

# RBBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas  
*Brazilian Journal of Clinical Analysis*

## Prezados Colegas

Com a maior satisfação estamos entregando mais um número da Revista Brasileira de Análises Clínicas – RBAC, com conteúdo cada vez mais aprimorado, em que são destacados artigos de alto teor científico e de aplicabilidade tanto na rotina laboratorial, como na pesquisa científica.

A nova fase da nossa RBAC tem a marca do trabalho incessante de seu editor chefe, Dr. Paulo Murillo Neufeld, que vem desde a sua assunção ao cargo de Editor desenvolvendo um trabalho extenuante, montando uma equipe de revisores da maior competência, para podermos construir uma revista cada vez mais qualificada .

Essa é apenas uma das facetas da SBAC que tem procurado, de todas as formas, ser uma entidade plural, e que possa estar presente em todas as ocasiões em que os profissionais de Laboratório Clínico necessitem apoio e suporte, o mesmo ocorrendo com os Laboratórios de Análises Clínicas.

O Programa Nacional de Controle de Qualidade – PNCQ, hoje atendendo a 4.500 estabelecimentos laboratoriais, já é um dos três maiores do mundo, e seu crescimento vertiginoso, a qualificação de seus materiais de controle, todos manufaturados em seus laboratórios no Rio de Janeiro, faz com que seus produtos já estejam consagrados em quase toda a América Latina, e, mais recentemente, em Portugal e Finlândia. A entrada de seus produtos no exigente e selecionado mercado europeu diz por si só o ritmo de crescimento e a qualificação de produtos de tecnologia própria, desenvolvida por seus assessores técnicos e científicos.

O Centro de Pós-Graduação em Análises Clínicas – CPG SBAC, mesmo tendo sido alcançado pelas garras do MEC, que cortou o credenciamento de todas as entidades não universitárias que ministravam Cursos de Pós-Graduação/Especialização, mercê da competência de seus mestres, dedicação de sua direção e colaboradores vem mantendo uma belíssima atividade em cursos de atualização e treinamento. Já se encontra no site da SBAC a programação de atividades para 2014.

O 41º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, que será realizado em Porto Alegre, RS, de 01 a 04 de junho, já tem toda a sua programação veiculada no site, inscrições abertas com procura recorde. Concomitantemente a exposição de produtos e serviços voltados às Análises Clínicas e uma programação científica da mais alta qualificação, o 13º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica, o 2º Núcleo de Gestão e Qualidade Laboratorial e o 1º Encontro de Ciência Forense. Esta é uma visão adiantada para comprovar a abrangência das ciências laboratoriais e o que se pode e deve fazer para ampliar e consolidar o conhecimento.

Os pacotes para deslocamento, aéreos e terrestres, estão disponíveis e os valores, apenas os convencionais, suplantando de modo indiscutível o efeito FIFA-World Cup. Não existirão os altos valores propalados e propagados pela imprensa no Congresso Brasileiro de Análises Clínicas.

Este momento será de fundamental importância para que se propague e consolide tudo aquilo que a SBAC vem realizando em favor da comunidade laboratorial, da qualificação dos laboratórios e da elevação e dignificação das ciências laboratoriais.

Estejam sempre conosco.

**Irineu Grinberg**

Presidente da SBAC

## Autoria em artigos científicos

### *Authorship for scientific papers*

A disseminação do conhecimento científico tem como pilar a publicação em revistas especializadas. Não há dúvidas de que o alargamento dos limites contingentes do conhecimento científico é obtido em publicações científicas. Na verdade, é dessa forma que o conhecimento é transferido dos centros de pesquisa para a sociedade, ganhando visibilidade e credibilidade. Um dos principais benefícios dessas publicações é o progresso tecnológico e científico.<sup>(1)</sup>

Para os autores, particularmente, os benefícios da publicação de resultados de suas pesquisas passam pelo reconhecimento de seu esforço intelectual, estabelecimento de reputação e prestígio acadêmicos, ascensão na cadeia de produção científica e garantia de continuidade de seus projetos. Importa mencionar que o número de publicações é o instrumento para avaliação da qualidade como pesquisador, bem como dos programas de pós-graduação. Ao mesmo tempo, é parâmetro para as instituições de fomento concederem recursos à pesquisa.<sup>(1,2)</sup>

Com um grande peso sobre a atividade científica, publicar passou a ser essencial para a sobrevivência do pesquisador. A política do *publish or perish* tem feito com que os pesquisadores sejam impelidos a publicar de forma insofrida. A compulsão por publicação tem levado, muitas vezes, a se publicar material pouco criativo e de conteúdo estéril. Além disso, essa supervalorização da produção científica tem produzido alguns equívocos e desvios durante o processo de pesquisa e publicação.<sup>(1,3)</sup>

Dentre os problemas relacionados à prática de se "publicar a qualquer custo", a questão da autoria dos trabalhos tem lugar de destaque. Uma consequência dessa política tem sido o aumento do número de autores por artigo publicado. Isso se deve à inclusão indiscriminada de autores que efetivamente não participaram do trabalho. Com essa atitude, os créditos e responsabilidades têm sido diluídos e se tornado obscuros. Não se pode esquecer, no entanto, que, com a progressiva complexidade das pesquisas, muitas vezes parcerias para a execução de projetos científicos são inevitáveis, o que tem levado a um aumento, neste caso, legítimo, do número de autores por publicação. Outro fator para o aumento do número de autores nas publicações é a própria dificuldade intrínseca para a atribuição de autorias.<sup>(4)</sup>

De qualquer forma, existe a necessidade, premente, de ordenação da questão da autoria científica. Para o estabelecimento de critérios de autoria, todavia, é importante que alguns conceitos básicos sejam conhecidos e discutidos. Assim sendo, é preciso começar por conceituar o que se entende por autor. Nessa categoria, deve ser enquadrada a pessoa (ou grupo de pessoas) primariamente responsável pelos dados e conceitos e análises e interpretações de um trabalho publicado ou a ser publicado. No caso da coautoria, coautores podem ser definidos como sujeitos que trabalham juntos ao longo de um projeto de pesquisa ou durante parte considerável deste e que compartilham recursos intelectuais, econômicos e físicos. De fato, esse tipo de coautoria é amplamente aceita no mundo científico e até estimulada por colocar diferentes autores, institutos e instituições em contato para enfrentar os desafios da moderna pesquisa científica.<sup>(4,5)</sup>

É importante considerar, contudo, que nem toda contribuição qualifica um pesquisador como autor de uma publicação. Desse modo, o estabelecimento de critérios de autoria é fundamental para a inclusão e distribuição dos autores e coautores nos trabalhos, valorizando a real participação de cada integrante.<sup>(6)</sup>

Na busca por medidas para limitar a prática de falsas autorias e diminuir as dificuldades para se atribuir responsabilidades aos autores, o *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), de forma pioneira, definiu critérios que pudessem ser aplicados uniformemente no processo de atribuição de autorias. De acordo com o ICMJE, para receber os créditos como autor, um pesquisador precisa atender as seguintes condições: (1) contribuição

significativa para a concepção e planejamento do experimento, aquisição ou análise e interpretação de dados; (2) redação e elaboração do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual e (3) aprovação da versão final a ser publicada.

O ICMJE ainda estabeleceu outras recomendações para a atribuição ou não de autorias, sendo elas: (a) a obtenção de financiamento, coleta de dados ou supervisão geral de um grupo de pesquisa não são, por si só, critérios para autoria ou coautoria; (b) todas as pessoas designadas como autores ou coautores deverão qualificar-se e todas as qualificadas deverão ser listadas; (c) cada autor ou coautor deverá ter participado suficientemente do trabalho para ter responsabilidade pública sobre segmentos apropriados do conteúdo e (d) a ordem dos autores e coautores será decidida pelo grupo que deverá estar apto a explicá-la. Com relação aos agradecimentos, o ICMJE sugere que pessoas que tenham dado contribuições substanciais e diretas ao trabalho, mas que não podem ser consideradas autores, ou pessoas que colaboraram com o estudo, contudo sua contribuição não justifica autoria ou coautoria devem ser listadas nos agradecimentos.<sup>(1,4)</sup>

Em âmbito nacional, outros critérios têm sido discutidos. Com o objetivo de eliminar a subjetividade na atribuição de autorias, foi proposta uma pontuação para cada atividade realizada durante o desenvolvimento do projeto científico. Os critérios adotados neste estudo incluem: (1) criar a ideia que originou o trabalho e elaborar a hipótese [6 pontos]; (2) estruturar o método de trabalho [6 pontos]; (3) orientar ou coordenar o trabalho [5 pontos]; (4) escrever o manuscrito [5 pontos]; (5) coordenar o grupo que originou o trabalho [4 pontos]; (6) rever a literatura [4 pontos]; (7) apresentar sugestões importantes incorporadas ao trabalho [4 pontos]; (8) resolver problemas fundamentais do trabalho [4 pontos]; (9) criar aparelhos para a resolução do trabalho [3 pontos]; (10) coletar dados [3 pontos]; (11) analisar os resultados estatisticamente [3 pontos]; (12) orientar a redação do manuscrito [3 pontos]; (13) preparar a apresentação do trabalho para evento científico [3 pontos]; (14) apresentar o trabalho em evento científico [2 pontos]; (15) chefiar o local onde o trabalho foi realizado [2 pontos]; (16) fornecer pacientes ou material para o trabalho [2 pontos]; (17) conseguir verbas para a realização do trabalho [2 pontos]; (18) apresentar sugestões menores incorporadas ao trabalho [1 ponto]; (19) trabalhar na rotina da função sem contribuição intelectual [1 ponto]; (20) participar mediante pagamento específico [5 pontos]. Segundo essa proposta, terão direito à autoria os participantes que alcançarem no mínimo 7 pontos na soma dos itens em que trabalharam. Para aqueles que obtiverem entre 4 e 6 pontos, serão concedidos agradecimentos. A distribuição dos autores na publicação deverá seguir uma ordem decrescente de pontuação, partindo-se de um máximo de 15 pontos.<sup>(6,7)</sup>

De acordo com Garcia et al.,<sup>(4)</sup> práticas como autorias honorárias, fantasmas ou pressionadas devem ser combatidas, mesmo não sendo consideradas falhas graves pela comunidade científica, já que afetam a credibilidade da pesquisa e do pesquisador. Neste sentido, a aplicação de critérios de autoria poderia evitar distorções, através da justa categorização de autores e coautores, bem como desvios da ética científica.<sup>(5)</sup>

## REFERÊNCIAS

1. Monteiro R, Jatene FB, Goldenberg S, Población DA, Pellizzon RF. Authorship criteria for scientific papers: a polemic and delicate subject. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2004;19(4):3-8.
2. Bennett DM, Taylor DM. Unethical practices in authorship of scientific papers. *Emerg Med (Fremantle)*. 2003 Jun;15(3):263-70.
3. Bianchetti L, Machado AMN. Publicar e Morrer: Análises do impacto das políticas de pesquisa e pós-graduação na constituição do tempo do tempo de trabalho dos investigadores. *Edu, Soc e Cult*. 2009; 58: 53-67
4. Garcia CC, Martrucelli CRN, Rossilho MMF, Denardin VP. Autoria em artigos científicos: os novos desafios. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2010;25(4):559-67.
5. Witter GP. Ética e autoria na produção textual científica. *Inf inf*. 2010;15:131-44.
6. Petroianu A. Distribuição da autoria em trabalhos científicos. *ABC Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1):60-4.
7. Petroianu A. Critérios para autoria e avaliação de uma publicação científica. *Rev Psiq Clin*. 2010;37(1):1-5.

**Paulo Murillo Neufeld, PhD**

Editor-Chefe da RBAC

# Diversity and prevalence of airborne fungi isolated from São Luís, Northeast Brazil

## *Diversidade e prevalência de fungos anemófilos isolados de São Luís, Nordeste do Brasil*

Patrícia Valeria Gomes Castelo Branco<sup>1</sup>

Kátia Regina Assunção Borges<sup>1</sup>

Silvio Gomes Monteiro<sup>1</sup>

Cristina de Andrade Monteiro<sup>1</sup>

### Abstract

Airborne fungi are considered the main agents related to allergy in patients that suffer from asthma and rhinitis. The knowledge about the prevalence of these microorganisms and their seasonal variation can be useful for human health, by improving the diagnosis and treatment of respiratory allergic disease provoked by their inhalation. The present study has isolated and identified airborne fungi from São Luís city investigating their prevalence, biodiversity and seasonal variation. Samples were taken by the Petri plate gravitational method in six urban areas. A total of 2993 fungal colonies were counted, 67.9% in the dry season and 32.1% in the rainy season. Statistical analysis showed that there are a significant difference ( $p = 0,0121$ ) between the averages of spores in dry and rainy periods. Relative humidity, rainfall precipitation and wind speed can have influenced the diversity and concentration of fungal spores presents in the air. Among 24 genera isolated, the most prevalent ones were *Aspergillus* (38,37%), *Fusarium* (13,90%), *Curvularia* (11,18%) and *Penicillium* (10,88%), major triggers of allergic process worldwide recognized. The data show the presence of a large number of airborne fungi spores in São Luís and all genera found are opportunistic and they may cause disease in susceptible patients.

### Keywords

Airborne fungi; Respiratory allergies; Seasonal variation

## INTRODUCTION

Fungal spores are dispersed in nature by many ways, such as air, water, insects, humans, and others animals. Spores dispersion by air represents the entry route of several mold spores, which can be inhaled with dust particles. Both sporulation and spore dispersion are related to variations in meteorological conditions.<sup>(1)</sup> The ubiquitous presence of fungi in both indoor and outdoor environments is a potential health threat that is poorly understood and almost ignored in community medicine.

Besides being related to appearing of dermatophytoses and others mycoses,<sup>(2,3)</sup> various strains of airborne molds have been implicated as the cause of asthma and hypersensitivity pneumonitis.<sup>(4)</sup> Chronic nose and sinus inflammation have been also linked to airborne fungi.<sup>(5)</sup> The main fungi genera triggers of respiratory allergy are: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Alternaria*. Besides the relationships with allergy diseases, airborne fungi are important causes of hospitals infections. The large and indiscriminate use of antibiotics and diverse kinds of chirurgic acts create conditions to occur opportunistic mycosis such as aspergillosis, mucormycosis, penicillosis, brain abscess, pneumonitis and endocarditis in diabetes mellitus,

bronchiectasia, emphysema, tuberculosis, transplantation and AIDS cases.<sup>(6,7)</sup>

Increasing of the knowledge about diversity of airborne fungi, the growing interest in allergenic microorganisms and the search for new environmental indicators have been the main reasons for the existence of several studies about airborne fungi in Brazil.<sup>(4,8-17)</sup> Although some fungi genera are common in urban areas those that are specific of a city can be important in terms of epidemiology and therapeutic.<sup>(15)</sup>

In São Luís there is no epidemiological studies related to the isolation and identification of fungi species from urban areas of the city. The city is developing and expanding year by year and the population and industrial activities are increasing. In addition, it has climatic aspects that can collaborate with fungi proliferation, including high humidity and temperature all over the year.<sup>(18)</sup> Our purpose was to determine the genus, quantity and seasonal distributions of airborne fungi that may be important causative allergens. Despite a few clinical studies on allergic status, no study of this kind has previously been conducted in this region. Thus, the knowledge of anemophilous fungi in the city is of great importance for the study of fungi diversity of São Luís, increasing our knowledge of the distribution of fungal flora in our country, as well as for establishment of environmental indicators and of possible

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa em Doenças Endêmicas e Parasitárias, Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão, Centro Universitário do Maranhão - UNICEUMA

relationships between fungal infections and frequency of species identified. Therefore, this study was carried out with the aim to characterize the anemophilous fungi from different urban areas in São Luís city, investigating their prevalence and seasonal variation. This study may provide the basis for future work on health effects.

