paciente. A avaliação de prescrição é uma das principais atividades do farmacêutico clínico, o que pode resultar em intervenções e economia para a instituição, além de promover o uso racional e seguro de medicamentos. O objetivo deste estudo foi avaliar a economia gerada por meio das intervenções realizadas pelos farmacêuticos clínicos durante o processo de avaliação farmacêutica de prescrição.

Métodos: Estudo transversal, observacional e analítico, onde foi analisada a economia gerada através das intervenções realizadas pelos farmacêuticos no período entre janeiro e julho de 2017.

Resultados: Foram realizadas 3.033 intervenções no período do estudo e 943 foram incluídas. O valor da economia gerada foi de R$ 72.648,39 (US$ 23.134,95), sendo as intervenções mais frequentes relacionadas à adequação de apresentação (847) e forma farmacêutica (44). Dentre os medicamentos cujas intervenções farmacêuticas resultaram em maior economia, estão a anfotericina B lipossomal (R$ 18.919,75), a daptomicina (R$ 8.575,00), o valganciclovir (R$ 7.452,00) e a anidulafungina (R$ 7.422,35). Algumas intervenções não resultaram em economia direta do tratamento medicamentoso, como ocorreu com a risperidona comprimido (− R$ 264,04) e o sulfametoxazol+trimetoprima comprimido (− R$ 208,62), que foram substituídos por solução oral para administração por sondas.

Conclusão: O estudo demonstrou que a atuação do farmacêutico clínico resultou na efetivação de intervenções relacionadas à adequação de dose, correção de diluição, alteração de apresentação, substituição de forma farmacêutica, adequação de tempo de tratamento e a adesão aos protocolos institucionais. Essas intervenções refletiram diretamente na redução de custo dos tratamentos, otimizando recursos e gerando economia ao serviço de saúde.

***Palavras-chave**: Prescrição de medicamentos; Serviço de farmácia hospitalar; Cuidados críticos; Assistência farmacêutica; Farmacoeconomia*

ABSTRACT

Introduction: Clinical pharmacy aims to ensure appropriate pharmacotherapy for patients. Prescription evaluation is one of the main activities of the clinical pharmacist and can result in interventions and cost savings for the institution, in addition to promoting the rational and safe use of medications. The objective of this study was to evaluate cost savings generated through interventions performed by clinical pharmacists during the process of prescription evaluation.

ISSN 2357-9730

CC BY

Methods: This cross-sectional, observational, analytical study analyzed cost savings generated through interventions performed by pharmacists from January to July 2017.

Results: A total of 3,033 interventions were performed during the study period, of which 943 were included. Cost savings amounted to R$ 72,648.39 (US$ 23,134.95), and the most frequent interventions were related to the adequacy of presentation (847) and dosage form (44). The medications whose pharmaceutical interventions resulted in the greatest cost savings are liposomal amphotericin B (R$ 18,919.75), daptomycin (R$ 8,575.00), valganciclovir (R$ 7,452.00), and anidulafungin (R$ 7,422.35). Some interventions did not result in direct cost savings, such as treatment with risperidone tablet (− R$ 264.04) and trimethoprim-sulfamethoxazole tablet (− R$ 208.62), which were replaced by oral solution for tube administration.

Conclusion: The study demonstrated that the performance of clinical pharmacists resulted in the implementation of interventions related to dose adjustment, dilution correction, change of presentation, replacement of dosage form, adjustment of treatment duration, and adherence to institutional protocols. These interventions directly resulted in the reduction of treatment costs, optimizing resources and generating cost savings for the health system.

Keywords: *Drug prescriptions; hospital pharmacy service; critical care; pharmaceutical services; pharmaceutical economics*

A Assistência Farmacêutica é o conjunto de ações que visa assegurar a assistência integral, a promoção, proteção e a recuperação da saúde, tendo o medicamento como insumo essencial e visando o acesso e o seu uso racional[1].

Dentro deste contexto, encontra-se a farmácia clínica, que emprega a farmacoterapia para garantir um ótimo serviço ao paciente, promovendo qualidade, segurança e eficiência no cuidado[2].

As atividades desempenhadas pelos farmacêuticos clínicos são fundamentais para garantir o tratamento adequado, prevenir, reduzir e monitorar eventos adversos tendo como objetivos principais o sucesso terapêutico e a segurança do paciente, otimizando recursos e minimizando os custos[3,4].

A avaliação farmacêutica de prescrição é uma das atividades clínicas do farmacêutico com foco na identificação, resolução e prevenção de problemas relacionados aos medicamentos (PRM), minimizando desfechos negativos associados à farmacoterapia[4].

O resultado de uma avaliação farmacêutica adequada por resultar em uma intervenção farmacêutica, que é o ato planejado, documentado e realizado junto ao usuário e profissionais de saúde, visando resolver ou prevenir transtornos que podem ou não interferir na farmacoterapia, sendo parte integrante do processo de acompanhamento farmacoterapêutico. Por meio das intervenções é que o farmacêutico realiza suas orientações promovendo o uso racional de medicamentos[5].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o uso racional de medicamentos compreende a identificação da necessidade do uso de um medicamento, considerando sua eficácia e segurança, com doses e duração de tratamento adequados, ao menor custo para os pacientes e serviços de saúde[6].

Um estudo realizado em Hospital Universitário demostrou que 29% dos erros de medicação estão relacionados à prescrição, destes 21% referem-se a problemas de dosagem, via de administração, posologia, diluição e prescrição de medicamentos inadequados[7]. A atuação do profissional farmacêutico em hospitais contribui para a redução de erros de prescrições, além de ajudar a mudança de padrões de qualidade da prescrição. A relevância das atividades do farmacêutico clínico é destacada em estudos que demonstraram a redução de aproximadamente 66% os erros de medicamento[3]. Também se conclui que 64% dos problemas relacionados a medicamentos foram resolvidos ou evitados e que 91% das sugestões foram aceitas pelos médicos, mostrando que a intervenção farmacêutica tem contribuído na qualidade da assistência prestada ao paciente, evitando erros de medicamentos[8].

Além do uso racional, farmacêuticos também garantem o uso econômico dos medicamentos. Estima-se que gastos com medicamentos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) podem chegar a 38% do total em um hospital. Esse alto custo enfatiza a crescente importância de estudos de avaliação farmacoenocomicas, o que permitem identificar, medir e comparar os custos de diferentes terapias medicamentosas. Farmacêuticos, por meio de trabalhos como estes podem ter grande influência sobre qual a melhor alocação dos recursos, de modo a otimizar e reduzir os gastos com terapia medicamentosa[9].

Em 2015, o Ministério da Saúde gastou R$ 14,8 bilhões com medicamentos, o que correspondeu

a 13,7% do seu orçamento total. Entre 2008 e 2015, os recursos alocados para medicamentos elevaram-se em 74%, passando de R$ 8,5 bilhões até atingir R$ 14,8 bilhões em 2015. Esse percentual é praticamente o dobro do observado para a Saúde como um todo, de 36,6%. Essa elevação contínua iniciou-se em 2011 e, desde então, os valores alocados para medicamentos aumentam. O aumento deve-se ao avanço tecnológico da saúde, prevalência de erros de medicação e pelo próprio aumento no valor dos medicamentos[10]. Os custos em saúde podem ser classificados como custos diretos e custos indiretos.

Custos diretos são aqueles relacionados diretamente aos serviços de saúde, que implicam em despesas imediatas, correspondendo aos cuidados médicos e não médicos. Os custos diretos relativos aos cuidados médicos contemplam produtos e serviços desenvolvidos na prevenção ou tratamento de uma doença. Os custos diretos não médicos são decorrentes da doença, mas não envolvem os serviços médicos[11,12]

Os custos indiretos são relacionados à perda da capacidade produtiva do indivíduo ante o processo de adoecimento ou mortalidade precoce. Eles representam dias de trabalho perdidos, incapacidade de realizar as atividades profissionais e morte prematura decorrente da doença[11,12].

Considerando que as intervenções farmacêuticas têm grande relevância na prática clínica, promovendo a redução de incidência de problemas relacionados ao uso de medicamentos nas unidades de internação, deve-se levar em conta que os resultados dessas intervenções impactam diretamente nos custos envolvidos na terapia do paciente.

OBJETIVO

O objetivo do trabalho é avaliar a economia gerada por meio das intervenções realizadas pelos farmacêuticos clínicos durante o processo de avaliação farmacêutica de prescrição.

MÉTODOS

Estudo transversal, observacional e analítico, onde foi analisada a economia gerada por meio das intervenções realizadas pelos farmacêuticos clínicos da Central de Avaliação de Prescrições (CAP), nas dez Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) e sete enfermarias onde há avaliação de prescrição, do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICHC-HCFMUSP) ocorridas entre 01/01/2017 e 31/07/2017.

Durante a avaliação farmacêutica de prescrição são observados os seguintes critérios: dose, posologia (intervalo entre as doses, aprazamento e tempo de tratamento), via de administração, forma farmacêutica, indicação e possíveis reações adversas aos medicamentos prescritos. As intervenções farmacêuticas realizadas durante a avaliação de prescrição são registradas obrigatoriamente na planilha de avaliação farmacêutica e evoluídas no sistema eletrônico de prescrição.

Para avaliação da economia gerada, foram analisadas as intervenções farmacêuticas registradas nas planilhas da Farmácia Clínica e, posteriormente foram consultados os desfechos das intervenções realizadas, por meio de confirmação no sistema informatizado de prescrição, considerando medicamentos suspensos, doses alteradas, medicamentos substituídos e tempo de tratamento modificado.

Foram excluídas as intervenções que não resultariam em fornecimento dos medicamentos, como: mudança de horário de aprazamento dos medicamentos, prescrição emitida em duplicidade para o mesmo período, medicamento prescrito em forma farmacêutica que inviabiliza o fracionamento, ausência de algum tipo de informação na prescrição, medicamentos prescritos em cuidados de enfermagem e as intervenções não aceitas pela equipe médica.

Todas as intervenções incluídas no estudo foram confirmadas no sistema eletrônico de prescrição e avaliadas quanto aos seus desfechos.

Para cálculo do custo do tratamento, o valor unitário de cada medicamento foi multiplicado pela dose e tempo de tratamento, obtendo-se assim o valor de cada tratamento antes da intervenção. Com base na intervenção realizada, a posologia, quantidade de frascos ou comprimidos foram modificados e um novo cálculo foi realizado, obtendo-se assim o custo do tratamento pós-intervenção. Subtraiu-se do valor do tratamento antes da intervenção o valor do tratamento pós-intervenção, obtendo-se o valor da economia gerada.

Para cálculo do valor do tratamento foi considerado o valor do medicamento com ata de registro de preço vigente no momento da intervenção, obtido do programa *Dinamics*® AX GRP, utilizado pelo hospital para registro dos processos de aquisição.

RESULTADOS

Durante o período de estudo, foram registradas 3033 intervenções nas planilhas da farmácia clínica. Considerando os critérios de exclusão, foram desconsideradas 2090 intervenções e foram incluídas 943 intervenções, que resultaram na economia de R$ 72.648,39.

Na Tabela 1 estão relacionados os valores dos medicamentos mais relevantes no estudo, o tipo de

intervenção realizada, o valor do tratamento antes e após a intervenção farmacêutica e a economia gerada.

Na Tabela 2 estão descritos os medicamentos que sofreram intervenções de acordo com os critérios de inclusão, porém a substituição da apresentação ou da forma farmacêutica não resultou em economia.

Dentre todas as unidades avaliadas, as que mais sofreram intervenções farmacêuticas foram as UTIs cirúrgicas com 415 (44,01%), UTIs clínicas com 296 (31,39%) e enfermarias corresponderam a 232 (24,60%). O valor da economia gerada em cada tipo de unidade está descrito na Tabela 3.

Tabela 1: Relação dos medicamentos cujas intervenções resultaram em maior economia

Medicamento	Tipo de intervenção	Tratamento antes da intervenção	Tratamento depois da intervenção	Economia estimada gerada
Anfotericina B Lipossomal 50 mg frasco ampola	Tempo de tratamento	R$ 211.144,41	R$ 192.224,66	R$ 18.919,75
Daptomicina 500 mg frasco ampola	Adequação de dose	R$ 17.150,00	R$ 8.575,00	R$ 8.575,00
Valganciclovir 450 mg comprimido	Protocolo de tratamento	R$ 10.803,54	R$ 3.351,00	R$ 7.452,54
Anidulafungina 100 mg frasco	Adequação de dose	R$ 16.329,17	R$ 8.906,82	R$ 7.422,35
Voriconazol 200 mg comprimido	Adequação de dose	R$ 13.476,00	R$ 6.738,00	R$ 6.738,00
Imunoglobulina humana 6 g frasco	Tempo de tratamento	R$ 16.800,00	R$ 10.500,00	R$ 6.300,00
Terlipressina 1 mg frasco ampola	Protocolo de tratamento	R$ 4.626,00	R$ 535,20	R$ 4.090,80
Ganciclovir 250 mg bolsa	Adequação de apresentação	R$ 12.516,00	R$ 8.640,00	R$ 3.876,00
Enoxaparina 20 mg seringa	Adequação de apresentação	R$ 13.237,03	R$ 10,846,16	R$ 2.390,87
Anfotericina B complexo lipídico 100 mg frasco	Diluição inadequada	R$ 2.130,00	R$ 0,00	R$ 2.130,00
Ondansetrona 4 mg ampola	Adequação de apresentação	R$ 3.420,06	R$ 2.121,22	R$ 1.298,84
Metilprednisona 500 mg frasco	Adequação de apresentação	R$ 1.709,73	R$ 910,60	R$ 799,13
Colistimetato 150 mg frasco	Adequação de apresentação	R$ 1.401,96	R$ 700,98	R$ 700,98

Tabela 2: Relação dos medicamentos cujas intervenções não resultaram em economia

Medicamento	Tipo de intervenção	Tratamento antes da intervenção	Tratamento depois da intervenção	Diferença financeira
Risperidona 1 mg comprimido	Adequação de forma farmacêutica	R$ 8,96	R$ 273,00	− R$ 264,04
Sulfametoxazol+trimetoprima 400/80 mg comp.	Adequação de forma farmacêutica	R$ 13,68	R$ 222,30	− R$ 208,62
Risperidona 2 mg comprimido	Adequação de forma farmacêutica	R$ 4,77	R$ 136,50	− R$ 131,73
Captopril 12,5 mg comprimido	Adequação de apresentação	R$ 40,92	R$ 130,20	− R$ 89,28
Carbamazepina 200 mg comprimido	Adequação de forma farmacêutica	R$ 5,82	R$ 66,00	− R$ 60,18
Tacrolimo 1 mg capsula	Adequação de apresentação	R$ 1.354,08	R$ 1.395,12	− R$ 41,04
Lamivudina 150 mg comprimido	Adequação de forma farmacêutica	R$ 28,56	R$ 56,31	− R$ 27,75
Levotiroxina 100 mcg comprimido	Adequação de apresentação	R$ 6,56	R$ 12,55	− R$ 5,99

Tabela 3: Intervenções realizadas e economia gerada por tipo de unidade

Clínica	Total de intervenções	N (%)	Economia estimada
UTIs Cirúrgicas	415	44,01%	R$ 34.249,19
UTIs Clínicas	296	31,39%	R$ 10.521,20
Enfermarias	232	24,60%	R$ 27.878,00
Total	**943**	**100 %**	**R$ 72.648,39**

UTIs: Unidades de Terapia Intensiva.

Em todas as unidades avaliadas, a intervenção mais frequente foi a adequação de apresentação que resultou em 847 intervenções. Na Tabela 4 está listada a relação dos medicamentos que mais sofreram intervenções.

Os medicamentos que mais sofreram alterações de apresentação farmacêutica foram a ondansetrona 4mg sendo substituída pela apresentação de 8mg e a enoxaparina 20mg sendo substituída pela enoxaparina 40mg. As substituições foram realizadas considerando a dose prescrita e a apresentação selecionada no sistema de prescrição, que resultava no atendimento de um número maior de ampolas ou seringas, que acarretava tanto em maior desconforto ao paciente em receber duas administrações subcutâneas de enoxaparina, quanto ao número maior de manipulação de ampolas de ondansetrona pela equipe de enfermagem para alcançar a dose prescrita. Cabe ressaltar que esses ajustes de apresentação também contribuem para redução dos resíduos relacionados à assistência à saúde. Os tipos de intervenções realizadas estão listados na Figura 1.

A segunda intervenção mais realizada foi a adequação de forma farmacêutica, totalizando 44 intervenções e ocorre quando comprimidos e cápsulas são substituídos por suspensões ou soluções orais para administração através de sondas nasoenterais. Nesta categoria, os medicamentos que mais sofreram intervenção foram o sulfametoxazol + trimetoprima comprimido e a risperidona comprimido.

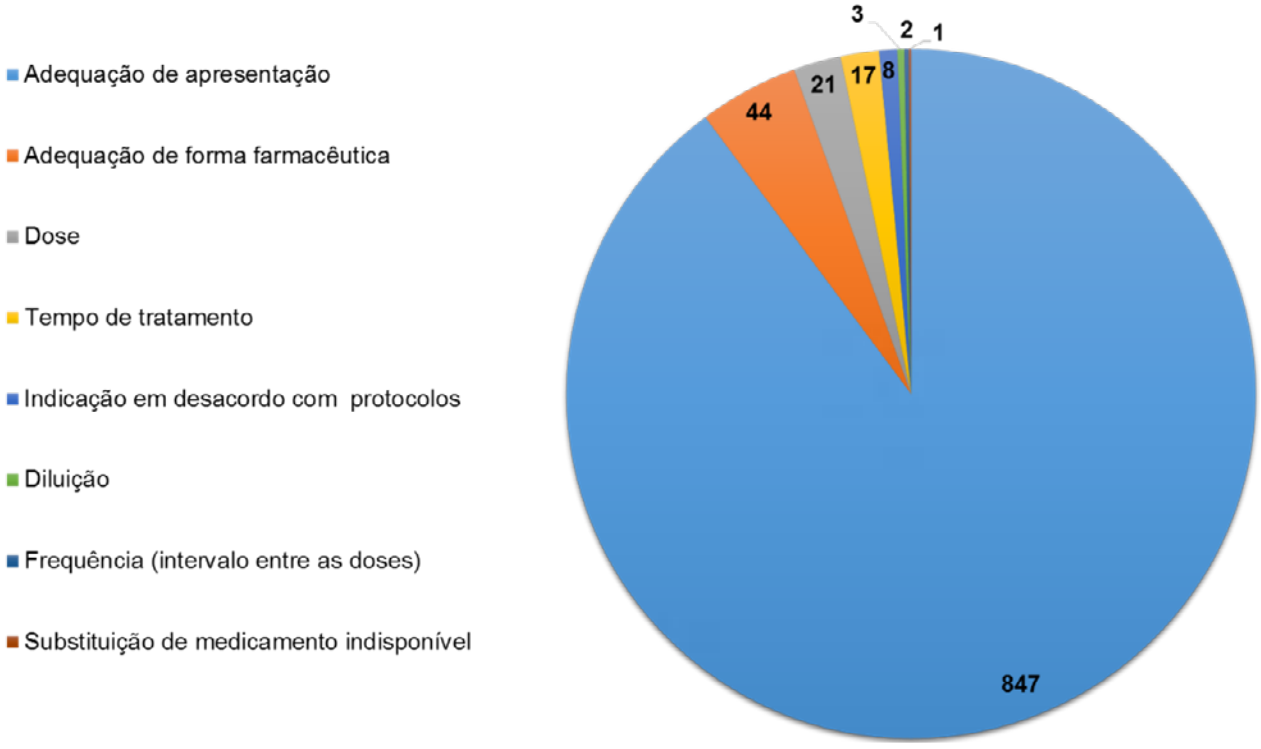

Figura 1: Tipos de intervenções realizadas pelos farmacêuticos clínicos durante a avaliação de prescrição

Tabela 4: Relação dos medicamentos que mais sofreram intervenções

Medicamento	Total de intervenções	Valor
Ondansetrona 4 mg ampola	611	R$ 1.298,84
Enoxaparina 20 mg seringa	98	R$ 2.390,87
Metilprednisolona 500 mg frasco ampola	40	R$ 799,13
Ganciclovir 250 mg frasco ampola	13	R$ 3.876,00
Atorvastatina 10 mg comprimido	11	R$ 16,96
Sulfametoxazol+trimetoprima 400/80 mg comp.	11	R$ -208,62
Enoxaparina 60 mg seringa	8	R$ 166,97
Prednisona 20 mg comprimido	8	R$ 2,16
Anidulafungina 100 mg frasco ampola	7	R$ 7.422,35
Levotiroxina 100 mcg comprimido	7	− R$ 5,99
Risperidona 1 mg comprimido	7	− R$ 264,04
Risperidona 2 mg comprimido	7	− R$ 131,73
Enalapril 5 mg comprimido	6	R$ 9,60
Tacrolimo 1 mg comprimido	6	− R$ 41,04
Anfotericina B lipossomal 50 mg	5	R$ 18.919,75
Carbamazepina 200 mg comprimido	5	− R$ 60,18
Cefuroxima 750 mg	5	R$ 43,50
Valganciclovir 450 mg comprimido	5	R$ 7.452,54
Imunoglobulina humana 6 g frasco ampola	4	R$ 6.300,00

Nas intervenções relacionadas a medicamentos prescritos em desacordo com os protocolos da instituição, a mais comum foi a substituição de valganciclovir comprimido por ganciclovir solução injetável para pacientes internados com dispositivos invasivos (cateteres).

DISCUSSÃO

A economia gerada com as intervenções farmacêuticas neste estudo foi de R$ 72.648,39 (US$ 23.134,95) em um período de sete meses. Estudo realizado em um hospital em Ohio durante 13 semanas, com 332 intervenções obteve uma economia de R$ 56.617,80 (US$ 18.030,00)[13]. Um estudo semelhante realizou 310 intervenções pelo mesmo período e a economia reportada foi de R$ 250.346,16 (US$ 79.723,00)[14]. Outro estudo realizado durante 2 meses em um hospital especializado em oncologia, com 262 intervenções realizadas, demonstrou economia em R$ 33.217,65 (US$ 10.578,86)[15]. Apesar dos quatro estudos demonstrarem economia relacionada as intervenções farmacêuticas, é difícil realizar comparações devido ao período de execução dos estudos e os tipos de instituições envolvidas.

A intervenção mais frequente foi relacionada à adequação de apresentação, totalizando 847 intervenções. Essa intervenção refere-se aos medicamentos que possuem mais de uma dose padronizada na instituição, com o objetivo de contemplar as diversas indicações de tratamento e, durante a elaboração da prescrição a apresentação selecionada foi a mais adequada, o que poderia resultar em um número maior de ampolas ou capsulas atendidas por horário de administração ou maior número de aplicações de medicamentos, que poderia resultar em maior desconforto ao paciente.

Com relação às intervenções de adaptação de forma farmacêutica, comprimidos e capsulas não são desenvolvidos com finalidade de administração via sonda enteral e, quando triturados ou desencapsulados, podem sofrer alteração em sua farmacocinética impactando na terapêutica, além do risco de obstrução de sonda e danos ao trato gastrointestinal[16]. Os pacientes hospitalizados por vezes ficam impossibilitados de receber medicamentos por via oral, sendo necessária a administração através de sondas. Com isso, torna-se fundamental a disponibilização de suspensões e soluções orais de alguns medicamentos, para minimização destes problemas. Um estudo mostrou que a intervenção farmacêutica neste aspecto foi

eficaz na redução de obstrução de sondas, erros de medicamento pela equipe da enfermagem e diminuiu o tempo de internação[17]. O ICHC-FMUSP conta com uma Unidade de Farmacotécnica Hospitalar (UFAR), que possui um Setor de Manipulação, onde a principal atividade é a personalização de fórmulas farmacêuticas, sendo padronizadas diversas suspensões e soluções orais para atendimento dos pacientes hospitalizados.

Nos casos de adaptação de forma farmacêutica, como ocorreu com a risperidona 1 mg comprimido e sulfametoxazol 400 mg + trimetoprima 80 mg comprimido que foram substituídos pelas apresentações em suspensão oral, inicialmente houve um aumento do custo direto envolvendo apenas o valor dos medicamentos (R$ 264,04 e R$ 208,62 respectivamente), entretanto considerando os riscos de contaminação cruzada durante a trituração dos comprimidos, obstrução de sonda, intoxicação ou ineficácia terapêutica que podem resultar em aumento do tempo de internação hospitalar, esses valores adicionais mostram-se pouco relevantes quando observamos a segurança obtida com o processo.

