

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, ECOCARDIOGRÁFICA E
IMUNOLÓGICA DA CARDITE REUMÁTICA EM COMUNIDADE
DA CIDADE DE SÃO PAULO.**

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dr. Roney Orismar Sampaio

INCOR – INSTITUTO DO CORAÇÃO (FMUSP)

RESUMO:

Este trabalho tem como objetivo promover a detecção precoce da cardite reumática subclínica através do ecocardiograma utilizando os critérios propostos pelo World Heart Federation (WHF) em 2012, associando os achados ecocardiográficos, com dados clínicos, imunológicos e laboratoriais.

A prevalência desta patologia negligenciada será estimada, preenchendo uma lacuna em nossa literatura. O projeto tem significativa relevância socioeconômica, pois a detecção precoce poderá evitar o desenvolvimento de complicações como valvopatia reumática, principal causa de insuficiência cardíaca e cirurgia cardíaca valvar na idade juvenil, reduzindo os custos do Sistema Único de Saúde e aumentando a sobrevida.

Os pacientes serão selecionados em área de vulnerabilidade na zona sul da cidade de São Paulo. Serão, inicialmente, avaliadas 4200 crianças através de ecocardiograma e ausculta cardíaca. Após, serão selecionados pacientes de dois grupos (intermediário e definitivo, para cardite reumática) e um terceiro grupo (normal, controle) pelos critérios ecocardiográfico e clínico, que farão avaliação de perfil imunológico para doença reumática.

Espera-se, portanto, validar os critérios ecocardiográficos da WHF em nossa população e estimar a prevalência de cardite reumática subclínica, com a associação de diferentes métodos de diagnóstico.

CLINICAL, ECHOCARDIOGRAPHY AND IMMUNOLOGIC EVALUATION OF SUBCLINICAL RHEUMATIC HEART DISEASE IN A LOW-INCOME COMMUNITY OF SÃO PAULO.

PRINCIPAL INVESTIGATOR: Dr. Roney Orismar Sampaio

INCOR – INSTITUTO DO CORAÇÃO (FMUSP)

ABSTRACT: This project aims to promote the early detection of subclinical rheumatic carditis by echocardiography using the innovative criteria proposed by the World Heart Federation (WHF) in 2012, joining echocardiographic, clinical and immunological findings.

The prevalence of this neglected disease will be estimated, filling a gap in our literature. This project has socioeconomic importance, since early detection can prevent the development of complications such as rheumatic valvular heart disease, the leading cause of heart failure and heart valve surgery in the youthful age, reducing the costs of the National Health System and increasing survival.

Patients will be selected in the area of socioeconomic vulnerability in a community in São Paulo. 4200 patients will be evaluated by echocardiography and cardiac auscultation. After that, we will select two groups of patients (with intermediate and definitive criteria for rheumatic carditis) and a third group (normal, control) according to clinical and echocardiographic evaluation. These subgroups will be evaluated for immunogenetic profile for rheumatic disease.

Therefore, this project is expected to validate the criteria of WHF in our population, to estimate the prevalence of subclinical rheumatic carditis, associating with different diagnostic methods.

ENUNCIADO DO PROBLEMA:

A febre reumática (FR) pode ser caracterizada como uma doença do tecido conjuntivo, ou colágeno-vascular, devido ao dano às fibras colágenas e à substância amorfa do tecido conjuntivo. O processo reumático envolve diversos órgãos, nos quais se destaca o coração, as articulações e o sistema nervoso central. A manifestação clínica da febre reumática aguda ocorre após infecção por estreptococo do grupo A de Lancefield após um período de latência de cerca de três semanas. A resposta imune tardia acontece em populações geneticamente predispostas e o principal problema é a possibilidade das lesões agudas serem seguidas de fibrose das valvas cardíacas acarretando incapacitação hemodinâmica ou doença cardíaca crônica. A respeito deste tema Jean Baptiste Bouilliot, em 1840, afirmou que “a febre reumática lambe as articulações, mas morde o coração”¹



Fig1. Faringoamigdalite estreptocócicos - Color Atlas and Text of Clinical Medicine-3rd edition

A patogênese da Febre Reumática envolve a tríade: 1) susceptibilidade genética individual, 2) infecção pelo estreptococo do grupo A e 3) resposta imune aberrante do hospedeiro. A manifestação da doença em apenas um subgrupo de crianças não tratadas de amigdalite estreptocócica e o fato de que, somente um terço das crianças afetadas progride para o desenvolvimento de doença cardíaca reumática, sugere o envolvimento de fatores genéticos do hospedeiro. Além disso, a tendência familiar e a alta concordância de FR e doença cardíaca reumática (DCR) entre gêmeos monozigotos reforça a presença de determinantes genéticos de susceptibilidade.²