## MATERIAL AND METHODS

### Area of study

São Luís city, Maranhão state capital is located at latitude 2° 31' 47" south and longitude 44° 18' 10" west, 2° at south of Equador and 24 meters above the sea. It occupies an area of 828.01 square kilometers and is located in Northeast Brazil. São Luís' climate is tropical humid, with an average annual temperature of 26°C and the period of higher pluviometric density extends from March to August with a pluviometric index of 2325.1 millimeters. The city has two seasons, a rainy and a dry one. The rainy season extends from January to June, with an average rainfall precipitation of 1954 millimeters. The dry season extends from July to December, with temperature that varies from 28°C to 30°C (IBGE, 2008).

### Sampling sites

São Luís city is divided in seven Health Districts: Centro, Itaqui-Bacanga, Coroadinho, Cohab, Bequimão, Tirirical, Vila Esperança (Source: City Health Department - SEMUS/São Luís), which has, on average, 50 locations each one. The samplings were taken at urban sites belong to five different such Districts (Centro, Coroadinho, Cohab, Bequimão, Tirirical), except at Centro in which one, two sites were sampled, totalized seven urban sites. The samples were taken in different months during over a period of two years and were collected in both seasons, dry and rainy ones, in each urban area, at the same points. In each sampling area three points were taken.

### Isolation and identification of fungi strains

The method used for the isolation of fungi was the Petri plate gravitacional method.<sup>(19)</sup> Ágar Sabouraud Dextrose (SDA) onto Petri dishes was used for isolation of fungi through air exposition during 15 minutes, 1.5 meters above the ground. The colonies developed after a period of 24 hours were counted and their concentrations were calculated as CFU (Colony Forming Units) (CFU/plate/15 min). Fungal strains were identified at genus level, based on micro- and macro-morphology, reverse and surface coloration of colonies growing on SDA or PDA media according to previously recommended procedures.<sup>(20-23)</sup>

### Climatological data

Weather data (monthly average temperature, monthly total rainfall, relative humidity and wind speed) during years of sampling taken had been recorded and was obtained from Núclei de Meteorological Studies from State University of Maranhão.

### Statistical analysis

The data were statistically analyzed by SPSS for Windows 16.0 version 2007. The evaluation of the proportion of spores/ conidia in different periods was made using the chi-square test. The average number of spores/conidia for the different seasonal periods was made by Student's t test. The level of significance ( $\alpha$ ) used in the tests was 0,05. For the assessment of fungal diversity, we used the program DivEs 2.0<sup>(24)</sup> in which we calculated the diversity index of Shanon-Wiener.

## RESULTS AND DISCUSSION

Some genera of airborne fungi are found throughout most of the world and are generally considered to be important causes of both allergic rhinitis and asthma. Among the airborne fungi that spread spores by air and that are important aeroallergens in the world are *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*.<sup>(25)</sup> Knowledge of species and density of outdoor airborne fungi in a given environment can be especially important in the diagnosis and treatment of various allergic diseases. This study will contribute to the knowledge of the levels and types of airborne fungi in the air of São Luís city, since the city contains no data related to concentration and distribution of airborne fungal genus.

A total of 96 (ninety six) Petri dishes were exposed in five São Luís Health Districts, including six different urban areas, from which 2993 colonies were counted. Half of the plates was exposed in the dry period and the rest of them in the rainy one. The samples were taken always at Sundays, in the morning, from 12/2006 to 12/2008. The total number of colonies counted during dry period was 2031 (67,9%) and in rainy period, 962 (32,1%). Figure 1 shows fungal colonies concentration at different urban areas in São Luís city showing the variation of fungi spores in relation to seasonal period. Statistical analysis of those data has shown a significant difference in fungi spores concentration in those different periods ( $\chi^2 = 381,81$ ;  $p < 0.0001$  Figure 1).

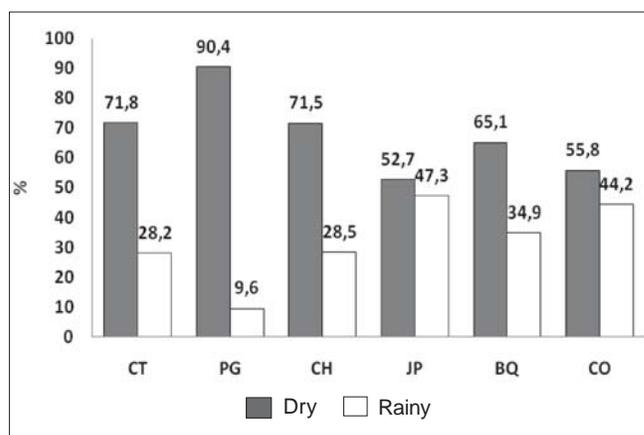


Figure 1. Fungal colonies concentration at different urban areas in São Luís city showing the variation of fungi spores in relation to seasonal period. (CT: Centro; PG: Praia Grande; CH: Cohab; JP: João Paulo; BQ: Bequimão; CO: Cidade Operária).

The analysis per urban area has also shown a higher spore concentration in dry season, although there was no significant difference in the urban areas João Paulo and Cidade Operária (Figure 1). During the dry period the Praia Grande urban area showed higher prevalence of fungi spores, followed by the urban area Centro, both from Health District Centro. In rainy season the João Paulo urban site

stands out with higher prevalence of fungal spores counted (Figure 1). Statistical analysis of the data showed that there are a significant difference ( $t = 3,05$   $p = 0,0121$ ) between averages of spores in dry ( $338,5 \pm 114,4$ ) and rainy periods ( $160,3 \pm 85,6$ ), nevertheless fungi diversity was higher in rainy period ( $H' = 0,9639$ ) than in the dry one ( $H' = 0,7941$ ) (Table 1; Figure 2).

Table 1 - Concentrations of fungi spores in different urban stations during dry and rainy periods in São Luis city

Genera	Health Districts											
	CENTRO		COROADINHO		BEQUIMÃO		COHAB		TIRIRICAL			
	Urban Areas		Urban Areas		Urban Areas		Urban Areas		Urban Areas			
	Centro	Praia Grande	João Paulo	Bequimão	Cohab	Cidade Operária						
	D	R	D	R	D	R	D	R	D	R	D	R
<i>Aspergillus</i>	14	9	18	3	2	10	22	12	3	8	12	14
<i>Penicillium</i>	7	1	9	1	2	0	2	3	0	5	2	3
<i>Fusarium</i>	2	9	8	6	1	3	3	3	1	6	0	4
<i>Curvularia</i>	2	11	2	8	0	3	1	1	0	5	4	0
<i>Neurospora</i>	3	1	2	0	0	0	1	0	0	0	4	0
<i>Rhizopus</i>	2	0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0
<i>Cladosporium</i>	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Scedosporium</i>	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Fonsecaea</i>	1	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	0	0	0	0	3	0	2	0	0	2	2
<i>Alternaria</i>	0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	0
<i>Scopulariopsis</i>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Syncephalastrum</i>	0	2	0	1	1	0	0	0	0	2	0	1
<i>Nigrospora</i>	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Trichoderma</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Drechslera</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Paecylomices</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaetomium</i>	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>Aureobasidium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Wangiella</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ulocladium</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mucor</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mycelia sterilia</i>	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
Non identified	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	35	43	43	32	11	23	31	21	4	29	26	27
TOTAL	78		75		34		52		33		53	
H'	0.807	0.912	0.698	0.969	0.823	0.740	0.473	0.541	0.244	0.791	0.685	0.650

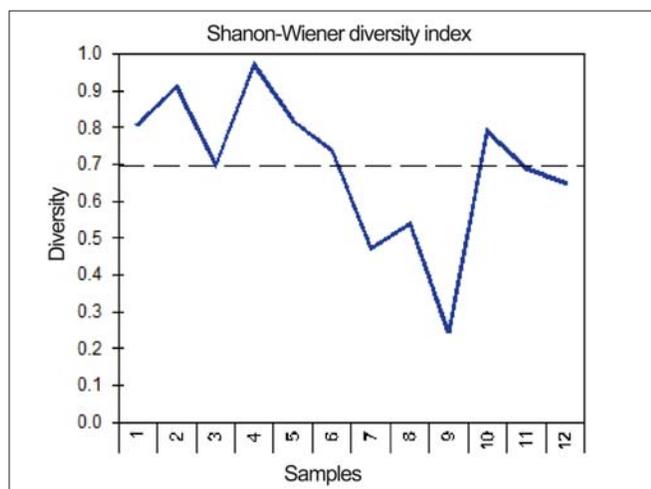


Figure 2. Shanon-Wiener diversity index from 12 samples taken.

The Shanon-Wiener diversity index ( $H'$ ) has shown that there was an increase in fungal diversity in the rainy season in Centro (samples 1 and 2:  $H' = 0.807$  and  $H' = 0.912$ , respectively), Praia Grande (samples 3 and 4:  $H' = 0.698$  and  $H' = 0.969$ , respectively), Bequimão (samples 7 and 8:  $H' = 0.473$  and  $H' = 0.541$ , respectively) and Cohab urban sites (samples 9 and 10:  $H' = 0.244$  and  $H' = 0.791$ , respectively). However, João Paulo (samples 5 and 6:  $H' = 0.823$  and  $H' = 0.740$ , respectively) and Cidade Operária (samples 11 and 12:  $H' = 0.685$  e  $H' = 0.650$ , respectively) urban sites had greater fungal diversity in the dry season.

During the sample taking period we have notified some important climatic data, among them temperature, relative humidity, wind velocity, rainfall precipitation (Table 2). Climatic data such as average temperature registered by us during dry season was  $28.5^{\circ}C$  and during rainy season was  $25.9^{\circ}C$ . Average relative humidity recorded was significantly

different in both periods been 72% in dry season and 93% in the rainy one and the average wind velocity registered during dry period was 6,4 m/s and that notified in rainy period was 1,9 m/s (Table 2), also a significant meteorological variable. Total monthly rainfall values were extremely different in both season of the year, reaching an average of 268.5 mm during rainy seasons while in dry periods the average recorded was 22.5 mm.

Many researchers have reported that various meteorological factors affect the type and concentrations of airborne fungi<sup>(26-30)</sup> such as wind velocity, relative humidity and temperature. Spores of some genera tend to be found in higher concentrations during warm, dry weather conditions<sup>(31)</sup> while others can exhibit negative correlations with temperature and positive correlations with both relative humidity and rainfall level.<sup>(1)</sup> Panasen et al.<sup>(27)</sup> reported that the minimum air velocity at which *Cladosporium* sp released spores was 1.0 m.s-1, however *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium* sp released great number of spores at 0.5 m.s-1. In this way, air velocity is significant for dispersion of fungal spores into the air. Also, precipitation is required for the release of many ascospores and in this way, their concentrations usually increase during and after rainstorms, although excessive rain tends to wash spores out of the atmosphere.<sup>(31)</sup> In our research, climatic data such as average temperature registered during both seasons of the year probably did not influence the difference in frequencies of fungi spores observed in those periods because the values notified were not significantly different. In the other hand, the average relative humidity and average wind velocity are meteorological variables that could explain our different results obtained in both seasons of the year with respect to spores concentration. Higher prevalence of fungi spores observed by us in dry season could be explained due to low relative humidity and rainfall precipitation and also due to the high wind speed recorded during this period, which

would have facilitated the spore dispersion in the air increasing its concentration in relation to that observed in rainy season. However, the higher diversity of fungi genera observed in rainy period maybe has been influenced by the high relative humidity and increasing of rainfall precipitation during this period that could have facilitated the germination of some conidia that could not have done it in dry period, in this way increasing the diversity of spores typing.

These data are similar to those ones obtained in studies done by Mezzari et al.<sup>(15)</sup> and Menezes et al.,<sup>(4)</sup> which also confirmed the presence of a greater number of fungi spores in summer – followed by winter, spring and autumn – in both Porto Alegre, RS, and Fortaleza, CE cities, respectively. Gambale et al.,<sup>(32)</sup> studying airborne fungi in the state of São Paulo reported that there is an increase of fungi with increasing temperature and decrease of them with decreasing of relative humidity. Yet Bernardi et al.,<sup>(17)</sup> in their research about "The anemophilous fungi in Laranjal Beach", in Pelotas, south region of Brazil verified a higher prevalence of them in autumn, followed by winter and related that meteorological phenomena like snow and rain decrease spore concentration in the air. In part, these reports corroborate ours results since there was a significant decrease in the numbers of fungal spores in the rainy season in the samples sites in São Luís.

In this study, it has been found 39,17% of filamentous fungi spores and 60,83% of yeasts spores. Table 1 shows the concentrations of fungi spores in the different urban stations during dry and rainy periods in São Luís city and Table 2 presents the absolute and relative frequencies of the identified genera in both dry and rainy seasons. Among the filamentous fungi 24 genera have been identified, and from these *Aspergillus* was the most frequent and the predominant genus detected (47,02% in dry period and 31,64% in the rainy one) at all sampling sites, followed by *Fusarium* (9,93% and 17,51%), *Penicillium* and *Curvularia* (Table 3). The urban areas

Table 2. A summary of climate data of São Luís city according to sampling areas for the study period

Urban áreas	Period	Temperature (°C)			Relative Humidity (%)			Rainfall (mm)			Wind speed (m/s)	
		A	Max	Min	A	Max	Min	Acum. 24h	Total monthly	Reference value	Min	Max
Centro Praia Grande	Dry (18/12/2006)	29,1	34,5	25	72	80	51	0	27	92	6,4	26,6
Centro Praia Grande João Paulo Cohab	Rainy (20/05/2007)	26,3	35	25	93	97	89	7,5	228	320	1,9	17,6
Cohab João Paulo	Dry (23/11/2008)	28,4	33,1	25,9	73	86	56	0	0	11	-	-
Bequimão Cidade Operária	Rainy (25/05/2008)	25,5	30,3	23,1	90	99	72	0,2	309	320	-	-
Bequimão Cidade Operária	Dry (07/12/2008)	28,1	33,6	25,1	75	90	49	0	40,6	92	-	-

Source: Laboratory of Meteorology of State University of Maranhão/Brazil (site: www.nemrh.uema.br)

A = Average; Max = Maximum; Min = Minimum; - = not registered

Table 3. Absolute and relative frequencies of the identified genera in both dry and rainy periods

GENERA	AF	RF (%)	AF	RF (%)
	Dry Period		Rainy Period	
<i>Aspergillus</i>	71	47,02	56	31,64
<i>Fusarium</i>	15	9,93	31	17,51
<i>Penicillium</i>	23	15,23	13	7,34
<i>Curvularia</i>	9	5,96	28	15,82
<i>Neurospora</i>	10	6,62	1	0,56
<i>Fonsecaea</i>	1	0,66	5	2,82
<i>Syncephalastrum</i>	1	0,66	6	3,39
<i>Acremonium</i>	2	1,32	7	3,95
<i>Rhizopus</i>	7	4,64	1	0,56
<i>Alternaria</i>	1	0,66	5	2,82
<i>Scedosporium</i>	1	0,66	3	1,69
<i>Cladosporium</i>	2	1,32	2	1,13
<i>Nigrospora</i>	0	0,00	5	2,82
<i>Mycelia sterilia</i>	0	0,00	4	2,26
<i>Scopulariopsis</i>	0	0,00	3	1,69
<i>Chaetomiun</i>	4	2,65	1	0,56
<i>Drechslera</i>	0	0,00	2	1,13
<i>Ulocladium</i>	0	0,00	2	1,13
<i>Aureobasidium</i>	0	0,00	1	0,56
<i>Wangiella</i>	1	0,66	0	0,00
<i>Paecilomyces</i>	0	0,00	1	0,56
<i>Trichoderma</i>	1	0,66	0	0,00
<i>Mucor</i>	2	1,32	0	0,00
<i>Verticillium</i>	1	0,66	0	0,00

AF = Absolute frequency; RF = Relative frequency

which have shown greater prevalence of *Aspergillus* genus in dry period were Bequimão, Centro and Praia Grande. In rainy period the highest frequency of *Aspergillus* genera was observed in Cidade Operária, Bequimão and João Paulo urban areas (Table 1). Yeasts were counted but could not be identified because they required both morphologic and biochemistry aspect to allow their classification. However, it was not detected significant difference in the number of yeasts spores observed in different periods and different samples areas (data not shown).