Protocolos com diversas finalidades foram instituídos no ICHC-FMUSP. Os protocolos de antibioticoprofilaxia no paciente cirúrgico, de maneira geral, visam diminuir a incidência de infecções de sítio cirúrgico. O uso adequado do antimicrobiano evita o desenvolvimento de resistência bacteriana, reduz morbidade e mortalidade associada a infecções de sítio cirúrgicos, além de diminui custos hospitalares, pois este tipo de infecção pode duplicar os cuidados com a saúde, levando a um aumento médio de sete dias no tempo de internação[18,19]. Neste estudo o medicamento mais prescrito para profilaxia cirúrgica em desacordo com o protocolo foi a cefuroxima 750mg. De acordo com o Guia de utilização de anti-infecciosos do HCFMUSP, este antimicrobiano deve ser utilizado por 24 horas[20]. O antibiótico profilático mantido na prescrição por período superior a 24 horas é identificado durante a avaliação farmacêutica de prescrição, sendo realizada a intervenção junto ao prescritor para suspensão do medicamento.

Outros medicamentos pertencentes a protocolos relevantes para a instituição são a terlipressina e o valganciclovir. A terlipressina é de uso restrito para os diagnósticos de síndrome hepatorrenal e hemorragia digestiva alta varicosa e, quando prescrito para outros diagnósticos, é solicitada substituição por octreotida conforme preconiza o protocolo. O valganciclovir é um antiviral oral de uso restrito para pacientes ambulatoriais, e, para pacientes internados pode ser substituído por ganciclovir. Em ambos os casos, prescrições em desacordo com os protocolos geram custos desnecessários para a instituição e uso irracional dos medicamentos. Sendo assim, a intervenção para ambos os medicamentos sempre será necessária, tanto para solicitar a substituição para octreotida, no caso da terlipressina, quanto para solicitar a troca por ganciclovir ou uma justificativa de uso, no caso do valganciclovir. A literatura descreve a importância dos serviços clínicos farmacêuticos e de suas intervenções realizadas junto a equipe médica, que promovem maior segurança no processo medicamentos e racionalização na prescrição de medicamentos de alto custo[21].

As intervenções relacionadas à dose podem ser aplicadas em diversos casos como, ajuste em relação à função renal, manutenção de dose de ataque por tempo superior ao preconizado e ajuste de dose baseado na indicação clínica, conforme preconizado nos *guidelines* de tratamento, que promovem segurança ao processo terapêutico e otimizam a utilização dos recursos. Dentre as intervenções relacionadas às doses dos medicamentos prescritos, a anidulafungina foi o item mais vezes prescrito em doses de ataque por período superior ao preconizado. Este antifúngico sistêmico é administrado em uma dose de ataque (primeira dose), que corresponde ao dobro da dose de manutenção, para se alcançar o estado de equilíbrio, seguido de doses diárias de manutenção[22]. Foram encontrados sete casos onde a dose de ataque seria prescrita por todo o tratamento, sendo necessária intervenção do farmacêutico clínico, sugerindo alteração para dose de manutenção. Ainda referente à dose, apesar de ter ocorrido apenas uma intervenção em cada medicamento, os antimicrobianos daptomicina e voriconazol, devido ao preço elevado, apresentaram uma economia significativa (R$ 8.575,00 e R$ 6.738,00) após adequação da dose prescrita, sem comprometimento da segurança do tratamento instituído.

Referente à duração do tratamento, foram prescritos cinco tratamentos com anfotericina b lipossomal e quatro tratamentos com imunoglobulina humana por períodos superiores aos preconizados pelos protocolos de tratamento, sendo que nestes casos, o farmacêutico clínico interviu junto à equipe médica para que os medicamentes fossem suspensos das prescrições. A anfotericina b lipossomal foi individualmente o medicamento cujas intervenções resultaram em maior economia para a instituição (R$ 18.919,75).

Este estudo apresentou algumas limitações, como a impossibilidade de validar todas as intervenções registradas nas planilhas de avaliação (3.033) no sistema de prescrição eletrônica da instituição, pois

durante a elaboração do trabalho houve mudança do sistema de prescrição eletrônica que acarretou na perda de informações de alguns prontuários, impossibilitando a inclusão de um número maior de intervenções farmacêutica devido a muitos dados não serem recuperados, entretanto todas as 943 intervenções inseridas no trabalho tiveram todas as informações recuperadas e validadas.

Com relação aos medicamentos manipulados, produzidos pela UFAR, estes não puderam ter sua economia calculada devido à falta destas informações no programa *Dinamics*® AX GRP, que é utilizado para registro de preços dos medicamentos licitados e não foram contabilizados.

Cabe ressaltar que os valores utilizados para cálculo da economia gerada foram baseados nos preços vigentes registrados por meio de processos licitatórios na modalidade pregão (negociação pautada pelo menor preço), onde os valores praticados pela instituição, que é um hospital público, são significativamente inferiores aos negociados pelas instituições privadas.

Outro aspecto importante é que dentro deste estudo foram considerados apenas os valores relacionados aos medicamentos e as intervenções vinculadas à avaliação de prescrição, o que já nos mostra uma importante economia e racionalização dos recursos.

CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que a atuação do farmacêutico clínico, por meio da avaliação farmacêutica de prescrição, resultou na efetivação de intervenções referentes à adequação de dose, correção de diluição, alteração de apresentação, adaptação de forma farmacêutica, adequação de tempo de tratamento e adesão as indicações preconizadas nos protocolos institucionais. Essas intervenções refletiram diretamente na redução de custo dos tratamentos, otimizando recursos e gerando economia ao serviço de saúde. Algumas intervenções resultaram em aumento dos custos dos tratamentos, entretanto estavam relacionados a critérios de segurança no processo medicamentoso.

Conflitos de interesse:

O estudo proposto dispensa o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido por tratar-se do estudo observacional, sem contato direto com pacientes e prescritores e manuseio de material biológico dos casos incluídos.
A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética sob o número CAAE: 79724417.1.0000.0068 e parecer: 2.397.603.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução n.338, de 6 de maio de 2004*. Diário Oficial da União; 6 maio 2004.
2. Gallagher J, McCarthy S, Byrne S. Economic evaluations of clinical pharmacist interventions on hospital inpatients: a systematic review of recent literature. *Int J Clin Pharm*. 2014;36(6):1101-14.
3. Carvalho FD, Rodrigues ML, Cordeiro A. Atividades Clínicas na Farmácia Hospitalar. In: Novaes MR, Souza NN, Néri ED, Carvalho FD, Bernardino HM, Marcos JF, organizadores. *Guia de boas práticas em farmácia hospitalar e serviços de saúde*. São Paulo: Ateliê Vide o Verso; 2009. p. 267 -84.
4. Comitê de Consenso. Tercer consenso de Granada sobre problemas relacionados con medicamentos (PRM) y resultados negativos asociados a la medicación (RNM). *Ars Pharm*. 2007;48(1):5-17.
5. Ivama AM, Noblat L, Castro MS, Oliveira NVBV, Jaramillo NM, Rech N. *Consenso brasileiro de atenção farmacêutica: proposta* [Internet]. Brasília, DF; 2002 [citado 3 jul 2019]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/PropostaConsensoAtenfar.pdf
6. World Health Organization. *The rational use of drugs: report of the conference of experts* [Internet]. Geneva: WHO; 1987 [citado 1 jun 2019]. Disponível em: http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s17054e/s17054e.pdf.
7. Silva AEBC, Cassiani SHB. Erros de medicação em hospital universitário: tipos, causas, sugestões e providências. *Rev Bras Enferm*. 2004;57(6):671-4.
8. Aburuz SM, Bulatova NR, Yousef AM, Al-Ghazawi MA, Alawwa IA, Al-Saleh A. Comprehensive assessment of treatment related problems in hospitalized medicine patients in Jordan. *Int J Clin Pharm*. 2011;33(3):501-11.
9. Araujo RQ, Almeida SM. *Farmácia clínica na unidade de terapia intensiva* [Internet]. Brasília, DF; 2008 [citado 20 abr 2018]. Disponível em: http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/68/encarte_farmacia_hospitalar.pdf
10. David G, Andrelino A, Beghin N. *Direito a medicamentos: avaliação das despesas com medicamentos no âmbito federal do Sistema Único de Saúde entre 2008 e 2015* [Internet]. Brasília, DF; 2016 [citado 20 abr 2018]. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/17/Livro-Direito-a-medicamentos-Avalia----o-das-despesas-INESC--2016.pdf
11. Secoli SR, Padilha KG, Litvoc J, Maeda ST. Farmacoeconomia: perspectiva emergente no processo de tomada de decisão. *Cien Saude Colet*. 2005;10:287-96.

12. Mota DM. Avaliação farmacoeconômica: instrumentos de medida dos benefícios na atenção farmacêutica. *Acta Farm Bonaerense*. 2003;22(1):73-80.

13. Miyagawa CI, Rivera JO. Effect of pharmacist interventions on drug therapy costs in a surgical intensive-care unit. *Am J Hosp Pharm*. 1986;43(12):3008-13.

14. Chuang LC, Sutton JD, Henderson GT. Impact of a clinical pharmacist on cost saving and cost avoidance in drug therapy in an intensive care unit. *Hosp Pharm*. 1994;29(3):215-8.

15. Aguiar KS, Santos JM, Cambrussi MC, Picolotto S, Carneiro MB. Segurança do paciente e o valor da intervenção farmacêutica em um hospital oncológico. *Einstein (São Paulo)*. 2018;16(1):eAO4122.

16. Lima G, Negrini NMM. Assistência farmacêutica na administração de medicamentos via sonda: escolha da forma farmacêutica adequada. *Einstein (São Paulo)*. 2009;7(1):9-17.

17. Van den Bemt PMLA, Cusell MBI, Overbeeke PW, Trommelen M, Van Dooren D, Ophorst WR, et al. Quality improvement of oral medication administration in patients with enteral feeding tubes. *Qual Saf Health Care*. 2006;15(1):44-7.

18. Bassetti M, Righi E, Astilean A, Corcione S, Petrolo A, Farina EC, et al. Antimicrobial prophylaxis in minor and major surgery. *Minerva Anestesiol*. 2015;81(1):76-91.

19. Pires MR, Gastal SL, Silva CF, Dallé J, Deutschendorf C, Kuplich NM, et al. Avaliação do uso de cefazolina como profilaxia antibiótica em procedimentos cirúrgicos. *Rev HCPA*. 2012;32(1):18-23.

20. Levin AS, Dias MB, Oliveira MS, Perdigão Neto LV, Vinhole AR. *Guia de utilização de anti-infecciosos e recomendações para a prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde*. 6a ed. São Paulo: Hospital das Clínicas; 2014.

21. Dalton K, Byrne S. Role of the pharmacist in reducing healthcare costs: current insights. *Integr Pharm Res Pract*. 2017;6:37-46.

22. Whalen K, Finkel R, Panavelil TA. Farmacologia Ilustrada. 6a ed. São Paulo: Artmed; 2016.

Recebido: 19 nov, 2019
Aprovado: 30 abr, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.102681

Adherence to inhalation therapy and quality of life in children with cystic fibrosis: a cross-sectional study

Thaís Peruch[1], Taiane dos Santos Feiten[2], Josani da Silva Flores[2], Paulo de Tarso Roth Dalcin[2], Bruna Ziegler[2]

ABSTRACT

Introduction: Inhalation therapy is a crucial part of the cystic fibrosis (CF) treatment regimen. Drugs that assist in mucociliary clearance and inhaled antibiotics are used by most patients.

Methods: This is a cross-sectional study where patients with CF and their caregivers answered questionnaires regarding their adherence to inhalation therapy and QoL. Demographic, spirometric, and bacteriological data, as well as S-K scores and hospitalization frequencies were also collected.

Results: We included 66 patients in this study; participants had a mean age of 12.3 years and Z-scores of -1.4 for forced expiratory volume in 1 second and 48.6 for body mass index. Patients were divided into 2 groups according to their self-reported adherence to inhalation therapy: high adherence (n = 46) and moderate/low adherence (n = 20). When comparing both groups, there was no statistically significant differences in age, sex, family income, and S-K score ($p > 0.05$). The high-adherence group had had shorter hospitalization periods in the previous year ($p = 0.016$) and presented better scores in the following domains of the QoL questionnaire: emotion ($p = 0.006$), eating ($p = 0.041$), treatment burden ($p = 0.001$), health perception ($p = 0.001$), and social ($p = 0.046$).

Conclusions: A low self-reported adherence to inhalation therapy recommendations was associated with longer hospitalizations in the previous year and with a decrease in QoL in pediatric patients with CF.

Keywords: *Cystic fibrosis; adherence; nebulization; quality of life*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):105-110

1 Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e HCPA, Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:
Bruna Ziegler
brunaziegler@yahoo.com.br
HCPA e Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, UFRGS.
Travessa Miranda e Castro 70/204.
90040-280, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CF) is a complex autosomal recessive genetic disease; it is potentially lethal and more common in the White population. A change in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) protein, which is a chloride channel, causes an electrolyte imbalance and results in structural lung damage, chronic pulmonary infection by drug-resistant microorganisms, and malnutrition, with debilitating symptoms and frequent hospitalizations that require intensive treatment[1].

The mean average age of patients with CF has increased significantly in recent decades owing to early diagnosis and appropriate therapy provided by specialized multidisciplinary centers[2]. The therapeutic regimen is extensive and includes antibiotic therapy, airway hygiene, physical exercise, mucolytic agents, bronchodilator and anti-inflammatory medications, nutritional support, and oxygen supplementation[3,4]. The development of CFTR-modulating drugs has shifted the focus of CF treatment strategies: Instead of only treating the consequences of organic damage, these medications will allow the correction and restoration of protein function. However, this kind of treatment is not

CC BY

yet suitable for all individuals with CF and does not replace the symptomatic treatment[1,5].

Inhalation therapy is crucial in the treatment of CF. Drugs that assist in mucociliary clearance and inhaled antibiotics are used in most patients[2]. Mucolytics present benefits in lung function, quality of life (QoL), and respiratory exacerbations, while inhaled antibiotics can delay the deterioration of lung function in patients that are chronically infected with *P. aeruginosa*[3]. However, inhalation therapy requires great involvement of the patient and his or her family, with a daily routine that demands time and dedication. The barriers to treatment adherence are multifactorial, involving aspects related to disease severity, education, as well as emotional and behavioral characteristics of parents and children[6]. In the pediatric population, the difficulty in establishing treatment routines faced by the parents or guardians and the use of trial and error methods represent obstacles to treatment adherence; anticipatory guidance from the multidisciplinary team can facilitate disease management[7,8].

The present study aims to assess the self-reported adherence to inhalation therapy in children with CF, in addition to the associations between adherence and lung function, clinical score, and QoL.

METHODS

This cross-sectional study was conducted with patients with CF that were followed by the Pediatric Pulmonology Team at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). The study sample consisted of children and adolescents diagnosed with CF[3] and aged between 6 and 17 years.

Sample selection was performed consecutively, considering all patients in follow-up visits who met the inclusion criteria. Individuals in stable clinical conditions for at least 30 days without hospitalization or changes in the maintenance therapy regimen were included in the study. Individuals with neurological disorders who had difficulties in answering the questionnaires were excluded. Our research was approved by the Ethics Committee of HCPA under protocol number 14-0157, and informed consent was obtained from the parents or guardians of the patients.

After accepting to participate in our study, the children answered an initial questionnaire along with their guardians. This questionnaire was developed by the authors and inquired about their adherence to inhalation therapy with objective questions regarding the previous 2 weeks, such as: How many days per week and how many times per day inhalation therapy was usually performed? Subsequently, the Cystic Fibrosis Questionnaire (CFQ) was applied; this questionnaire was developed for individuals with CF and validated for Brazilian Portuguese[9]. Both questionnaires were applied by a researcher not linked to the hospital's CF team. The team's physical therapist answered the same questions and recorded the inhalation therapy recommendations for each participant, according to the prescription issued by the care team.

A general data collection form was also applied, including the following information: sex, age, age at diagnosis, body mass index (BMI), sputum bacteriology, lung function data, days of hospitalization, number of hospitalizations in the previous year, and Shwachman-Kulczycki (S-K) score[10].

Spirometry was performed at the Pulmonary Physiology Unit of the Pulmonology Service at HCPA, with the patient in a sitting position and using a model v4.31a spirometer (Jaeger, Würzburg, Germany) in accordance with Brazilian guidelines for technical acceptability[11]. Results of forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV_1), and FEV_1/FVC were recorded. The parameters were also expressed in Z-scores[12].

Statistical Analyses

Data were analyzed using SPSS version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Patients were classified into 2 groups according to the self-reported adherence to inhalation therapy in the last 2 weeks: high adherence (performed the treatment recommended by the physiotherapist and rarely missed any sessions), moderate/low adherence (often or always missed the sessions recommended by the physiotherapist).

Quantitative data were presented as means and standard deviations (SDs). Categorical data were expressed in frequencies and proportions of the studied population. Continuous variables were compared using a Student's t-test for independent samples. Ordinal or continuous variables that did not present normal distributions were compared using the Mann-Whitney-Wilcoxon U test. Qualitative data were analyzed using the chi-squared test, and when necessary, a Yates' correction or Fisher's exact test were used. The agreement between the recommendations made by the care team and the reports of patients regarding inhalation therapy was evaluated using the kappa agreement coefficient.

All statistical tests used were two-tailed and considered a significance level of $p < 0.05$. The sample size was calculated considering the proportion between the high-adherence group and the moderate/low-adherence group. For an expected proportion of moderate/low adherence of 0.40 and using a total range of 0.25 with a 95% confidence level, the appropriate sample size would be 59 patients.

RESULTS

During the study period, the HCPA Pediatric Pulmonology Team followed 72 individuals aged 6 to 17 years. Two patients did not meet the inclusion criteria for pulmonary exacerbation, requiring hospitalization, and 4 patients did not attend consultations during the study period. Therefore, 66 individuals with a mean age of 12.3 (SD, 3.2) years were included in this study, of which 55% were heterozygous for the F508del mutation, 26% were homozygous for the F508del mutation, and 19% had no identified mutations.

According to their self-reported adherence, 46 individuals were classified with high adherence (69%) and 20 individuals with moderate/low adherence (31%). Table 1 describes the general characteristics of individuals with CF according to the self-reported adherence to inhalation therapy. There was no difference between groups regarding pulmonary function, BMI, microbiological cultures, S-K score, and family income ($p > 0.05$). However, individuals with greater adherence to the inhalation therapy had fewer days of hospitalization in the previous year ($p < 0.05$).

Table 2 shows characteristics related to QoL according to the CFQ. Individuals with greater adherence to inhalation therapy had higher QoL scores in the emotion, eating, treatment burden, social, and health perception domains ($p < 0.05$).

Table 1: General characteristics of pediatric patients with cystic fibrosis according to self-reported adherence to inhalation therapy.

Variable	***High adherence n = 46***	***Moderate/low adherence n = 20***	***P value***
Age (years), mean ± SD	11.8 ± 2.8	13.15 ± 3.8	0.138
Gender (male / female)	22/24	9/11	--
Diagnostic age (years), median (II)	0.25 (1)	0.34 (2)	0.919
Family income, n (%)			0.691
< 3 salaries	26 (56.5%)	9 (45%)	
3 – 5 salaries	9 (19.5%)	4 (20%)	
> 5 salaries	11 (24%)	7 (35%)	
BMI (Z-score), mean ± SD	50.7 ± 24.0	43.3 ± 26.8	0.292
Total S-K (points), mean ± SD	77.9 ± 13.9	74.7 ± 13.2	0.390
FVC (Z-score), mean ± SD	-0.8 ± 1.7	-1.2 ± 1.7	0.321
FEV_1 (Z-score), mean ± SD	-1.2 ± 1.8	-1.8 ± 1.7	0.184
SpO_2 %	97.9 ± 1.7	97.8 ± 1.7	0.813
Length of hospital stay (days), median (II)	0 (17)	17 (20)	**0.016**
Hospitalizations in the last year, median (II)	0 (1)	1 (1)	0.486
Bacteriology, n (%)			
MSSA	26 (56.5)	14 (70)	0.336
MRSA	7 (15.2)	0 (0)	0.069
P. aeruginosa	23 (50)	13 (65)	0.197
B. cepacia	5 (10.8)	8 (40)	0.345

SD = standard deviation, II = interquartile range, BMI = body mass index, SK = Shwachman-Kulczycki score, FVC = forced vital capacity, FEV1 = forced expiratory volume in the first second, SpO_2 = peripheral oxygen saturation, MRSA = *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MSSA = *Methicillin susceptible Staphylococcus aureus.*

Table 2: Quality of life score in pediatric patients with cystic fibrosis according to adherence to inhalation therapy.

Variable	***High adherence n= 46***	***Moderate/low adherence n=20***	***P value***
QoL score (points), mean ± SD			
Physical	81.43 ± 18.7	74.6 ± 19.2	0.238
Emotion	80.8 ± 13.8	68 ± 16.3	**0.006**
Nutrition	86.6 ± 20.1	72.5 ± 26.5	**0.041**
Treatment burden	78.6 ± 18.7	54 ± 25.4	**0.001**
Social	77.2 ± 17.3	65.9 ± 20.1	**0.046**
Body image	85.4 ± 20.2	79.2 ± 27.1	0.364
Digestion	83.1 ± 21	83.7 ± 27.4	0.942
Respiratory	73.7 ± 18.7	64 ± 21.7	0.108
Social role	86.3 ± 18.7	77 ± 18.2	0.296
Weight	81.8 ± 31.1	62.5 ± 37.5	0.237
Vitality	80.3 ± 19.1	66.6 ± 8.9	0.079
Health perception	88.8 ± 15.7	63.8 ± 11.5	**0.001**

SD = standard deviation, QoL = quality of life.

Table 3 shows the coefficient of agreement between the care team's recommendations and the patients' reports of inhalation therapy.

Table 3: Agreement coefficient between care team recommendations and treatment performed by individuals with cystic fibrosis for inhalation therapy variables.

Variable	*Kappa*	*Agreement*	*P value*
Saline solution 0.9% (yes / no)	0.481	Moderada	< 0.001
Hypertonic saline 7% (yes / no)	0.676	Forte	< 0.001
Dornase alfa (yes / no)	0.484	Moderada	< 0.001
Inhalations (times a day)	0.317	Razoável	< 0.001
Inhaled Tobramycin (yes / no)	0.721	Forte	< 0.001
Inhaled colistin (yes / no)	0.818	Quase perfeita	< 0.001
Antibiotics (times a day)	0.607	Forte	< 0.001
Beta 2 short-acting agonist (yes / no)	0.687	Forte	< 0.001

DISCUSSION

Sixty-six individuals followed by the HCPA Pediatric Pulmonology Team participated in this study; our objective was to assess the self-reported adherence to inhalation therapy in a pediatric CF population. Out of these patients, 69% reported a high adherence to inhalation therapy, while approximately 31% acknowledged not regularly following treatment recommendations. Individuals who followed the inhalation therapy recommendations obtained better QoL scores and spent fewer days in the hospital in the previous year when compared to those with a moderate/low adherence.

In this study, 31% of the individuals reported not regularly following treatment recommendations. This result may be even higher when considering that our questionnaire assessed the patient's self-report, thus possibly overestimating treatment adherence[13-15]. In subjective assessments such as questionnaires, interviews, or diaries used with patients, parents, or healthcare professionals, data are easily collected but carry a potential information bias, resulting in a low reliability of results and an overestimation of adherence. Objective assessments for this case could include serum levels of medications, capsule counting, or medication dispensing records[13,14].

The correct use of inhaled medications is associated with better disease control, reducing pulmonary exacerbations and improving lung function[16,17]. In the present study, individuals with moderate/low adherence to inhalation therapy had more days of hospitalization in the previous year; this outcome indicated more severe exacerbations in this group. Low adherence to treatment in individuals with CF is associated with longer hospital stays, higher costs of respiratory exacerbations, increased numbers of hospitalizations and pulmonary exacerbations requiring intravenous antibiotics, and lower baseline lung function[8,18,19]. In this study, the pulmonary function of individuals with CF remained within the normal range, with no difference between groups according to their adherence to inhalation therapy. Our results may present differences in more severely affected individuals, considering that these patients seem to follow treatment routines more rigorously[20,21].

In the present study, the high-adherence group presented significantly higher scores when compared to the moderate/low-adherence group in the following QoL domains: emotion ($p = 0.006$), eating ($p = 0.041$), treatment burden ($p < 0.001$), social ($p = 0.046$), and health perception ($p < 0.001$). Generally, QoL is not one of the main outcomes assessed by studies that assess treatment adherence[8,16,17]. However, the use of inhaled medications, when compared to a placebo group, has been shown to improve QoL[22].

In this study, the agreement between treatment recommendations by the care team and the treatment reported by the individual was substantial for inhaled tobramycin (kappa = 0.721, $p < 0.001$), almost perfect for inhaled colistin (kappa = 0.818, $p < 0.001$), and moderate for dornase alfa (kappa = 0.484, $p < 0.001$). On the other hand, the agreement was only fair for the number of nebulizer sessions per day (kappa = 0.317, $p < 0.001$). A perfect adherence cannot be realistically expected in view of the complexity of CF care, especially considering the time burden of the treatment regimen[23].