A lesão valvar crônica secundária à febre reumática muitas vezes tem sido associada ao grau de cardite observado durante a fase aguda. Entretanto, é sabido que

surtos subsequentes, muitas vezes subclínicos, agravam a doença valvar. Logo, a detecção precoce de portadores de sequela de febre reumática pode favorecer políticas públicas de controle e prevenção evitando o agravamento da lesão ocorrida no surto inicial.³

Segundo projeção da Organização Mundial da Saúde (OMS) e de acordo com o último censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que anualmente no Brasil ocorram cerca de 10 milhões de faringoamigdalites estreptocócicas, perfazendo o total de trinta mil novos casos de FR, dos quais até a metade pode evoluir com acometimento cardíaco.³

A febre reumática aguda e, conseqüentemente, a cardite reumática permanece comum em países de baixa e média renda, com conseqüências econômicas e sociais catastróficas³. Dados do Ministério da Saúde estimam uma prevalência de FR ao redor de 3% entre as crianças e adolescentes, sendo responsável por 40% das cirurgias cardíacas no país.^{4,5}

Os gastos gerados pela assistência aos pacientes com FR e cardite no Brasil são significativos. Em 2007, foram destinados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) cerca de 150 milhões de reais em internações decorrentes de FR. Foram também gastos cerca de 94 milhões de reais, em 2005 (Tabela 1) e de 100 milhões, em 2007, em procedimentos intervencionistas, cirurgias e valvotomias percutâneas por sequelas cardíacas da FR.⁵

A DCR permanece como um problema de saúde pública relevante nos países em desenvolvimento causando mais de duzentas mil mortes ao ano⁴. Vale ressaltar que esforços na prevenção primária e secundária são altamente eficazes.

Tabela 1: Dados hospitalares referentes à febre reumática e cardiopatia reumática crônica no Brasil em 2005

- Internações por Febre Reumática Aguda – 2390
- Internações por Cardiopatia Reumática Crônica – 7926
- Valvuloplastia com cateter balão (mitral) – 543
- Cirurgias cardíacas para troca ou plastia valvar – 10316

- Custo de internações por FR – 52 milhões reais
- Custo de cirurgias valvares – 90 milhões reais
- Total gasto com internações clínicas/ procedimentos – 146 milhões reais
- Taxa de mortalidade por CRC – 6,8 %

Fonte: DATASUS 2005

O cálculo do índice DALYs (“disability-adjusted life years” - anos potenciais de vida perdidos ajustados para incapacidade) – demonstrou um total de 55 mil anos de vida perdidos em decorrência da FR, ou seja, 26 anos por paciente anualmente no Brasil, baseado em dados do ano 2000 ³.

A doença cardíaca reumática afeta crianças, adolescentes e adultos jovens e é geralmente o resultado de dano cumulativo da valva cardíaca devido a episódios repetitivos ou persistentes de febre reumática aguda, inclusive assintomáticos⁷. Muitas pessoas com DCR não têm história conhecida de febre reumática aguda e ignoram sua doença até quando é detectado acidentalmente durante exame físico. Outra situação é o agravamento da doença pré-existente e o aparecimento de sintomas de insuficiência cardíaca. Deste modo, somente a triagem precoce pode reconhecer e interferir na evolução desta doença. A OMS recomenda triagem ecocardiográfica nas escolas para detecção precoce de DCR, ou seja, como um meio de estimar o encargo dessa doença e identificar pacientes em áreas com alta prevalência de cardiopatia reumática.⁸

O estetoscópio era a única ferramenta não invasiva disponível aos médicos em países de baixa renda ou em locais remotos aonde a FR e a DCR são mais prevalentes. Entretanto, a frequência de detecção é usualmente baixa⁹. O ecodopplercardiograma tem demonstrado ser mais sensível e específico do que a ausculta cardíaca na detecção precoce de FR e DCR ^{9,10}.

Após o primeiro episódio de cardite, a ausculta cardíaca pode falhar na identificação de sopros em até um terço dos casos. Essas crianças podem progredir para doença reumática valvar anos seguintes. Um estudo conduzido na Nova Zelândia demonstrou que o diagnóstico clínico de lesão valvar cardíaca, mesmo por cardiologistas, é frequentemente impreciso ¹¹. Consequentemente, é improvável que a acurácia do diagnóstico clínico pela comunidade médica em outros países seja mais confiável, caso não se utilize os critérios ecocardiográficos.