Fungal spores are especially important in the tropics, in which climatic conditions are very favorable to the growth of fungi and may result in a high concentration of spores in the air, which in turns causes an increased incidence of allergic diseases.<sup>(25)</sup> In our work a considerable fungal diversity was found among the filamentous fungi, among these, genera with the potential to cause cutaneous, systemic and opportunistic mycoses, allergies and various pulmonary diseases in man. *Aspergillus* was the most frequent and the predominant genus detected in both dry and rainy seasons at all sample sites. *Aspergillus* and *Penicillium* spores are the most widespread aeroallergens in the world. In several countries *Aspergillus* and *Penicillium* genera have been the most prevalent one with higher concentration of spores.<sup>(25)</sup>

According to qualitative and quantitative reports, the first is the dominant species in tropical regions while the latter is dominant over the rest of the world.<sup>(33)</sup> Those reports corroborate ours results. The genus *Aspergillus* is well-known to cause many types of diseases named aspergillosis, being the main types: colonization, allergy, disseminated infection and toxicity.<sup>(34)</sup>

Mezzari et al.,<sup>(15)</sup> studying airborne fungi in Porto Alegre, RS, south region of Brazil, have found *Cladosporium* (17,86%) as being the most prevalent genus. Purchio et al.,<sup>(11)</sup> in southern of Brazil, observed a predominance of *Cladosporium* mainly during the cold months. In São Luís this genus, which is more prevalent in south and southeastern region of the country, was isolated in low frequency (1,2%). Menezes et al.,<sup>(4)</sup> studying the prevalence of airborne fungi in Fortaleza-CE, northern of Brazil, verified higher frequency of *Aspergillus* genus, followed by *Penicillium*, *Curvularia* e *Cladosporium*. These results are much closed to ours. The authors also related that great part of population in Fortaleza city presents respiratory allergies when placed in contact with these allergens. Schoenlein-Crusius et al.,<sup>(14)</sup> in a similar study found that the airborne fungi of Cubatão, a city in the state of São Paulo, southern of Brazil, where air pollution is caused by fertilizer industries, among others, were composed of 19 common, 10 rare and 2 constant fungal species. Among the obtained fungi, at least 12 genera were reported as opportunistic fungi, 26 have been mentioned related to plant diseases and 8 have been associated to respiratory allergy. In our work we have identified twenty-four different filamentous genera from which ten (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Neurospora*, *Fonsecaea*, *Chaetomiun*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Drechslera* and *Mycelia Sterilia*) are already recognized by world literature as potential causes of respiratory allergies<sup>(3,28,33,35,36)</sup>

It should be also noted a percentage of 21,13% of dematiaceous fungi observed in this reasearch including genera such as *Curvularia* (11,18%), *Fonsecaea* (2,11%), *Alternaria* (1,81%), *Nigrospora* (1,81%), *Chaetomonium* (1,51%), *Cladosporium* (1,21%), *Drechslera* (0,60%), *Ulocladium* (0,60%) and *Wangiella* (0,30%). All are potential agents of phaeohyphomycosis, opportunistic infection usually exogenous.<sup>(3)</sup> Among those genera *Alternaria* is one of great allergenic power<sup>(28,37,38)</sup> mainly in Europe and in the United States, and their spores have been named as an environmental hazard associated with asthma in NSW (Public Healthy Division, 2000). Stannett and Beggs<sup>(38)</sup> have demonstrated the appearance of *Alternaria* spores in the atmosphere of Sydney year-round and Asan et al.<sup>(39)</sup> have found *Alternaria* as one of the most abundant genera in their study of airborne fungi from different urban stations in Eskisehir-Turkey. However, *Alternaria* is not so frequent in atmospheric air of Brazil, fact that was also confirmed in our study where the genus was found with 1,81% of frequency. Faria,<sup>(40)</sup> in Belo Horizonte, has registered a frequency of 21,1% for this genus, the largest ever recorded in the country.<sup>(23)</sup>

## CONCLUSIONS

In general the data show the presence of a large number of airborne fungi spores in São Luís and all the twenty four filamentous fungi genera found in this research are opportunistic and they may cause disease in susceptible patients. These facts emphasize the importance of studying anemophilous fungi in São Luís. Moreover, the airborne fungal genera identified in our study are known to be an important part of the airborne microfungi and may be allergenic to the population of São Luís. However, further investigations are needed to confirm the allergenic potential of the prevalent genera found and to examine the effects of exposure to those fungi in relation to health issues.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank at Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento do Maranhão (FAPEMA) by financial support.

### Resumo

Fungos anemófilos são considerados os principais agentes relacionados às causas de alergia em pacientes que sofrem de asma e rinite. O conhecimento sobre a prevalência desses microorganismos e sua variação sazonal pode auxiliar no diagnóstico e no tratamento específicos das manifestações alérgicas provocadas pela inalação desses alérgenos. Foram isolados e identificados fungos anemófilos da cidade de São Luís investigando sua prevalência, biodiversidade e variação sazonal. As amostras foram coletadas expondo placas de Petri contendo meio de cultivo em seis bairros da cidade. Foram contabilizados 2.993 colônias, sendo que 67,9% na estação seca e 32,1% na estação chuvosa. A análise estatística mostrou diferença significativa entre as médias de esporos no período seco e chuvoso ( $p = 0,0121$ ). Umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica e velocidade do vento podem ter influenciado na diversidade e concentração de esporos presentes no ar. Entre os 24 gêneros isolados, os mais prevalentes foram *Aspergillus* (38,37%), *Fusarium* (13,90%), *Curvularia* (11,18%) e *Penicillium* (10,88%), reconhecidos mundialmente como grandes desencadeadores de processos alérgicos. Os dados mostram a presença de um grande número de esporos fúngicos no ar em São Luís e todos os gêneros encontrados são oportunistas, podendo causar doença em pacientes suscetíveis.

### Palavras-chave

Fungos anemófilos; Alergias respiratórias; *Aspergillus*; Micoses; Variação sazonal

## REFERENCES

- Oliveira M, Ribeiro H, Delgado JL, Abreu I. The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanization level. *Int J Biometeorol*. 2009;53(1):61-73.
- Madelin TM. Fungal aerosols - a review. *J Aer Sci*. 1994;25:1405-12.
- Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Tratado de Micologia Médica. 9ª ed. São Paulo: Sarvier. 2002.
- Menezes EA, Trindade EC, Costa MM, Freire CC, Cavalcante Mde S, Cunha FA. Airborne fungi isolated from Fortaleza city, state of Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2004; 46(3):133-7.
- Shin SH, Ponikau JU, Sherris DA, Congdon D, Frigas E, Homburger HA et al. Chronic rhinosinusitis: an enhanced immune response to ubiquitous airborne fungi. *J Allergy Clin Immunol.*, v. 114, n. 6, p. 1369-75, 2004
- John PU. Sistemik Mantar Infeksiyonlari. In: Berkow R. editor. The Merck Manual Thesis. Tedavi El Kitabı: Merck and Co. Inc (in Turkish), p. 115-121, 1985.
- Bennett JE. *Aspergillus* Species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone Inc; 1995. p. 2306-11.
- Gambale W, Purchio A, Croce J. Flora fúngica anemófila da grande São Paulo. *Rev Microbiol*. 1977;8:74-9.
- Mohovic J, Gambale W, Croce J. Cutaneous positivity in patients with respiratory allergies to 42 allergenic extracts of airborne fungi isolated in São Paulo, Brazil. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1988;16(6):397-402.
- Böhm GM, Saldiva PH, Pasqualucci CA, Massad E, Martins Mde E, Zin WA et al. Biological effects of air pollution in São Paulo and Cubatão. *Environ Res*. 1989;49(2):208-16.
- Purchio A, Gambale W, Paula CR. Moulds from some beaches in the southern area of São Paulo state (Baixada Santista), Brazil. *Rev Microbiol*. 1989;19:166-71.
- Oliveira MT, Braz RF, Ribeiro MA. Airborne fungi isolated from Natal, state of Rio Grande do Norte-Brazil. *Rev Microbiol*. 1993; 24:198-202.
- Soares MMSR, Ribeiro MC, Amaral MEC, Teixeira ABA, Antonelli LRV, Castro LCM. Micota do ar de Campinas. *Rev. Bioikos*. 1997; 11(1,2):33-9.
- Schoenlein-Crusius IH, Trufem SFB, Grandi RAP, Milanez AI, Pires-Zottarelli CLA. Airborne fungi in the region of Cubatão, São Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2001;32:61-5.
- Mezzari A, Perin C, Santos Júnior SA, Bernd LAG. Airborne fungi in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop*. 2002;44(5):120-7.
- Croce J, Silva EGM, Furtado EL, Queluz THAT. Estudo dos fungos anemófilos da cidade de Botucatu e sua correlação com sensibilização em pacientes com doenças alérgicas respiratórias. *Rev. Bras. Alergia Imunopatol*. 2003;26(3):95-109.
- Bernardi E, Costa ELG, Nascimento JS. Fungos anemófilos e suas relações com fatores abióticos na praia do Laranjal, Pelotas, Rio Grande do Sul. *Rev de Biologia e Ciências da Terra*. 2006;6(1): 91-6.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico. Brasília. 2008. Disponível em [www.ibge.com.br](http://www.ibge.com.br). Acesso em 10/01/2010.
- Ismail MA, Chebon SK, Nakamya R. Preliminary surveys of outdoor and indoor aeromycobiota in Uganda. *Mycopathol*. 1999; 148:41-51.
- Riddel RW. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*. 1950;42:265.
- Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed. Minneapolis: Burgess; 1972.
- Macginnis MR, D'Amato RF, Land GA. Pictorial handbook of medically important fungi and aerobic actinomycetes. New York: Praeger Special Studies; 1980. 160p.
- Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Guia para identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. 8a ed. São Paulo: Sarvier. 1998.
- Rodrigues WC. Dives - Diversidade de Espécies. Versão 2.0. Software e guia do usuário. 2005. Disponível em: <http://www.ebras.bio.br> (22 de abril de 2009).
- Al-Doory Y, Domson JF. Mould Allergy. Philadelphia: Lea & Fabirger; 1984.
- Agarwal MK, Shivpuri DN, Mukerji KG. Studies on the allergenic fungal spores of the Delhi, India, Metropolitan area-Botanical aspects (aeromycology). *J Allergy*. 1969;44(4):193-203.

27. Pasanen AL, Pasanen P, Jantunen MJ, Kalliokoski P. Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release in the air. *Atmos Environ*. 1991;25a:459-62.
28. Li CS, Hsu LY, Chou CC, Hsieh KH. Fungus allergens inside and outside the residences of atopic and control children. *Arch Environ Health*. 1995;50(1):38-43.
29. Di Giorgio C, Krempff A, Guiraud H, Binder P, Tiret C, Dumenil G. Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles. *Atmos Environ*. 1996;30:155-60.
30. Reponen T, Grishpun S, Reponen A, Ulevicius V. Characteristics of exposure to fungal spores in indoor air, American Industrial Hygiene Association. 1996. Disponível em: <http://www.aiha.org/abstract/6evalbio.html>.
31. Burch M, Levetin E. Effects of meteorological conditions on spore plumes. *Int J Biometeorol*. 2002;46(3):107-17.
32. Gambale W, Purchio A, Paula CR. Influência de fatores abióticos na dispersão aérea de fungos na cidade de São Paulo, Brasil. *Rev Microbiol*. 1983;14:204-14.
33. Rosas I, Calderon C, Escamilla B, Ulloa M. Seasonal distribution of *Aspergillus* in the air of an urban area: Mexico city. *Grana*. 1992; 31:315-9.
34. Fisher F, Cook NB. *Micologia: fundamentos e diagnóstico*. 1st ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2001.
35. Harmanci E, Metintas M, Erginel S. Respiratory allergy to moulds among adults in Eskisehir Anatolia, Turkey. *Allerg Immunol (Paris)*. 2000;32(2):49-51. [Article in French]
36. Burge HA, Rogers CA. Outdoor allergens. *Environ Health Perspect*. 2000;108 Suppl 4:653-9.
37. Gambale W, Paula RC, Buck N, Gambale V. Airborne fungi of Presidente Prudente SP, Brasil. *Rev Microbiol*. 1985;16:9-14.
38. Stennett PJ, Beggs PJ. *Alternaria* spores in the atmosphere of Sydney, Australia and relationships with meteorological factors. *Int J Biometeorol*. 2004;49(2):98-105
39. Asan A, Lihan S, Sen B, Erkara IP, Filik C, Cabuk A, et al. Airborne fungi and actinomycetes concentrations in the air of Eskisehir city (Turkey). *Indoor Built Environ*. 2004;13:63-74.
40. Faria A. Aspectos ecológicos e clínicos da flora anemófila de Belo Horizonte. (Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG; 1967.

---

Correspondência

**Patricia Valério G. Castelo Branco**

*Núcleo de Pesquisa em Doenças Endêmicas e Parasitárias,*

*Universidade CEUMA*

*Rua Josué Montello, nº 01, Renascença II*

*65075-120 – São Luís, MA*

*Fone: (98) 3214 4277*

*E-mail: ifepv@yahoo.com.br*

# Parâmetro de produtividade de quatro laboratórios clínicos da Rede Municipal Pública de Belo Horizonte (MG)

## Productivity parameter of four public clinical laboratories of the city of Belo Horizonte (MG)

Leyla Gomes Sancho<sup>1</sup>

Maria Lucia Faleiro<sup>2</sup>

Maria de Lourdes Baêta Zille<sup>2</sup>

José Muniz da Costa Vargens<sup>3</sup>

Rafael Gomes Sancho<sup>4</sup>

### Resumo

Nas últimas décadas, têm ocorrido mudanças importantes na organização de redes de laboratórios de patologia clínica. No entanto, não têm sido acompanhadas por uma decorrente avaliação de sua efetividade organizacional. O estudo ora apresentado pretendeu determinar um parâmetro de produtividade da rede pública de apoio diagnóstico em patologia clínica do município de Belo Horizonte e definir pontos de corte para as seções técnicas desses laboratórios. Para tanto, efetivou-se uma análise da produtividade dos profissionais, por seção de cada laboratório distrital, durante um período de sete meses no ano de 2008, por meio do método de cálculo denominado produtividade de fator simples, seguido pelo estabelecimento de pontos de corte e pela determinação do indicador que aponta a oportunidade de ganho para cada laboratório da rede. A produtividade média, avaliada a partir do número de exames por hora, nas seções do conjunto dos laboratórios da rede, apresentou a seguinte variabilidade: na seção de hematologia – 15,5 ( $\pm 6,2$ ); na de bioquímica – 67,3 ( $\pm 20,4$ ); na seção de parasitologia – 6,5 ( $\pm 2,2$ ); na urinálise – 11,4 ( $\pm 6,2$ ); na microbiologia – 4,9 ( $\pm 0,3$ ); e na sorologia de 11,9 ( $\pm 13,2$ ). O ponto de corte assumido, como consequência da primeira análise, ficou assim estabelecido para as seções: 15,50 para a seção de hematologia, 67,29 para a bioquímica, 6,45 para a seção de parasitologia, 11,35 para a urinálise, 4,94 para a microbiologia e 19,03 para a seção de sorologia. O parâmetro de produtividade da rede foi estabelecido em 29,90 exames por hora. De posse dos resultados, concluiu-se que o processo de trabalho interfere na produtividade dos laboratórios, bem como suscita a necessidade da implementação da avaliação como um instrumento de gestão.