As limitations of this study, we highlight that there are currently no validated questionnaires for assessing inhalation therapy in this population. The subjective, easy-to-apply questionnaire used in this study could overestimate the adherence perceived by the health care team. Furthermore, temporal interventions were impossible due to the cross-sectional design of our study, which did not allow us to make inferences over time. Nevertheless, structured and detailed

questionnaires regarding the CF treatment regimen are inexpensive and can be quickly applied in outpatient consultations in the absence of complementary objective data on treatment adherence.

In conclusion, we observed a self-reported high adherence to inhalation therapy in 69% of the studied individuals, and a moderate/low adherence in 31% of the patients. Individuals with moderate/low adherence to inhalation therapy had longer hospital stays in the previous year and reduced QoL. Behavioral interventions that improve treatment adherence and identify factors related to nonadherence should be considered in future studies.

Financial support

Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE), HCPA.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Shteinberg M, Taylor-Cousar JL. Impact of CFTR modulator use on outcomes in people with severe cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir Rev*. 2020;29(155):190112. doi:10.1183/16000617.0112-2019.
2. Grupo Brasileiro de Estudos de Fibrose Cística. *Registro Brasileiro de Fibrose Cística 2017*. [local desconhecido]: GBEFC; 2017.
3. Athanazio RA, Silva Filho LVRF, Vergara AA, Ribeiro AF, Riedi CA, Procianoy EFA, et al. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of cystic fibrosis. *J Bras*. 2017;43(3):219-45. doi:10.1590/S1806-37562017000000065.
4. Ziegler B, Schivinski CIS, Aquino ES, Donadio MVF, organizadores. Recomendação brasileira de fisioterapia na fibrose cística: um guia de boas práticas clínicas. *Assobrafir Ciência*. 2019;10(1):1-188.
5. Farrell PM, Rock MJ, Baker MW. The Impact of the CFTR Gene Discovery on Cystic and Preventive Therapy. *Genes (Basel)*. 2020;11(401):1-15. doi:10.3390/genes11040401.
6. Goodfellow NA, Hawwa AF, Reid AJM, Horne R, Shields MD, McElnay JC. Adherence to treatment in children and adolescents with cystic fibrosis: A cross-sectional, multi-method study investigating the influence of beliefs about treatment and parental depressive symptoms. *BMC Pulm Med*. 2015;15:43. doi:10.1186/s12890-015-0038-7.
7. Everhart RS, Fiese BH, Smyth JM, Borschuk A, Anbar RD. Family functioning and treatment adherence in children and adolescents with cystic fibrosis. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2014;27(2):82-6. doi:10.1089/ped.2014.0327.
8. Quittner AL, Zhang J, Marynchenko M, Chopra PA, Signorovitch J, Yushkina Y, et al. Pulmonary medication adherence and health-care use in cystic fibrosis. *Chest*. 2014;146(1):142-51. doi:10.1378/chest.13-1926.
9. Rozov T, Cunha MT, Nascimento O, Quittner AL, Jardim JR. Linguistic validation of cystic fibrosis quality of life questionnaires. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(2):151-6. doi:10.2223/JPED.1463.
10. Shwachman H, Kulczycki LL. Long-Term Study of One Hundred Five Patients with Cystic Fibrosis: Studies Made Over a Five- to Fourteen-Year Period. *AMA J Dis Child*. 1958;96(1):6-15. doi:10.1001/archpedi.1958.02060060008002.
11. Pereira CAC, Neder JA. Diretrizes para testes de função pulmonar. *J Bras Pneumol*. 2002;28(3):1-238.
12. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: The global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012;40(6):1324-43. doi:10.1183/09031936.00080312.
13. Oates GR, Stepanikova I, Rowe SM, Gamble S, Gutierrez HH, Harris WT. Objective versus self-reported adherence to airway clearance therapy in cystic fibrosis. *Respir Care*. 2019;64(2):176-81. doi:10.4187/respcare.06436.
14. Hommel KA, Davis CM, Baldassano RN. Objective versus subjective assessment of oral medication adherence in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;15(4):589-93. doi:10.1002/ibd.20798.
15. Cook CL, Wade WE, Martin BC, Perri M. Concordance among three self-reported measures of medication adherence and pharmacy refill records. *J Am Pharm Assoc*. 2005;45(2):151-9. doi:10.1331/1544345053623573.
16. Yang C, Montgomery M. Dornase alfa for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;9(9):CD001127. doi:10.1002/14651858.CD001127.pub4.
17. Wark P, Mcdonald VM. Nebulised hypertonic saline for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;9(9):CD001506. doi:10.1002/14651858.CD001506.pub4.
18. Eakin MN, Riekert KA. The impact of medication adherence on lung health outcomes in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2013;19(6):687-91. doi:10.1097/MCP.0b013e3283659f45.
19. Bodnár R, Mészáros Á, Oláh M, Ágh T. Inhaled antibiotics for the treatment of chronic pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis patients: Challenges to treatment adherence and strategies to improve outcomes. *Patient Prefer Adherence*. 2016;10:183-93. doi:10.2147/PPA.S53653.
20. Flores JS, Teixeira FÂ, Rovedder PME, Ziegler B, Dalcin PTR. Adherence to airway clearance therapies by adult cystic fibrosis patients. *Respir Care*. 2013;58(2):279-85. doi:10.4187/respcare.01389.
21. Dalcin PDTR, Rampon G, Pasin LR, Ramon GM, Abrahão CLDO, De Oliveira VZ. Adesão ao tratamento em pacientes com fibrose cística. *J Bras Pneumol*. 2007;33(6):663-70. doi:10.1590/S1806-37132007000600009.
22. Amin R, Subbarao P, Lou W, Jabar A, Balkovec S, Jensen R, et al. The effect of dornase alfa on ventilation

inhomogeneity in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2011;37(4):806-12. doi:10.1183/09031936.00072510.

23. Sawicki GS, Sellers DE, Robinson WM. High treatment burden in adults with cystic fibrosis: Challenges to disease self-management. *J Cyst Fibros*. 2009;8(2):91-6. doi:10.1016/j.jcf.2008.09.007

Received: May 4, 2020
Accepted: July 8, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.106538

Determinação de parâmetros radiográficos de normalidade da face em crianças menores de um ano

Determination of face normality parameters in radiographs of children under one year of age

Gabriela Jungblut Schuh[1], João Edson Prediger[1], Sandra Jungblut Schuh[2], Guilherme Girardi May[3], Antônio Carlos Maciel[4]

RESUMO

Introdução: Realizar as medidas radiográficas do comprimento da face de amostra de crianças brasileiras do nascimento até um ano de vida para determinação de parâmetros radiográficos de normalidade.

Materiais e Métodos: Foi realizada análise retrospectiva de radiografias simples de crânio para mensuração da face de crianças de até 12 meses em um hospital do sul do Brasil. Os exames foram realizados entre os anos de 2013 e 2018. Foram incluídas no estudo 170 radiografias cranianas de 85 crianças menores de um ano. Definidos parâmetros de mensuração, executados por três avaliadores e posteriormente comparados utilizando-se o coeficiente de correlação intraclasse e o teste ANOVA.

Resultados: O coeficiente de correlação intraclasse foi alto, demonstrando a concordância dos examinadores e a reprodutibilidade das mensurações. Houve pequeno desvio padrão entre as medidas obtidas dos diferentes períodos etários. No geral, ocorreu crescimento da face estatisticamente significativo do primeiro ao terceiro trimestre. O crescimento foi menor e sem diferença estatisticamente significativa do terceiro para o quarto trimestre.

Conclusão: Observou-se um aumento progressivo das dimensões dos ossos da face com o crescimento no primeiro ano de vida, especialmente nos primeiros 9 meses. A obtenção destes dados pode auxiliar na avaliação da normalidade para este período etário.

Palavras-chave: *Ossos da face; desenvolvimento infantil; radiografia*

ABSTRACT

Introduction: To perform face length measurements on radiographs of Brazilian children from birth to one year of age in order to determine radiographic parameters of normality.

Materials and Methods: We performed a retrospective analysis of simple skull radiographs for face measurement of children up to 12 months of age taken in a southern Brazilian hospital between 2013 and 2018. In total, 170 skull radiographs of 85 children under one year of age were included in the study. Measurement parameters were defined, then performed by three evaluators, and later compared using intraclass correlation coefficient and analysis of variance.

Results: The intraclass correlation coefficient was high, demonstrating interexaminer agreement and reproducibility of the measurements. There was a small standard

Clin Biomed Res. 2020;40(2):111-116

1 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Hospital Sanatório Partenon, Secretaria de Saúde Estadual. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Centro de Diagnóstico por Imagem, Hospital Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Serviço de Radiologia e Diagnóstico por Imagem, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:
Gabriela Jungblut Schuh
gschuh@hcpa.edu.br
Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Rua Ramiro Barcelos, 2400
90035-002, Porto Alegre, RS, Brasil.

ISSN 2357-9730

deviation between the measurements obtained from the different age groups. In general, there was a statistically significant growth of the face from the first to the third trimester. The growth was smaller and with no statistically significant difference from the third to the fourth trimester.

Conclusion: We observed a progressive increase in the dimensions of the facial bones with growth in the first year of life, especially in the first 9 months. Obtaining these data will assist in the assessment of normality for this age group.

Keywords: *Facial bones; child development; radiography*

INTRODUÇÃO

A determinação radiológica dos parâmetros normais dos ossos da face no primeiro ano de vida tem importância clínica e radiológica ao auxiliar no acompanhamento do crescimento e desenvolvimento fisiológicos da criança. O desenvolvimento normal das estruturas ósseas da face é essencial nos processos fisiológicos da respiração e deglutição.

Está bem estabelecido que padrões de referência cefalométricos são úteis para o diagnóstico e planejamento terapêutico em diversas condições ortodônticas e genéticas[1]. Existem estudos acerca de parâmetros normais da face voltados para a área da ortodontia e, portanto, em crianças em idade mais avançada, após erupção dentária. Parâmetros cefalométricos do crescimento da face também foram descritos por autores como Pruzansky no contexto de avaliação de pacientes com sequência de Pierre-Robin[2].

O estudo de Pereira e colaboradores avaliou medidas cranianas por método radiológico em crianças brasileiras normais, correlacionando com faixa etária e sexo. Observou que o índice e o tamanho craniano são bons indicadores do crescimento craniano, principalmente nos quatro primeiros anos de vida, apresentando crescimento muito significativo no primeiro ano. Não foi ênfase do estudo os ossos da face, como é de interesse do presente trabalho[3].

Em revisão de literatura, não foram encontrados parâmetros de normalidade de ossos da face em crianças menores de um ano. O presente estudo objetiva analisar parâmetros normais da avaliação radiográfica das dimensões da face em crianças da população brasileira com menos de um ano de idade, com vistas a auxiliar na compreensão da normalidade da face.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo observacional transversal. Foram avaliados retrospectivamente exames radiológicos simples de crânio em projeções anteroposterior e perfil de crianças de ambos os sexos e de até 12 meses de idade realizados no serviço de Radiologia e Diagnóstico por Imagem de um Hospital Brasileiro no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2018.

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da instituição, CAAE 04352818.2.0000.5335. Devido à natureza observacional do estudo, o termo de consentimento livre e esclarecido foi dispensado.

Foram selecionadas crianças com até 12 meses que realizaram radiografia de crânio no período de Agosto de 2013 a Outubro de 2018, totalizando 197 pacientes. Realizou-se revisão de prontuário médico para classificação dos casos conforme idade, sexo, data do exame e sua indicação médica. Foram excluídos do estudo pacientes sem informação clínica no prontuário (22 casos), referência de doença genética, distúrbio neurológico ou síndrome congênita conhecida ou em investigação (63 casos). Também foram excluídas as radiografias com técnica radiológica inadequada para mensuração, por exemplo obliquidade excessiva, e radiografias nas quais não era possível realizar as medidas, por exemplo mento não incluso no perfil de crânio (49 casos). Permaneceram no estudo apenas crianças com radiografias em projeções anteroposterior e perfil adequadas. Desse modo, 85 crianças foram avaliadas em ambas as incidências, cujas medidas dos ossos da face são apresentadas neste estudo.

As medidas foram realizadas em radiografias digitais de crânio obtidas de forma padronizada com distância ampola-filme de um metro, nas projeções anteroposterior e perfil. Todas as imagens foram avaliadas por um radiologista com mais de 20 anos de experiência e dois estudantes de medicina, trabalhando de forma independente. O programa de computador utilizado para avaliar as radiografias digitais foi o programa Weasis DICOM viewer© (Microsoft©, USA).

Os pontos de referência para as medidas da face, na radiografia em perfil, foram: o centro da sela túrcica (ST), a superfície anterior da sutura naso frontal (NF), a extremidade anterior da espinha nasal anterior (ENA), extremidade anterior do mento (Mt) e centro da curvatura do gônion (Go). Foram então realizadas as seguintes medidas lineares entre dois pontos (em milímetros): distância entre ST e NF (ST — NF), distância entre ST e ENA (ST — ENA),

distância entre NF e ENA (NF – ENA) e distância de Mt e Go (Mt — Go) lados direito e esquerdo.

Na radiografia em perfil de face sem obliquidade é possível reconhecer o gônion direito e esquerdo por magnificação do lado mais distante do filme. Na tentativa de compensar essa magnificação, calculou-se o valor médio dos lados direito e esquerdo, estabelecendo assim a medida Mt — Go (média).

As referências da mandíbula foram pontos na tábua óssea externa projetados logo abaixo da base do crânio, do lado direito e esquerdo. Posteriormente traçou-se uma linha entre os dois pontos para determinação da medida da maior largura da mandíbula (Mand).

Realizou-se também a medida do diâmetro fronto-occipital (FO) do crânio, medida do maior diâmetro da região frontal até a região occipital de tábua interna a tábua interna, e diâmetro biparietal (BP), medida do maior diâmetro entre os dois parietais de tábua interna a tábua interna. Essas medidas foram realizadas para correlacionar as da população do presente estudo com os parâmetro de normalidade de Pereira e colaboradores. (Figuras 1 e 2)

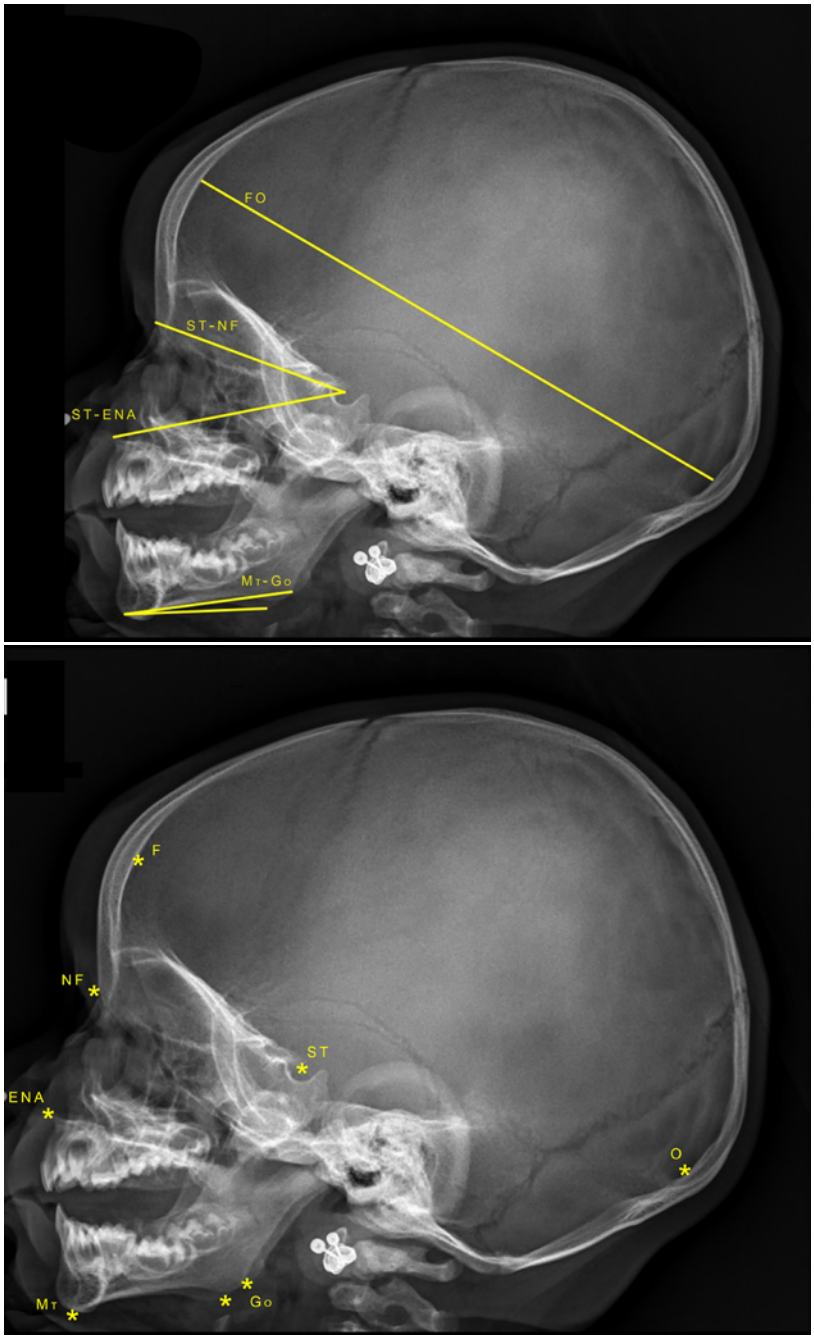

Figura 1: Radiografia de crânio em projeção perfil demonstrando pontos de referência e medidas executadas avaliadores.

Figura 2: Radiografia de crânio em projeção anteroposterior demonstrando medidas radiográficas – BP e Mand.

Os dados foram estratificados por faixa etária em quatro grupos, em dias de vida, de 0 a 90 dias (primeiro trimestre), 91 a 180 dias (segundo trimestre), 181 a 270 dias (terceiro trimestre) e 271 a 365 dias (quarto trimestre) para a análise estatística. As medidas dos diferentes examinadores foram analisadas através do coeficiente de correlação intraclasse para avaliação do grau de concordância. Após esta análise, os resultados finais das medidas foram obtidos através das médias das medidas dos três avaliadores. O teste ANOVA foi utilizado para a comparação das médias.

RESULTADOS

Foram incluídas no estudo 170 radiografias de 85 crianças (44 do sexo feminino e 41 do sexo masculino), 50% das radiografias eram em projeção perfil e 50% anteroposterior. Todos os exames radiológicos incluídos neste estudo foram realizados para avaliação de trauma craniano.

O coeficiente de correlação intraclasse foi maior do que 0.6 para todas as variáveis utilizadas (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação dos resultados encontrados pelos diferentes avaliadores por meio do Coeficiente de Correlação Intraclasse.

Medida	Correlação Intraclasse	Intervalo de Confiança 95%	
		Limite Inferior	Limite Superior
Mt-Go (média)	0,946	0,921	0,963
ST-NF	0,949	0,853	0,976
ST-ENA	0,937	0,907	0,957
FO	0,961	0,944	0,973
BP	0,992	0,979	0,996
Mand	0,962	0,916	0,980

A medida que não apresentou um bom coeficiente de correlação intraclasse foi a medida NF-ENA e, portanto, não foi incluída nas demais análises.

O estudo comparativo das médias das medidas radiológicas nas diferentes faixas etárias é demonstrado através da Tabela 2.

Tabela 2: Média dos resultados das medidas obtidas pelos avaliadores conforme faixa etária.

Medida	Idade(dias)	N Valor	Médio(mm)	Desvio Padrão(mm)
Mt-Go (média)	0 — 90	12	35,71	2,50
	91 — 180	15	42,69	4,30
	181 — 270	32	45,78	2,49
	271 — 365	26	47,18	4,23
ST-NF	0 — 90	12	45,42	2,87
	91 — 180	15	51,73	3,81
	181 — 270	32	54,11	2,19
	271 — 365	26	56,32	2,85
ST-ENA	0 — 90	12	51,64	2,94
	91 — 180	15	59,12	4,57
	181 — 270	32	62,81	2,88
	271 — 365	26	64,20	3,66
FO	0 — 90	12	131,09	11,71
	91 — 180	15	147,53	7,67
	181 — 270	32	160,30	8,24
	271 — 365	26	164,74	6,60
BP	0 — 90	12	108,69	8,17
	91 — 180	15	124,14	8,15
	181 — 270	32	133,97	6,32
	271 — 365	26	140,59	9,05
Mand	0 — 90	12	70,53	4,20
	91 — 180	15	77,11	3,83
	181 — 270	32	81,75	3,31
	271 — 365	26	83,98	3,67

Observa-se aumento estatisticamente significativo das medidas do primeiro ao terceiro trimestre, o que é compatível com o crescimento da face. A medida ST – NF não apresentou variação estatisticamente significativa do segundo para o terceiro trimestre. As medidas do quarto trimestres não demonstraram diferença estatisticamente significativa em relação ao terceiro trimestre.

DISCUSSÃO

A avaliação radiográfica é amplamente disponível, simples de ser executada e tem pequena exposição à radiação ionizante. Os parâmetros de normalidade das medidas dos ossos da face em crianças de até 1 ano não estão descritos na literatura. Por serem de simples obtenção e execução, não estarem descritos na literatura e potencialmente apresentarem importância clínica, os dados radiográficos aqui expostos são relevantes tanto para pesquisadores quanto para a equipe assistentencial.

Apresentou-se as médias das medidas dos ossos da face conforme faixa etária em uma população sem comorbidades. O alto coeficiente de correlação intraclasse demonstra a concordância entre os diferentes avaliadores, apoiando a reprodutibilidade do estudo. Com relação às medidas do crânio, a amostra deste estudo está dentro dos parâmetros da normalidade obtidos por Pereira e colaboradores.

A comparação entre as medidas nos diferentes trimestre é compatível com o crescimento da face. Tal crescimento mostrou-se mais acelerado no primeiro semestre de vida e mais lento após. Isso foi demonstrado pelas medidas do primeiro, segundo e terceiro trimestre que variaram de forma estatisticamente significativa. Não houve diferença significativa entre os sexos.

Os achados acima descritos estão de acordo com o que esperava-se na elaboração do projeto. Apesar de não haver dados sobre os diâmetros da face e seu comportamento durante o primeiro ano de vida na literatura, Pereira e colaboradores demonstraram um crescimento acelerado dos diâmetros cranianos neste período etário.

Este estudo tem algumas limitações, entre elas seu caráter retrospectivo, o qual levou, por exemplo, à exclusão de projeções inadequadas para mensuração e à maior dificuldade técnica determinada pela obliquidade do paciente. Consequentemente, a amostra é relativamente pequena. A dificuldade

em determinar o ponto exato da superfície anterior da sutura nasofrontal pode ter sido responsável pelo baixo coeficiente de correlação intraclasse na medida NF –ENA, pois variações de milímetros entre os examinadores apresentaram repercussões estatisticamente importantes. Mais estudos envolvendo amostras maiores, preferencialmente prospectivas e multicêntricas são necessários para validação dos resultados aqui apresentados. Outra possibilidade é a realização destas medidas por tomografia computadorizada, que apesar da maior dose de radiação, permite medidas mais precisas.

Falta de parâmetros objetivos da normalidade das dimensões dos ossos da face em crianças de até um ano de vida representa um problema para médicos e fonoaudiólogos. O presente estudo é um alerta à comunidade científica sobre esta questão e pode servir como modelo para obtenção de parâmetros da normalidade, a ser aplicado em amostras populacionais maiores ou por outro método de imagem.

REFERÊNCIAS

1. Hamdan AM, Rock WP. Cephalometric norms in an Arabic population. *J Orthod* 2001;28(4):297-300.

2. Pruzansky S, Richmond JB. Growth of mandible in infants with micrognathia. Clinical Implications. *AMA Am J Dis Child*. 1954;88(1):29-42.

3. Pereira IMR, Barros Filho AA, Alvares BR, Palomari ET, Nanni L. Determinação radiológica do índice e do tamanho craniano por mensuração dos diâmetros cranianos em uma população infantil brasileira. *Radiol Bras*. 2008;41(4):229-34.

Recebido: 16 de Agosto, 2020
Aceito: 05 de Outubro, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.100381

Effects of a mucoadhesive formulation containing *Curcuma longa* L. on oral wound healing

Chris Krebs Danilevicz[1,2], Vivian Petersen Wagner[1,3], Liana Preto Webber[1], Tuany Rafaeli Schmidt[1], Ellen Cristine Pineze Alonso[4], Elismauro Francisco de Mendonça[3,5], Marize Campos Valadares[6], Ricardo Neves Marreto[4], Manoela Domingues Martins[1,3,7]

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to investigate the effects of a topical mucoadhesive formulation with *Curcuma longa* L. extract (MFC) on oral wound healing.

Methods: Seventy-two Wistar rats were randomly assigned to 3 groups: Control, Vehicle, and MFC. Traumatic ulcers were made on the dorsum of the tongue with a 3-mm diameter punch. Vehicle and MFC groups received application of the products twice a day, while animals in the control group were cared for in identical conditions but received no product application. Six rats in each group were euthanized at days 3, 5, 10, and 14. Percentage of repair was calculated based on wound area. HE-stained histological sections were obtained for semi-quantitative analysis of re-epithelization and inflammation.