A observação de que aproximadamente 90% dos casos de DCR são clinicamente silenciosas, ocorrendo em crianças assintomáticas sem sopros cardíacos, sugere que a triagem ecocardiográfica é desejável para aperfeiçoar a identificação de novos casos e, portanto, iniciar medidas de prevenção secundária precoce⁹. A partir de 2004, a OMS recomenda que seja realizada triagem ecocardiográfica associada em regiões de alta prevalência.¹⁰

Marijon et al realizaram ecocardiografia portátil em escolares de Moçambique e Camboja demonstrando uma taxa de detecção dez vezes superior à ausculta.⁵ A prevalência da cardiopatia reumática evidenciada precocemente foi, então, documentada em diversos estudos pelo mundo. A maior prevalência citada foi entre crianças de idade escolar no Tongo (3,3%), seguida por Moçambique (3,0%), Camboja (2,2%), Aborígenes Australianos (2,2%), Zaire (1,4%) e Zâmbia (1,2%). Uma prevalência de 6,7% foi estimada no Vietnã e quase 10% numa região do Brasil¹².

A cardiopatia reumática detectada em pacientes assintomáticos através do ecodopplercardiograma ainda não tem sua prevalência adequadamente estimada no estado de São Paulo e, muito menos, no Brasil. Através da detecção precoce poderemos iniciar a prevenção secundária e evitar que essas crianças tenham infecções recorrentes e assim melhorar o prognóstico. Da mesma forma, após a triagem clínica e ecocardiográfica persistem muitos casos limítrofes, ou seja, que não podem ser classificados como definitivamente reumáticos ou normais, cujo diagnóstico necessita de melhor investigação, com novos métodos.

Assim, métodos ecocardiográficos, em associação com ausculta, avaliação laboratorial como o teste de detecção de estreptococo na orofaringe e de citocinas inflamatórias, podem auxiliar ou complementar a identificação de portadores de cardiopatia reumática subclínica em geral e, particularmente, nos casos indefinidos/“borderlines”/limítrofes.

Assim, nossas hipóteses são:

- 1- A identificação de febre reumática crônica em crianças e adolescentes está aquém do desejado por falta de critérios objetivos para sua avaliação.
- 2- O uso do teste de detecção de estreptococo em orofaringe pode ser útil na avaliação do portador de cardiopatia reumática assintomática

3- O perfil imunológico da cardite reumática crônica em nossa população foi muito pouco estudado e merece uma avaliação mais apurada.

Baseados nesses fatos, ou seja, devido à dificuldade atual em identificar portadores de cardite reumática subclínica, temos como objetivos:

- 1) Identificar a prevalência de cardite reumática subclínica em crianças e adolescentes de comunidade da cidade de São Paulo (Jardim Ângela), através da associação de métodos clínicos (ausculta cardíaca) e ecocardiográficos,
- 2) Avaliar a doença cardíaca reumática na zona sul de São Paulo, visando encaminhamento para profilaxia secundária, evitando sequelas valvares,
- 3) Comparar as taxas de diagnóstico de cardite reumática subclínica obtidas com a ausculta cardíaca e ecocardiograma em nossa população,
- 4) Identificar casos com perfil imunológico susceptível à cardite reumática e verificar sua associação com as alterações ecocardiográficas, de acordo com os critérios propostos pela World Heart Federation (WHF) em 2012.
- 5) Avaliar se a associação de métodos diagnósticos distintos aumenta a acurácia na identificação precoce da cardiopatia reumática subclínica, particularmente casos limítrofes.

RESULTADOS ESPERADOS:

Os pacientes com DCR assintomática e moderada têm os maiores benefícios da prevenção secundária, porque na ausência de recorrência de FR aguda, a maioria não terá doença detectável em 5 a 10 anos. A triagem para detectar indivíduos assintomáticos é de significativa importância socioeconômica.⁵ Na região do estudo, a subprefeitura do M'Boi Mirim, em 2011, houve 732 mortes por causas cardiovasculares, taxa de 128/100.000 habitantes. A proporção de indivíduos acima de 60 anos na zona Sul da cidade de São Paulo é de 8,6%, de acordo com o último censo da população brasileira, de 2010, a mais baixa do município (Prefeitura do Município de São Paulo) Coordenação de Epidemiologia e Informação - CEInfo da Secretaria Municipal da Saúde de São Paulo. Informativo Censo Demográfico 2010. nº2, 2010. Disponível em: http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/saude/arquivos/publicacoes/Boletim_CEInfo_Censo_02.pdf.

Este será o primeiro estudo de estimativa de prevalência de Febre Reumática e doença cardíaca reumática em amostra representativa populacional no estado de São Paulo, podendo gerar planos de prevenção e diagnóstico precoce, com potencial para a redução do número de cirurgias valvares, hospitalizações e morbimortalidade, de uma parcela significativa da população em idade economicamente ativa.

A abordagem metodológica proposta de um estudo de prevalência, deverá trazer evidências que poderão embasar futuros estudos de maior representatividade no território nacional, ou mesmo a replicação dos benefícios em outras regiões do Brasil, de semelhante perfil epidemiológico, além de trazer informações que possam embasar futuras políticas públicas de saúde.