### Palavras-chave

Parâmetro de produtividade; Rede pública; Laboratório clínico; Patologia clínica.

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, têm ocorrido mudanças importantes na organização das redes de laboratórios públicos de apoio diagnóstico em patologia clínica. Mudanças advindas não só pelo incremento de novos procedimentos clínicos nos diferentes níveis de atenção à saúde, mas também devido às características da população das áreas de abrangência sob sua responsabilidade e, especialmente, pela incorporação de tecnologias de gestão e da automação no processamento dos exames.

Nas décadas de 1970 e 1980, o modelo organizacional que prevalecia na rede pública era o do laboratório localizado na mesma área física do posto de saúde ou do centro de saúde, no qual uma pequena diversidade de exames era realizada, e estes processados manualmente.

Em meados da década de 90, particularmente com a implantação do Sistema Único de Saúde (SUS), a organização dos serviços de patologia clínica passa a ser orientada pela

diretriz da hierarquização das ações – coerente e articulada com os demais serviços do SUS, na qual se prevê a implantação de postos de coleta referenciados aos laboratórios distritais (ou regionais). Inicia-se, também, a regulação da oferta adequada às necessidades locais de saúde, subordinada à combinação de tecnologias diversificadas e adaptada aos aspectos sociodemográficos, epidemiológicos, sanitários e econômicos de uma dada população.<sup>(1)</sup> A centralização do processamento de exames na rede pública de laboratórios de patologia clínica, ao propiciar a aquisição de um número adequado de equipamentos automatizados, imprime um substancial aumento do rendimento e, por conseguinte, da produtividade dos recursos humanos, se comparado com esses mesmos equipamentos pulverizados em vários pequenos laboratórios.

A partir da automação do processamento de exames laboratoriais, impôs-se, como premissa, a aplicação do conceito de economia de escala no setor, que, como decorrência, introduz uma nova prática em termos organizacionais,

<sup>1</sup>Professora adjunta do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da UFRJ, RJ.

<sup>2</sup>Bioquímica da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, MG.

<sup>3</sup>Analista de sistemas senior da CTIS Tecnologia SA – Rio de Janeiro, RJ.

<sup>4</sup>Project management professional na Chemtech – Belo Horizonte, MG.

o que, em termos econômicos, significa que a elasticidade custo-produção é menor do que a unidade, ou seja, que os custos aumentam menos que o nível de produção.<sup>(2)</sup>

A rede pública de apoio diagnóstico em patologia clínica do município de Curitiba, no Paraná, foi uma das primeiras a efetivar a reorganização de sua rede na perspectiva de uma central única de processamento de exames, sendo que a união das duas pontas do sistema – descentralização da coleta e centralização do processamento – é dada a partir da implantação de um sistema logístico que recolhe as amostras biológicas nas unidades de saúde e as leva à central de processamento. O transporte para este fim à época foi terceirizado para a Empresa Brasileira de Correios e Telégrafos.

A decorrência deste processo levou à redução de custos, aumento na qualidade e o encaminhamento dos resultados dos exames em tempo mais oportuno. Segundo Santos et al.,<sup>(3)</sup> o laboratório centralizado de Curitiba processava, nos anos 90, aproximadamente dois milhões de exames por ano.

## A REDE DE APOIO DIAGNÓSTICO EM PATOLOGIA CLÍNICA DO MUNICÍPIO DE BELO HORIZONTE

A rede pública municipal de laboratórios de Belo Horizonte é composta por cinco laboratórios distritais e um laboratório municipal de referência. Os laboratórios distritais realizam um cardápio de sessenta e dois tipos de exames – de acordo com os protocolos de atenção dos programas verticais da Secretaria Municipal de Saúde e sob a perspectiva do cardápio sugerido para o Grupo A de exames pelo manual de orientação aos gestores sobre a organização da rede de laboratórios,<sup>(4)</sup> distribuídos em seis seções (hematologia, bioquímica, urinálise, parasitologia, microbiologia e sorologia), para as quais a composição de recursos humanos e a distribuição de equipamentos não guardam similaridade entre os distintos laboratórios.

A formalização da regionalização dos laboratórios distritais, em vista da não cobertura de um laboratório para cada distrito sanitário, ou, melhor, para uma dada população de abrangência, obedeceu aos seguintes critérios: acesso viário, tamanho da população das áreas de abrangência de cada distrito sanitário, número de Unidades Básicas de Saúde (UBS) em cada distrito sanitário e aproveitamento de áreas físicas já existentes. Ressalta-se que, com o processo de municipalização, os extintos Prontos Atendimentos Médicos (PAMs) do Instituto Nacional de Assistência Médica e Previdência Social (INAMPS), foram absorvidos e, com eles, as suas áreas físicas afins, inclusive as dos laboratórios.

Na rede pública de laboratórios de patologia clínica do município de Belo Horizonte, a incorporação da automação, a partir do ano de 1996, agregada à centralização do processamento de exames em laboratórios distritais e à implantação de um sistema de informação próprio,

deflagrou não só um ganho em termos de economia de escala, mas também um aumento na oferta e na cobertura de exames necessários para responder à demanda em relação às ações programáticas da política municipal de saúde, bem como a possibilidade de avaliação da qualidade dos exames, no planejamento, programação e regulação dessa atividade fim.

### Avaliação como subsídio

O processo de avaliação, embora em voga nos meios acadêmicos, ainda não encontrou de fato ressonância nos sistemas públicos de saúde.<sup>(5)</sup> Os sistemas de saúde, ainda hoje, encontram-se em uma fase de consolidação da regulação e regulamentação da prestação de bens e/ou serviços à população sob sua responsabilidade, mesmo que no nível federal de governo haja concreta proposta de avaliação das ações e dos serviços disponibilizados por sistemas de saúde.<sup>(6,7)</sup>

Na especificidade da avaliação em relação aos laboratórios de patologia clínica, os estudos nacionais e internacionais se referem ao custo, à produtividade e à implantação de sistema de informação como itens de interesse.<sup>(8,9)</sup>

Nesse sentido, após observar a ausência de ações de avaliação em relação à rede de laboratórios de patologia clínica da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (SMSA-BH), procedeu-se uma análise da produtividade nos laboratórios distritais ao estabelecer um parâmetro de produtividade em relação à rede *per se*, para o qual foi tomado como marco teórico o conceito de produtividade utilizado por Hartz et al. (1997), no qual a produtividade dos recursos profissionais se dá a partir do modo como os recursos são utilizados para produzir serviços, sendo as medidas referidas em unidades físicas,<sup>(10)</sup> bem como, e, por conseguinte, estimar o possível ganho de oportunidade dos laboratórios distritais, o qual serve como mais um subsídio para avaliar a sua efetividade organizacional.

## MATERIAL E MÉTODOS

A análise da produtividade dos profissionais, por seção, de cada laboratório distrital foi efetivada a partir do método de cálculo denominado *produtividade de fator simples* (sfp).<sup>(11)</sup> O cálculo é elaborado por meio de uma função, na qual as variáveis utilizadas são a produção de exames e o total de horas trabalhadas no mês pelo conjunto dos trabalhadores em cada seção.

$$Sfp = \frac{\text{output do produto A (quantidade do produto)}}{\text{input do recurso (unidade do recurso)}}$$

A amostra considerada para a análise foi a da produção realizada em quatro laboratórios distritais, durante um período de sete meses, e o número de dias trabalhados nos meses de janeiro a julho do ano de 2008. O quinto laboratório

distrital não foi considerado no estudo, por não se enquadrar nos critérios de inclusão. Os critérios de inclusão definidos foram: dados de produção validados e cadastramento recente dos recursos humanos.

Os dados primários relacionados à produção realizada nos laboratórios distritais foram coletados através de processo manual efetuado em cada laboratório por meio de planilhas, guardando similaridade com o modelo preconizado pelo sistema de informação do Sistema Único de Saúde (SUS) – SIGTAP (Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos). Isto porque o sistema informatizado dos laboratórios de patologia clínica (Sistema Laboratório Patologia Clínica – SLPC) consolida os dados relativos à produção a partir da demanda – coleta realizada no posto de coleta das unidades básicas, ou seja, desconsidera as amostras biológicas encaminhadas para a rede complementar (privada), as perdas de material biológico ou mesmo o reprocessamento de exames.

Para consolidar o número de horas trabalhadas, em cada seção, nos diferentes laboratórios distritais, tomou-se como subsídio a carga horária, em média, de cada servidor alocado na seção e o número de dias úteis no mês. Os dados relativos à carga horária dos profissionais foram coletados junto ao cadastro de recursos humanos da Gerência de Apoio Diagnóstico da SMSA-BH.

Outras informações advieram de informantes-chave, tais como: o *modus operandi* (processo de trabalho) dos laboratórios distritais; a ocorrência ou não de falta de insumos; o atraso ou não na entrega dos insumos e a manutenção adequada ou não dos equipamentos. A coleta dessas informações foi realizada por meio de entrevistas individuais não estruturadas. Vale citar que essas informações são de extrema importância, no sentido de subsidiar e, por decorrência, validar os dados coletados e relativizar os resultados encontrados.

Nesta medida, a primeira etapa da construção do modelo do estudo se ateve à formalização da produtividade por hora trabalhada, por mês, por laboratório distrital, a partir da consolidação da produção mensal por seção em cada laboratório distrital, seguido pela soma das cargas horárias diárias cumpridas pelos trabalhadores nas seções. A carga horária total por seção no mês foi obtida através do ajuste desta carga horária pelo número de dias úteis no mês.

A etapa seguinte se consubstanciou na definição dos pontos de corte para as seções em relação à produtividade dos profissionais, onde se utilizou para a sua formalização, a partir do mesmo conjunto de dados coletados, o seguinte cálculo: média das médias da produtividade por hora trabalhada por seção, por mês, do conjunto dos laboratórios no período estudado.

Em relação à formalização do parâmetro, entendido como um valor numérico que representa o limite superior observado (real), o somatório incluiu a produção total realizada e o total de horas trabalhadas dos quatro laboratórios no período. A partir deste (parâmetro), se inferiu um indicador que aponta a *oportunidade de ganho*<sup>(12)</sup> para cada laboratório da rede. A oportunidade de ganho é representada por um delta que significa a diferença entre o valor possível de ser alcançado (parâmetro) e o valor do indicador sob comparação, sendo que a sua composição é dada pelo produto entre a diferença de valores – parâmetro e indicador, e o número de horas trabalhadas referentes ao indicador sob avaliação.

## RESULTADO

A produção realizada no período foi a primeira variável considerada na análise da produtividade dos profissionais. No caso dos laboratórios distritais, de agora em diante denominados de A, B, C e D, a média e o desvio padrão da produção por seção no período estudado estão demonstrados na Tabela I.

Para melhor compreensão dos valores apresentados a seguir, observa-se que o laboratório distrital A cobre uma população de 408.000 habitantes, de classe socioeconômica mais favorecida e tem 19 UBS(s) a si atreladas. O laboratório distrital B dá cobertura a uma população de 523.000 habitantes e é referência de 34 UBS(s). O laboratório distrital C atua sobre uma população de abrangência de 337.351 habitantes e também tem 19 UBS(s) sob sua responsabilidade. Já o laboratório D tem 35 UBS como referência e cobre uma população mais desfavorecida em termos socioeconômicos, de 534.000 habitantes.

Chama a atenção a produção efetivada nos distintos laboratórios distritais que, mesmo estruturados a partir de umíssonas diretrizes, apresentam valores dissonantes entre as

Tabela I - Produção média mensal e desvio padrão, por seção, durante os meses de janeiro a julho de 2008, nos laboratórios da rede pública do município de Belo Horizonte

Labor.	Hematologia		Bioquímica		Parasitologia		Microbiologia		Urinálise		Sorologia	
	Méd.	Des. Pad.	Méd.	Des. Pad.	Méd.	Des. Pad.	Méd.	Des. Pad.	Méd.	Des. Pad.	Méd.	Des. Pad.
A	6067	604	26713	1812	2028	228	1687	342	3164	205	1275	88
B	11028	1327	47845	3692	4197	552	2641	514	5636	390	2922	237
C	7494	1005	32657	3122	2911	548	1996	560	7198	1819	2060	569
D	12358	1083	47210	4697	4845	667	3848	482	6994	455	1200	474

Legenda: Lab, laboratório; Méd. Média; Des. Pad., Desvio Padrão

Fonte: Laboratórios Distritais da Gerência de Apoio Diagnóstico da SMSA-BH

diferentes seções, e, por conseguinte, dos correspondentes tipos de exames realizados em cada seção, sugerindo, por exemplo, que há uma demanda diferenciada, a qual pode ser decorrente, como uma hipótese, da condição socioeconômica inerente à população de cada área de abrangência do município, que é configurada, inclusive, por diferentes prevalências de patologias ou, mesmo, por diferentes quadros nosológicos. No entanto, essa discussão não faz parte do objetivo explícito deste estudo, mas serve como um elemento para reflexões. Também chama a atenção o fato da produção apresentar, em alguns meses e em algumas seções, valores abaixo do habitualmente praticado, sugerindo a ocorrência de falta de insumos ou problemas de manutenção dos equipamentos.

A segunda variável utilizada na análise refere-se ao quadro de recursos humanos alocado em cada Laboratório Distrital e o número de horas trabalhadas por semana (carga horária contratual), por seção, pelo conjunto dos profissionais. A carga horária do quadro de recursos humanos se apresenta conforme a Tabela II.

O total de horas trabalhadas no conjunto dos laboratórios no período estudado foi de 85.419,5 horas.

O número de profissionais alocados nas seções de cada laboratório, assim como a carga horária praticada, não é equivalente. Ressalta-se, por exemplo, o número de trabalhadores na seção de parasitologia do laboratório D e a correspondente carga horária total, significando que um grupo de trabalhadores cumpre uma carga horária menor do que a contratual na seção, ou melhor, reforçando a prática da partição da carga horária entre as diversas seções. Vale mencionar que na SMSA-BH os bioquímicos têm contratos de 20 ou 40 horas semanais (extensão de jornada) e os técnicos de laboratório, em geral, contrato de 30 horas semanais. Também é importante ressaltar que ocorre nestes laboratórios, como na maioria dos setores do serviço público em todo o país, o desvio de função, o que significa a ocorrência de alocação de trabalhadores de outras categoriais profissionais nos laboratórios. Nesse contexto, e diante do processo de municipalização dos recursos humanos estaduais e federais, profissionais de uma mesma categoria, de acordo com a instituição de origem, podem dispensar distintas cargas horárias.

O resultado, no entanto, não traduz a produtividade *per se* de cada profissional por hora trabalhada. Para esse tipo de resultado seria necessária uma avaliação adicional, *in loco*, da movimentação diária dos profissionais entre as seções dos laboratórios distritais durante um determinado período.