Results: Clinical findings revealed that at days 3 and 5, animals from the MFC group exhibited a significantly higher percentage of wound repair. At day 5, animals from this group also demonstrated a significant increase in the degree of re-epithelization and inflammation.

Conclusions: MFC is capable of accelerating oral wound repair in an *in vivo* model by modulating the inflammatory process and stimulating epithelial proliferation.

Keywords*: Curcumin; turmeric extract; curcuminoid; phytotherapy; phytomedicine.*

INTRODUCTION

Oral ulcers are frequently seen in dental clinic and they may indicate the clinical manifestation of several local and systemic conditions. Among the most common types, traumatic ulcers and recurrent aphthous stomatitis are associated with symptoms such as pain and discomfort[1]. These lesions usually repair over a period of 7 to 10 days through the normal healing process, restoring the integrity of the tissue. Treatment protocols for oral ulcers aim at accelerating repair and relieving symptomatology, and the use of topical corticosteroids, such as dexamethasone and clobetasol, are the most prevalent. However, even the topical application of corticosteroids can lead to systemic adverse reactions if the drug is absorbed into the bloodstream[2]. Although in most cases the adverse effects are mild, there are reports of patients who developed Cushing's syndrome through the topical use of corticosteroids[2,3]. Thus, equally effective and safer treatment alternatives should be developed.

Natural products (phytotherapeutics) have been shown to be effective alternatives in the treatment of inflammatory diseases and induce the repair of lesions in different tissues[2,4-6]. The beneficial effects of herbal medicines

Clin Biomed Res. 2020;40(2):117-124

1 Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Department of Pharmacology, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Department of Oral Diagnosis, Piracicaba Dental School, University of Campinas. Piracicaba, SP, Brasil.

4 Laboratory of Nanosystems and Drug Delivery Devices (NanoSYS), School of Pharmacy, Federal University of Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

5 Laboratory of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

6 Laboratory of Pharmacology and Cellular Toxicology, Pharmacy Faculty, Federal University of Goiás. Goiânia, GO, Brasil.

7 Experimental Pathology Unit, Clinics Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:
Manoela Domingues Martins
manomartins@gmail.com
Department of Oral Pathology – School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul
Rua Ramiro Barcelos, 2492/503.
90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

CC BY

have been associated to the biological functions of substances such as alkaloids, triterpenes, and biomolecules that influence one or more stages of wound healing. Among medicinal plants, the root of *Curcuma longa* L, a species widely used in folk medicine, contains pharmacological properties that can be applicable in wound healing. This plant, also known as curcuma, earth saffron, Indian saffron, turmeric, or yellow ginger, has three main curcuminoids in its composition: curcumin, desmethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin[7,8]. Curcumin is the most active compound, and studies have shown that phenols and methoxy groups are responsible for its biological properties[9,10]. The medicinal use of curcuma, both topical and systemic, is based on its anti-inflammatory, anti-microbial, antimutagenic, anticancer, and antioxidant properties[11,12].

Despite the important biological effects, curcumin has low bioavailability due to its high metabolism rate and poor absorption[13]. One of the methods used to overcome this limitation and ensure the effectiveness of its biological properties is to associate curcuma extracts with mucoadhesive drug delivery systems. These systems have the ability to adhere to the surface of epithelial cells or mucus layer, thereby prolonging the contact of the drug with the absorption/action site, increasing the local or systemic bioavailability of the drug[14]. Different studies have shown that the association of drugs to mucoadhesive compounds increases its bioavailability[15,16]. The beneficial effect of a mucoadhesive formulation with *Curcuma longa* L. (MFC) has been demonstrated in intestinal and oral mucositis[17,18]. Yet, the effect of MFC on the healing of conventional oral ulcers, which are extremely recurrent in clinical practice, remains completely unexplored. Experimental research carried out with Wistar rats is an efficient method to determine the efficacy of new extracts in accelerating wound healing. Therefore, the aim of this study was to evaluate the clinical and histopathological effect of a MFC in oral ulcers on Wistar rats.

METHODS

The present study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Porto Alegre Clinics Hospital, Brazil, under process number 14-0572. The experimental protocol followed the ethics principles in animal experiments, based on Law 11.794 of October 8, 2008 and the Brazilian Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific and Educational Purposes of the National Council for Animal Experimentation Control.

Design

This was a controlled and blind experiment.

MFC preparation

The extract was prepared at the Laboratory of Nanosystems and Drug Delivery Devices (NanoSYS), School of Pharmacy, Federal University of Goiás (Goiânia, GO, Brazil). A commercial *Curcuma longa* L. extract was acquired from Gamma Comércio Importação & Exportação LTDA (São Paulo, Brazil), comprising of 96.4% (m/m) curcuminoids (curcumin, desmethoxycurcumin, and bisdesmethoxycurcumin). Transcutol HP® (diethylene glycol monoethyl ether) was generously donated by Gattefossé (Lyon, France). Propylene glycol and polyethylene glycol were obtained from Labsynt (Sao Paulo, Brazil). Poloxamer 407 and Soluplus® were obtained from Basf (Ludwigshafen, Germany).

The mucoadhesive component (poloxamer 407, 15%, w/v) was dispersed in an organic phase including a mixture of polyethylene glycol 400 (PEG 400) and propylene glycol, and kept under continuous magnetic stirring at 65°C. Next, the curcuminoids were added to the mixture and a final concentration of 20 mg/mL was obtained. Besides, an aqueous fraction was prepared by adding Transcutol HP®, Soluplus®, and two antioxidants (sodium metabisulfite and sodium bisulfite) to purified water under constant stirring. Then, the aqueous fraction was heated to 65°C and poured into the organic phase. The resulting mixture was maintained under continuous stirring for an additional 30 min. The pH was adjusted to 6.5 using citric acid solution (0.1 M). The curcuminoid content in the mucoadhesive formulation was determined spectrophotometrically (λ=425 nm). The curcuminoids content was 102% of the expected theoretical value. A blank formulation (placebo) was prepared as described above by substituting the curcumin for an equal mass of PEG 400. The placebo formulation was also evaluated by spectrophotometric analysis, and its constituents showed no interference. The formulations were stored in amber flasks at room temperature until use.

Animals

The sample size calculation, considering wound closure as primary outcome, was based on studies using a similar methodology[19,20] with a number of 6 animals per group per day of euthanasia. Seventy-two male rats (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia, Wistar strain) weighing between 270 and 370 g were used. The animals were housed individually in plastic boxes (40×30×16 cm), with standard chow and water ad libitum, at 22±2°C and a light/dark cycle of 12 hours. The animals were divided into 3 experimental groups (n = 24 per group): Control Group (CG) – untreated animals; Placebo Group (PG) – topical use of neutral mucoadhesive formulation (no active substance); *Curcuma longa* L. Group (CLG) – topical use of MFC.

Experimental model

The animals were weighed and anesthetized with general anesthetics injected intraperitoneally using a mixture of 50 mg/kg of ketamine and 5 mg/kg of xylazine, and 1-2% isoflurane was used to achieve general anesthesia. Subsequently, ulcers were created in the center of the dorsal surface of the tongue of each animal using a punch instrument with a diameter of 0.3 mm and a height of 0.2 m. The base of the ulcer was incised with a scalpel blade #15, creating a 0.3-mm diameter surgical wound with well delimited and regular edges. For pain control, Tramadol 5 mg/kg was injected intraperitoneally once every 12 hours for 2 days. PG and CLG animals received two daily applications of neutral mucoadhesive formula and MFC, respectively. The amount was determined using a 0.5-g measuring spoon and the products were applied with a flexible rod completely covering the wound, under anesthesia with inhaled isoflurane. The animals of the CG group were handled daily similarly to the other groups, without receiving treatment. Six animals of each group were euthanized at 3, 5, 10, and 14 days under isoflurane anesthesia. The measurement of ulcers was then performed, and the wound areas were surgically removed and fixed in 10% buffered formalin solution and paraffin-embedded using routine histopathological procedures.

Clinical Study

The animals were weighed at the beginning of the study and before being euthanized. At the end of the study, the wounds were photographed and the wound area was calculated in pixels using the ImageJ 1.48v software (National Institutes of Health, USA) and then converted to mm² using a reference scale. The percentage of wound healing was calculated using the formula: [(initial area – final area) / (initial area)] × 100[21].

Histopathological Study

Serial histological sections were obtained at a thickness of 4 µm, stained with hematoxylin-eosin, and observed under an optical microscope. Initially, a descriptive analysis of each experimental time was performed comparing the groups. Next, a semi-quantitative analysis was performed using scores. The criteria described by Sinha and Gallaher[22] (2003) were used, which scores the level of re-epithelization: grade 0 - at the edge of the wound; grade 1 - covering less than half of the wound; grade 2 - covering more than half of the wound; grade 3 - covering completely the wound with irregular thickness; grade 4 - covering completely the wound with a normal thickness. The degree of inflammation was evaluated as described by Kumar, Cotran and Robbins[23] (2003): grade 1 - acute inflammation (pyogenic membrane); grade 2 - predominance of acute diffuse inflammation; grade 3 - predominance of chronic inflammatory process (proliferating fibroblasts); grade 4 - resolution and healing (reduction or disappearance of chronic inflammation despite the persistence of some inflammatory cells). Two pathologists blind to the experimental groups analyzed the sections and reached a consensus.

Statistical analysis

The data are reported as means and standard deviations. SPSS software version 19.0 was used for statistical analysis. The unit of analysis was a single animal. Groups, evaluation times, and the interaction between group and evaluation time were compared by Kruskal-Wallis test or one-way ANOVA. The level of significance was set at 5% ($p<0.05$).

RESULTS

For all analyses, a total number of 6 animals were included per group per day of evaluation. No adverse effect was observed during the experimental procedures.

Body weight results

All groups showed a slight weight loss at day 3 followed by gradual weight gain up to day 14. No significant weight difference was observed between groups over the experimental period (Figure 1).

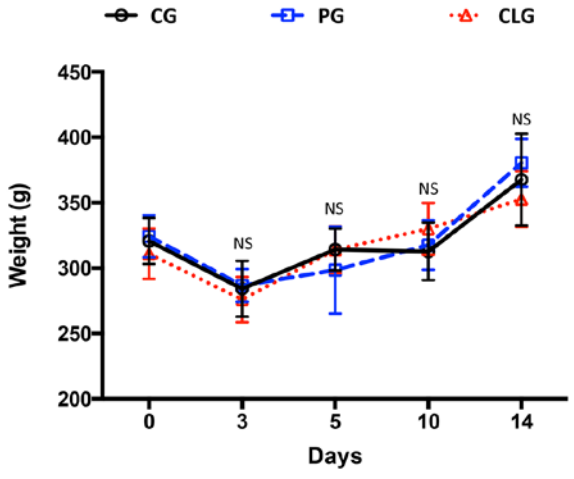

Figure 1: Body weight of animals during the study according to treatment groups.

Clinical Analysis

A significant difference between groups was found for ulcer areas in the three experimental groups on days 3 and 5 (Figure 2A). On day 3, CLG presented a smaller ulcer area when compared to CG ($p < 0.01$) and PG ($p < 0.001$) (Figure 2B and C). Moreover, the PG animals presented a larger area when compared to the CG ($p < 0.01$). On day 5, there was a reduction of the wound in all experimental groups, however, CLG presented a smaller wound when compared to PG ($p < 0.0001$) and CG ($p < 0.001$). The PG animals showed a larger wound than the CG ($p < 0.001$) (Figure 2 D and E). On days 10 and 14 there was no difference between the groups and all showed wound closure.

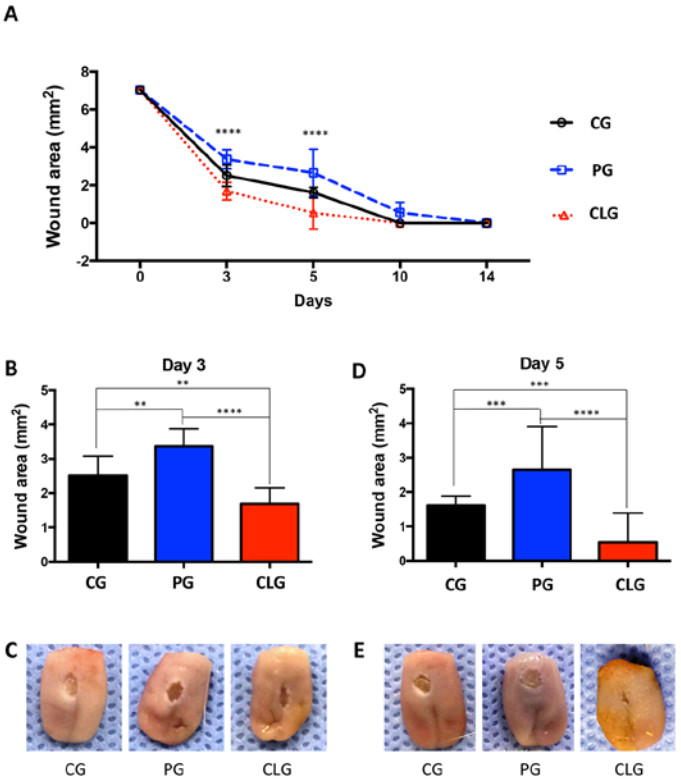

Figure 2: A: Healing pattern of oral mucosa wounds according to experimental groups over time; B: On day 3, there was a reduction of the wound area in the CLG compared to CG and PG (**p <0.01, ***p <0.001); C: Representative images of ulcers in the three groups on day 3; D: On day 5, there was a reduction of the CLG wound area compared to CG and PG (***p <0.001, ****p <0.0001); E: Representative images of ulcers in the three groups on day 5.

Descriptive histopathological analysis

On day 3, all groups presented initial healing process exhibiting few areas covered by epithelium and predominance of exposed connective tissue. Acute inflammatory infiltrate (polymorphonuclear cells) was observed and at the bottom of the wound there was some evidence of collagen fiber deposition and angiogenesis.

On day 5, a better repair pattern was observed in CLG group with re-epithelialization covering completely the wound in most samples associated with a chronic inflammatory process. Fibroplasia, angiogenesis, and replacement of acute inflammatory cells by mononuclear inflammatory cells, mostly lymphocytes, were observed in the CLG group. In PG and CG, the new epithelial lining was not complete and the connective tissue exhibited a more acute inflammatory infiltrate compared to CLG (Figure 3).

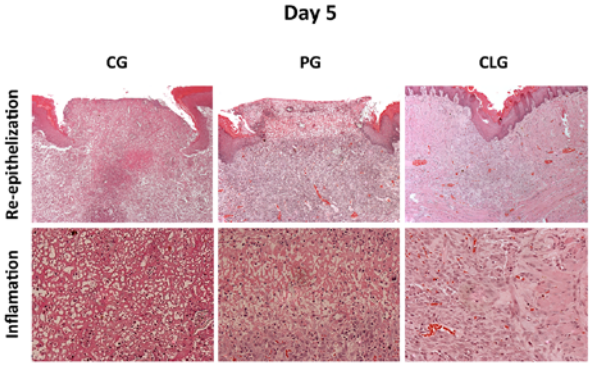

Figure 3: Microscopic appearance of oral mucosa ulcer repair in the three experimental groups on day 5, showing the new epithelial pattern (HE, 100x) and inflammatory infiltrate (HE, 400x). In CLG, the wound is completely covered by epithelial lining and the connective tissue has a higher deposition of fibers and a lower level of chronic inflammation compared to the other groups.

On days 10 and 14, all groups showed a similar pattern, microscopically. Full coverage of the wound with stratified squamous epithelium, reduction of the chronic inflammatory process, and organization of collagen fibers in the underlying connective tissue were observed.

Re-epithelialization degree

CLG animals presented a higher level of re-epithelialization when compared to CG ($p < 0.001$) and PG ($p < 0.001$) on day 5. On days 10 and 14 all groups showed complete wound closure (Figure 4A and B).

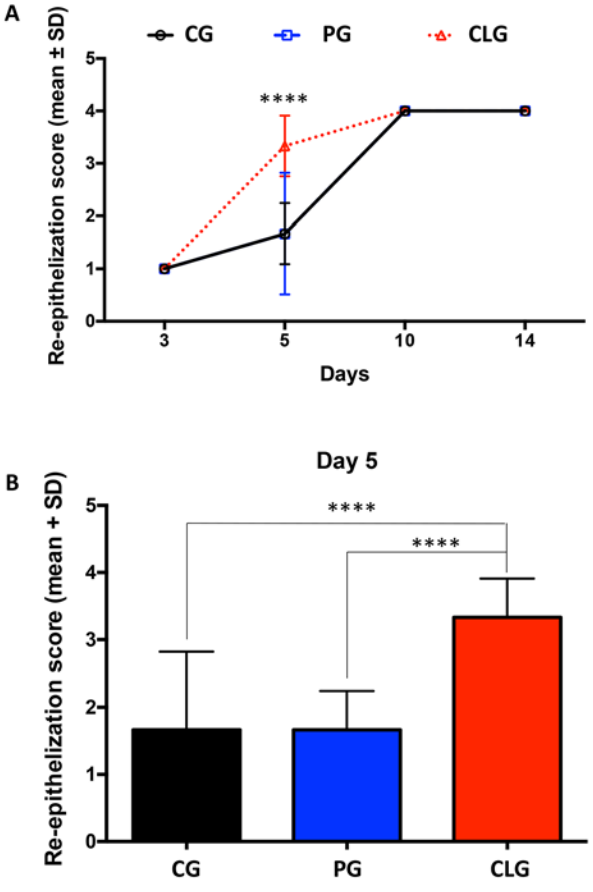

Figure 4: A: Degree of ulcer re-epithelialization in the different time-points; B: Re-epithelialization score analysis on day 5 showing that CLG presented significantly higher scores than CG and PG (****$p < 0.0001$).

Inflammatory degree

On day 5, CLG presented a better resolution of the inflammatory process compared to CG ($p < 0.05$) and PG ($p < 0.05$) (Figure 5A and B), evidenced by a chronic inflammatory process and increased angiogenesis and collagen fiber deposition. On days 10 and 14 there was no difference between groups.

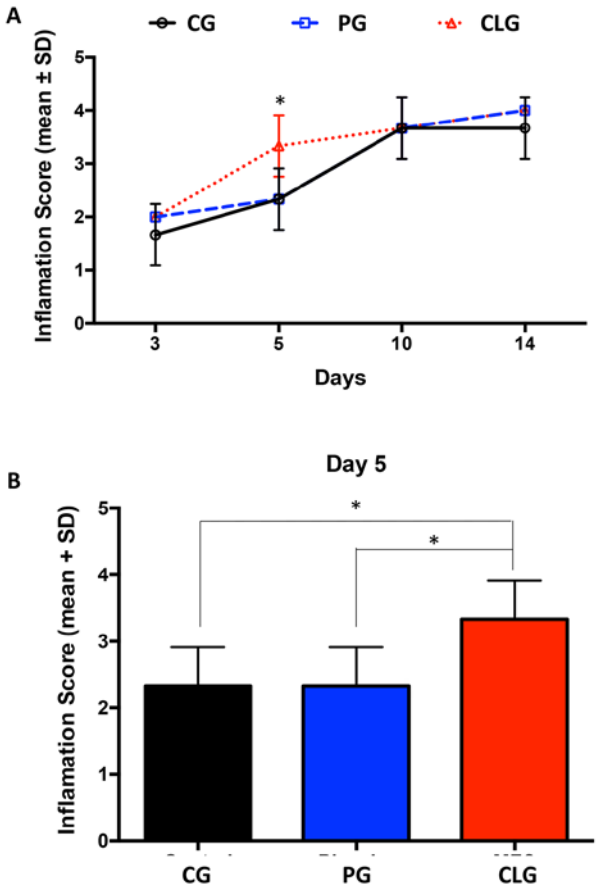

Figure 5: A: Degree of inflammation in the different time-points; B: Analysis of inflammation on day 5 showing that CLG presented a better resolution of the inflammatory process (*$p < 0.05$).

DISCUSSION

Oral ulcers are commonly symptomatic and may interfere with the patient's well-being. In the last decades, numerous studies have been developed to search for effective therapies for the management of these lesions, mainly involving the use of analgesics, anesthetics, antiseptics, and steroidal and nonsteroidal anti-inflammatory drugs[2,24]. The use of phytotherapeutics is a very promising treatment strategy, since these compounds have few or no adverse effect and drug interactions[25,26]. Our group has been studying the role of different natural compounds in oral lesions repair[2,20,24,27], and herein we evaluated the topical action of MFC in the repair of oral ulcers. Our main results demonstrated that MFC accelerated the tissue repair process, with a faster re-epithelialization and modulation of the inflammatory process.

Curcuma longa L. is a well-known species in folk medicine due to its numerous biological activities, such as antioxidant, antimicrobial, curative, and anti-inflammatory[8,17,28]. An important aspect of curcumin

is its safety. The curcuminoids of *Curcuma longa* L. have a good safety profile in humans (12 g/day) and in animals (100 mg/kg per day), and are non-toxic even at high doses[29,30]. Our study did not directly assess the safety of this compound, but the analysis of body weight of the animals indirectly showed that MFC was not toxic to the animals. In addition, the animals of the 3 groups showed similar behavior throughout the study. After some weight loss in the first few days of the experiment, probably associated with the surgically created wound, the animals resumed normal feeding and weight gain.

Our results showed that CLG presented a smaller wound on days 3 and 5 compared to the other groups, demonstrating its capacity to accelerate oral wound healing. Curcumin also exhibited healing proprieties in other conditions, such as intestinal mucositis[17]. We recently demonstrated that MFC accelerated oral mucositis healing in an animal model[18]. Likewise, Patil and collaborators[31] (2015) demonstrated that a solution containing 0.004% curcumin was effective in healing oral mucositis in patients submitted to radio- or chemotherapy. Herein, we evaluated for the first time the healing effect of MFC in conventional oral ulcers, which have a different pathophysiology compared to oral mucositis. Moreover, oral ulcers, such as traumatic ulcers and recurrent aphthous stomatitis, are extremely common in our population. Therefore, we consider that the findings of the present study are relevant and indicate that this herbal medicine has potential as treatment of such oral lesions. Moreover, the association of *Curcuma longa* L. extract with a mucoadhesive formulation enhances the adhesion of the drug to the mucosa, probably increasing the drug's bioavailability and consequently its beneficial effects. The healing capacity of MFC has been previously demonstrated by our group in intestinal and oral mucositis[17,18]. Therefore, we believe that this strategy is highly efficient for a greater adhesion of the active compound. In addition, the increased retention decreases the risk of the patient swallowing the compound, preventing possible systemic adverse effects.

The histopathological findings observed in the present study corroborate our clinical findings. The improved repair pattern of the CLG group occurred due to the acceleration of the re-epithelialization process associated with the modulation of the inflammatory process in the connective tissue. Wound healing is a complex physiological process divided into three main overlapping stages: inflammation, cell proliferation, and remodeling phases[32]. First, the injury triggers inflammation leading to hemostasis and clot formation followed by an acute tissue response. After, chronic inflammatory events replace the acute scenario, with fibroplasia and neovascularization along with re-epithelization. In the final stage, formation of new extracellular matrix and tissue remodeling occur. The analysis of the inflammatory cells allows determining the stage of tissue repair. In the present study, the treatment of oral ulcers with MFC led to a faster resolution of the inflammatory process compared to the other groups. On day 5, the wounds treated with MFC had less acute inflammation, increased chronic inflammatory process evidenced by the presence of newly formed blood vessels, deposition of collagen fibers, and a higher level of re-epithelialization, indicating better tissue repair. In other words, the curcuminoids present in MFC controlled the inflammatory response, preventing its exacerbation and stimulating an earlier resolution. As demonstrated by other studies, curcuminoids act by modulating several transcription factors, especially the nuclear factor kappa B (NF-kB) and cycloxigenase-2 (COX-2)[7]. In addition, the anti-inflammatory effect of curcumin is explained by its ability to reduce myeloperoxidase activity, which is related to neutrophil infiltration[17].

The re-epithelialization process occurs most clearly in the proliferative phase of repair and is important for the formation of the epithelial barrier that allows tissue homeostasis to be restored[33,34]. Thus, our results indicate that the use of MFC promotes re-epithelialization at an earlier stage, accelerating wound repair. Likewise, the study by dos Santos Filho et al.[17]. (2015) demonstrated that a curcumin-containing compound stimulated intestinal epithelial proliferation, evidenced by the increased expression of the Ki67 proliferation marker. The compound was also able to decrease the expression of the Bax-2 apoptosis marker. Molecular analysis indicates that curcumin acts by activating transcription factors, growth factors and their receptors, modulating the synthesis of cytokines, and thus regulating genes involved in cell proliferation and apoptosis[8].