Desta forma, este protocolo poderá servir de modelo multiplicador na identificação de casos subclínicos de febre reumática em comunidades com vulnerabilidade socioeconômica no Brasil, além de tornar possível a profilaxia mais dirigida e racional.

DESAFIOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS E MEIOS E MÉTODOS PARA SUPERÁ-LOS:

PLANO GERAL DE TRABALHO:

O trabalho proposto com prazo de realização de 24 meses será coordenado e desenvolvido pela Unidade de Cardiopatias Valvares e Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Outras instituições colaboradoras serão 1) a unidade de Ecocardiografia do Hospital Israelita Albert Einstein e 2) Centro de Estudos Dr. João Amorim – CEJAM, representando as Unidades Básicas de Saúde do Jardim Ângela.

Trimestralmente ocorrerão reuniões da equipe para avaliações parciais dos achados. Análises estatísticas parciais serão realizadas semestralmente ou de acordo com a evolução do trabalho.

MÉTODO:

Desenho do estudo

Plano amostral

Este é um estudo de prevalência populacional em amostra probabilística, de crianças entre 5 e 15 anos cadastradas nas 18 Unidades Básicas de Saúde (UBS) que atendem à região do Jardim Ângela.

O número total de crianças a serem amostradas será dividido proporcionalmente entre as UBS, de acordo com o número total de crianças cadastradas em cada UBS. A partir daí, as crianças serão amostradas de forma aleatória simples considerando os cadastros das UBS. A Tabela 1 traz a informação de quais são as UBS que atendem a região do Jardim Ângela, a população de crianças entre 5 e 15 anos cadastradas e o tamanho de amostra a ser extraído de cada uma delas.

As crianças elegíveis serão convidadas a participar do estudo. Após explicação detalhada do protocolo, os responsáveis legais (habitualmente os pais) deverão assinar o termo de consentimento livre e esclarecido e ficarão com uma cópia do mesmo. Após a assinatura do TCLE, as crianças serão submetidas a exame clínico por médico cardiologista, com estetoscópio digital, destinado exclusivamente para a pesquisa. A ausculta cardíaca, **assim como inscrições fonocardiográficas, serão** gravadas e arquivadas em computador portátil (notebook) específico para o protocolo. Em seguida, todas as crianças serão submetidas a exame ecocardiográfico de triagem. Feito o ecocardiograma, serão selecionadas amostras de três grupos: casos controles (normais), “borderline” (limítrofe para cardite reumática subclínica) e definitivos, de acordo com os critérios do WHF. Os exames ecocardiográficos serão igualmente gravados e arquivados em computador portátil destinado a esse projeto.

Prevê-se uma amostra de 4200 crianças, estimada pela proporção de 2 a 3%, observada no estudo de Marijon et al.⁹ com uma precisão relativa de 25% e erro do tipo I máximo de 5%, já incluindo as possíveis perdas em torno de 10%. Respeitando a proporcionalidade das faixas etárias consideradas, planejamos observar 362 crianças de cada idade entre 5 e 15 anos. Os exames ecocardiográficos serão realizados nas UBS envolvidas no estudo. Estima-se a porcentagem de casos limítrofes em torno de 5 a 7%⁹.

As crianças diagnosticadas com outras doenças cardíacas não relacionadas ao estudo serão encaminhadas ao ambulatório de cardiologia pediátrica do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, para elucidação diagnóstica e tratamento, se for necessário.

Tabela 1: Unidades Básicas de Saúde do Jardim Ângela. População cadastrada em 2015.

<i>Unidade</i>	<i>População entre 5 e 15 anos</i>	<i>Tamanho da amostra</i>
01 - UBS Alto da Riviera	2577	209
02 - UBS Chacara Santa Maria	2856	230
03 - UBS Jardim Aracati	3447	278
04 - UBS Jardim Caiçara	3932	318
05 - UBS Jardim Capela	3089	250
06 - UBS Jardim Coimbra	3743	302
07 - UBS Jardim Guarujá	2809	226
08 - UBS Jardim Herculano	1138	92
09 - UBS Jardim Kagohara	2088	168
10 - UBS Jardim Nakamura	2564	206
11 - UBS Jardim Paranapanema	3496	282
12 - UBS Santa Margarida	2244	180
13 - UBS Parque do Lago	1569	126
14 - UBS Parque Novo Santo Amaro	3011	241
15 - UBS Santa Lucia	3295	266
16 - UBS Vila Calu	2877	232
17 - UBS Cidade Ipava	3093	250
18 - UBS Jd Vera Cruz	4257	344
Total Geral	52085	4200

CrITÉRIOS de inclusão:

1. Crianças entre 5-15 anos, cujos pais ou responsáveis assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido.

CrITÉRIOS de exclusão:

1. Pacientes com diagnóstico prévio de Febre Reumática.
2. Crianças com história de doença cardíaca prévia

Delineamento do projeto:

Serão avaliados 4200 pacientes, de acordo com cálculo amostral definido. Os pacientes serão avaliados prospectivamente e separados em três grupos de acordo com a classificação da WHF 2012 em doença cardíaca reumática definitiva, limítrofe ou normal, de acordo com diagrama abaixo. Os critérios ecocardiográficos e de ausculta cardíaca utilizados para essa classificação estão detalhados abaixo:

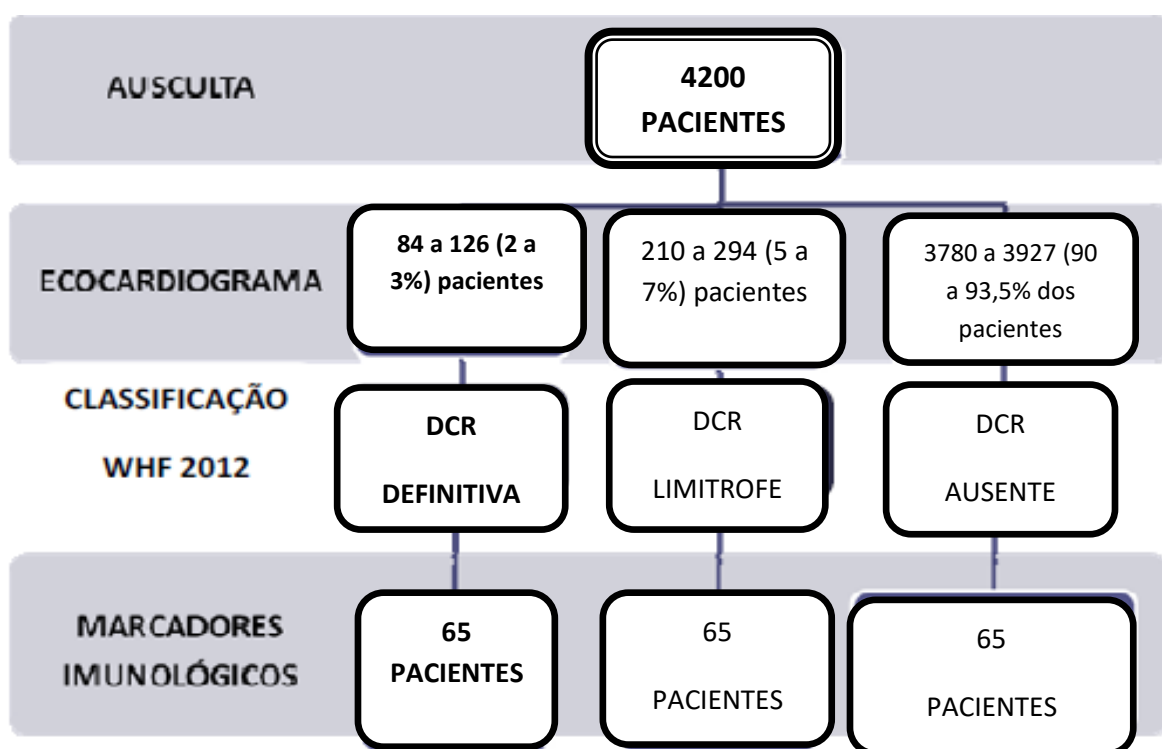


Diagrama: Delineamento do projeto e obtenção das amostras.

Ausculta cardíaca e gravação em estetoscópio digital:

A ausculta será realizada em todos os pacientes na posição supina, decúbito lateral esquerdo e sentado com o tórax fletido para frente. Serão considerados somente os sopros patológicos, excluindo-se os sopros inocentes e fisiológicos. A ausculta será

realizada por cardiologista, sendo o resultado desconhecido pelo profissional que realizará o ecodopplercardiograma. Todos os exames serão gravados em estetoscópio digital, específico para esse fim e arquivados em computador portátil.

Os estetoscópios digitais modernos (Estetoscópio Eletrônico Litman modelo 3200, Jabs ou Thinklabs One Digital) possibilitam a gravação e registro da ausculta cardíaca de cada paciente além da transmissão via bluetooth para ipad, iphone ou computador. A ausculta cardíaca realizada nos pacientes será armazenada em computador portátil destinado exclusivamente para este fim. Da mesma forma, os sinais (gráficos) de fonocardiograma serão adquiridos e armazenados, através de software gratuito, a partir da ausculta obtida pelo estetoscópio digital. Esses dados serão armazenados no disco rígido do computador com identificação de cada paciente para avaliação por um segundo especialista. Em casos de divergência um terceiro especialista será chamado para realizar a avaliação final. A variabilidade inter e intra-observador será analisada ao longo e ao final do estudo.