Corroborando a informação de que os profissionais fazem diariamente, em maior ou menor grau, rodízio entre as seções técnicas, a produtividade por hora trabalhada é menor onde ocorre, em maior grau, a partição da carga horária em um número pequeno de horas trabalhadas em cada seção. Este fato fica patente ao se observar os resultados dos laboratórios distritais C e D. No laboratório distrital C, o número de trabalhadores por seção é menor, a rotatividade entre as seções é menor e a produtividade por hora trabalhada é maior em todas as seções. Pode-se afirmar também que na seção da sorologia, ainda tomando os dois laboratórios como exemplo, onde a média de horas trabalhadas é de 17,5 no laboratório D e de 23,3 no laboratório C e a produtividade média de 12,03 e 38,56- respectivamente, a média da produtividade nessa seção, do laboratório D, poderia chegar a 28,96, caso se considere, por equivalência, os valores do laboratório C em relação às horas trabalhadas e a média da produtividade.

Analisando os mesmos dados advindos da coleta, é possível definir pontos de corte (médias) em relação à produtividade profissional por seção e para a rede de laboratórios do município de Belo Horizonte, considerando que a demanda por diferentes tipos de exames não guarda dependência entre si e que há uma ocorrência, em termos estatísticos, de distribuição aproximadamente normal em relação à demanda de exames.

Diante dos valores encontrados como ponto de corte (Tabela III) é possível averiguar quais laboratórios/seções estão acima ou abaixo do valor indicado como referência. Na seção da hematologia, por exemplo, os laboratórios A e B apresentam valores abaixo do indicado; na seção da urinalise os laboratórios B e C apresentam valores acima da referência. Esta análise pode ser realizada em relação às demais seções de cada um dos laboratórios em estudo.

O parâmetro encontrado aproximado foi de 30 exames/h, que corresponde ao valor do limite superior resultante da

Tabela II - Carga horária semanal de cada trabalhador e número de funcionários lotados por seção, nos quatro laboratórios clínicos da rede pública do município de Belo Horizonte

Labor.	Hematologia		Bioquímica		Parasitologia		Microbiologia		Urinalise		Sorologia	
	Qte. Func.	Horas/ Sem.	Qte. Func.	Horas/ Sem.	Qte. Func.	Horas/ Sem.	Qte. Func.	Horas/ Sem.	Qte. Func.	Horas/ Sem.	Qte. Func.	Horas/ Sem.
A	6	180	5	160	6	150	7	145	6	95	1	20
B	7	200	4	150	5	130	4	90	5	120	3	70
C	3	80	3	90	7	87	6	90	3	100	2	13
D	3	80	3	90	7	87	6	90	3	100	2	13

Legenda: Qts Func., Quantidade de Funcionários; Horas/ Sem., Horas/ Semanais

Fonte: Laboratórios Distritais da Gerência de Apoio Diagnóstico da SMSA-BH

Tabela III - Produtividade por funcionário, por seção e por instituição semelhante, nos quatro laboratórios clínicos da rede pública do município de Belo Horizonte

Seções	Lab. A	Lab. B	Lab. C	Lab. D	Total	Média	Desv. Pad.	I.C. (95%)	Lim. Min.	Lim. Max.
Hematologia	8,2	13,3	22,7	17,8	62,0	15,5	6,2	6,1	9,3	21,7
Bioquímica	40,4	77,2	87,8	63,8	269,2	67,3	20,4	20,0	46,9	87,7
Parasitologia	3,3	7,8	8,1	6,6	25,8	6,5	2,2	2,2	4,2	8,7
Urinálise	5,3	12,4	19,6	8,2	45,4	11,4	6,2	6,1	5,1	17,6
Microbiologia	4,6	5,3	4,9	5,0	19,8	4,9	0,3	0,3	4,7	5,2
Sorologia	15,4	10,1	38,6	12,0	76,1	19,0	13,2	12,9	5,8	32,2

Legenda: Lab., Laboratório; Desv. Pad., Desvio Padrão; I.C., Intervalo de Confiança; Lim. Min., Limite Mínimo; Lim. Max. Limite Máximo.

Fonte: Gerência de Apoio Diagnóstico da SMSA-BH

análise final. O valor de limite inferior, 21,3 exames/h, é representado pela média. Ressalta-se que o valor do parâmetro é um indicativo preliminar, tendo em vista que o ideal para esse tipo de análise seria o de sua composição a partir de uma série histórica e considerando alguns critérios como, por exemplo, a distribuição similar de equipamentos automatizados entre os laboratórios.

Nessa medida, a oportunidade de ganho dos laboratórios A, B e D – produção adicional possível ao mês – pode chegar a 51.970 exames no laboratório distrital A, 22.349 exames no laboratório distrital B e 41.387 exames no laboratório distrital D.

## DISCUSSÃO

O resultado do estudo suscita uma série de discussões sobre a organização dos laboratórios públicos do município de Belo Horizonte na perspectiva da construção de um parâmetro para avaliar a efetividade da rede, especialmente na relação entre produção e produtividade dos recursos profissionais. Elementos importantes a serem considerados na análise referem-se à padronização dos procedimentos, à implantação de um sistema de informação que realmente subsidie a gerência/gestão, às demandas dos laboratórios ao nível distrital e, principalmente, à interferência do *modus operandi* de cada laboratório.

A produção destes laboratórios, se balizada com o quantitativo de recursos humanos que varia de 25 a 45 profissionais em termos absolutos, denota que há uma correlação positiva entre as duas variáveis. No entanto, ao se proceder à análise da produtividade desses mesmos profissionais, a correlação é negativa. Assim, observa-se que o laboratório com maior número de profissionais é um dos que apresenta a mais baixa produtividade.

Estudo realizado por Valenstein, Souers e Wilkinson em um total de 151 laboratórios de patologia clínica associados ao *College of American Pathologists* apresenta um resultado semelhante ao encontrado na rede de laboratórios da SMSA-BH. Segundo os autores, mesmo com a padronização de métodos, há uma variação no nível (quali-

quantitativo) de recursos humanos alocados em uma determinada seção nos diferentes laboratórios da amostra, assim como há uma variação em termos de produtividade entre as seções inter e intra laboratório.<sup>(13)</sup>

Estudo mais recente, elaborado por Jones, Darcy, Souers e Meier refere que há uma associação significativa entre o volume de testes realizados e o número de trabalhadores em três seções (bioquímica, hematologia e sorologia) no conjunto de 98 laboratórios estudados, e uma grande variação na produtividade baseada no volume, porém não há relação entre o volume por seção interlaboratórios.<sup>(14)</sup>

No entanto, a determinação da produtividade total, que envolve, como o caso de um laboratório de apoio em patologia clínica, todos os recursos/insumos de um determinado produto, é efetivada através da combinação das diversas produtividades (de cada recurso/insumo) em uma única expressão – *produtividade de fator total* (ftf), a qual permitiria traduzir em um número os resultados do laboratório na perspectiva de uma avaliação global.<sup>(15)</sup>

O ideal neste estudo seria agregar ao modelo a produtividade dos equipamentos, sendo esta uma resultante da combinação do número destes e das suas especificações técnicas (número de amostras processadas por hora, perfil e número de profissionais/hora necessários para a sua operacionalização), onde, então

$$ftf = \frac{v}{\sum A_i X_i}$$

sendo  $i = 1, 2, \dots, n$ ;  $v$  = nível de atividade de produção;  $A_i$  = total de produção empregada e  $X_i$  = coeficiente de ponderação associado a  $A_i$ , bem como o balizamento desta produtividade com a apropriação dos custos dos *inputs*.<sup>(10)</sup>

Tem sido uma presença constante em estudos sobre os laboratórios de patologia clínica a utilização da aferição (*benchmarking*) das suas atividades, no sentido de dar completude ao papel desempenhado em relação à gestão, principalmente no que concerne às oportunidades de ganho e na melhoria da qualidade.

Nesta perspectiva, estudo de Steiner et al. reforça a importância da inscrição de pesquisas que avaliem a relação

entre a utilização de testes laboratoriais e os decorrentes resultados com o intuito, inclusive, de inferir a utilidade dos testes no impacto da qualidade da atenção ao paciente.<sup>(16)</sup>

De acordo com Mugnol & Ferraz, a automação e a informatização são fatores que alteram o ambiente laboratorial, tornando-o mais produtivo, mais eficiente e mais controlado. Ainda na opinião desses autores, é preciso avaliar de forma simultânea a produtividade, a qualidade e os custos, não sendo mais aceitável dar prioridade apenas aos dois primeiros fatores sem levar em consideração a terceira variável.<sup>(17)</sup>

Tomando como verdade o referencial acima citado, vale mencionar que uma deficiência desse estudo foi não incorporar a análise de custos de produção dos laboratórios distritais como instrumento de gestão, deficiência esta encontrada na maioria dos sistemas públicos de saúde do País.<sup>(18)</sup>

A implantação da distritalização/regionalização dos laboratórios propiciou não só a reorganização da rede de laboratórios do município, bem como a submissão desses a uma área de abrangência populacional, e também permitiu, diante de racional incorporação tecnológica – concentração de equipamentos automatizados e informatizados –, a ampliação do seu escopo e ganho de economia de escala. Esta ampliação respondeu não só às necessidades dos protocolos assistenciais, mas também à cobertura da população em relação à atenção à saúde.

Young & McCarthy, ao se referirem sobre a introdução da integração de laboratórios de patologia clínica nos Estados Unidos (*Legacy Health System*), após a percepção dos nós críticos relacionados à pulverização de laboratórios (circulação das amostras biológicas, o sistema de informação e a padronização dos procedimentos), afirmam que a regionalização permitiu um ganho na qualidade de processamento e resultado dos exames.<sup>(19)</sup>

O sistema próprio de informatização dos laboratórios distritais de Belo Horizonte – SLPC – ainda é deficiente e necessita de uma série de ajustes, inclusive para subsidiar estudos como o que foi apresentado neste artigo. Isto porque, conforme já explicitado, uma gama de dados foi coletada manualmente. Tal déficit, no entanto, não se restringe a apenas esse fato, ou seja, o de sequer responder às necessidades de cunho administrativo, mas principalmente por não permitir a concretização de avaliações pertinentes no que concerne à atenção coletiva, propiciando, na perspectiva individual da atenção, uma resposta mais ágil.

O valor dimensionado para o parâmetro de produtividade dos recursos profissionais e os decorrentes para a oportunidade de ganho dos laboratórios distritais devem, entretanto, ser balizados com discernimento e cautela. Discernimento no sentido que o serviço ora avaliado é propício ao ganho de economia de escala, mas que, em detrimento deste, não se deve incorrer na formalização de uma demanda induzida pela oferta, e cautela no sentido que outras variáveis intervenientes (independência/dependência

de processamento de exames nas seções, desabastecimento, absenteísmo, equipamento danificado, etc) podem mudar os valores *per se*.

Mesmo que haja uma correlação entre os valores referentes à produção, o número de recursos humanos alocados, o número de UBS atreladas e uma condizente população de abrangência a ser coberta, o processo de trabalho em pelo menos um dos laboratórios avaliados, o laboratório D, apresentam visíveis oportunidades de ganho. Fato possivelmente decorrente da utilização inadequada de intenso rodízio dos servidores entre as seções técnicas que, em grande medida, configura um *tempo morto*<sup>(20)</sup> em relação à produtividade de seus profissionais. Justifica-se assim, também, a perda significativa associada ao laboratório distrital A, que possui potencial de oferta maior do que a demanda referenciada.

## CONCLUSÃO

A busca por padrões de desempenho para balizar a gestão dos laboratórios públicos leva à determinação de pontos de produtividade esperada, considerando as já explicitadas restrições impostas pelo conjunto de fatores internos e externos à organização. Recomenda-se, nessa medida, que para estudos futuros sejam envidados esforços na construção de um modelo que permita uma avaliação mais precisa e detalhada da capacidade potencial de produção dos laboratórios da rede municipal de patologia clínica.

De qualquer sorte, o resultado deste estudo, mesmo que parcial e de forte cunho indicativo, tem como objetivo subjacente trazer para o sistema público de saúde, e por decorrência para o setor público de apoio diagnóstico em patologia clínica, um alerta em relação à necessidade de se incorporar a avaliação como um instrumento de gestão e melhoria operacional.

### Abstract

*Many important changes have been occurred in the organization of networks of clinical pathology laboratories over the last few decades. However, it has not been accompanied by an assessment of its organizational effectiveness. The study intended to determine a parameter of productivity of public support diagnosis network in clinical pathology of the city of Belo Horizonte, and set cutoffs for the technical sections of these laboratories. Therefore, an analysis of worker's productivity was made according to each section at each laboratory over a period of seven months in 2008 using a method of calculation called simple factor productivity. Then, it was established the cutoffs points, and finally it was determined the indicator called opportunity gain for each laboratory. The average productivity, measured by the number of tests per hour, at the sections of all network laboratories is showed by the following variation: hematology section – 15,5 ( $\pm 6,2$ ); biochemistry section – 67,3 ( $\pm 20,4$ ); parasitology section – 6,5 ( $\pm 2,2$ ); urinalysis section – 11,4 ( $\pm 6,2$ ); microbiology section – 4,9 ( $\pm 0,3$ ); and serology. The cutoff assumed as a result of the first analysis was established for the sections: hematology section – 15.50; biochemistry section – 67.29; parasitology section – 6.45; urinalysis section – 11.35; microbiology section- 4.94, and 19.03 for serology section – 11,9*

( $\pm 13,2$ ). The parameter for the productivity of the network was established in 29.90 per hour exams. According to the results, we conclude that the work process interferes with the productivity of laboratories, and raises the implementation of evaluation as a management tool.

### Keywords

Assessment; Parameter of productivity; Public network, Clinical laboratory.

## REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Descentralização da Gestão à Assistência. Manual de apoio aos gestores do SUS: organização da rede de laboratórios clínicos. Normas e Manuais Técnicos, série A, n. 115. Brasília - DF, 2002, 88p. Disponível em: [www.bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/apoio\\_sus.pdf](http://www.bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/apoio_sus.pdf). Acessado em outubro de 2008
2. Varian HR. Microeconomia: princípios básicos. 2a. ed. Rio de Janeiro: Campus, 1994,710 p.
3. Santos CA, Leonardi LJ, Voss STZ, Ito TS. O sistema de apoio diagnóstico terapêutico no nível local. In: Mendes EV(Org). A organização da saúde no nível local. São Paulo: Editora Hucitec, 1998. p:281-91.
4. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Descentralização da Gestão da Assistência. Manual de apoio aos gestores do SUS: organização da rede de laboratórios clínicos. Brasília-DF, 2003. Disponível em [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/apoio\\_sus.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/apoio_sus.pdf). Acessado em outubro 2012
5. Felisberto E. Da teoria à formulação de uma Política Nacional de Avaliação em Saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2006;11(3):553-63.
6. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Básica. Planos Estaduais para fortalecimento das Ações de Monitoramento e Avaliação da Atenção Básica - Diretrizes e Orientações. Brasília – DF, 2004, 40 p. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-588.htm>. Acessado em outubro 2008
7. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Regulação, Avaliação e Controle de Sistemas. Coordenação Geral de Regulação e Avaliação. Programa Nacional de Avaliação de Serviços de Saúde. Brasília – DF, 2004, 69 p. Disponível em: [http://pnass.datasus.gov.br/documentos/CADERNO\\_PNASS.pdf](http://pnass.datasus.gov.br/documentos/CADERNO_PNASS.pdf). Acessado em outubro de 2008.
8. Valenstein PN, Praestgaard AH, Lepoff RB. Six-year trends in productivity and utilization of 73 clinical laboratories. *Arch Pathol Lab Med*. 2001;125(9):1153-61.
9. Mugnol KCU, Ferraz MB. Sistema de Informação como ferramenta de cálculo e gestão de custos em laboratórios de análises clínicas. *J Bras Patol Méd Lab*. 2006;42(2):95-102.
10. Hartz ZMA. Avaliação em Saúde: dos modelos conceituais à prática na análise da implantação de programas. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 1997, 131 p.
11. Severiano FC, Dunda MFE. Análise das abordagens sobre medidas de produtividade. Disponível em <http://www.libdigi.unicamp.br/document/?down=65>. Acessado em out/2008.
12. Campos VF. Gerenciamento pelas Diretrizes. Belo Horizonte: Fundação Christiano Ottoni, 1996, 334p.
13. Valenstein PN, Souers R, Wilkinson DS. Staffing benchmarks for clinical laboratories: a College of American Pathologists Q-probes study of staffing at 151 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 2005; 129:467-73.
14. Jones BA, Darcy T, Souers RJ, Meier FA. Staffing benchmarks for clinical laboratories: a College of American Pathologists Q-Probes study of laboratory staffing at 98 institutions. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(2):140-7.
15. Freitas FCG. A evolução da produtividade total de fatores na economia brasileira: uma análise do período pós-real. EAESP/ FGV/NPP - Núcleo de Pesquisas e Publicações. Relatório De Pesquisa 13, 2003. Disponível em: <http://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/handle/10438/2874>. Acessado em novembro 2008
16. Steiner JW, Murphy KA, Buck EC, Rajkovich DE. How to utilize benchmarking in the clinical laboratory. *Clin Leadersh Manag Rev*. 2006;20(6):E4.
17. Mugnol KCU, Ferraz MB. Sistema de Informação como ferramenta de cálculo e gestão de custos em laboratórios de análises clínicas. *J Bras Patol Méd Lab*. 2006;42(2):95-102.
18. Sancho LG, Vargens JM. Avaliação Econômica em Saúde na esfera de atenção local à saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2009;14(Supl. 1):1513-21.
19. Young DW, McCarthy SM. Managing integrated delivery systems: a framework for action. Health Administration Press, 1999.
20. Dal Poz R, Pierantoni CR, Varella TC. Produtividade e Desempenho dos Recursos Humanos nos Serviços de Saúde. *Human Resources Development*, n. 10. OPAS/OMS, Washington D.C. Disponível em: [seminario-brasilia.tripod.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/incentivos.pdf](http://seminario-brasilia.tripod.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/incentivos.pdf). Acessado em novembro/2008.

Correspondência

**Leyla Gomes Sancho**

Avenida Horácio Macedo, S/N

(Próximo a Prefeitura Universitária da UFRJ)

Ilha do Fundão - Cidade Universitária

21941-598, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

## Infecção do trato urinário em gestantes de alto risco

### Urinary tract infection in high risk pregnant women

Erica Freire de Vasconcelos<sup>1</sup>

Adriano Ossuna Tamazato<sup>2</sup>

Ernesto Antonio Figueiró-Filho<sup>3</sup>

#### Resumo

A infecção do trato urinário é comum durante a gestação, podendo ocasionar diversas complicações materno-fetais. O presente trabalho objetivou determinar a frequência de infecção do trato urinário, a etiologia destas infecções e a susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos. A coleta de dados foi realizada em protocolo pré-estabelecido utilizando os prontuários das pacientes que apresentaram resultado de urocultura positiva no ambulatório de Gestação de Alto Risco do Hospital Universitário da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, durante o período de abril de 2005 a junho de 2009. Foram analisados 674 prontuários de gestantes de alto risco atendidas no ambulatório, tendo sido observados 90 (13,35%) resultados de urocultura positiva. O agente etiológico mais frequente foi a *Escherichia coli*, responsável por 33,3% das uroculturas reagentes, seguidas pelas *Klebsiella pneumoniae* (10%) e *Enterobacter sp.* (7,7%). O padrão de susceptibilidade mostrou a *E. coli* resistente à ampicilina em 40%, à sulfametoxazol-trimetropim em 26,6% e à cefalotina em 23,33%. Destaca-se a sensibilidade alcançada com norfloxacina (86,6%), ceftriaxone (80%) e nitrofurantoína (76,6%). Os dados encontrados neste estudo reafirmam a necessidade de realização de urocultura em todas as gestantes e a determinação da susceptibilidade microbiana em determinado local, para a orientação da melhor conduta terapêutica.

#### Palavras-chave

Infecções urinárias; Urocultura; Antimicrobianos; Resistência bacteriana

## INTRODUÇÃO

A infecção do trato urinário (ITU) é caracterizada pela presença ou multiplicação de microorganismos no trato urinário sendo comum durante a gestação.<sup>(1,2)</sup> Neste período, o trato urinário passa por modificações fisiológicas e anatômicas, que facilitam a transformação do estado de bacteriúria assintomática para infecção sintomática. Essas mudanças reduzem a capacidade do organismo em resistir à invasão bacteriana.<sup>(3,4)</sup> A compressão extrínseca dos ureteres, a redução da peristalse em função da progesterona e o aumento do débito urinário induzem a estase urinária e o refluxo vesicoureteral.<sup>(4,5)</sup> A perda de concentração urinária vigente na gravidez corrobora de forma negativa, pois reduz a atividade bactericida, passando a excretar mais glicose e aminoácidos, tornando a urina meio de cultura propício para o crescimento bacteriano.<sup>(6,7)</sup>

Sérias complicações ao concepto, a exemplo de nascimentos pré-termos, restrição de crescimento intra-uterino, baixo peso ao nascer, e, por vezes, óbito fetal, são observadas em pacientes com infecção urinária. Não obstante, a infecção do trato urinário pode predispor a gestante à endometrite, corioamnionite, sepse e óbito.<sup>(4-9)</sup>

Dentre os uropatógenos frequentemente isolados, destaca-se a *Escherichia coli* presente em 75% a 90% das infecções do trato urinário. Outras enterobactérias (*Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Proteus sp.*), *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus agalactiae* também são responsáveis por este tipo de infecção.<sup>(10,11)</sup>

O conhecimento do perfil epidemiológico e do padrão de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos é fundamental, tendo em vista sua variação geográfica. Este conhecimento reduz a possibilidade de falha terapêutica e propicia orientação à conduta medicamentosa específica.<sup>(12,13)</sup> A resistência dos diversos patógenos causadores de infecção do trato urinário está sendo ampliada. Dentre os fatores relacionados a esta resistência estão as características microbianas individuais, reservatórios onde estes agentes permanecem desenvolvendo resistência, e o uso inapropriado de drogas antimicrobianas.<sup>(14)</sup>

O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de infecção do trato urinário, a etiologia destas infecções e a susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos em gestantes atendidas no ambulatório de gestação de alto risco.

<sup>1</sup>Pós-graduanda do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil.

<sup>2</sup>Acadêmico da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande (MS), Brasil.

<sup>3</sup>Professor Doutor do Departamento de Gineco-Obstetrícia da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) – Campo Grande (MS), Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo observacional, transversal, realizado baseado na coleta de dados em formulário de pesquisa, utilizando os prontuários das pacientes que apresentaram resultado de urocultura positiva, no período de abril de 2005 a junho de 2009, no qual foram incluídas 674 gestantes atendidas no ambulatório para gestantes de alto risco da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Para verificação da frequência foram consideradas as pacientes que apresentaram resultado de urocultura positiva e o total de pacientes atendidas no ambulatório no período de estudo.

O perfil bacteriológico e da susceptibilidade ao agente antimicrobiano foi verificado através dos resultados da urocultura e antibiograma. Para a realização do exame é feita a coleta da urina utilizando a técnica do jato médio, em frascos estéreis. As uroculturas foram realizadas com semeadura com alça calibrada (1:1000) em ágar cistina lactose deficiente em eletrólitos (CLED) e ágar MacConkey, após a homogenização da urina. O material foi incubado em estufa bacteriológica ( $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por 18 a 24 horas, sendo analisado posteriormente. Após a identificação do microorganismo, realizavam-se os antibiogramas através do método de difusão de disco (Kirby-Bauer) em ágar Müller-Hinton. Os discos em antibióticos eram distribuídos nas placas, as quais eram incubadas por 24 horas. A determinação do grau de sensibilidade bacteriana levou em consideração o diâmetro do halo seguindo as orientações do Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).

Todos os casos com urocultura positiva foram considerados, sendo classificados como bacteriúria assintomática amostras em que a cultura apresentou número  $\geq 10^5$  Unidade Formadora de Colônia por mililitro (UFC/ml), não apresentando sintomatologia referida pela paciente. A bacteriúria sintomática (cistite e pielonefrite) foi considerada de acordo com a apresentação de sintomas característicos como disúria, polaciúria, dor ou desconforto suprapúbico, febre, lombalgia, náuseas, vômitos, calafrios, com o mínimo de crescimento de 103UFC/ml.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob protocolo n°860.

## RESULTADOS

Foram considerados 674 prontuários de gestantes atendidas no ambulatório de Gestação de Alto Risco do Hospital Universitário da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, no período de abril de 2005 a junho de 2009. Dentre estas gestantes observou-se frequência de 13,3% (90 casos) com resultado de urocultura positiva.

Considerando as bactérias isoladas nas culturas positivas de urina, a *Escherichia coli* foi a mais frequente (33,3%), seguido pela *Klebsiella pneumoniae* (10,0%),

*Enterobacter* sp. (7,8%), *Enterococcus* sp. (7,8%), conforme apresentado na Tabela 1. Outras bactérias perfizeram 13,4% da amostra estudada.

Tabela 1 - Número e porcentagem de bactérias encontradas em urocultura de gestantes do ambulatório de alto risco

	N°	%
<i>Escherichia coli</i>	30	33,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	10,0
<i>Enterobacter</i> sp.	7	7,8
<i>Enterococcus</i> sp.	7	7,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	6,7
<i>Streptococcus</i> sp.	5	5,6
<i>Proteus mirabilis</i>	4	4,4
<i>Acinetobacter</i> sp.	3	3,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3,3
Bacilos Gram - Negativos	2	2,2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2,2
Outras	12	13,4

De acordo com o padrão de susceptibilidade, pode-se verificar que as cepas de *Escherichia coli* foram resistentes, principalmente, à ampicilina (40%) e às cefalosporinas de 1ª geração (23,3%). Dentre os fármacos mais eficientes em inibir o crescimento de *E.coli in vitro* identificam-se norfloxacin (86,6%), ceftriaxone (80%) e nitrofurantoína (76,6%). A *K. pneumoniae* apresentou maior sensibilidade ao ciprofloxacino (88,8%), ceftriaxone (77,7%) e norfloxacin (55,5%), sendo mais resistente à nitrofurantoína (66,6%).

Considerando-se a susceptibilidade aos antibióticos, independente da cepa microbiana, o medicamento menos eficaz na inibição do crescimento *in vitro* foi a ampicilina com 31,1% de resistência. Por outro lado, o norfloxacin foi o mais eficaz com 65,5% de inibição do crescimento *in vitro*.

Os medicamentos mais prescritos para tratamento das infecções do trato urinário foram nitrofurantoína (35,5%) e cefalexina (13,3%), demonstrado na Tabela 2. Dentre os sintomas, polaciúria (70,9%) e dor ou desconforto suprapúbico (61,8%) foram os mais frequentes.

Tabela 2 - Antibióticos utilizados para tratamento ambulatorial\*, com dose e posologia, de gestantes com Infecção do Trato Urinário, Campo Grande- MS

Antibióticos	N°	%
Nitrofurantoína 100mg VO** 6/6h	32	35,6
Cefalexina 500mg VO 6/6h	12	13,3
Norfloxacin 400mg VO 12/12h	7	7,8
Sulfametoxazol + Trimetoprim VO 2cp 12/12h	4	4,4
Ampicilina 500mg VO 500mg VO 6/6h	4	4,4
Eritromicina 500mg VO 8/8h	3	3,3
Ciprofloxacino 250mg VO 12/12h	2	2,2
Amoxicilina 500mg VO 8/8h	1	1,1
Amoxicilina + Clavulanato VO 8/8h	1	1,1

\* Todos os tratamentos apresentaram duração de 10 dias.

\*\* VO = Via Oral

De acordo com o diagnóstico, 33,3% das pacientes com urocultura positiva apresentaram bacteriúria assintomática e 7,7% apresentaram pielonefrite. Ainda, 13,3% apresentaram mais de um episódio de infecção urinária durante o período gestacional. A realização de urocultura de controle pós-tratamento foi encontrada em 64,4% dos casos. As pacientes com urocultura positiva para *Streptococcus* sp. (5,6%) apresentavam-se sintomáticas.

## DISCUSSÃO

A frequência e a gravidade das infecções urinárias durante a gestação vêm sendo mais valorizadas, em função das consequências que podem trazer, os resultados desse estudo estão acima do encontrado na literatura que varia de 5% a 10%.<sup>(4,5,9)</sup>

A distribuição percentual de microrganismos obtidos neste estudo está de acordo com registro de outros autores, os quais identificaram a *E. coli* como o uropatógeno mais frequente, seguido por outras enterobactérias.<sup>(2,5,13,15)</sup> Contra a bactéria *E. coli*, o presente estudo verificou pouca eficácia na inibição de crescimento *in vitro*, com altas taxas de resistência para os antibióticos: ampicilina (40%), sulfametoxazol-trimetropim (26,6%) e cefalotina (23,3%). Exceção ocorre se a ampicilina for associada a um inibidor de enzima beta-lactamase.<sup>(16)</sup>

Este fato pode estar relacionado à utilização empírica deste medicamento, atitude que não é recomendada por alguns autores, e que pode ocorrer devido ao baixo custo do tratamento.<sup>(5,17-19)</sup> A prescrição destes antimicrobianos deve ficar restrita para casos com sensibilidade confirmada através do antibiograma.<sup>(12)</sup> O uso empírico de antibióticos, norteado pelos critérios da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas, deve ser restrita a regiões onde a resistência bacteriana aos antimicrobianos encontra-se inferior a 20%.<sup>(11)</sup>

Dentre os antibióticos mais eficazes na inibição do crescimento *in vitro* da *E. coli*, a nitrofurantoína e a norfloxacina apresentaram altas taxas de sensibilidade, com 76,6% e 96,6%, respectivamente, na presente amostra. Estudo recente demonstrou que a nitrofurantoína permaneceu como agente mais ativo na inibição de uropatógenos, apresentando alta concentração na urina e sendo o medicamento mais adequado para o tratamento de infecções urinárias.<sup>(16)</sup>

Apesar das principais bactérias encontradas terem apresentado sensibilidade à norfloxacina, este medicamento não deve ser utilizado como primeira escolha no tratamento das ITU, em gestantes, por existir pouca observação clínica, neste grupo de pacientes, ficando restritos a alguns casos específicos, como pielonefrite grave e multirresistência bacteriana.<sup>(3,8)</sup>

Em alguns casos, a avaliação microbiológica é realizada apenas na existência de infecções recorrentes ou quando existem fatores complicadores associados, o que impede a adequada conduta terapêutica.<sup>(16)</sup> A urocultura

possibilita a identificação do agente etiológico e quantificação destas bactérias na urina. A realização deste exame é imprescindível durante a triagem pré-natal, pois possibilita o tratamento precoce e impede futuras consequências para o binômio materno-fetal.<sup>(4,14)</sup>

O número de gestantes com bacteriúria assintomática está acima do relatado por outros autores que estimam frequência de até 10%.<sup>(9,10)</sup> Esse resultado pode ser devido à exigência de urocultura no protocolo de atendimento pré-natal do ambulatório onde o estudo foi realizado. A identificação da bacteriúria é importante pela possibilidade de tratamento precoce da gestante, podendo reduzir o número de casos de pielonefrite, e consequentemente, redução dos riscos para o feto, pois aproximadamente 30% desenvolverão pielonefrite, se não tratadas.<sup>(4,20-22)</sup>

Importante citar a presença do *Streptococcus agalactiae* em uroculturas positivas, considerando que a colonização vaginal e do trato urinário por esta bactéria é importante fator de risco para infecção neonatal, tornando seu diagnóstico e tratamento imprescindíveis.<sup>(23)</sup>

A prescrição antimicrobiana deve ser individualizada de acordo com a susceptibilidade encontrada no exame de rastreio, sendo que os medicamentos encontrados como mais eficazes são a cefuroxima, ceftazidima e nitrofurantoína.<sup>(5)</sup> Na presente amostra foi encontrada quantidade apreciável de utilização da cefalexina, justificada por sensibilidade considerável *in vitro* na população estudada.