Despite our promising results, extrapolating the present findings to wound treatment in humans is not advised, as animal models may not always adequately mimic human pathophysiology[35]. However, our previous experience with wound healing suggests that the Wistar rat model provides translational evidence that can be successfully reproduced in humans[36,37]. Therefore, we believe MFC is a promising treatment strategy for oral wounds in humans.

CONCLUSION

We demonstrated that the mucoadhesive formulation containing Curcuma L. extract accelerated the repair of oral ulcers by modulating the inflammatory response and stimulating re-epithelialization in an animal model. Further studies, especially randomized clinical trials with humans, are needed to confirm these preliminary findings.

Acknowledgments

This work was supported by the Postgraduate Research Group, Porto Alegre Clinics Hospital (GPPG/FIPE: 14-0572).

Conflicts of Interest

The authors declare no potential conflicts of interest.

REFERENCES

1. Leão JC, Gomes VB, Porter S. Ulcerative lesions of the mouth: an update for the general medical practitioner. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007; 62(6):769-80. doi:10.1590/s1807-59322007000600018.

2. Martins MD, Marques MM, Bussadori SK, Martins MAT, Pavesi VCS, Mesquita-Ferrari RA, et al. Comparative analysis between Chamomilla recutita and corticosteroids on wound healing: An in vitro and in vivo study. *Phytother Res*. 2009;23(2):274-8. doi:10.1002/ptr.2612.

3. Tiwari A, Goel M, Pal P, Gohiya P. Topical-steroid-induced iatrogenic Cushing syndrome in the pediatric age group: A rare case report. *Indian J Endocrinol Metab*. 2013;17(7 Suppl 1): 257-8. doi:10.4103/2230-8210.119593.

4. Speroni E, Cervellati R, Costa S, Guerra MC, Utan A, Govoni P, et al. Effects of differential extraction of Verbena officinalis on rat models of inflammation, cicatrization and gastric damage. *Planta Med*. 2007;73(3):227-35. doi: 10.1055/s-2007-967116.

5. Baharvand M, Jafari S, Mortazavi H. Herbs in Oral Mucositis. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(3):ZE05-11. doi: 10.7860/JCDR/2017/21703.9467.

6. Cinausero M, Aprile G, Ermacora P, Basile D, Vitale MG, Fanotto V, et al. New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. *Front Pharmacol*. 2017;8:1-16. doi:10.3389/fphar.2017.00354.

7. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008;75(4):787-809. doi:10.1016/j.bcp.2007.08.016.

8. Gupta SC, Sung B, Kim JH, Prasad S, Li S, Aggarwal BB. Multitargeting by turmeric, the golden spice: From kitchen to clinic. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(9):1510-28. doi:10.1002/mnfr.201100741.

9. Ahsan H, Parveen N, Khan NU, Hadi SM. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact*. 1999;121(2):161-75. doi:10.1016/s0009-2797(99)00096-4.

10. Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci*. 2006;78(18):2081-7. doi:10.1016/j.lfs.2005.12.007.

11. Lüer S, Troller R, Jetter M, Spaniol V, Aebi C. Topical curcumin can inhibit deleterious effects of upper respiratory tract bacteria on human oropharyngeal cells in vitro: potential role for patients with cancer therapy induced mucositis? *Support Care Cancer*. 2011;19(6):799-806. doi:0.1007/s00520-010-0894-x.

12. Reddy CA, Somepalli V, Golakoti T, Kanugula AK, Karnewar S, Rajendiran K, et al. Mitochondrial-targeted curcuminoids: a strategy to enhance bioavailability and anticancer efficacy of curcumin. *PLoS One*. 2014;9(3):e89351. doi:10.1371/journal.pone.0089351.

13. Nagpal M, Sood S. Role of curcumin in systemic and oral health: An overview. *J Nat Sci Biol Med*. 2013;4(1):3-7. doi:10.4103/0976-9668.107253.

14. Mohammadi-Samani S, Bahri-Najafi R, Yousefi G. Formulation and in vitro evaluation of prednisolone buccoadhesive tablets. *Farmaco*. 2005;60(4):339-44. doi:10.1016/j.farmac.2005.01.009.

15. Park CG, Kim YK, Kim MJ, Park M, Kim MH, Lee SH, et al. Mucoadhesive microparticles with a nanostructured surface for enhanced bioavailability of glaucoma drug. *J Control Release*. 2015;220(Pt A):180-8. doi:10.1016/j.jconrel.2015.10.027.

16. Kharia AA, Singhai AK. Development and optimisation of mucoadhesive nanoparticles of acyclovir using design of experiments approach. *J Microencapsul*. 2015;32(6):521-32. doi:10.3109/02652048.2015.1010457.

17. Santos Filho EX, Ávila PHM, Bastos CCC, Batista AC, Naves LN, Marreto RN, et al. Curcuminoids from Curcuma longaL. reduced intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice: Bioadhesive, proliferative, anti-inflammatory and antioxidant effects. *Toxicol Rep*. 2016;3:55-62. doi:10.1016/j.toxrep.2015.10.010.

18. Schmidt TR, Curra M, Wagner VP, Martins MAT, de Oliveira AC, Batista AC *et al.* Mucoadhesive formulation containing Curcuma longa L. reduces oral mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. *Phytother Res*. 2019;33(4):881-90. doi:10.1002/ptr.6279.

19. Wagner VP, Meurer L, Martins MAT, Danilevicz CK, Magnusson AS, Marques MM, et al. Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. *J Biomed Opt*. 2013;18(12). doi:10.1117/1.JBO.18.12.128002.

20. Wagner VP, Webber LP, Ortiz L, Rados PV, Meurer L, Lameira OA, et al. Effects of Copaiba Oil Topical Administration on Oral Wound Healing. *Phytother Res*. 2017;31(8):1283-8. doi:10.1002/ptr.5845.

21. Yen YH, Pu CM, Liu CW, Chen YC, Chen YC, Liang CJ, et al. Curcumin accelerates cutaneous wound healing via multiple biological actions: The involvement of TNF-α, MMP-9, α-SMA, and collagen. *Int Wound J*. 2018;15(4):605-17. doi:10.1111/iwj.12904.

22. Sinha UK, Gallagher LA. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *Laryngoscope*. 2003;113(2):228-36. doi:10.1097/00005537-200302000-00007.

23. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Robbins Basic Pathology*. 7th ed. Amsterdam: Elsevier; 2002.

24. Curra M, Martins MA, Lauxen IS, Pellicioli AC, Sant'Ana Filho M, Pavesi VC *et al.* Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1β and TNF-α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71(2):293-9. doi:10.1007/s00280-012-2013-9.

25. Mlcek J, Jurikova T, Skrovankova S, Sochor J. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. *Molecules*. 2016;21(5). doi:10.3390/molecules21050623.

26. Guan LP, Liu BY. Antidepressant-like effects and mechanisms of flavonoids and related analogues. *Eur J Med Chem*. 2016;121(4):47-57. doi:10.1016/j.ejmech.2016.05.026.

27. Pavesi VCS, Lopez TCC, Martins MAT, Sant'Ana Filho M, Bussadori SK, Fernandes KPS, et al. Healing action of topical chamomile on 5-fluoracil induced oral mucositis in hamster. *Support Care Cancer*. 2011;19(5):639-46. doi:10.1007/s00520-010-0875-0.

28. Akbik D, Ghadiri M, Chrzanowski W, Rohanizadeh R. Curcumin as a wound healing agent. *Life Sci*. 2014;116(1):1-7. doi:10.1016/j.lfs.2014.08.016.

29. Lao CD, Ruffin MT, Normolle D, Heath DD, Murray SI, Bailey JM, et al. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complement Altern Med*. 2006;6(10):1-10. doi:10.1186/1472-6882-6-10.

30. Teiten MH, Eifes S, Dicato M, Diederich M. Curcumin: the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. *Toxins (Basel)*. 2010;2(1):128-62. doi:10.3390/toxins2010128.

31. Patil K, Guledgud MV, Kulkarni PK, Keshari D, Tayal S. Use of Curcumin Mouthrinse in Radio-Chemotherapy Induced Oral Mucositis Patients: A Pilot Study. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(8): ZC59-62. doi:10.7860/JCDR/2015/13034.6345.

32. Gonzalez ACO, Costa TF, Andrade ZA, Medrado AR. Wound healing: A literature review. *An Bras Dermatol*. 2016;91(5):614-20. doi:10.1590/abd1806-4841.20164741.

33. Ben Amar M, Wu M. Re-epithelialization: advancing epithelium frontier during wound healing. *J R Soc Interface*. 2014;11(93): 1-7. doi:10.1098/rsif.2013.1038.

34. Pellicioli ACA, Martins MD, Dillenburg CS, Marques MM, Squarize CH, Castilho RM. Laser phototherapy accelerates oral keratinocyte migration through the modulation of the mammalian target of rapamycin signaling pathway. *J Biomed Opt*. 2014;19(2). doi:10.1117/1.JBO.19.2.028002.

35. Hackam DG. Translating animal research into clinical benefit. *BMJ* 2007;334(7586):163-4. doi:10.1136/bmj.39104.362951.80.

36. Ávila PHM, Ávila RI, Santos Filho EX, Cunha Bastos CC, Batista AC, Mendonça EF, et al. Mucoadhesive formulation of Bidens pilosa L. (Asteraceae) reduces intestinal injury from 5-fluorouracil-induced mucositis in mice. *Toxicol Rep*. 2015; 2: 563-73. doi:10.1016/j.toxrep.2015.03.003.

37. Santos Filho EXD, Arantes DAC, Oton Leite AF, Batista AC, Mendonça EF, Marreto RN, et al. Randomized clinical trial of a mucoadhesive formulation containing curcuminoids (Zingiberaceae) and Bidens pilosa Linn (Asteraceae) extract (FITOPROT) for prevention and treatment of oral mucositis – phase I study. *Chem Biol Interact*. 2018;291: 228-36. doi:10.1016/j.cbi.2018.06.010.

Received: Mar 2, 2020
Accepted: Aug 4, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.102486

Review Article

Investigating the role of circulating microRNAs in human immunodeficiency virus infection: friends or foes?

Priscila Garcia Hsieh[1], Laurita Cardoso Siqueira[1], Adriana Zilly[1,2], João Paulo Assolini[3], Aline Preve da Silva[1], Fernando Cezar-dos-Santos[1]

ABSTRACT

Introduction: Human immunodeficiency virus (HIV), which causes Acquired Immunodeficiency Syndrome, still affects millions of people worldwide. Despite recent advances in the understanding of biological mechanisms of viral replication, there are relevant gaps regarding the virus-host relationship. Unraveling these complexities may lead to the development of new therapeutic strategies and the establishment of new biomarkers useful for the diagnosis and prognosis of infection and its comorbidities. Therefore, in this study we discuss the main biological characteristics of microRNAs and the potential use of these nucleic acids in their free circulating form as indicators of risk or protection against HIV infection.

Methods: A narrative review of the literature was carried out in the following databases through keyword and/or health descriptor searches: i) Google Scholar; ii) CAPES periodicals portal; iii) United States National Library of Medicine (PubMed) and iv) Elsevier's Science Direct library. The keywords "microRNA; HIV infection; circulating microRNA; biomarkers" were used to search the databases as mentioned above.

Results: Circulating microRNAs (ci-miRNA) are closely related to numerous processes in the HIV infection pathophysiology. They are involved in viral latency, increased viremia, hepatic injury, heart dysfunction, pulmonary hypertension, immune response impairment, and participate in Kaposi's sarcoma pathology. Additionally, these molecules may indicate protection in elite controllers, reduce viral replication and load, and be useful markers of the infection's eclipse phase.

Conclusion: Ci-miRNA levels are altered levels in individuals with HIV, playing a dual role in infection. Advances in research have shown that ci-miRNAs could differentiate stages of HIV infection and diseases associated with a viral infection and serve as biomarkers for antiretroviral therapy's effectiveness through changes in their expression.

Keywords: *MicroRNAs; HIV; biomarkers; circulating miRNA*

Clin Biomed Res. 2021;40(2):125-132

1 Centro de Ensino Superior de Foz do Iguaçu. Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

2 Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

3 Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

Corresponding author:
Fernando Cezar-dos-Santos
fernando.bmed@gmail.com
Centro de Ensino Superior de Foz do Iguaçu. Avenida Paraná, 3695. 85867-300, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

INTRODUCTION

Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), a disease of infectious and contagious etiology, is caused by the human immunodeficiency virus (HIV)[1]. The United Nations Program on HIV/AIDS estimated that by the end of 2018 there were 37.9 million people infected with HIV worldwide. About 8.1 million of these people did not know they were living with HIV. Gradually, the annual number of new HIV infections worldwide has continued to decline. Since 2010, it has fallen from 2.1 million to 1.7 million, a reduction of about 16%[2]. However, during the same period in Brazil, new cases of infection have increased by 21%[3]. At this rate, the decline will still fall short of the United Nations' goal of 500,000 new infections worldwide by 2020[4].

HIV can be contracted through sexual intercourse, vertical transmission[5], needlestick injuries, or blood transfusion[6]. Although activated $CD4^+$ T lymphocytes

CC BY

are the main target of HIV, other cells, such as resting $CD4^+$ T cells, monocytes, macrophages, and dendritic cells may also be infected, particularly those expressing the CD4 receptor and the CCR5 and/or CXCR4 chemokine receptors, which enable the virus to fuse through its viral envelope glycoprotein, gp120[7].

After the retrovirus enters the host cell, RNA is reverse-transcribed to DNA, after which the viral DNA is integrated into the host genome. Protein synthesis and assembly follows, and the virus multiplies, leading to host cell death[8]. In the early stage of infection, although no obvious signs may appear, the number of $CD4^+$ T cells in the body decreases, suppressing the cell-mediated immune response and eventually causing increased susceptibility to opportunistic infections[9].

After the discovery of microRNAs (miRNAs), scientists directed their studies to the possibility of identifying the expression profiles of these molecules in different pathological contexts, especially HIV infection. Specific changes in miRNAs during the infectious process have been described, suggesting that miRNAs are involved in infection pathogenesis[10]. For instance, miRNA-mediated post-transcriptional blockade restricts viral translation in resting T cells[11].

miRNAs are of great importance in the regulation of gene expression, acting at the post-transcriptional level to degrade or repress messenger RNA (mRNA). They belong to the non-coding RNA family and have a small nucleotide sequence (between 18-25 nucleotides)[12], being involved in several physiological processes, such as apoptosis, regulation of cell division, differentiation, proliferation, stress response, transcriptional regulation, and growth[12-13].

Although they are found primarily in the cytoplasm[12], they are also exported and found in circulation. They can be measured in blood samples and have remarkable stability in serum and plasma[14]. Thus, circulating miRNAs (ci-miRNAs) have gained scientific interest due to their diagnostic and prognostic roles in human diseases[15].

Studies on diabetes have demonstrated the presence of specific miRNAs in pancreatic islets[16]. Changes in miRNA expression are related to cancer, since they can interfere in the genes involved in cell proliferation, apoptosis, DNA repair, invasion, and metastasis, promoting oncogenic effects and loss of tumor suppressor function[17]. miRNAs can be found in plasma samples from patients with cardiovascular diseases and are involved in the pathophysiology of acute myocardial infarction (let-7g-5p, miR-1, miR-30d-5p, miR-106a-5p, miR-125b-5p, miR-144-3p, miR-208a, miR-424-5p, miR-499, miR-660-5p), atrial fibrillation (miR-23a, miR-26a, miR-126, miR-150, miR-483-5p), atherosclerosis (miR-29a, miR126, miR-212) and heart failure (miR-126, miR182, miR-423-5p)[18].

Accurate laboratory diagnosis of HIV is essential for reducing the risk that individuals with HIV will transmit HIV-1 infection. Therefore, host-derived prognostic and predictive biomarkers should be added to current diagnostic strategies[14].

Little is known about the potential of ci-miRNAs as biomarkers in HIV infection. Furthermore, to the best of our knowledge, no study in the literature has reviewed this possibility. Thus, this article aimed to detail the role of ci-miRNAs in the viral pathogenesis of HIV infection and their role as potential biomarkers of risk or protection for virus acquisition.

METHODS

A narrative review of the literature was carried out in the following databases through keyword and/or health descriptor searches: i) Google Scholar; ii) CAPES periodicals portal; iii) United States National Library of Medicine (PubMed) and iv) Elsevier's Science Direct library. After providing a current state of the art on HIV infection and the biology of miRNAs, a review of the English-language literature will be presented. The keywords "microRNA; HIV infection; circulating microRNA; biomarkers" were used to search the aforementioned databases, and following analysis of the title, abstract, and methodology, 41 articles, one declaration, and 2 reports were selected for further investigation. Nine of these publications were found eligible for inclusion, based on the following criteria: i) original research of an experimental character that ii) detected ci-miRNAs in biological fluids of HIV-infected patients using a sensitive and specific method.

All publications dealing with cellular miRNA, non-circulating miRNA, or that detected miRNA in any form other than extracellular were excluded from the analysis.

RESULTS

MiRNA biology

The first miRNA was discovered thirty years ago in a nematode, *Caenorhabditis elegans*, in association with the developmental regulator *lin-4*[19]. *lin-4* was originally thought to be a gene that encoded a conventional protein. However, Ruvkun and Ambros made the surprising discovery that *lin-4* did not encode a protein, but a regulatory RNA 22 nucleotides in length[20]. They demonstrated that *lin-4* RNA could be complementary with the mRNA of another gene

in the *C. elegans* development network, *lin-14*, and controlled the production of the *lin-14* protein[21].

miRNAs are mostly intergenic (68%). Of the intragenic RNAs, most are intronic (12%). The remaining miRNAs are located in coding regions, in tandem, 3' non-translatable regions, and in genes that encode long non-coding RNAs[22].

Concerning the canonical pathway of their biogenesis, miRNAs are transcribed in the nucleus by RNA polymerase II, along with several transcriptional factors[23], forming the primary miRNAs transcripts (Figure 1). Primary miRNAs are cleaved by the microprocessor complex (consisting of the ribonuclease Drosha and its cofactor DGCR8) to release the shortest precursor. This precursor molecule is transported to the cytoplasm by the cytoplasmic transport protein exportin-5, where it is cleaved by the Dicer ribonuclease, which results in a double strand of mature miRNA. This results in the 5p and 3p chains. The generated miRNA is loaded into an Argonaute protein, which is a major component of the RNA-induced silencing complex. One of the strands is discarded, while the other mediates post-transcriptional regulation of the target RNAs[24].

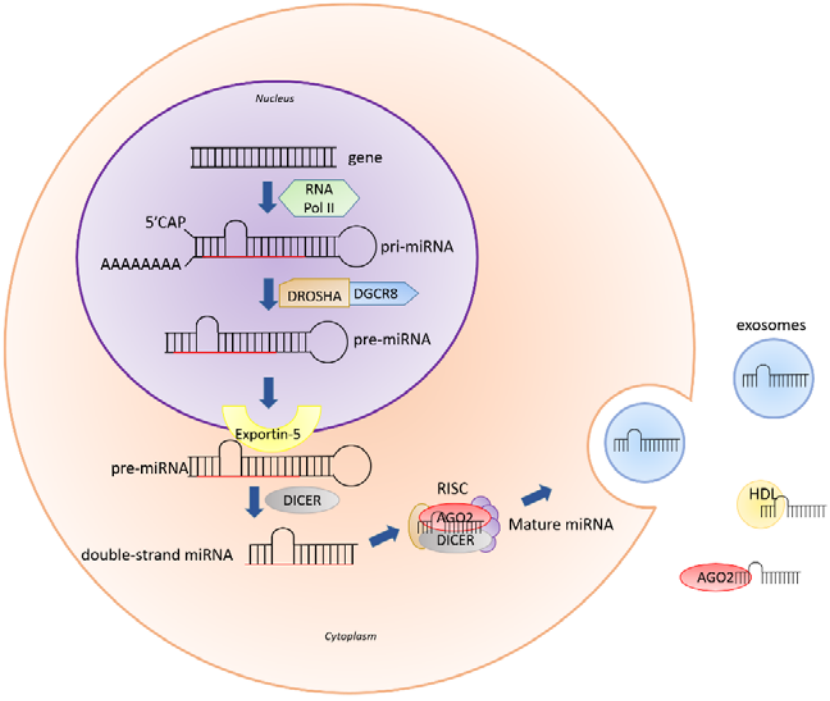

Figure 1: microRNA (miRNA) biogenesis. RNA Pol II: RNA polymerase II; pri-miRNA: primary microRNA; pre-miRNA: precursor-microRNA; AGO2: Argonaute 2 protein; HDL: high-density lipoprotein.

Therefore, miRNAs are highly complex with regard to gene regulation. mRNA transcripts are targets of their action, mainly due to their complementarity to the seed region, a heptameric sequence located between positions 2-7 of the 5' region of the mature miRNA. miRNAs mediate gene silencing, particularly the degradation of mRNA or, in the absence of complementarity, preventing its translation[25]. miRNAs are stable in body fluids such as serum, plasma[26], urine, saliva, sweat[27], and breast milk[28].

Exosomes are important vesicles attached to the cell membrane and are released from many types of cells in the extracellular space, being present in almost all biological fluids. Their release into the extracellular space occurs after fusion with the plasma membrane[29]. Several nucleic acids, including miRNAs, have been identified in the exosomal lumen. These may be absorbed by neighboring or distant cells and modulate gene expression and, consequently, the function of receptor cells (cells that absorb the exosome containing miRNAs)[30].

In addition to being wrapped in exosomes or microvesicles, extracellular miRNAs can be incorporated into high-density lipoproteins[31], which protects them from degradation and ensures their stability. Given the transportability of vesicles, the role of miRNAs in exosomes is gaining increasing attention. Transporting information through circulating vesicles is a third means of intercellular communication, considered

essential for signaling and cell-cell contact, as well as signaling via the transfer of soluble molecules[32].

miRNAs communicate information between cells by regulating gene expression at the post-transcriptional level. They are involved in almost every cellular process that has thus far been investigated, including regulation of viral infections and antiviral responses. It has been shown that miRNA-mediated changes in gene expression modulate viral replication, antiviral immune response, viral latency, and pathogenesis[33].

Since viruses often encode minimal genetic information, they depend on factors and molecular pathways in the cell to complete productive replication. Although there is evidence that host cells may express miRNAs with antiviral activity, this is not always the case. In fact, cellular miRNAs favor viral replication, associating with the virus or viral components to fight antiviral defenses[34].

Circulating microRNAs in HIV infection and associated clinical conditions

Chim et al.[34] were the first to identify the expression of miRNAs in human blood through quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Since then, researchers have mainly investigated their expression in cancer, but also in infectious diseases of viral etiology, particularly HIV. The pleiotropic functions of ci-miRNAs in this context are summarized in Figure 2.

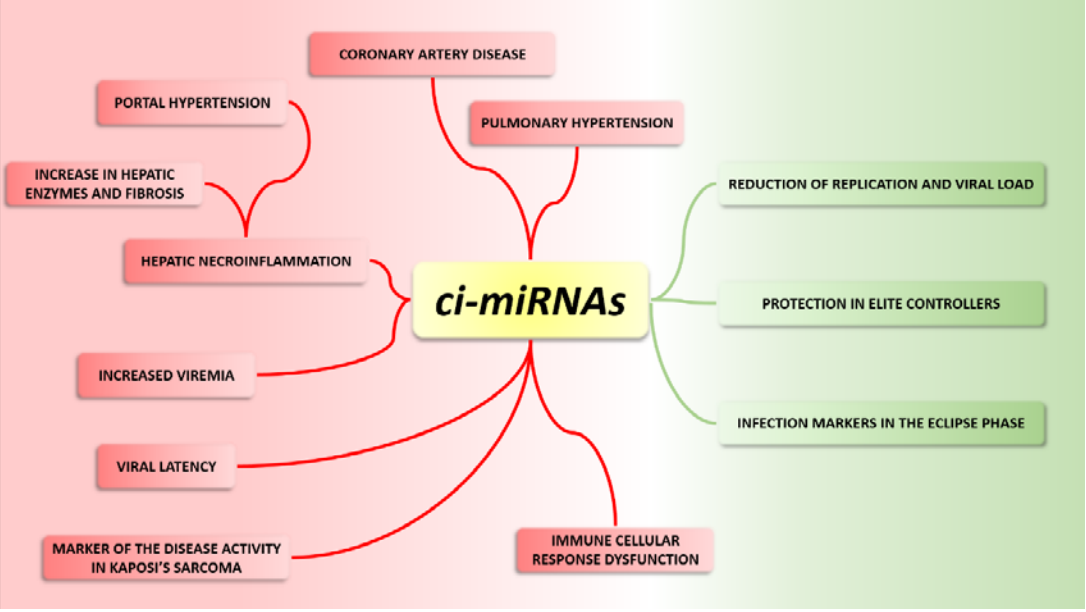

Figure 2: The dual role of ci-miRNAs in HIV infection.

Infographic representing the involvement of circulating microRNAs (ci-miRNAs) in HIV infection. ci-miRNAs are differentially expressed in HIV-infected patients and play a dual role in the pathophysiology of the infection and its comorbidities. Green branches represent situations in which ci-miRNAs are associated with a positive effect. Red branches represent situations in which ci-miRNAs are associated with a negative and/or pathological effect.