Iremos considerar como positivo todos os pacientes que tiverem sopros considerados patológicos devido doença reumática cardíaca (em geral por estenose aórtica, insuficiência aórtica, estenose mitral e insuficiência mitral), de forma semelhante a estudos realizados por Carapetis et al e Jaffe et al ^{7,12}. Eventuais doenças congênitas, porventura diagnosticadas durante o protocolo, serão encaminhadas para acompanhamento no Instituto do Coração – HC-FMUSP, mas não farão parte desta análise.

Ecocardiografia:

Os critérios de diagnósticos ecocardiográficos e os aparelhos utilizados serão os mesmos apresentados na diretriz do World Heart Federation em 2012. Os ecocardiogramas serão avaliados imediatamente de acordo com os dados detalhados nos quadros de 1 a 2 e armazenados em formato digital para revisão posterior, caso necessário. Os casos indefinidos e positivos serão avaliados por um segundo ecocardiografista através do arquivo digital. Após a avaliação, esses pacientes serão então selecionados para um dos três grupos anteriormente detalhados em comum acordo com o primeiro ecocardiografista. Caso haja discordância os casos serão analisados por

um terceiro avaliador para definição final. A variabilidade inter e intra-observador será analisada ao longo e ao final do estudo.

Os casos alterados serão submetidos a ecocardiograma completo realizado pelo ecocardiografista no momento do exame. O equipamento de ecodopplercardiograma portátil utilizado será o VIVID I GE, pois preenche todos os parâmetros requisitados pela WHF (Quadro 1).

Iremos comparar os pacientes que apresentarem ecocardiograma positivo para cardite reumática com os pacientes que apresentarem achados auscultatórios patológicos para verificar a sensibilidade do fonocardiograma e ausculta cardíaca em relação ao ecocardiograma.

Quadro 1 - Parâmetros do Ecocardiograma

■ Limites Nyquist para o ecodopplercardiograma devem ser ajustados ao máximo para evitar superestimar o comprimento do jato.
■ Imagens para acessar a espessura valvar e da corda devem ser adquiridas com as harmônicas desligadas e o transdutor com frequência variável configurada ≥ 2.0 MHz; configuração de baixa frequência e harmônicas exageram a espessura da valva e cordão.
■ A configuração do ganho deve ser ajustada para alcançar ótima resolução; imagens adquiridas com ganho excessivo não serão adequadas para mensurar objetivamente a medida da espessura valvar.
■ Todas as outras configurações (incluindo profundidade, tamanho do setor, e foco) devem ser otimizados para alcançar o máximo de frequência de quadros (idealmente 30–60 quadros por segundo) e resolução.

Os resultados dos exames de ecodopplercardiograma serão classificados como DCR definitiva, limítrofe e ausência de DCR (Quadro 2).

Quadro 2 – Critérios para diagnóstico ecocardiográfico de DCR - 2012 WHF
<i>Critérios Ecocardiográficos para indivíduos com idade ≤ 20 anos</i>
Doença Cardíaca Reumática Definitiva (ou A, B, C, ou D):
■A) Regurgitação Mitral patológica e pelo menos duas características morfológicas de doença cardíaca reumática na válvula mitral.
■B) Gradiente médio ≥ 4 mmHg*
■C) Regurgitação Aórtica patológica associada a 2 características morfológicas de Febre Reumática na válvula aórtica.
■D) Doença Limítrofe de ambas as valvas: aórtica e mitral. §
Doença Cardíaca Reumática Limítrofe ou Borderline (ou A, B, ou C):
■A) Pelo menos duas características morfológicas de doença cardíaca reumática da valva mitral sem regurgitação mitral ou estenose mitral
■B) Regurgitação Mitral patológica
■C) Regurgitação Aórtica patológica

Achados Ecocardiográficos normais (todos A, B, C e D):
■A) Regurgitação Mitral que não apresente todos os 4 critérios ecocardiográficos (regurgitação mitral fisiológica)
■B) Regurgitação Aórtica que não apresente todos os 4 critérios ecocardiográficos (regurgitação aórtica fisiológica).
■C) Característica morfológica isolada de DCR da valva mitral (por exemplo: espessamento valvar) sem nenhuma estenose patológica associada ou regurgitação.
■D) Característica morfológica de DCR da valva aórtica (por exemplo, espessamento valvar) sem nenhuma estenose patológica associada ou regurgitação)
*Anomalias Congênitas da valva mitral devem ser excluídas. Além disso, obstrução ao influxo devido à calcificação anular mitral não reumática devem ser excluídos em adultos. ‡Valva aórtica bicúspide, raiz da aorta dilatada, e hipertensão devem ser excluídas. § Regurgitação mitral e aórtica combinadas em regiões de alta prevalência e na ausência de doença cardíaca congênita é considerada como reumática

Imunologia e exame de teste de identificação de estreptococos na orofaringe (“Strep A”):

Após a seleção dos grupos, será coletado material da orofaringe para realização do teste de detecção do estreptococo em orofaringe (“Strep A”), 65 participantes por grupo.