Em relação à sintomatologia apresentada pelas pacientes, este estudo ratifica dados descritos em outro trabalho, o qual cita a polaciúria como um dos mais frequentes sintomas e sugere que alterações anômicas e hormonais possam influenciar esta ocorrência.<sup>(25)</sup> A polaciúria caracteriza o diagnóstico clínico da cistite e uretrite, sinalizando a necessidade de investigação laboratorial.<sup>(24,25)</sup>

O presente estudo sugere que a etiologia das infecções do trato urinário, bem como a susceptibilidade aos antimicrobianos em gestantes deve ser pesquisada de forma periódica em comunidades e territórios pré-definidos, informações que servirão como norteadoras da melhor conduta terapêutica a ser estabelecida.

### Abstract

*The urinary tract infection is common during pregnancy, may lead to several maternal and fetal complications. This study aimed to determine the frequency of urinary tract infection, the etiology of these infections and bacterial susceptibility to antimicrobial agents. Data collection was performed on pre-established protocol using the medical records of patients who had positive urine culture results at the clinic of High-Risk Pregnancy University Hospital School of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul during the period April 2005 to June 2009. We analyzed records of 674 high-risk pregnancies treated at the clinic, were observed 90 (13.35%) results of urine positive. The most frequent etiological agent was *Escherichia coli*, accounting for 33.3% of urine reagent, followed by *Klebsiella pneumoniae* (10%) and *Enterobacter* sp. (7.7%). The pattern of susceptibility showed the *E. coli* resistant to ampicillin in 40% to trimethoprim-sulfamethoxazole in 26.6% and cephalothin in 23.33%. highlights the sensitivity achieved with norfloxacin (86.6%),*

ceftriaxone (80%) and nitrofurantoin (76.6%). The findings of this study reinforce the need to hold urine in all pregnant women and determination of microbial susceptibility at a given site to guide the best treatment.

### Keywords

Urinary infections; Urine culture; Antimicrobials; Bacterial resistance

## REFERÊNCIAS

- Santos JFM, Ribeiro RM, Rossi P, Haddad J M, Guidi HGC, Pacetta AM, Pinotti JA. Urinary Tract Infections in Pregnant Women. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2002;13(3):204-9.
- Sheffield JS, Cunningham GF. Urinary tract infection in women. *Obstet Gynecol.* 2005;106(5 Pt 1):1085-92.
- Lee JBL, Neild GH. Urinary tract infection. *Medicine.* 2007;35;8, 423-8.
- Archabald KL, Friedman A, Raker CA, Anderson BL. Impact of trimester on morbidity of acute pyelonephritis in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(4):406-4.
- Duarte G, Marcolin AC, Gonçalves CV, Quintana SM, Berezowski AT, Nogueira AA. Infecção urinária na gravidez: análise dos métodos para diagnóstico e do tratamento. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2002;24(7):471-7.
- Delzell JE Jr, Lefevre ML. Urinary tract infections during pregnancy. *Am Fam Physician.* 2000;61(3):713-21. Erratum in *Am Fam Physician* 2000;61(12):3567.
- Turiño-Luque JD, Fraile MLR. Etiología y sensibilidad antimicrobiana en las infecciones urinarias bajas de la embarazada en España. *Prog Obstet Ginecol.* 2006;49(5):238-46.
- Krcmery S, Hromec J, Demesova D. Treatment of lower urinary tract infection in pregnancy. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;17(4):279-82.
- Schieve La, Handler A., Hershov Md, Persky V, Davis F. Urinary tract infection during pregnancy: its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am J Public Health.* 1994;84(3): 405-10
- Smaill F. Asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21(3):439-50.
- Koch CR, Ribeiro JC, Schnor OH, Muller FM, Agostín JD, Machado V. Resistência antimicrobiana dos uropatógenos em pacientes ambulatoriais, 2000-2004. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41(3): 277-81.
- Pires MCS, Frot KS, Martins POJ, Correia AF, Cortez-Escalante JJ, Silveira CA. Prevalência e susceptibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário, em Hospital Universitário de Brasília, no período de 2001 a 2005. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(6):643-7.
- Correia C, Costa E, Peres A, Alves M, Pombo G, Estevinho L. Etiologia das infecções do trato urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. *Acta Med Port.* 2007;20:543-9.
- Correa LA, Canalini AF, Matheus WE. Etiologia das infecções do trato urinário. *Internacional Braz J Urol.* 2003;29(Suppl3):7-10.
- Andrade E, Jakowlew A, Navarro P, Villarroel E, Laviosa MC, Bolívar A. Sensibilidad antimicrobiana de uropatógenos identificados em pacientes adultos com infección urinaria. *Antib Inf.* 2002;10(4):159-63.
- Bean DC, Krahe D, Wareham DW. Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates, London 2005-2006. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2008;7:1.
- Nys S, van Merode T, Bartelds AI, Stobberingh EE. Urinary tract infections in general practice patients: diagnostic tests versus bacteriological culture. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(5):955-8.
- Santo E, Salvador MM, Marin JM. Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli* from Ribeirão Preto. *Braz J Infect Dis.* 2007;11(6):575-8.
- Guneyssel O, Onur O, Erdede M, Denizbasi A. Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in urinary tract infections. *J Emerg Med.* 2009;36(4):338-41.
- Jacociunas LV, Picoli SU. Avaliação de infecção urinária em gestantes no primeiro trimestre de gravidez. *RBAC.* 2007;39(1): 55-7.
- Hill JB, Scheffield JS, Mcintire DD, Wendel GD Jr. Acute pyelonephritis in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2005;105(1):18-23.
- Enayat K, Fariba F, Bahram N. Asymptomatic bacteriuria among pregnant women referred to outpatient clinics in Sanandaj, Iran. *Int Braz J Urol.* 2008;34(6):699-704.
- Borger IL, D'Oliveira REC, Castro A, Mondino SSB. *Streptococcus agalactiae* em gestantes: prevalência de colonização e avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27:575-9.
- Lopes HV, Tavares W. Diagnóstico das infecções do trato urinário. *Rev Assoc Med Bras.* 2005;(51)6:301-12.
- Herrmann V, Scarpa KP, Palma PCR, Riceto CLZ, Morais S. Prevalência de sintomas urinários no terceiro trimestre de gestação. *Rev Assoc Med Bras.* 2006;52(3):153-6.

Correspondência

**Erica Freire de Vasconcelos**

Avenida Senador Filinto Muller, 355. Vila Ipiranga  
79080-190 – Campo Grande, MS  
Tel.: 67-3345-3390  
ericafv@hotmail.com

# Avaliação da prevalência de microrganismos e do perfil de resistência bacteriana em uroculturas de pacientes com bexiga neurogênica atendidos em um hospital pediátrico de ensino

## *Evaluation of the microorganism prevalence and the resistance bacterial profile in urine cultures of patients with neurogenic bladder seeking in a pediatric teaching hospital*

Mariana Araújo Paulo de Medeiros<sup>1</sup>

Luiza Maria de Carvalho Jalles<sup>2</sup>

Mônica Ferreira Lopes<sup>2</sup>

Solange Maria de Oliveira<sup>3</sup>

Fabiana Araújo Rocha de Valles Andrade<sup>3</sup>

Maiza Rocha de Abrantes<sup>4</sup>

### Resumo

Bexiga neurogênica é uma disfunção causada por complicações neurológicas que conduzem a um distúrbio no controle da micção e continência, levando à desordem urinária em diferentes graus. A incontinência urinária é o principal sintoma apresentado por pacientes com bexiga neurogênica e a infecção do trato urinário (ITU) é uma das complicações mais frequentes. Este trabalho objetivou avaliar a prevalência de microrganismos e o perfil de resistência bacteriana em uroculturas de pacientes com bexiga neurogênica atendidos no serviço ambulatorial do Hospital de Pediatria da UFRN (HOSPED), no período de novembro de 2009 a novembro de 2010. Trata-se de um estudo observacional, no qual foram coletados dados epidemiológicos e microbiológicos, abordados de forma quantitativa. A média de idade dos pacientes foi de 6,5 anos, sendo 53% do sexo masculino e 47% do sexo feminino. A mielomeningocele foi a causa mais comum de bexiga neurogênica (83%). A prevalência de bacteriúria foi de 72%, em grande parte assintomática (64%). O microrganismo mais isolado foi *E. coli* (62%). Observou-se grande resistência à ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico e tetraciclina. O perfil antimicrobiano encontrado apresentou maior sensibilidade do que o esperado, provavelmente devido à conduta de não tratar bacteriúria assintomática estabelecida pelo corpo médico do HOSPED, reservando-se o tratamento para casos sintomáticos.

### Palavras-chave

Bexiga neurogênica; Infecção do trato urinário; Resistência bacteriana

## INTRODUÇÃO

Bexiga neurogênica é uma disfunção causada por complicações neurológicas que conduzem a um distúrbio no controle da micção e continência, levando à desordem urinária em diferentes graus.<sup>(1)</sup> Em crianças, as causas mais frequentes de bexiga neurogênica são as congênitas, destacando-se os desrafismos espinhais ou espinha bífida, termos genéricos utilizados para fazer referência às malformações oriundas de uma fusão defeituosa do tubo neural.<sup>(2)</sup> A mielomeningocele destaca-se por ser a forma de espinha bífida mais comumente encontrada, correspondendo a 80 a 90% dos casos na infância.<sup>(3,4)</sup> A incontinência urinária é o principal sintoma apresentado por pacientes com bexiga neurogênica, independente da sua etiologia.

O tratamento da bexiga neurogênica deve objetivar, principalmente, a preservação do trato urinário e da função renal, bem como o restabelecimento da dinâmica de enchimento e esvaziamento vesical.<sup>(5)</sup> O cateterismo intermitente é

o método de escolha para o esvaziamento da bexiga, pois diminui a pressão intravesical e reduz ou elimina o refluxo vesicoureteral, evitando a deterioração do trato urinário superior. Além disso, auxilia no controle das infecções do trato urinário e contribui para a aquisição de continência urinária.<sup>(2)</sup>

A infecção do trato urinário (ITU) é uma das complicações mais frequentes observadas em pacientes com bexiga neurogênica, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade nesses indivíduos.<sup>(6)</sup> Os fatores de risco para a ocorrência de ITU nesta população são: distensão excessiva da bexiga, refluxo vesico-ureteral, alta pressão de esvaziamento, resíduos vesicais pós-miccionais e presença de cálculos no trato urinário.<sup>(7)</sup> Os sintomas de ITU em crianças com bexiga neurogênica incluem dor abdominal, febre, alteração do hábito miccional e do aspecto da urina.<sup>(2)</sup>

Muitos pacientes com bexiga neurogênica apresentam ITU's sintomáticas recorrentes. A frequente terapia com antibióticos aumenta o risco de seleção de bactérias multirres-

<sup>1</sup>Mestranda em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), Brasil.

<sup>2</sup>Médica pediatra nefrologista do Hospital de Pediatria Prof. Heriberto Ferreira Bezerra, Natal (RN), Brasil.

<sup>3</sup>Microbiologista do Laboratório de Microbiologia da Maternidade Escola Januário Cicco, Natal (RN), Brasil.

<sup>4</sup>Professora, Mestre em Saúde Coletiva-UERJ/UFRN, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), Brasil.

sistentes, o que limita a escolha de antimicrobianos orais adequados.<sup>(6)</sup> A constante exposição dos indivíduos com bexiga neurogênica ao ambiente hospitalar também predispõe à aquisição de microrganismos virulentos e resistentes. A presença de microrganismos multirresistentes aumenta os desafios e os riscos no manejo de pacientes com bexiga neurogênica.<sup>(8)</sup>

Além disso, esses pacientes também podem apresentar bacteriúria assintomática, cujo tratamento não é aconselhável, visto que esta conduta pouco ajuda a prevenir uma ITU sintomática e pode induzir colonização por bactérias resistentes.<sup>(9)</sup>

O tratamento da ITU é geralmente iniciado de forma empírica (após a coleta de urina para urocultura) e deve ser ajustado, se necessário, após o resultado do antibiograma.<sup>(10)</sup> É imprescindível que o tratamento da ITU sintomática não seja adiado, uma vez que a rápida eliminação da infecção é essencial para evitar a ocorrência de lesão renal. Dessa maneira, é importante que seja feita a avaliação dos microrganismos mais prevalentes e do perfil de sensibilidade destes frente aos antimicrobianos para guiar a terapêutica adotada inicialmente e minimizar o surgimento de bactérias resistentes.<sup>(11)</sup>

O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência de microrganismos e o perfil de resistência bacteriana em uroculturas de pacientes com bexiga neurogênica atendidos no serviço ambulatorial do Hospital de Pediatria Prof. Heriberto Ferreira Bezerra (HOSPED) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), no período de novembro de 2009 a novembro de 2010.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Desenho do estudo

Este é um estudo observacional, do tipo transversal (inquérito), no qual foram coletados dados epidemiológicos e microbiológicos de pacientes com bexiga neurogênica atendidos no serviço ambulatorial do Hospital de Pediatria Prof. Heriberto Ferreira Bezerra (HOSPED) da UFRN, no período de novembro de 2009 a novembro de 2010.

### População do estudo

Foram incluídos na pesquisa os indivíduos portadores de bexiga neurogênica com ITU sintomática e assintomática e com solicitação de urocultura, sendo a população em estudo constituída de crianças e adolescentes (faixa etária entre 7 meses e 16 anos).

### Coleta de urina

A coleta de urina para urocultura foi realizada pelo serviço de enfermagem do HOSPED por meio de cateterismo vesical.

### Exame microbiológico: urocultura

A urocultura foi realizada pelo Laboratório de Microbiologia da Maternidade-Escola Januário Cicco (MEJC), segundo

a metodologia da alça calibrada. As amostras de urina foram semeadas com uma alça calibrada (0,001 ml) nos meios Ágar CLED (Cisteína Lactose Deficiente em Eletrólitos) (Difco®) e Ágar Mac Conkey (OXOID®). Foi considerada bacteriúria significativa um crescimento maior ou igual a 10.000 ( $10^4$ ) UFC/ml de urina, segundo o critério adotado pelo Laboratório de Microbiologia da MEJC,<sup>(12)</sup> considerando que a coleta foi feita por cateterismo vesical. O microrganismo isolado foi identificado através de provas bioquímicas para a identificação bacteriana, bem como foi realizado o antibiograma pelo método da difusão do disco padronizado por Kirby e Bauer, conforme as orientações do Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI.<sup>(13-15)</sup>

### Coleta de dados

Dados dos participantes da pesquisa foram obtidos mediante a aplicação de um questionário e avaliação dos prontuários dos pacientes. Os dados microbiológicos referentes da urocultura e antibiograma foram obtidos nos livros de registro do Laboratório de Microbiologia da MEJC.