In an unprecedented study, Reynoso et al.[35] described ci-miRNA profiles in plasma samples from 27 individuals, who were divided into healthy controls, chronically infected HIV patients and elite controllers (i.e., individuals who maintain undetectable levels of viral load without having received treatment, including high levels of $CD4^+$ T cells). A large-scale molecular analysis was performed using the qRT-PCR technique. No significant differences were observed between elite controllers and healthy patients. However, there was a considerable difference between chronically infected HIV patients and healthy controls for 16 miRNAs. Higher levels of hsa-miR-29b-3p, hsa-miR-33a-5p, and hsa-miR-146a-5p were found in the plasma of elite controllers than chronically infected patients. Hsa-miR-29b-3p and hsa-miR-33a-5p expression was also investigated in an *in vitro* model, in which they were transfected into MT2 cells, a model for $CD4^+$ T cells. Overexpression of hsa-miR-29b-3p and hsa-miR-33a-5p significantly reduced viral production in MT2 cells and primary $CD4^+$ T cells. Therefore, the ci-miRNAs levels have diagnostic and prognostic value in HIV infection, and hsa-miR-29b-3p and miR-33a-5p are potential new therapeutic targets for new antiretroviral therapies.

Narla et al.[36] demonstrated the presence of ci-miRNAs in the plasma of 69 HIV-infected patients in a large-scale molecular analysis study using the qRT-PCR technique. The patients were divided into HIV negative (HIV-), HIV positive undergoing antiretroviral therapy (HIV+ART+), HIV positive not undergoing antiretroviral therapy (HIV+ART-), and elite controllers. Overall, 29 ci-miRNAs were differentially expressed between HIV+ and uninfected controls. Nineteen ci-miRNAs were differentially expressed between HIV+ART+, HIV+ART-, and elite controllers. The profile of overexpressed ci-miRNAs indicated that they are involved in the virus latency process, high levels of viremia, and low $CD4^+$ T cell counts. In contrast, miRNA-29c, 223, and 382 are involved in inhibiting HIV genome expression in resting cells, not in producing viral particles. This suggests that these miRNAs may be therapeutic targets, and increasing their expression might inhibit virus replication. In addition, HIV + individuals, regardless of the allocated group, had lower expression of miR-126, 145, and let7c. Patients with atherosclerosis also had lower expression of these miRNAs. Therefore, it is reasonable to suspect that these miRNAs are involved in HIV-associated coronary artery disease.

Hubert et al.[37] surveyed 43 patients infected with HIV-1 who were divided into 4 groups: 17 never treated with ART, 13 who were treated with ART and had a viral load <50 copies/mL of plasma, and 13 elite controllers, in addition to 16 healthy controls. Because the specific content of extracellular vesicles depends on the cells that secrete them, the researchers hypothesized that extracellular vesicles, including exosomes from HIV-1 patients, must contain miRNA. miRNAs were more abundant in the extracellular vesicles of patients who had not undergone ART (6 out of 8 patients for miR-155, 5 out of 8 for miR-223). This result suggests there higher miRNA levels in patients who have never undergone ART, although only miR-155 and miR-233 levels have been quantitatively correlated with the size of exosomes and extracellular vesicles. Moreover, larger exosomes were found in untreated patients than all other groups. miRNA levels were negatively correlated with $CD4^+$ T cell counts (i.e., the more miRNA, the fewer $CD4^+$ T cells). Thus, exosome and extracellular vesicle levels are associated with: i) T cell count, a classic marker of infection progression, and ii) induction of apoptosis in $CD4^+$ T cells and an increase in $CD8^+$ T cells, a mechanism that prevents an efficient antiviral immune response.

Four differentially expressed miRNAs may indicate early HIV-1 infection, namely miR-16-5p, miR-20b-5p, miR-195-5p, and miR-223-3p. These miRNAs have been called the miRNA panel P_{eHIV-1}. It was discovered that this panel could be used with 100% sensitivity and specificity in early HIV-1 detection, i.e., while the patient is still in the eclipse phase (the phase lasting approximately 10 days post-infection before the viral RNA is detected in the plasma). The miRNAs miR-16-5p, miR-206, let-7 g-3p, and miR-181c-3p can detect infection during the eclipse stage with 100% sensitivity and 95.8% specificity, demonstrating that miRNA panels are a potential biomarker for early and/or acute HIV-1 infection[14].

Isolated expression of miRNA-122 in HIV infection was investigated in a sample of 74 (31% female) patients with HIV/hepatitis C virus (HCV) co-infection. Serum levels of miRNA-122 were analyzed by qPCR. Circulating levels of miRNA-122 were elevated in HIV patients and showed a correlation with the severity of liver damage. Elevated miRNA-122 levels were associated with elevated liver injury markers, such as aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. Despite these results, the authors were unable to establish a relationship between miRNA-122 and portal hypertension, which was accurately assessed using the hepatic venous pressure gradient test. Nevertheless, miRNA-122 may still be associated with this condition[38].

Franco et al.[39] analyzed the ci-miRNA levels of 21 healthy controls and 54 patients with HIV-1 monoinfection using RT-PCR and large-scale sequencing. Compared to controls, patients with HIV-1 monoinfection had significantly altered levels of 25 miRNAs. It should be pointed out that most of these miRNAs correlated significantly and positively with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase levels and a higher stage of liver fibrosis. miR-122-3p and miR-193b-5p were also positively regulated (i.e., had increased levels) in HIV-1-positive patients with focal nodular hyperplasia.

Franco et al.[39] corroborated the findings of Jansen et al.[38] , revealing that HIV infection impacts circulating miRNA levels expressed in liver parenchyma, which highlights their potential as biomarkers for the progression of liver damage associated with infection.

A study by Murray et al.[40] involving 373 patients (82 co-infected with HIV/HCV and 291 infected with HIV-1) found greater expression of miR-122 and miR-200a in co-infected patients than monoinfected patients, as well as in HIV-1 infected individuals treated with antiretroviral therapy prior to developing fatal liver disease. In addition, serum levels of both miRNAs correlated modestly with aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase liver enzymes, in addition to interleukin-6, a marker of systemic inflammation, which is an adverse outcome of ART. Moreover, it demonstrates that these miRNAs are promising new biomarkers for liver disease in HIV-1-infected patients undergoing ART.

Piano et al. investigated the potential of ci-miRNAs as biomarkers for active Kaposi's Sarcoma in AIDS

patients[41]. miR-375 was found in greater abundance in these patients than asymptomatic individuals infected with HIV/Human Herpesvirus type 8, which suggests that high levels of miR-375 may be an indicator of active Kaposi's Sarcoma. qRT-PCR was also used to obtain these results.

Parikh et al.[42] evaluated the expression of plasma miR-21 in HIV-infected patients, with and without pulmonary arterial hypertension (PAH) and HIV/HCV co-infection. There was greater expression of miR-21 in HIV and HIV/PAH patients than uninfected individuals, and HIV/HCV co-infection was correlated with even higher levels of miR-21 in the HIV-infected population. Taken together, these data provide clear evidence about the dysregulation of plasma miRNA-21 during HIV infection, PAH, and HIV/HCV co-infection, which indicates that there is a complex interaction between infection and comorbidities. However, the marker's prognostic properties, especially regarding infection, should be further investigated.

DISCUSSION

Numerous studies with *in vitro* and *in vivo* models have been developed to elucidate the molecular mechanisms of cellular miRNAs in the context of viral infection. HIV infection models have been extensively investigated, and it is now known that cellular miRNAs are differentially expressed, interact with host cell factors, and modulate viral replication, impairing or promoting it in different cells such as monocytes, macrophages, T cells, astrocytes, epithelial cells, and peripheral blood mononuclear cells[43]. The expression pattern of cellular miRNAs is complex and extensive. They are potentially useful as biomarkers of infection. However, an in-depth discussion is beyond the scope of this article.

Recently, further studies have focused on ci-miRNAs. In contrast to the large number of studies investigating cellular miRNAs, there has been little research into the actual involvement of ci-miRNAs in HIV infection. These nucleic acids have great potential as new biomarkers in different diseases, especially since they are reproducible and obtained non-invasively. The term "liquid biopsy" has been proposed in reference to ci-miRNAs, mainly due to the possibility of providing monitoring and individualized therapeutic strategies, facilitating the development of "personalized medicine"[44].

Although ci-miRNAs are promising biomarkers for many diseases due to their stability in biological fluids, several challenges must still be overcome before they can be used in clinical practice. Consistent and reproducible results remain elusive due to the difficulty of isolating and detecting miRNA in blood, serum or plasma samples. Thus, researchers are continually standardizing protocols for the cross-comparison of results. As these methods are refined, the utility of ci-miRNAs as biomarkers to predict disease risk, especially in HIV infection, could increase, although further investigation is required.

In this review, we outlined how miRNA acts to regulate gene expression in HIV infection, influencing viral entry and replication, as well as host cell response. Ci-miRNA levels are altered levels in individuals with HIV, playing a dual role in infection. Advances in research have shown that ci-miRNAs could differentiate stages of HIV infection and diseases associated with a viral infection and serve as biomarkers for antiretroviral therapy's effectiveness through changes in their expression. Understanding how ci-miRNAs function in HIV could lead to the discovery of new therapeutic targets.

Conflicts of Interest

The authors have nothing to disclose.

REFERENCES

1. Moir S, Chun TW; Fauci AS. Pathogenic mechanisms of HIV disease. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:223-48.
2. UNAIDS. Fact sheet – Global AIDS Update 2019 [Internet]. 2019 [cited 2019 sep. 25]. Available from: https://www.unAids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf
3. UNAIDS. Communities at the Centre [Internet]. 2019 [cited 2019 sep. 25]. Available from: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-global-AIDS-update_en.pdf
4. UNAIDS. 2016 United Nations Political Declaration on Ending AIDS sets world on the Fast-Track to end the epidemic by 2030 [Internet]. 2016 [cited 2019 sep. 26]. Available from: https://www.unAids.org/sites/default/files/20160608_PS_HLM_Political_Declaration_final.pdf
5. Mnyani CN, Simango A, Murphy J, Chersich M, McIntyre JA. Patient factors to target for elimination of mother-to-child transmission of HIV. *Global Health*. 2014;10:36.

6. Suligoi B, Raimondo M, Fanales-Belasio E, Buttò S. The epidemic of HIV infection and AIDS, promotion of testing, and innovative strategies. *Ann Ist Super Sanit*. 2010;46(1):15-23.

7. Maartens G, Celum C, Lewin SR. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet*. 2014;384(9939):258-71.

8. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanit*. 2010;46(1):5-14.

9. Chen H, Liu K, Li Z, Wang P. Point of care testing for infectious diseases. *Clin Chim Acta*. 2019;493:138-47.

10. Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, et al. Serum microRNA are promising novel biomarkers. *PLos ONE*. 2008;3:e3148.

11. Huang J, Wang F, Argyris E, Chen K, Liang Z, Tian H, et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat Med*. 2007;13(10):1241-47.

12. Khan S, Ayub H, Khan T, Wahid F. MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer. *Biochimie*. 2019;167:12-24.

13. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6:376-85.

14. Biswas S, Haleyurgirisetty M, Lee S, Hewlett I, Devadas K. Development and validation of plasma miRNA biomarker signature panel for the detection of early HIV-1 infection. *EBioMedicine*. 2019;43:307-16.

15. Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, Mathivanan S. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteom*. 2009;6(3):267-83.

16. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*. 2004;432(7014):226-30.

17. Sartorius K, Sartorius B, Kramvis A, Singh E, Turchinovich A, Burwinkel B, et al. Circulating microRNA's as a diagnostic tool for hepatocellular carcinoma in a hyper endemic HIV setting, KwaZulu-Natal, South Africa: a case control study protocol focusing on viral etiology. *BMC Cancer*. 2017;17(1):894.

18. Silva DCP, Carneiro FD, Almeida KC, Fernandes-Santos C. Role of miRNAs on the pathophysiology of cardiovascular diseases. *Arq Bras Cardiol*. 2018;111(5):738-46.

19. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*. 1993;75(5):843-54.

20. Olsen PH, Ambros V. The lin-4 regulatory RNA controls developmental timing in Caenorhabditis elegans by blocking Lin-14 protein synthesis after the initiation of translation. *Dev Biol*. 1999; 216(2):671-80.

21. Ambros V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in C. elegans. *Cell*. 1989; 57(1):49-57.

22. Ramalingam P, Palanichamy JK, Singh A, Das P, Bhagat M, Kassab MA, et al. Biogenesis of intronic miRNAs located in clusters by independent transcription and alternative splicing. *RNA*. 2014;20(1):76-87.

23. Ambros V, Ruvkun G. Recent molecular genetic explorations of *Caenorhabditis elegans* microRNAs. *Genetics*. 2018;209(3):651-73.

24. Cammaerts S, Strazisar M, Rijk P, Del Favero J. Genetic variants in microRNA genes: impact on microRNA expression, function, and disease. *Front Genet*. 2015;6: 1-12.

25. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009;136(2):215-33.

26. Armand-Labit V, Pradines A. Circulating cell-free microRNAs as clinical cancer biomarkers. *Biomol Concepts*. 2017;8(2):61-81.

27. Dumache R, Ciocan V, Muresan C, Rogobete AF, Enache A. Circulating microRNAs as promising biomarkers in forensic body fluids identification. *Clin Lab*. 2015;61(9):1129-35.

28. Zhou Q, Li M, Wang X, Li Q, Wang T, Zhu Q, et al. Immune-related microRNAs are abundant in breast milk exosomes. *Int J Biol Sci*. 2012;8(1):118-23.

29. Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics*. 2010;73(10):1907-20.

30. Sato-Kuwabara Y, Melo SA, Soares FA, Calin GA. The fusion of two worlds: Non-coding RNAs and extracellular vesicles – diagnostic and therapeutic implications. *Int J Oncol*. 2015;46(1):17-27.

31. Tabet F, Vickers KC, Torres LFC, Wiese CB, Shoucri BM, Lambert G, et al. HDL-transferred microRNA-223 regulates ICAM-1 expression in endothelial cells. *Nat Commun*. 2014;5: 1-14.

32. Zhang J, Li S, Li L, Li M, Guo C, Yao J, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2015;13(1):17-24.

33. Barnier A, Sagan SM. The diverse roles of microRNAs at the Host-Virus interface. *Viruses*. 2018;10(8):1-26.

34. Chim SSC, Shing TKF, Hung ECW, Leung TY, Lau TK, Chiu RWK, et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*. 2008;54(3):482-90.

35. Reynoso R, Laufer N, Hackl M, Skalicky S, Monteforte R, Turk G, et al. MicroRNAs differentially present in the plasma of HIV elite controllers reduce HIV infection in vitro. *Sci Rep*. 2014;4: 1-9.

36. Narla V, Bhakta N, Freedman JE, Tanriverdi K, Maka K, Deeks SG, et al. Unique circulating microRNA profiles in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2018;79(5):644-50.

37. Hubert A, Subra C, Jenabian MA, Labrecque PFT, Tremblay C, Laffont B, et al. Elevated abundance, size, and microRNA content of plasma extracellular vesicles in viremic HIV-1+ patients: correlations with known markers of disease progression. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015;70(3):219-27.

38. Jansen C, Reiberger T, Huang J, Eischeid H, Schierwagen R, Mandorfer M, et al. Circulating miRNA-122 levels are associated with hepatic necroinflammation and portal hypertension in HIV/HCV coinfection. *PloS One*. 2015;10(2):1-11.

39. Franco S, Buccione D, Pluvinet R, Mothe B, Ruiz L, Nevot M, et al. Large-scale screening of circulating

microRNAs in individuals with HIV-1 mono-infections reveals specific liver damage signatures. *Antiviral Res*. 2018;155:106-14.

40. Murray DD, Suzuki K, Law M, Trebicka J, Nordwall JN, Johnson M, et al. Circulating miR-122 and miR-200a as biomarkers for fatal liver disease in ART-treated, HIV-1-infected individuals. *Sci Rep*. 2017;7(1): 1-11.

41. Piano MA, Gianesello L, Grassi A, Del Bianco P, Mattiolo A, Cattelan AM, et al. Circulating miRNA-375 as a potential novel biomarker for active Kaposi's sarcoma in AIDS patients. *J Cell Mol Med*. 2019;23(2):1486-94.

42. Parikh VN, Park J, Nikolic I, Channick R, Yu PB, Marco T, et al. Coordinated modulation of circulating miR-21 in HIV, HIV-associated pulmonary arterial hypertension, and HIV/HCV co-infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015;70(3):236-41.

43. Balasubramaniam M, Pandhare J, Dash C. Are microRNAs important players in HIV-1 infection? An update. *Viruses*. 2018;10(3):1-35.

44. Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, Tsujiura M, Takeshita H, Hirajima S. Circulating microRNAs: a next-generation clinical biomarker for digestive system cancers. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1-15.

Received: 19 ago, 2019
Accepted: 17 abr, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.103630

Time de Resposta Rápida em Saúde Mental (TRRSM): protocolo de atendimento psicossocial para trabalhadores da saúde no contexto de pandemia

Mental Health Rapid Response Team (MHRRT): psychosocial care protocol for health care workers in the context of a pandemic

Ana Luisa Poersch[1,2], Desirée Luzardo Cardozo[1,2], Márcia Ziebell Ramos[1,2], Flávia Moreira Lima[2], Felipe Gutiérrez Carvalho[1]

RESUMO

As novas demandas de saúde mental resultantes do contexto de pandemia levaram a equipe do Programa de Saúde Mental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre a desenvolver um protocolo de assistência especializada em saúde mental para os trabalhadores da instituição: Time de Resposta Rápida em Saúde Mental (TRRSM). O TRRSM foi elaborado em consonância com os achados na literatura sobre intervenções em saúde mental em contextos pandêmicos e eventos com elevado potencial de trauma comunitário. Essa medida visa monitorar ativamente as manifestações psíquicas dos trabalhadores durante a pandemia do novo coronavírus, através da identificação e o pronto atendimento aos grupos de alto risco para o desenvolvimento de sofrimento psíquico. Considera-se ainda que a monitorização do sofrimento psíquico deve se estender além do período de maior incidência de casos, visto que uma segunda onda de manifestações tardias, que surgem após a resolução do fator estressor, é esperada, devendo ser prontamente abordada.

Palavras-chave: *Saúde ocupacional; saúde do trabalhador; saúde mental; COVID-19*

ABSTRACT

New mental health demands result from the context of a pandemic and have led the Mental Health Program team of an university hospital to develop a mental health care protocol for the institution's workers: the Mental Health Rapid Response Team (MHRRT). The MHRRT was developed according to the literature on mental health interventions in pandemic contexts and events with a high potential for community trauma. This measure aims to actively monitor the psychic manifestations of health care workers during the new coronavirus pandemic through identification and prompt assistance to groups at high risk for experiencing psychological distress. Also, monitoring of psychological distress should extend beyond the period of highest incidence of cases, since a second wave of late mental manifestations, which arise after resolution of the stressor, is expected and should be promptly addressed.

Keywords: *Occupational health; worker's health; mental health; COVID-19*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):133-136

1 Serviço de Medicina Ocupacional, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SMO/HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Psicologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:
Felipe Gutiérrez Carvalho
felipecarvalho@hcpa.edu.br
Hospital de Clínicas de
Porto Alegre (HCPA)
Rua Ramiro Barcelos, 2350.
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

Diferentes estudos[1-3] têm apontado para os impactos psicossociais associados ao contexto de uma pandemia e a importância de estratégias de intervenção precoce, no sentido de oferecer possibilidades e ferramentas para a estabilização emocional e o manejo das manifestações psicológicas decorrentes desta situação. Neste cenário, os trabalhadores da área da saúde, especialmente aqueles que desenvolvem atividades laborais em locais que prestam o atendimento a pessoas com suspeita ou diagnóstico de COVID-19, estão vulneráveis ao risco de infecção e a problemas de saúde mental.

CC BY

O Programa de Saúde Mental do Trabalhador do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), atento a esta necessidade, reorganizou seu processo de trabalho de modo a contemplar a especificidade deste momento através de um conjunto de intervenções que visam a assistência especializada em saúde mental e o compromisso com o acolhimento, enquanto dispositivo de humanização, visando criar condições que possibilitem disponibilizar uma escuta qualificada aos trabalhadores do hospital.

MÉTODOS

Este estudo apresenta um protocolo de atenção psicossocial que visa promover cuidados em saúde mental a trabalhadores do HCPA durante a pandemia do novo coronavírus. O referido hospital conta com aproximadamente 6.200 trabalhadores celetistas, 700 residentes médicos e multiprofissionais, além de 500 professores em diversos serviços e especialidades. Para a elaboração deste protocolo de atendimento, em consonância com Plano de Contingência Institucional, foram revisados os dados da literatura relacionados aos cuidados em saúde mental dos trabalhadores da área da saúde durante a pandemia do novo coronavírus[1,4-6], assim como durante experiências prévias em outros eventos de características semelhantes[2,7].

Inspirado na abordagem de resposta rápida para emergências clínicas[8], cujo propósito concentra-se em identificar sinais com maior risco de evolução grave a fim de prevenir a progressão a desfechos desfavoráveis, o presente protocolo foi concebido como Time de Resposta Rápida em Saúde Mental (TRRSM). O TRRSM tem como objetivo a operacionalização de uma monitorização ativa sobre as manifestações psíquicas dos trabalhadores da saúde em relação ao contexto pandêmico, visando a identificação e o pronto atendimento aos grupos de alto risco para o desenvolvimento de sofrimento psíquico. Essas estratégias têm como objetivo prevenir a progressão a quadros sintomáticos de maior gravidade[4], visando pronto encaminhamento para suporte especializado nos casos em que é observada a presença de sintomas agudos e outros fatores de risco.

RESULTADOS

Com base nos dados da literatura e nos achados clínicos observados ao longo da evolução do contexto pandêmico, procedeu-se com a estratificação inicial de risco para o desenvolvimento de sintomas psiquiátricos de acordo com diferentes características relacionadas ao perfil dos trabalhadores. Os níveis de risco e o fluxograma do TRRSM são apresentados na Figura 1.

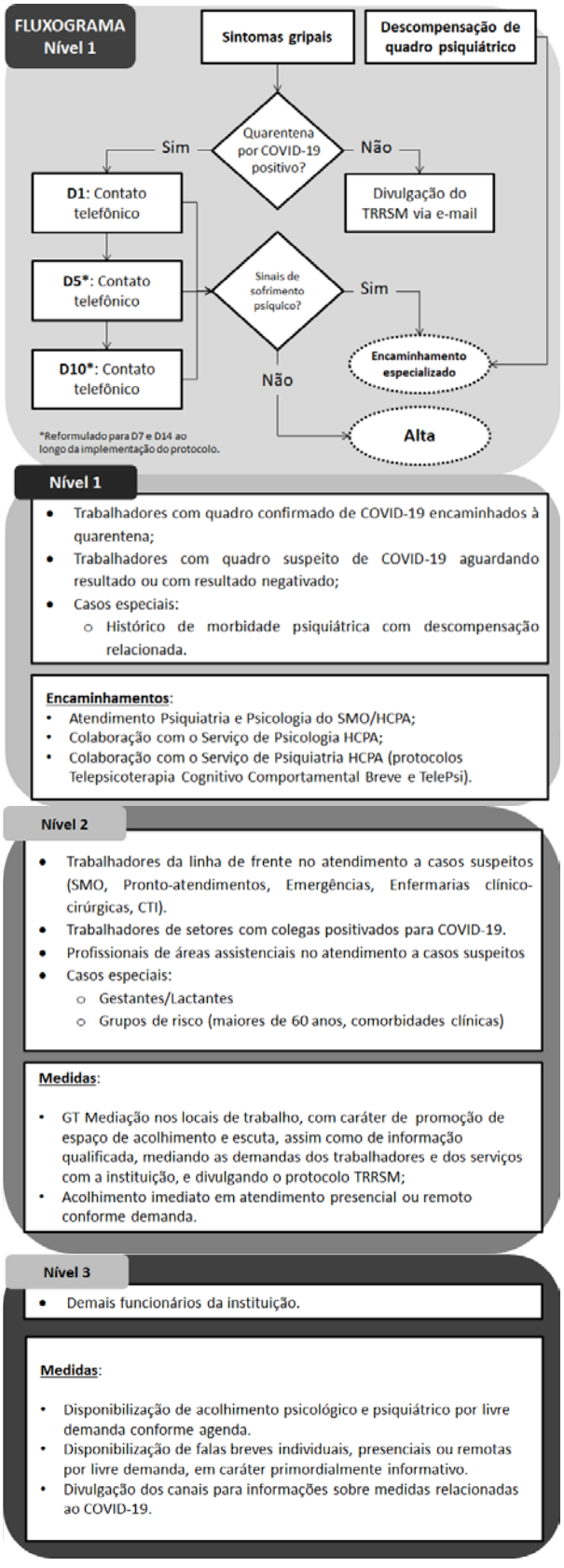

Figura 1: Os níveis de risco e o fluxograma do TRRSM.