Serão, igualmente, coletadas e analisadas 65 amostras de sangue (20 ml) de pacientes com cardite reumática subclínica, igual número de pacientes limítrofes para a doença e controles normais. A faixa etária dos pacientes incluídos no estudo será de crianças / adolescentes de 5 a 15 anos.

Dosagem de citocinas do soro por CBAA dosagem das citocinas Interleucina-2 (IL-2), Interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Interleucina-17A (IL-17A), Interferon- γ (IFN- γ) e Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) será realizada através de Citometria de Fluxo através do kit: *CBA human-Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit* (BD Cytometric Bead Array, San Jose, CA, USA).

O cálculo amostral foi baseado em dados da literatura (Tabela 2), considerando-se erro alfa de 0,05% e poder estatístico de 95%. Os cálculos foram realizados através do programa *GPower*, v.3.1 (Faul e cols., 2007).

O maior número amostral foi encontrado quando analisado os dados de diversas interleucinas, sendo o maior valor a da IL-4 (n=63). Dessa forma, neste projeto serão avaliados 65 indivíduos por grupo.

Tabela 2. Cálculo amostral a partir da dosagem de citocinas baseada em dados da literatura.

Citocina	DRC (pg/mL) (média ± dp)	Controles (pg/mL) (média ± dp)	n estimado por grupo	Referência
IL-4	2,39±4,37	0,32±0,64	63	Leão e cols., 2014 ¹⁴
IL-10	7,30±8	0,77±1,68	23	Leão e cols., 2014 ¹⁴
IL-17/IL-23	9,1±7,04*	3,1±6,37*	36	Bilik e cols., 2016 ¹⁵

*ng/mL; ♦U/ml

As amostras (n = 65) serão adquiridas no citometro de fluxo BD FACS Canto II (BD Bioscience, San Diego, CA, USA). Para a análise dos dados adquiridos, será utilizado o programa *FCAP array* (BD Bioscience, San Diego, CA, USA). A quantificação das citocinas será em pg/mL, baseada em uma curva padrão realizada com diluições conhecidas, o que possibilitará a construção de um gráfico de intensidade de PE (ficoeretrina) (fluorocromo dos anticorpos utilizados) versus pg/mL. A equação gerada a partir deste gráfico possibilitará o cálculo da concentração das citocinas nas amostras.

O teste de Shapiro-Wilk será utilizado para verificar se os resultados possuem distribuição normal. As comparações entre os 3 grupos para os parâmetros analisados serão realizadas através da análise de variância (ANOVA) ou Kruskal-Wallis. Na sequencia será utilizado o teste *t* de Student ou Mann-Whitney para comparar em pares os diferentes subgrupos. O valor de $P < 0,05$ será considerado estatisticamente significativo. Todos os testes serão realizados com o auxílio do programa GraphPad Prism®.

Análise estatística

A prevalência da cardite reumática subclínica será estimada pela proporção observada e acompanhada de intervalo de 95% de confiança, construído assumindo a aproximação normal. As taxas de detecção de cardite subclínica pela ausculta serão comparadas às taxas obtidas pelo método ecocardiográfico por meio de determinação de

sensibilidade, especificidade e cálculo de coeficiente de Kappa, além de intervalos de confiança.

Para avaliar a associação entre a presença dos marcadores imunológicos e a detecção de cardite reumática pelo método ecocardiográfico e utilizaremos modelos de regressão multinomial ordinal. Os resultados serão expressos por razões de chances e intervalos de 95% de confiança.

A significância estatística será considerada quando $p < 0,05$ e os programas utilizados serão o GraphPad Prism (versão 5.0) e R (R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.)

Aspectos Éticos

O projeto será submetido aos Comitês de Ética das instituições envolvidas, sendo a instituição executora o Instituto do Coração e as demais, coparticipantes. De acordo com a resolução CNS 466/12, será aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1) aos pais ou responsáveis. Crianças alfabetizadas também serão convidadas a assinarem um termo de consentimento, dando ciência da sua participação no estudo. Mediante a aceitação de participação no estudo, as crianças serão incluídas. As amostras de sangue coletadas serão utilizadas apenas para este projeto de pesquisa. Aos familiares que consentirem, após a finalização do estudo, as amostras serão transferidas para o Biorepositório do Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração – HC-FMUSP.

CRONOGRAMA:

Após aprovação da Comissão Científica e de Ética (o que dependerá para o início efetivo da captação dos pacientes) e obtenção de recursos pela fundação de fomento, o cronograma será o seguinte:

[illegible]

Inclusão de pacientes			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x						
Coleta de dados			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x								
Análise dos dados, interpretação dos resultados													x				x	x	x						
Entrega do Relatório												x					x								x
Publicações																								x	x

A fim de que o cronograma seja obedecido, está previsto ao menos 240 avaliações ao mês, encerrando-se a fase de coleta de dados em até 18 meses. O início do estudo está previsto para março de 2018 e finalização das coletas até setembro de 2019. Os testes imunológicos serão processados trimestralmente até o término das coletas.