As medidas adotadas em cada um dos níveis estão descritas a seguir.

Medidas adotadas para o nível 1

Na referida instituição, o Serviço de Medicina Ocupacional (SMO) é responsável pelo atendimento dos trabalhadores que apresentam sintomas compatíveis com a síndrome gripal, realizando testagem para COVID-19 quando se faz necessário. Diariamente um dos profissionais do TRRSM consulta a planilha dos atendimentos feitos a trabalhadores que foram avaliados pelo SMO devido a sintomas compatíveis com síndrome gripal, para verificar os resultados dos exames que já foram comunicados individualmente aos trabalhadores. De acordo com os resultados das testagens para COVID-19, foram definidos dois fluxos de abordagem:

1. Trabalhadores com resultado positivo para COVID-19 encaminhados à quarentena:

   Monitorização ativa através de contato telefônico realizado por um profissional do TRRSM no 1º, 5º e 10º dia (D1, D5 e D10) de isolamento. Se identificada demanda de sofrimento psíquico, o trabalhador é encaminhado para atendimento psicossocial individual remoto (on-line ou telefone).

   Abordagem reformulada:
   Ao longo do período pandêmico, foram observados dois fatores que levaram a revisão dos dias de contato ativo: (1) o aumento exponencial no número de casos positivos e (2) o prolongamento no tempo de afastamento pela manutenção de quadros sintomáticos. Assim, fez-se necessária a reformulação do contato para 1º, 7º e 14º dia (D1, D7 e D14) de isolamento.

2. Trabalhadores com resultado negativo de COVID-19:

   Contato via e-mail institucional, realizado por um profissional do TRRSM no 1º dia após comunicação do resultado do exame, para divulgar a política de suporte e acompanhamento psicológico e psiquiátrico destinado a quem coletou exames para COVID-19. Conforme solicitação do trabalhador, é realizado o encaminhamento para atendimento psicossocial individual presencial ou remoto.

Durante o contato telefônico, são abordados os seguintes aspectos: estado de saúde geral, rede de apoio, modo como está vivenciando o adoecimento, o período de quarentena e o contexto pandêmico. O trabalhador também é comunicado que em poucos dias será realizado novo contato telefônico para acompanhamento e suporte. Esses contatos visam identificar precocemente o desenvolvimento de sintomas relacionados à saúde mental. A partir dessa breve avaliação, são realizados os encaminhamentos necessários. Os contatos telefônicos (ou via e-mail nos casos de três tentativas telefônicas sem sucesso) são registrados no prontuário eletrônico do trabalhador, tomando-se os cuidados necessários para a manutenção do sigilo profissional.

Para possibilitar o pronto encaminhamento das demandas identificadas pelos contatos supracitados, foram realizadas colaborações com grupos de atendimento psiquiátrico e psicológico de caráter remoto e/ou presencial. Além disso, para atender aos casos especiais do Nível 1 (descompensação de quadro psiquiátrico prévio), procedeu-se com disponibilização de marcação facilitada de consulta psiquiátrica, conforme disponibilidade de agenda, por demanda espontânea de qualquer trabalhador da instituição. Houve também ampliação dos horários disponíveis para marcação de avaliação, visando suprir o aumento das demandas decorrentes desse fluxo.

Medidas adotadas para o nível 2

Realização de abordagens conjuntas nas áreas assistenciais in loco pelo Programa de Saúde Mental/SMO, junto da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e do Núcleo de Segurança do Paciente (composto pela integração do Programa QUALIS e da Gerência de Risco). Propiciam-se, desta forma, espaços de escuta, acolhimento e psicoeducação em saúde mental frente à situação de crise, gerenciando ainda ações de qualidade e de segurança na instituição, discutindo-se o uso dos Equipamentos de Proteção Individuais (EPIs) e coletando experiências que subsidiem o redesenho de processos e a atenuação de riscos assistenciais.

Medidas adotadas para o nível 3

Além das medidas supracitadas, o fluxo de atendimentos em saúde mental para os demais funcionários da instituição foi facilitado. Fora o acolhimento psicológico em horários determinados ao longo dos dias da semana, o qual compõe o fluxo normal de atendimento institucional, foi aberta também a possibilidade de consulta com médico psiquiatra por livre demanda, conforme disponibilidade na agenda do profissional. Além disso, foi promovido um maior trabalho informativo, tanto em falas individuais quanto na divulgação de canais específicos para melhor compreensão das medidas gerais relacionadas ao contexto pandêmico atual, como ramal telefônico e endereço de e-mail específico para possibilitar o acesso a maiores informações relacionadas ao tema.

DISCUSSÃO

Ações voltadas para prevenir e abordar precocemente problemas de saúde mental decorrentes da pandemia do novo coronavírus são prementes. Assim, o presente protocolo foi elaborado ao ser considerada a necessidade de implementar uma estratégia de abordagem ativa de cuidados em saúde mental para os trabalhadores do HCPA durante a pandemia. Espera-se que este protocolo possibilite que a equipe do Programa de Saúde Mental do Trabalhador realize prontamente o acolhimento psicossocial aos profissionais do hospital com quadro suspeito ou confirmado de COVID-19, assim como aos demais profissionais com demandas de sofrimento psíquico relacionadas ao contexto pandêmico.

Através dessa ação, pretende-se identificar necessidades específicas de cada trabalhador e auxiliar na construção de recursos para enfrentar o adoecimento. Dada necessidade de isolamento social e afastamento do trabalho, o atendimento remoto apresenta-se como uma alternativa não apenas factível e pertinente, mas necessária para promover o "não estar só". Além disso, os dados provenientes deste protocolo possibilitarão um melhor entendimento do perfil dos trabalhadores com maiores dificuldades em lidar com esse tipo de situação em uma população de características diversas das até então estudadas (preponderantemente asiáticas), facilitando a abordagem de possíveis contextos semelhantes no futuro.

REFERÊNCIAS

1. Lai J, Ma S, Wang Y, Cai Z, Hu J, Wei N, et al. Factors Associated With Mental Health Outcomes Among Health Care Workers Exposed to Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw open*. 2020;3(3):e203976.
2. Maunder R, Hunter J, Vincent L, Bennett J, Peladeau N, Leszcz M, et al. The immediate psychological and occupational impact of the 2003 SARS outbreak in a teaching hospital. *CMAJ*. 2003;168(10):1245-51.
3. Xiang YT, Zhao YJ, Liu ZH, Li XH, Zhao N, Cheung T, et al. The COVID-19 outbreak and psychiatric hospitals in China: managing challenges through mental health service reform. *Int J Biol* Sci. 2020;16(10):1741-4.
4. Jiang X, Deng L, Zhu Y, Ji H, Tao L, Liu L, et al. Psychological crisis intervention during the outbreak period of new coronavirus pneumonia from experience in Shanghai. *Psychiatry Res*. 2020;286:112903.
5. Zhang C, Yang L, Liu S, Ma S, Wang Y, Cai Z, et al. Survey of Insomnia and Related Social Psychological Factors Among Medical Staff Involved in the 2019 Novel Coronavirus Disease Outbreak. *Front Psychiatry*. 2020;11:306.
6. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, Woodland L, Wessely S, Greenberg N, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet*. 2020;395(10227):912-20.
7. DePierro J, Lowe S, Katz C. Lessons learned from 9/11: Mental health perspectives on the COVID-19 pandemic. *Psychiatry Res*. 2020;288:113024.
8. Lee A, Bishop G, Hillman KM, Daffurn K. The Medical Emergency Team. *Anaesth Intensive Care*. 1995;23(2):183-6.

Recebido: 29 maio, 2020
Aceito: 8 jun, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.101923

Tratamento cirúrgico da síndrome da artéria mesentérica superior em paciente idosa

Surgical treatment of mesenteric superior artery syndrome in an older woman

Eduardo Neubarth Trindade[1,2], Carine Leite[3], Manoel Roberto Maciel Trindade[2,4]

RESUMO

A síndrome da artéria mesentérica superior (SAM), ou síndrome de Wilkie, é uma afecção rara que acomete geralmente indivíduos jovens do sexo feminino. Caracterizada pela obstrução parcial ou completa do duodeno devido à compressão pela artéria mesentérica superior anteriormente, e pela aorta, posteriormente. Apresentamos um caso não usual de SAM, em paciente idosa, diagnosticado através de história clínica e imagem tomográfica característica. Indicou-se manejo cirúrgico de derivação jejunal e anastomose com duodeno acima da obstrução, na ciência do risco do procedimento. A paciente apresentou excelente evolução e encontra-se assintomática. O diagnóstico precoce, através de uma anamnese adequada e uso dos critérios radiológicos já definidos em literatura, podem afetar positivamente o desfecho dos pacientes portadores em qualquer faixa etária.

Palavras-chave: *Obstrução duodenal; síndrome da artéria mesentérica superior; procedimento cirúrgico*

ABSTRACT

Superior mesenteric artery syndrome (SMAS), or Wilkie syndrome, is a rare condition that usually affects young women. It is characterized by partial or complete obstruction of the duodenum due to compression by the superior mesenteric artery anteriorly and by the aorta posteriorly. We report an unusual case of SMAS in an older woman diagnosed using clinical history and tomographic imaging. Surgical management consisting of jejunal shunt and anastomosis with duodenum above the obstruction was indicated despite the risk of the procedure. The outcome was excellent, and the patient is asymptomatic. Early diagnosis using adequate anamnesis and radiological criteria defined in the literature may positively influence the outcome of patients from any age group.

Keywords: *Duodenal obstruction; superior mesenteric artery syndrome; surgical procedure*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):137-139

1 Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Serviço de Cirurgia Geral, Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Serviço de Gastroenterologia, Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre, RS, Brasil.

4 Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:
Eduardo Neubarth Trindade
eduardontrindade@yahoo.com.br
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos, 2350.
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

A síndrome da artéria mesentérica superior (SAM) é uma causa rara, porém bem documentada, de obstrução parcial ou completa do trato gastrointestinal a nível de terceira porção do duodeno. Ocorre quando a distância entre a mesentérica superior e a aorta é muito pequena, em geral menor que 8 mm, havendo compressão duodenal entre os vasos[1]. A SAM apresenta etiologia congênita ou adquirida, como o caso que descrevemos, em paciente com idade avançada.

RELATO DE CASO

Paciente feminina de noventa e nove anos procura emergência por estar apresentando sintomas dispépticos há pouco mais de um mês. Nos últimos dias iniciou com dor epigástrica, distensão abdominal e vômitos biliosos. Negava cirurgias prévias, e como comorbidades havia história de hipertensão

CC BY

e hipotireoidismo. Apresentava-se desidratada, exame abdominal com distensão e hipertimpanismo em andar superior, sem peritonismo.

Foi solicitada tomografia computadorizada de abdomen sem contraste, que evidenciou distensão de câmara gástrica e duodeno proximal. Iniciou-se manejo clínico com jejum, sonda nasogástrica em aspiração e hidratação endovenosa. Realizou-se exame endoscópico com aparelho de colonoscopia pediátrico, em que se avançou até a transição duodenojejunal, não se observando alterações de mucosa no delgado. Observou-se hérnia hiatal de pequeno porte e cicatrizes de úlcera duodenal.

Em tomografia de abdômen com contraste foram confirmados achados do exame não contrastado, mas também se evidenciou pinçamento duodenal entre a artéria mesentérica e a aorta; a distância entre os vasos era de 7.49 mm, angulação de 25.6º (Figura 1).

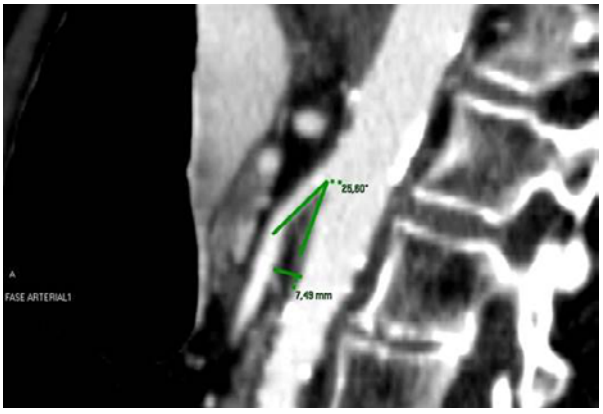

Figura 1: Tomografia com contraste, reconstrução sagital, evidenciando distância e angulação entre mesentérica superior e aorta.

Assim, realizado diagnóstico de síndrome da artéria mesentérica superior. Houve tentativas de suspender aspiração gástrica com liberação de dieta, mas apresentou recidiva de sintomas. Dada a intratabilidade clínica, foi submetida à cirurgia. No transoperatório foi visualizada e palpada a mesentérica rígida e calcificada, comprimindo a transição da terceira para quarta porção duodenal (Figura 2). Realizada derivação jejunal e anastomose com segunda porção duodenal. Acredita-se que a história de perda de peso não aferida recente, associada ao enrijecimento da artéria, desencadearam a patologia.

Apresentou melhora gradual do quadro obstrutivo no pós-operatório. Os sintomas de gastroparesia resolveram após 4 semanas da cirurgia. Encontra-se assintomática em seguimento ambulatorial até então de 90 dias.

Figura 2: Fotografia do transoperatório identificando artéria mesentérica rígida e calcificada (seta).

DISCUSSÃO

A síndrome da artéria mesentérica superior foi inicialmente descrita por Rokitansky em um livro de anatomia de 1842[2]. Também é conhecida por síndrome de Wilkie, autor que a relatou em 1921[3].

É causa rara de obstrução da terceira porção do duodeno, sendo responsável por 0.01 a cada 1000 internações hospitalares. Mais comum em pacientes jovens e do sexo feminino[4].

Ocorre por compressão duodenal entre a mesentérica superior e aorta. O ângulo normal entre esses vasos é entre 38 e 65 graus, mas alguns pacientes apresentam de forma congênita um ângulo mais agudo[5], favorecendo o surgimento da patologia.

Quando ocorre perda de gordura no espaço entre as artérias ou quando a mesentérica é reposicionada em cirurgia ou trauma, esta angulação diminui, ocorrendo compressão duodenal entre os vasos. Por tal razão as principais causas adquiridas da síndrome são perda de peso significativa[6], cirurgia para correção de escoliose[7], imobilização em posição supina[8] e trauma[9].

Os sintomas podem instalar-se de forma aguda, como após trauma ou cirurgia, ou de forma insidiosa, quando ocasionada por um dos demais fatores. O indivíduo apresenta anamnese e exame físico compatível com obstrução duodenal após o ângulo de Treitz (dor epigástrica, vômitos com conteúdo biliar, distensão abdominal). Ocorre alívio da distensão quando em posição prona ou decúbito lateral esquerdo, pois reduz a tensão da mesentérica. Da mesma forma pressionar a região umbilical do paciente em região infraumbilical, em direção cefálica e dorsal, eleva a raiz mesentérica e portanto reduz os sintomas.

O diagnóstico diferencial é realizado com outras causas de obstrução a nível de terceira porção

duodenal como tumor e bridas. Doenças que ocasionem dismotilidade severa como diabete, colagenose e pseudo-obstrução idiopática podem mimetizar o quadro[10].

A tomografia com contraste deve ser o exame de primeira escolha, em que se evidencia a compressão duodenal entre as artérias e a distensão gástrica e do duodeno proximal. Fixação alta do duodeno, alterações anatômicas ou origem baixa da mesentérica superior podem estar presentes. Se houver uma distância menor de 8mm ou angulação menor que 22º entre os vasos a especificidade se aproxima de 100%[1].

O tratamento conservador não é resolutivo, com exceção de casos selecionados, geralmente agudos e leves, como os que são ocasionados por perda de peso. A melhora da nutrição pode aumentar o volume de tecido adiposo perivascular e desobstrução duodenal, evitando a cirurgia[11]. Também podem ser realizadas manobras em período pós-prandial tardio, a fim de faciliar o trânsito.

Nos casos de intervenção cirúrgica, o suporte clínico pré-operatório é fundamental. Consiste nas medidas usuais de manejo de obstrução duodenal, como jejum, sonda nasogástrica em aspiração e correção de distúrbios hidroeletrolíticos. Existem três procedimentos cirúrgicos que podem ser indicados: secção do ligamento de Treitz para liberação do duodeno (procedimento de Strong), anastomose duodenojejunal (duodenojejunostomia) ou gastrojejunal (gastrojejunostomia). A via laparoscópica acarreta menor morbidade, porém é tecnicamente mais difícil, em especial pela baixa experiência na maioria dos centros[12]. A duodenojejunostomia parece ser o mais resolutivo, pois apresenta taxa de sucesso de até 90% na resolução dos sintomas. Os procedimentos vasculares como derivação da aorta ou dos vasos ilíacos não são comumente utilizados na pratica clínica, pela sua alta morbidade e pelas opções cirúrgicas menos agressivas[13].

A síndrome da artéria mesentérica superior é uma causa rara de obstrução duodenal. Apresentamos um caso atípico pela faixa etária (paciente aproximando-se dos cem anos) e etiologia (perda de peso pouco significativa e aterosclerose). Um caso desafiador pela desnutrição e idade avançada. Intervir cirurgicamente foi uma decisão difícil em paciente com alto risco pré-operatório, mas evitou uma internação prolongada, desnutrição e risco de evolução desfavorável.

Confidencialidade dos Dados

Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação de dados.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Unal B, Aktaş A, Kemal G, Bilgili Y, Güliter S, Daphan C, et al. Superior mesenteric artery syndrome: CT and ultrasonography findings. *Diagn Interv Radiol*. 2005;11(2):90-5.
2. Rokitansky C. Handbuch der pathologischen Anatomie. Viena: Braumüller und Seidel; 1842.
3. Wilkie DPD. Chronic duodenal ileus. *BJS Open*. 1921;9(34):204-14.
4. Welsch T, Büchler MW, Kienle P. Recalling superior mesenteric artery syndrome. *Dig Surg*. 2007;24(3):149-56.
5. Derrick JR, Fadhili HA. Surgical anatomy of the superior mesenteric artery. *Am Surg*. 1965;31:545-7.
6. Goitein D, Gagné DJ, Papasavas PK, Dallal R, Quebbemann B, Eichinger JK, et al. Superior mesenteric artery syndrome after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Obes Surg*. 2004;14(7):1008-11.
7. Zhu ZZ, Qiu Y. Superior mesenteric artery syndrome following scoliosis surgery: its risk indicators and treatment strategy. *World J Gastroenterol*. 2005;11(21):3307-10.
8. Adams JB, Hawkins ML, Ferdinand CH, Medeiros RS. Superior mesenteric artery syndrome in the modern trauma patient. *Am Surg*. 2007;73(8):803-6.
9. Smith BM, Zyromski NJ, Purtill MA. Superior mesenteric artery syndrome: an underrecognized entity in the trauma population. *J Trauma*. 2008;64(3):827-30.
10. Anderson FH. Megaduodenum. A case report and literature review. *Am J Gastroenterol*. 1974;62(6):509-15.
11. Naseem Z, Premaratne G, Hendahewa R. "Less is more": non operative management of short term superior mesenteric artery syndrome. *Ann Med Surg (Lond)*. 2015;4(4):428-30.
12. Yao SY, Mikami R, Mikami S. Minimally invasive surgery for superior mesenteric artery syndrome: a case report. *World J Gastroenterol*. 2015;21(45):12970-5.
13. Mandarry MT, Zhao L, Zhang C, Wei ZQ. A comprehensive review of superior mesenteric artery syndrome. *Eur Surg*. 2010;42:229-36

Recebido: 13 abr, 2020
Aceito: 16 jun, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.103848

Late recurrence of low-grade serous carcinoma of the ovary mimicking colorectal neoplasia

Mateus Torres Avelar de Lima[1], Cauã Oliveira Rocha[1], Jéssica Onofre de Brito Lima[2], Aline Spader Casagrande[1,3], Caroline Lorenzoni Almeida Ghezzi[1,3]

Clin Biomed Res. 2000;40(2):140-143.

1 Departamento de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Patologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Departamento de Radiologia, Hospital Moinhos de Vento. Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:
Mateus Torres Avelar de Lima
mtlima@hcpa.edu.br
Departamento de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)
Rua Ramiro Barcelos, 2350.
90035-007, Porto Alegre, RS, Brasil.

A 65-year-old female patient presented with hypogastric pain, fecal incontinence, and weight loss. Physical examination showed a distended abdomen and a palpable mass in the left lower quadrant. She had a history of ovarian cancer at 40 years of age treated with hysterectomy, bilateral oophorectomy, and chemotherapy – further details, including histologic diagnosis, were not available.

Computed tomography (CT) scan identified in the pelvis a heterogeneous hyperdense expansile lesion measuring 12.5 × 6.7 × 6.2 cm, without cleavage plane with sigmoid colon and intraperitoneal rectum, and anatomically deforming them (Figure 1).

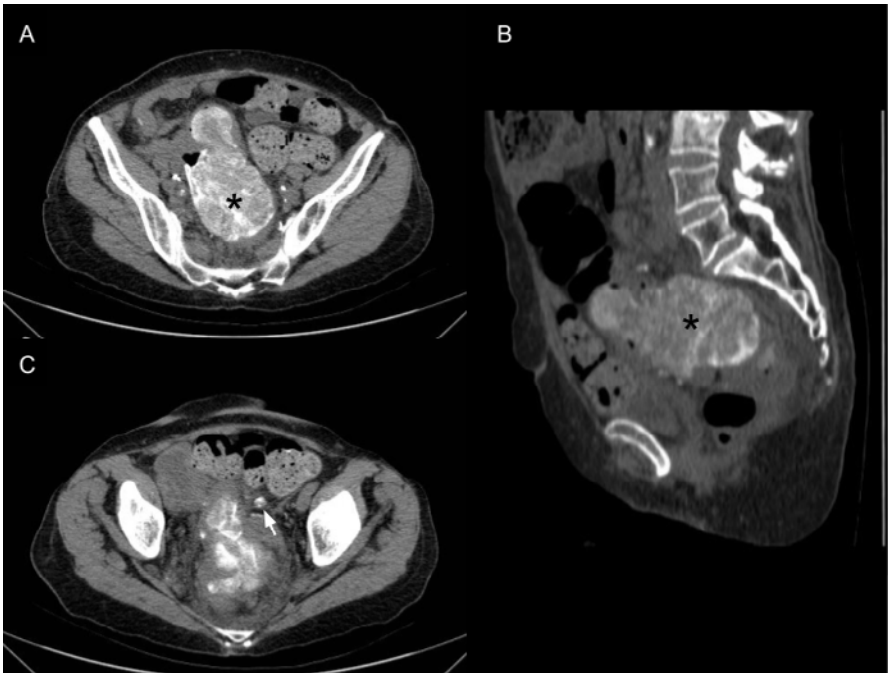

Figure 1: Unenhanced pelvic CT. A: Axial; B: sagittal planes showing a heterogeneous hyperdense expansile lesion (*) without cleavage plane with sigmoid colon and intraperitoneal rectum, and anatomically deforming them; C: Similarly hyperdense nodules (arrow) were also identified on the peritoneal surface of the pelvis.

The lesion was extensively calcified, limiting the evaluation of contrast enhancement pattern. Smaller and similarly hyperdense nodules were also identified on the peritoneal surface of the pelvis.

Magnetic resonance imaging (MRI) showed the large expansile mass in close contact with the intraperitoneal rectum, extending to the rectosigmoid transition and occupying most of the mesorectum, narrowing the intestinal lumen without signs of significant obstruction. The lesion had predominantly intermediate T2 signal with a halo of T2 hypointensity, corresponding to the CT calcified component. No mesorectal lymphadenopathy was identified. Post-gadolinium imaging

ISSN 2357-9730
CC BY

showed heterogeneous enhancement confirming the solid nature of the lesion (Figure 2).

Colonoscopy was unable to be completed due to the reported injury. Additionally, serum CA-125 was elevated: 65 U/mL.

The patient underwent exploratory laparotomy with *en bloc* resection of the tumor and the affected large intestine. Grossly, the lesion consisted of a pale-colored solid mass, with hemorrhagic areas, protruding inside the colon, likely originated from the mesocolon and mesorectum. Histological analysis showed epithelial neoplasia with papillary architecture and numerous psammoma bodies in the intestinal wall and mesocolon (Figure 3).

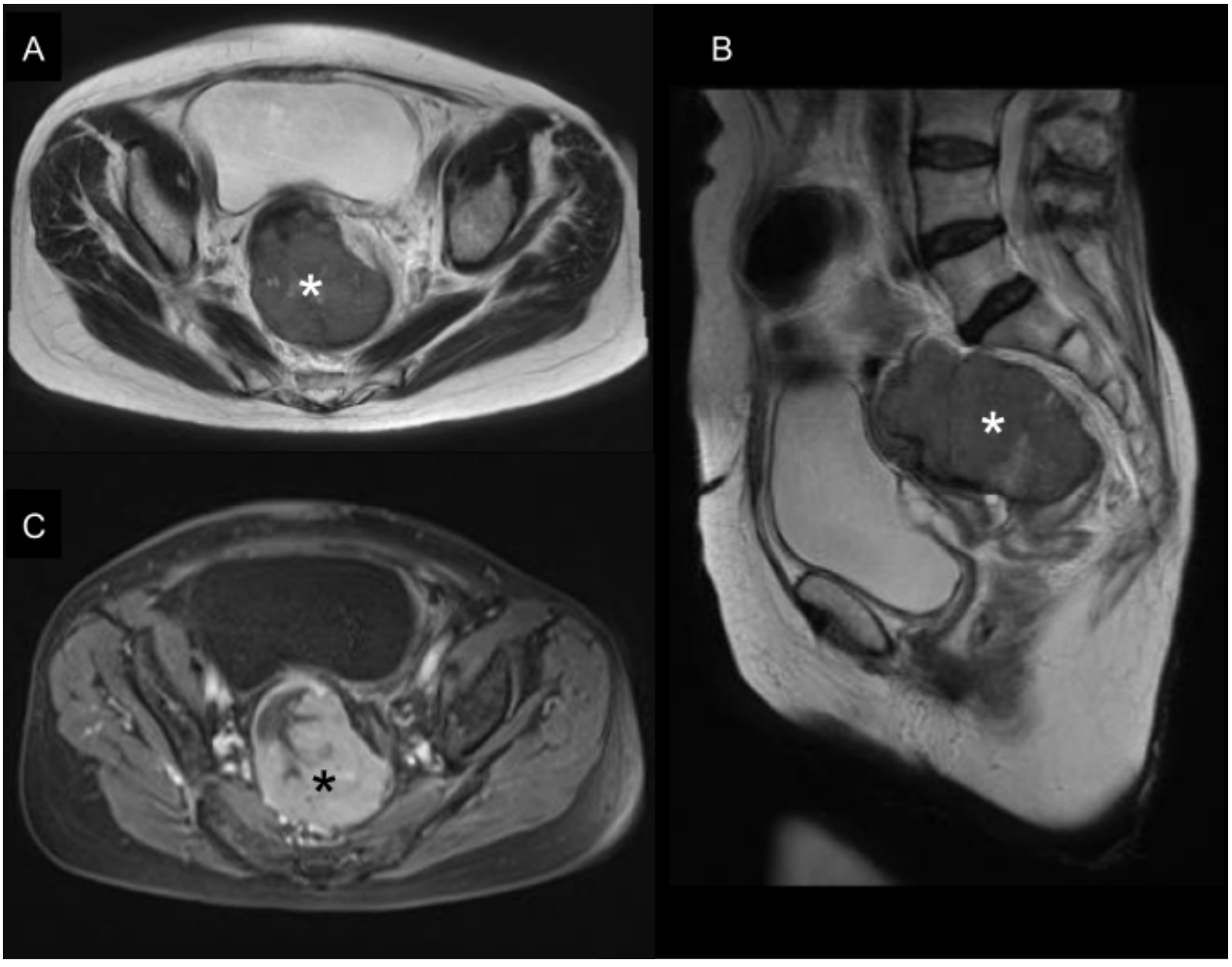

Figure 2: Pelvic MRI. A: Axial; B: Sagittal T2-weighted planes showing the lesion (*) with predominantly intermediate signal intensity with a halo of hypointensity; C: Post-gadolinium imaging showing heterogeneous enhancement confirming the solid nature of the lesion.

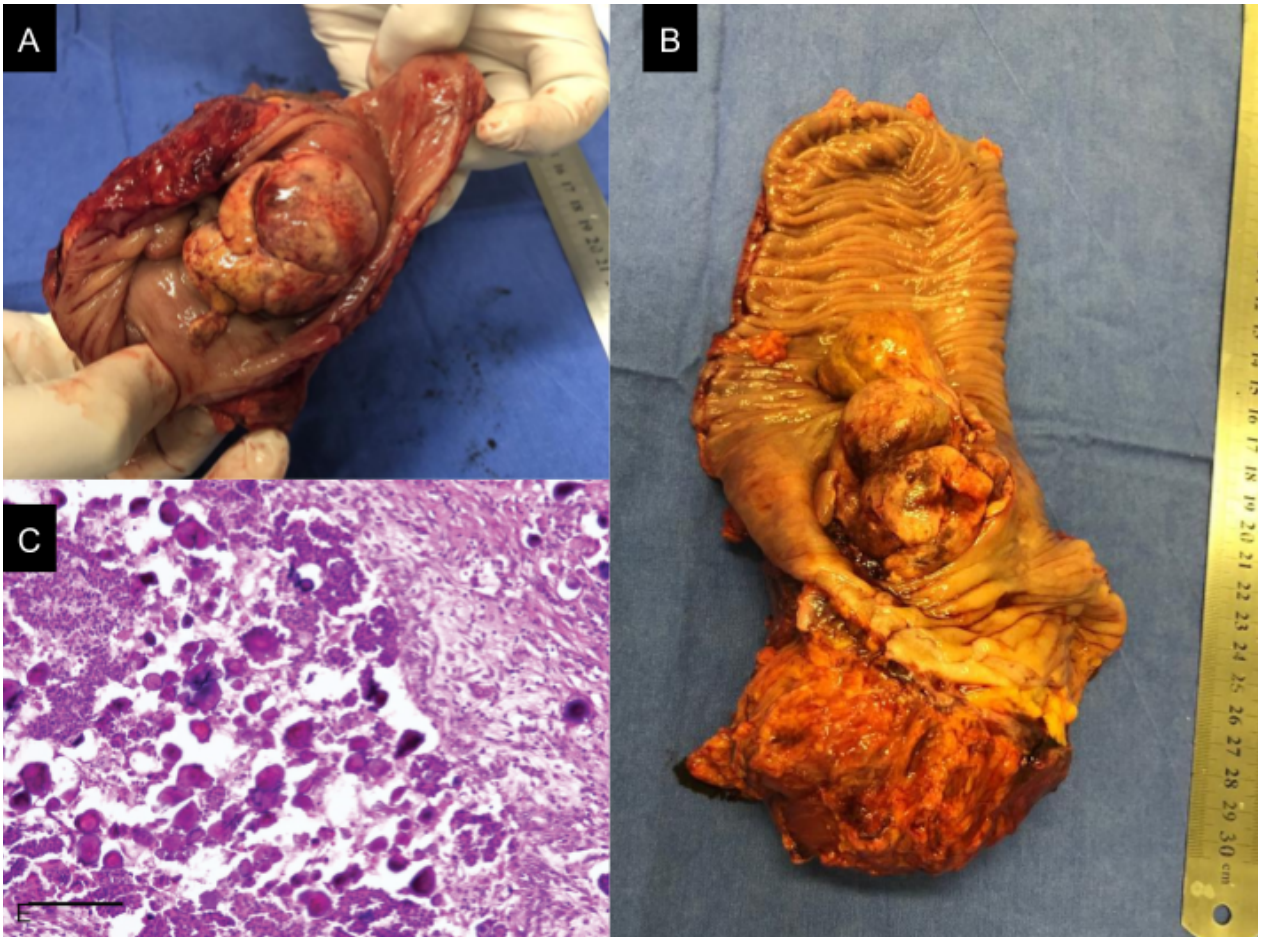

Figure 3: A, B: Gross view of the pale-colored solid mass, with hemorrhagic areas, protruding inside the colon, likely originated from the mesocolon and mesorectum; C: Microscopic view showing numerous psammoma bodies.

There were foci of necrosis and suppuration, extensive lymphovascular invasion and metastasis in 4 mesocolic lymph nodes present in the tissue sample. The immunohistochemical profile was compatible with low-grade serous carcinoma (LGSC) of the ovary.

LGSC is an uncommon malignancy, accounting for 3-10% of the ovarian serous neoplasms[1]. It is an insidious carcinoma that slowly progresses from precursor lesions (a stepwise sequence from cystadenoma to serous borderline tumor to atypical proliferative serous tumor and finally to LGSC)[2]. It can have different gross presentations, such as a solid, cystic-solid, or complex cystic mass[3]. The presence of calcifications is common, and their extent has been related to disease progression. A study of a series of 53 patients with a diagnosis of ovarian LGSC showed that 29 (56%) had psammoma bodies on histological analysis without meeting the definition of psammomacarcinoma[3]. A feature that can distinguish LGSC from benign entities is the presence of nodal calcification along a calcified adnexal mass, especially in the absence of an infectious or inflammatory etiology[1]. Additionally, it has been shown that ascites is not a prominent finding in patients with LGSC, even in the presence of peritoneal masses[1,3].

Most cases of ovarian LGSC recurrence have been reported within the first 5 years and, until 2014, only 5 cases of very late recurrence (more than 20 years after the original diagnosis) were described[4]. A previous study showed a higher recurrence risk in cases presenting with ovarian surface involvement and capsular rupture, or with residual disease after surgery[5]. The present report demonstrates an unusual finding of late recurrence of ovarian LGSC diagnosed 25 years after treatment, mimicking colorectal neoplasia. Therefore, we highlight that, in the setting of ovarian LGSC, calcified lesions on the peritoneal surface should warn about the possibility of disease progression or recurrence[3].

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Pannu HK. CT features of low grade serous carcinoma of the ovary. *Eur J Radiol Open*. 2015;2:39-45.
2. Vang R, Shih IM, Kurman RJ. Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Adv Anat Pathol*. 2009;16(5):267-82.
3. Elsherif S, Javadi S, Viswanathan C, Faria S, Bhosale P. Low-grade epithelial ovarian cancer: what a radiologist should know. *Br J Radiol*. 2019;92(1095):20180571.
4. Menczer J, Schreiber L, Peled O, Levy T. Very late recurrence (after more than 20 years) of epithelial ovarian carcinoma: case report and literature review. *Arch Gynecol Obstet*. 2015;291(6):1199-203.
5. Hannibal CG, Vang R, Junge J, Frederiksen K, Kurman RJ, Kjaer SK. A nationwide study of ovarian serous borderline tumors in Denmark 1978-2002. Risk of recurrence, and development of ovarian serous carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2017;144(1):174-80.

Received: June 4, 2020
Accepted: Aug 4, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.97269

Complete gallbladder duplication – Seventh report in world literature

Renata Bruna Garcia dos Santos Gatelli[1], Charles Nilton Gatelli[1], Robson Rottenfusser[1], Paulo Osório[1], Ana Paula Pompeo Vartha[2]

Clin Biomed Res. 2020;40(2):144-145.

1 Hospital de Clínicas de Passo Fundo. Passo Fundo, RS, Brasil.

2 Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, RS, Brasil.

Corresponding author:
Ana Paula Pompeo Vartha
paulinha_anah@hotmail.com
Faculdade de Medicina,
Universidade de Passo Fundo
R. Teixeira Soares, 817.
99010-080, Passo Fundo, RS, Brasil.

ABSTRACT

Gallbladder duplication results from a rare abnormality of embriogenesis[1] and is twice as common in women as in men[2].The signs and symptoms of double gallbladder cholecystitis are the same as those of single gallbladder cholecystitis: strong pain in the epigastric region and right hypochondrium, which may irradiate to the back and be accompanied by nausea and/or vomiting, Murphy positive sign, and pain on palpation of these regions; plastron may also be present[3]. For this reason, many cases are still diagnosed intraoperatively, making surgery difficult and increasing the possibility of biliary tract injury. We report the case of a female patient with epigastric and dorsal pain for 4 days, which worsened with the ingestion of salty and fatty foods and was accompanied by nausea and vomiting. Physical examination showed a positive Murphy sign. A complete abdominal ultrasound examination showed gallbladder duplication, both lithiasic. Magnetic resonance cholangiography confirmed the duplication of the gallbladder and cystic ducts, with a single main biliary tract and acute lithiasic cholecystitis in both gallbladders. A laparoscopic cholecystectomy of both vesicles was performed without complications, and the patient was discharged 3 days after the procedure.

Keywords: *Cholelithiasis; double gallbladder; anatomical variation; laparoscopic cholecystectomy*

Gallbladder duplication results from an abnormality of embryogenesis[1]. It is quite rare, occurring in about 1 of 4,000 births[4], and is twice as common in women as in men[2]. Although diagnosis is increasing due to improved imaging techniques, most cases are still diagnosed intraoperatively, making surgery difficult and increasing the possibility of biliary tract injury.

Patients with gallbladder duplication should be treated surgically, even when asymptomatic, due to possible complications of gallbladder inflammation[1]. However, it is of paramount importance to perform reference tests for the study of the biliary tract, such as magnetic resonance cholangiography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography, in order to reduce the risks of surgical conversion to open cholecystectomy, as well as the risks of biliary tract injury.

CASE REPORT

A 13-year-old female patient presented to the emergency department with epigastric and dorsal pain for 4 days, intermittently, which worsened with the ingestion of salty and fatty foods and was accompanied by nausea and vomiting. She reported having had a similar episode about a month, previously, which improved with the use of symptomatic drugs.

On physical examination, the patient was tachycardic, febrile, with a painful abdomen on palpation of the right hypochondrium and a positive Murphy sign. A complete abdominal ultrasound examination showed a double gallbladder, with associated acute lithiasic cholecystitis in both. Magnetic resonance cholangiography confirmed the duplication of the gallbladder

ISSN 2357-9730
CC BY

and cystic ducts, with a single main biliary tract, and acute lithiasic cholecystitis in both gallbladders.

An uneventful laparoscopic cholecystectomy was performed, and the patient was discharged home on the third postoperative day. The anatomopathological findings were compatible with acute chronic cholecystitis and cholesterolosis in both gallbladders and reactive lymphadenopathy in both resected lymph nodes.

DISCUSSION

Gallbladder duplication results from an abnormality of embryogenesis 5 to 6 weeks of gestation[1]. It occurs in about 1 of 4,000 births[3] and is twice as common in women as in men[2].

Although an association of gallbladder duplication with other congenital abnormalities has not been proven, some alterations have been reported along with duplication. Juillerat et al.[5] reported the case of a child with gallbladder duplication in association with heterotopic gastrointestinal mucosa and pancreatic microclusters. The hypothesis was aberrant migration of gastrointestinal tissue[1]. In addition, gallbladder duplication was also described in association with scimitar syndrome and gastrointestinal atresia[1].

Even when asymptomatic, duplication should be treated surgically due to possible complications of inflammation[1]. It should also be carefully examined, as it may be associated with cholangiocarcinoma[6].

Although the detection of gallbladder duplication is increasing due to the growing influence of imaging methods[1], surgeons need to pay attention to the rare anatomical variations of the gallbladder, which are usually not diagnosed, preoperatively, thus increasing surgical difficulty and risks[3,7] and requiring intraoperative cholangiography if the anatomy is unknown. Anatomical variations detected only intraoperatively often lead to conversion to open cholecystectomy, which potentially increases the risk of biliary tract injury[7].

The gold standard method for studying the biliary tract and diagnosing its anomalies is endoscopic retrograde cholangiopancreatography[2]. However, because it is an invasive method, magnetic resonance cholangiography has been more widely used. In the present case, the diagnosis of double gallbladder as well as the study of the biliary tract with magnetic resonance cholangiography were performed preoperatively, which facilitated surgery and reduced the risk of biliary tract injury.

Due to serious complications associated with possible biliary tract, injury, more specific investigation should be conducted to better evaluate the biliary anatomy in the presence of ultrasound evidence of alterations, such as magnetic resonance cholangiography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography, order to reduce the risks of biliary tract injury.

REFERENCES

1. Rangarajan K, Chinna S, Nair N, Das C J. Peril of missing a double gall bladder: report of a patient who needed cholecystectomy two times over. *Bmj Case Rep*. 2017:1-3. doi: 10.1136/bcr-2016-218248

2. Alratrout H, Raharimanantsoa M, Brigand C, Moliere S, Berdugo Y, Uzan J, et al. Biliary pancreatitis in a duplicate gallbladder: a case report and review of literature. *J Surg Case Rep*. 2018;5:1-4. doi: 10.1093/jscr/rjy112

3. Rohde L. Colecistite aguda litiásica e alitiásica. In: Osvaldt AB, Rohde L. *Rotinas em cirurgia digestiva*. 3a ed. Porto Alegre: Artmed; 2018. p. 553-562.

4. Won JH, Choi SY, Lee HK, Yi BH, Lee MH, Jung, MJ. Accessory gallbladder in an intrahepatic location mimicking a cystic tumor of the liver. A case report. *Medicine*. 2016;95(44):1-3. doi: 10.1097/md.0000000000005293

5. Juillerat A, Rougemont AL, Wildhaber BE. Duplication of the gallbladder with heterotopic mucosa: a case report and proposal for a classification for gastrointestinal duplications. *Arch Pediatr*. 2016;23(6):607-11. doi: 10.1016/j.arcped.2016.02.014

6. Chen W, Han R. Coexistence of double gallbladder with cholangiocarcinoma. A case report. *Medicine*. 2018;97(25):1-3. doi: 10.1097/md.0000000000011015

7. Musleh MG, Burnett H, Rajashanker B, Ammori BJ. Laparoscopic double cholecystectomy for duplicated gallbladder: a case report. *Int J Surg Case Rep*. 2017;41:502-4. doi: 10.1016/j.ijscr.2017.11.046

Received: Oct 10, 2020
Accepted: May 11, 2020

https://doi.org/10.22491/2357-9730.103611

The central vein sign in multiple sclerosis: a biomarker evaluated on a 3T MRI scanner

Lillian Gonçalves Campos[1], Bruna da Silveira Arruda[1], Verena Subtil[2], Renata Londero[3], Alessandro Finkelsztejn[3], Juliana Ávila Duarte[1,2,4]

ABSTRACT

The central vein sign (CVS) is a promising MRI biomarker in multiple sclerosis (MS). CVS has recently been proposed to improve the accuracy and speed of MS diagnosis. Evidence indicates that the presence of CVS in individual lesions can accurately differentiate MS from other diseases that mimic this condition, such as hypertensive microangiopathy, atypical demyelination, and neuromyelitis optica. Most studies have used 7T MRI scanners, which limits their clinical applicability. Recently, it has been demonstrated that the fusion of the FLAIR and SWI sequences, generating FLAIR*, allows CVS visualization even on 3T scanners. Many studies have confirmed that CVS at 3T is a specific imaging finding for MS.

Keywords: *Multiple sclerosis; central vein sign; demyelinating disease*

Clin Biomed Res. 2020;40(2):146-147

[1] Serviço de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

[2] Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

[3] Serviço de Neurologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

[4] Departamento de Medicina Interna, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Porto Alegre, RS, Brasil.

Corresponding author:
Lillian Gonçalves Campos
cglillian@yahoo.com
Serviço de Radiologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)
Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

IMAGE DESCRIPTION

The central vein sign (CVS) is a promising MRI biomarker in multiple sclerosis (MS)[1]. CVS has recently been proposed to improve the accuracy and speed of MS diagnosis[2]. Evidence indicates that the presence of CVS in individual lesions can accurately differentiate MS from other diseases that mimic this condition, such as hypertensive microangiopathy, atypical demyelination, and neuromyelitis optica[1-3]. Most studies have used 7T MRI scanners, which limits their clinical applicability[4]. Recently, it has been demonstrated that the fusion of the FLAIR and SWI sequences, generating FLAIR*, allows CVS visualization even on 3T scanners[4,5]. Many studies have confirmed that CVS at 3T is a specific imaging finding for MS[5]. At our institution, with our 3T equipment (*Philips Ingenia 3T*), FLAIR* has proven to be a great tool for identifying CVS, more frequently in the periventricular zone (Figure 1) but also in juxtacortical and cerebellar lesions, in addition to satisfactorily evidencing white matter lesions, thus summing up the benefits of each sequence separately (Figures 2 and 3).

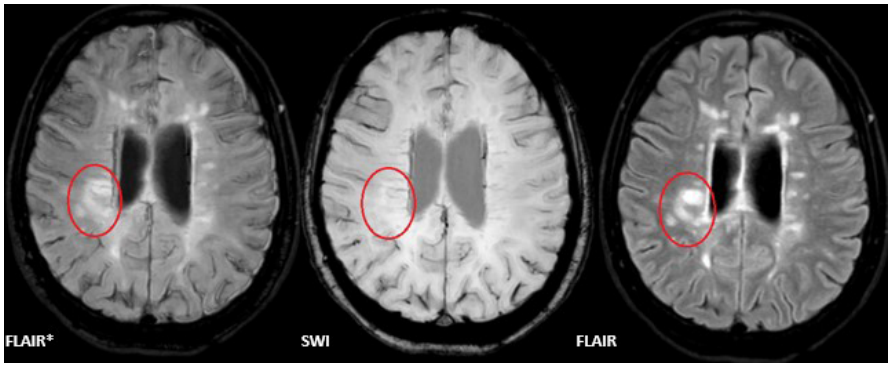

Figure 1

ISSN 2357-9730
CC BY

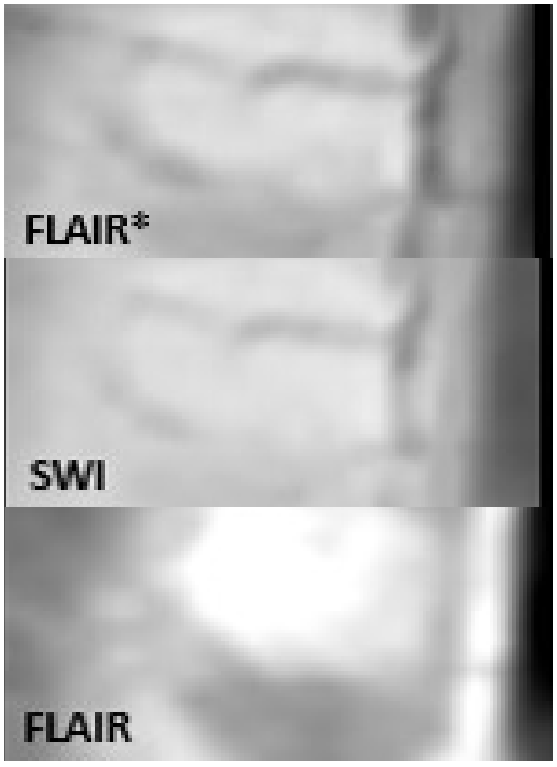

Figure 2

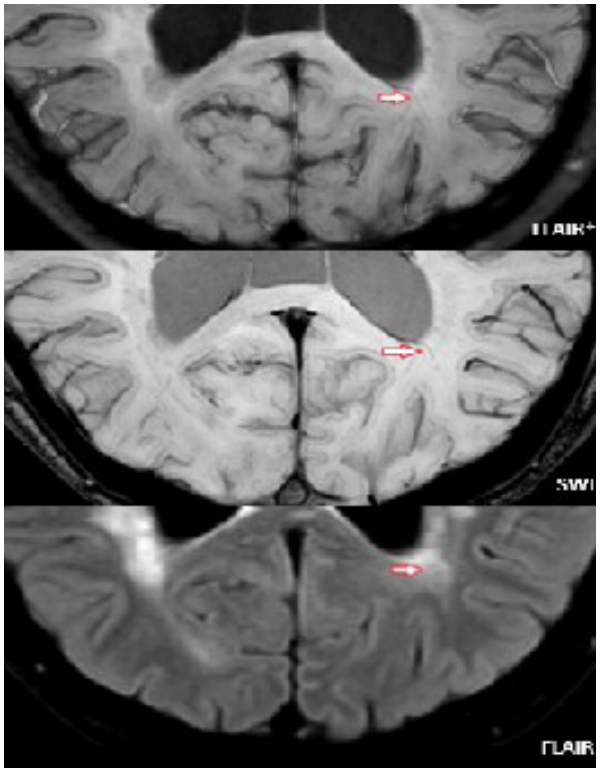

Figure 3

REFERENCES

1. Kau T, Taschwer M, Deutschmann H, Schonfelder M, Weber JR, Hausegger KA, et al. The "central vein sign": is there a place for susceptibility weighted imaging in possible multiple sclerosis? *Eur Radiol*. 2013;23(7):1956-62.
2. Sati P, Oh J, Constable RT, Evangelou N, Guttmann CR, Henry RG, et al. The central vein sign and its clinical evaluation for the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement from the North American Imaging in Multiple Sclerosis Cooperative. *Nat Rev Neurol*. 2016;12:714-22.
3. Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, Stefano N, Evangelou N, Kappos L, et al. MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines. *Lancet Neurol*. 2016;15(3):292-303.
4. Solomon AJ, Schindler KM, Howard DB, Watts R, Sati P, Nickerson JP, et al. "Central vessel sign" on 3T FLAIR* MRI for the differentiation of multiple sclerosis from migraine. *Ann Clin Transl Neurol*. 2016;3(2):82-7.
5. Sinnecker T, Clarke MA, Meier D, Enziger C, Calabrese M, De Stefano, et al. Evaluation of the central vein sign as a diagnostic imaging biomarker in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2019;76(12):1446-56.

Received: May 29, 2020
Accepted: Aug 6, 2020