DISSEMINAÇÃO E AVALIAÇÃO:

O presente estudo será submetido a congressos nacionais e internacionais da área envolvida (clínica médica, subárea de cardiologia). Ao término do protocolo, pretendemos encaminhar para publicações científicas de reconhecido valor na comunidade nacional e internacional.

OUTROS APOIOS E SOLICITAÇÃO DE AUXÍLIO À PESQUISA À FAPESP:

O equipamento de ecocardiografia (VIVID I, GE) foi adquirido por doação pelo Hospital Israelita Albert Einstein, não fazendo parte desta proposta. Será utilizado esse equipamento durante todo o período do estudo (documento anexado/sage)

Os testes de identificação de estreptococo na orofaringe (Strep A, marca INLAB, fabricante ALAMAR) serão doados pela empresa Interlab Distribuidora de Produtos Científicos Ltda não fazendo parte desta proposta (documento anexado/sage).

Os demais exames (material de consumo), as despesas de transporte/logística para operacionalização do estudo e o material permanente (computadores, estetoscópios

digitais) estão detalhados na planilha específica da FAPESP, a ser consultada no SAGE-FAPESP.

Os pesquisadores participantes comprometem-se, como contrapartida da instituição, a fornecer material humano necessário (técnica de enfermagem, técnicos de laboratório de imunologia, imunologistas, médico cardiologista clínico e ecocardiografista) para o bom andamento do projeto. Este é um projeto inovador, com impacto social significativo e que pela primeira vez associa diferentes testes para aumentar a acurácia na detecção da doença reumática cardíaca subclínica, particularmente casos não esclarecidos pelo conhecimento científico atual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Narula J., P Chopra, K K Talawar, K S Reddy, R S Vasan. Does endomyocardial biopsy aid in the diagnosis of active rheumatic carditis? *Circulation* 1993; 88 [part1]: 2198-2205
2. Penelope A. Bryant, Roy robins-Browne, Jonathan R. Carapetis and Nigel Curtis. Some of the People, Some of the Time: susceptibility to acute Rheumatic Fever *Circulation* 2009; 119:742-753
3. Muller RE. Estudo longitudinal de pacientes portadores de cardiopatia reumática no Rio de Janeiro [Dissertação de Mestrado], 2008
4. Costa et al. Características demográficas, clínicas, laboratoriais e radiológicas da febre reumática no Brasil: revisão sistêmica. *Bras. J Rheumatol* 2009; 49(5): 606-16
5. Ministério da Saúde (BR) [Internet]. Sistema de Informações Hospitalares do SUS. Disponível em: <http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php>
6. Carapetis JR, Mc Donald M, Wilson NJ. Acute rheumatic fever. *Lancet* 2005; 366:155-68.
7. Jaffe WM et al. Clinical evaluation versus Doppler echocardiography in the quantitative assessment of valvular heart disease. *Circulation* 1988; 78: 267-275
8. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: Report of a WHO expert consultation on rheumatic fever and rheumatic heart disease. World Health Organization. Geneva, 2001. Oct 29-Nov1. Geneva: WHO, 2004

9. Marijon E. Prevalence of Rheumatic Heart Disease Detected by Echocardiographic Screening. *N Engl J Med* 2007; 357:470-476
10. Marijon, E. et al. Rheumatic heart disease screening by echocardiography: The inadequacy of world Health Organization criteria for optimizing the diagnosis of subclinical disease. *Circulation* 2009; 120, 663-668.
11. Brown A et al. (2003) Central Australian rheumatic heart disease control program: a report to the Commonwealth. November 2002 .Northern Territory Disease Control Bulletin 2003;10: 1-8.
12. Carapetis J. ,et al. Evaluation of a screening protocol using auscultation and portable echocardiography to detect asymptomatic rheumatic heart disease in Tongan schoolchildren. *Nature Clinical Practice* 2008; 5: 411-417.
13. Tompkins D.G., Boxerbaum B, Liebman J. Long-term prognosis of rheumatic fever patients receiving regular intramuscular benzathine penicillin. *Circulation* 1972; 45:543-51.
14. Leão SC, Lima MR, Nascimento HM, Octacilio-Silva S, Rodrigues TM. IL-10 and ET-1 as biomarkers of rheumatic valve disease. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2014 Jan-Mar; 29(1):25-30
15. Bilik MZ, Kaplan İ, Polat N, Akil MA, Akyüz A, Acet H, Yüksel M, İnci Ü, Kayan F, Toprak N. Serum Levels of IL-17 and IL-23 in Patients With Rheumatic Mitral Stenosis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 May;95(18):e3562