### Processamento dos dados

Os dados foram armazenados em planilha padronizada de acordo com codificação previamente definida. Foram utilizados os programas Microsoft Excel 2010 e Statistica versão 9 para o processamento e a análise dos dados. Foram produzidas as seguintes análises nesta investigação: avaliação da prevalência de bacteriúria, do agente bacteriano envolvido e da etiologia da bexiga neurogênica; avaliação da resistência bacteriana e sua relação com o uso de antimicrobianos; correlação das variáveis idade, sexo e uso de cateterismo com a ocorrência de bacteriúria.

## RESULTADOS

Foram incluídos 65 pacientes com bexiga neurogênica. A média de idade foi de  $6,5 \pm 4,2$  anos. Verifica-se que as crianças que apresentam bacteriúria tem uma idade significativamente maior do que as crianças sem bacteriúria ( $p < 0,01$ ). No grupo de crianças com bacteriúria, a maioria apresentou idade entre 3,5 e 11 anos, média de 7,3 anos. Por outro lado, a idade do grupo de crianças sem bacteriúria concentrou-se na faixa etária entre 1 e 7 anos, média de 3,6 anos. É interessante notar que todas as crianças acima de 8 anos de idade apresentaram bacteriúria (Figura 1).

Com relação ao gênero, 34 (53%) eram do sexo masculino e 31 (47%) eram do sexo feminino. Considerando-se individualmente cada gênero, verifica-se que a prevalência de bacteriúria no sexo feminino foi de 88%, enquanto no sexo masculino foi de 66%, demonstrando-se diferença estatisticamente significativa na bacteriúria quando se comparam as frequências obtidas para cada gênero ( $p < 0,05$ ).

Somente 20 (31%) pacientes provinham da cidade de Natal/RN, enquanto 45 (69%) provinham de outro município. A renda familiar encontrada foi baixa, na medida em que

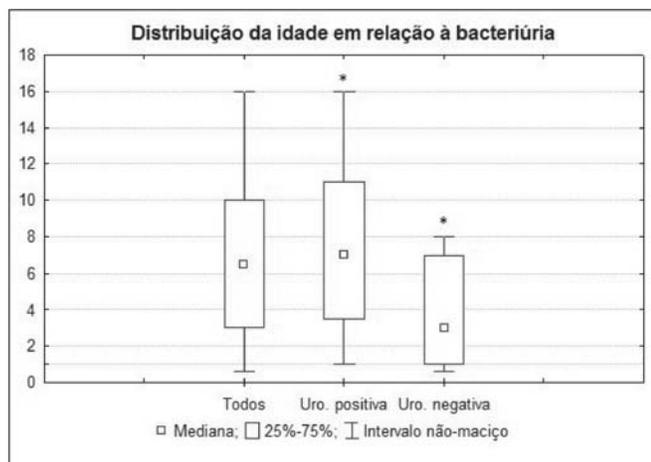


Figura 1. Distribuição da idade dos pacientes com bexiga neurogênica em relação à presença de bacteriúria. Todos: Pacientes participantes do estudo; Uro. Positiva: Pacientes com bacteriúria; Uro. Negativa: Pacientes sem bacteriúria; \*:  $p < 0,01$ , com o teste t de student.

Tabela 1 - Prevalência de bacteriúria quanto ao gênero

Sexo masculino	Sexo feminino
* 66% (23)	* 88% (28)

Fonte: Laboratório de Microbiologia da MEJC, UFRN

\* =  $p < 0,05$  pelo teste do  $\chi^2$  (qui-quadrado)

mais de 60% das famílias tinham renda menor ou igual a um salário mínimo brasileiro; 36% tinham renda de 2 salários mínimos e apenas uma família (3%) tinha renda de 3 salários mínimos.

Constatou-se etiologia congênita da bexiga neurogênica em 58 (89%) pacientes. A mielomeningocele figurou como a principal causa de bexiga neurogênica, correspondendo a 83% casos. Outras causas congênitas encontradas foram: agenesia sacral, encefalopatia, espinha bífida oculta e síndrome genética a esclarecer (Figura 2).

A maioria dos pacientes (51 ou 88%) fazia uso de cateterismo intermitente limpo a cada 3 ou 4 horas por dia, técnica de drenagem vesical adotada como principal forma de tratamento. Apenas 2 (3%) pacientes faziam uso de forma

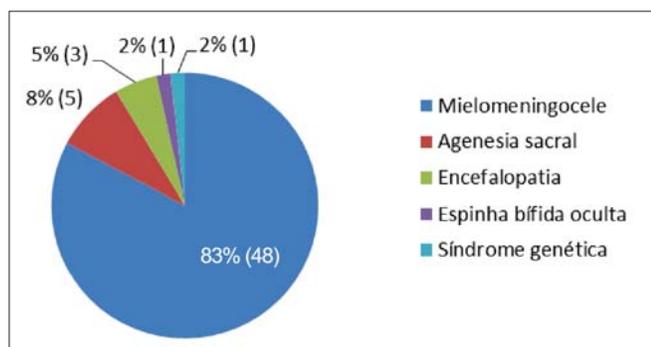


Figura 2. Distribuição da etiologia da bexiga neurogênica em 58 pacientes atendidos no serviço ambulatorial do HOSPED, UFRN.

Tabela 2 - Prevalência de bacteriúria quanto ao uso de cateterismo

Faz uso	Não faz uso
88% (44)	60% (3)

Fonte: Laboratório de Microbiologia da MEJC, UFRN

inadequada, enquanto 5 (9%) não faziam uso. Com relação ao uso de cateterismo, observa-se que, em pacientes que faziam uso de cateterismo intermitente limpo, a prevalência de bacteriúria foi de 88%, enquanto em pacientes que não faziam uso de cateterismo foi de 60%. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa na bacteriúria quando se compararam os grupos de pacientes citados.

Dos 24 (35%) casos em que se conseguiu confirmar o uso prévio de antimicrobianos através do prontuário, 18 (75%) apresentaram urocultura positiva, dos quais apenas cinco (28%) mostraram relação direta entre o uso de antimicrobianos e a ocorrência de bacteriúria por bactérias resistentes aos mesmos.

A urocultura foi positiva (contagem acima de 104 UFC/ml de urina) em 49 (72%) amostras, 16 (24%) das uroculturas foram negativas e apenas 3 (4%) apresentaram crescimento bacteriano insuficiente ou misto, havendo repetição da coleta (Figura 3). Contudo, a sintomatologia relacionada à infecção do trato urinário (ITU) estava ausente em 16 (32,6%) uroculturas positivas, havendo sintomas relacionados à ITU, tais como febre e alteração de cor ou odor na urina em apenas 9 (18,4%) uroculturas positivas. Para 24 (49%) amostras não havia informações de sintomatologia.

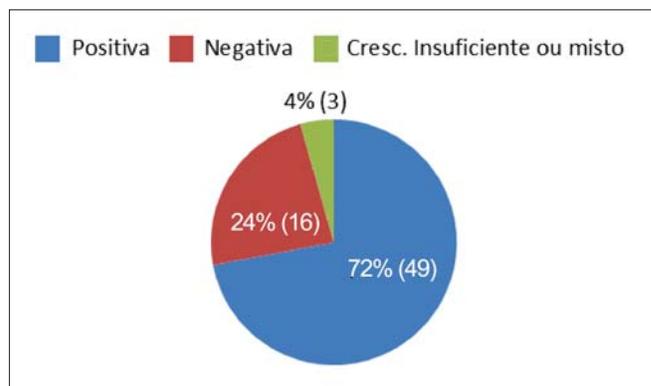


Figura 3. Resultado da urocultura em 68 pacientes com bexiga neurogênica atendidos no serviço ambulatorial do HOSPED, UFRN.

Os microrganismos isolados (Figura 4) foram: *Escherichia coli* (62%); *Klebsiella* spp. (12%); *Enterobacter* spp. (8%); *Proteus mirabilis* (8%); *Proteus vulgaris* (4%); *Pseudomonas aeruginosa* (4%) e *Enterococcus* spp. (2%). Em um dos casos de urocultura positiva, houve infecção polimicrobiana por *E. coli* e *Enterobacter* spp.

Na Tabela 3, encontram-se os resultados do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos observados para cada espécie ou gênero isoladamente, avaliando-se apenas os microrganismos que foram isolados ao menos em quatro

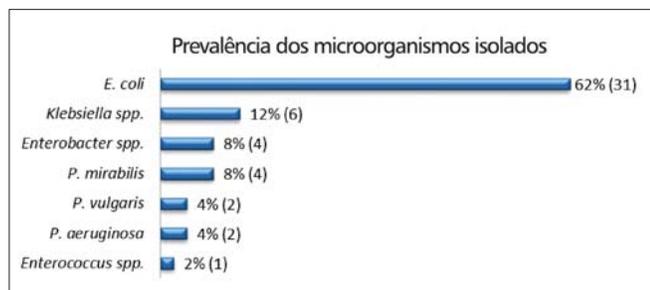


Figura 4. Distribuição dos microrganismos isolados em 49 uroculturas positivas de pacientes com bexiga neurogênica atendidos no serviço ambulatorial do HOSPED, UFRN

Tabela 3. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos apresentado pelos gêneros e espécies mais isolados em uroculturas positivas de pacientes com bexiga neurogênica

	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Enterobacter spp.</i>
N (%)	31 (62)	6 (12)	4 (8)	4 (8)
NAL %	86,2	83,3	100	75
NIT %	92,9	20	RI	50
NOR %	93,1	83,3	100	100
CIP %	92,9	100	100	100
SUT %	25,8	66,6	50	100
TET %	50	40	RI	33,3
AMI %	100	100	100	100
GEN %	100	100	100	100
AMP %	20,7	RI	0	RI
AMC %	47,8	0	NT	RI
CFL %	77,4	50	50	RI
CFZ %	77,4	50	50	RI
CRO %	96,4	100	100	75
CPM %	100	100	100	100

Fonte: Laboratório de Microbiologia da MEJC, UFRN.

RI: Resistência intrínseca; NT: Não testado; NAL: Ácido nalidixico; NIT: Nitrofurantoina; NOR: Norfloxacin; CIP: Ciprofloxacino; SUT: Sulfametoxazol/Trimetoprim; TET: Tetraciclina; AMI: amicacina; GEN: Gentamicina; AMP: Ampicilina; AMC: Amoxicilina/ácido clavulânico; CFL: Cefalotina; CFZ: Cefazolina; CRO: Ceftriaxona; CPM: Cefepime

ocasiões. Apenas um isolado (2%) demonstrou multirresistência aos antimicrobianos: uma cepa de *E. coli* resistente a vários antimicrobianos de diferentes classes, inclusive ceftriaxona, sendo suspeita de produzir ESBL (beta-lactamase de espectro ampliado).<sup>(16)</sup>

## DISCUSSÃO

Observou-se que há uma diferença estatisticamente significativa entre a idade das crianças com bacteriúria em relação à idade do grupo sem bacteriúria, sugerindo-se que crianças com idade mais elevada apresentam mais chance de desenvolver bacteriúria, principalmente na faixa etária entre 3,5 e 11 anos (Figura 1), supondo-se que isso seja devido ao maior tempo de exposição desses pacientes aos fatores de risco para ITU. De fato, Dilks et al.<sup>(17)</sup> constataram que crianças com idade superior a 7 anos tinham duas vezes

mais chance de ter ao menos uma urocultura positiva do que crianças mais jovens.

A partir dos resultados das Tabelas 1 e 2, constata-se que, possivelmente, há maior probabilidade de desenvolvimento de bacteriúria no sexo feminino e em pacientes em uso de cateterismo, dada a maior prevalência nesses grupos. No entanto, em nosso estudo, somente se obteve significância estatística que comprovasse a diferença na bacteriúria com relação ao gênero. No estudo de Dilks et al.,<sup>(17)</sup> observou-se que as crianças do sexo feminino tinham uma probabilidade ligeiramente maior de ter ao menos uma urocultura positiva em relação a crianças do sexo masculino, contudo esta diferença não foi estatisticamente significativa. De forma geral, a maior suscetibilidade do sexo feminino à bacteriúria se deve principalmente à anatomia, apresentando uretra mais curta e mais próxima da vagina e do ânus.<sup>(18)</sup> Vários estudos associam o uso do cateterismo à ocorrência de bacteriúria,<sup>(6,9,19,20)</sup> porém apenas Dilks et al.<sup>(17)</sup> não encontraram significância estatística que comprovasse a correlação entre estas variáveis.

No nosso estudo, todos os pacientes (65) apresentavam bexiga neurogênica congênita. De fato, causas adquiridas de bexiga neurogênica, como lesões traumáticas da medula, são mais raras na infância, havendo predomínio das causas congênitas nessa faixa etária.<sup>(2)</sup> Além disso, a mielomeningocele correspondeu à causa mais prevalente, o que condiz com o encontrado na literatura.<sup>(4)</sup>

Os dados obtidos no nosso estudo não foram suficientes para estabelecer uma correlação entre o uso prévio de antimicrobianos e o desenvolvimento de resistência. Portanto, seriam necessários mais dados e a confirmação de pacientes que não fizeram uso prévio de antimicrobianos.

Com relação ao resultado da urocultura, demonstra-se uma alta prevalência de bacteriúria na população estudada (72%), situação verificada em outros trabalhos com crianças portadoras de bexiga neurogênica, onde a frequência de bacteriúria variou entre 60% e 85%.<sup>(1,17,20)</sup> Verificou-se um predomínio de bacteriúria assintomática (64%), observando-se bacteriúria sintomática em apenas 36% dos casos. Segundo Salomonet al.,<sup>(6)</sup> a bacteriúria assintomática atinge 75% dos pacientes que fazem uso de cateterismo intermitente, realizado pela maioria dos pacientes do estudo (88%). A inoculação de bactéria na bexiga através do cateterismo é inevitável. Por outro lado, o esvaziamento completo da bexiga é crítico em prevenir infecção neste sítio.<sup>(20)</sup>

No estudo de Schlager et al.,<sup>(17)</sup> observou-se a ocorrência de ITU sintomática usualmente no momento da aquisição de uma nova espécie bacteriana, bem como uma das infecções foi precedida por um curso de terapia antibiótica. Vários autores propuseram que o crescimento de bactéria avirulenta no trato urinário pode proteger contra a invasão por outras, possivelmente mais virulentas, que levariam à produção de citocinas e ao desenvolvimento de uma resposta sistêmica no hospedeiro, consequentemente resultando no aparecimento de sintomas.<sup>(20)</sup>

Provavelmente, os microrganismos isolados (Figura 4) estão presentes na microbiota intestinal do paciente e são introduzidos no trato urinário a partir da região periuretral no momento da cateterização.<sup>(10,11,20)</sup> O espectro de uropatógenos causadores de ITU complicada é mais amplo do que o encontrado em ITU não complicada. Assim, além de *E. coli*, espécies de *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Enterococcus*, microrganismos isolados no nosso estudo, são relativamente mais comuns em pacientes com ITU relacionada ao uso de cateter.<sup>(21)</sup>

Diversos estudos com pacientes portadores de bexiga neurogênica também apresentaram predominância de enterobactérias,<sup>(10,17,19,22)</sup> destacando-se *E. coli*; exceto no estudo de Penders et al.,<sup>(10)</sup> onde houve maior prevalência de *Klebsiella* spp. Também foram encontrados, em vários estudos, cocos gram-positivos, com destaque para *Enterococcus*,<sup>(9,17,19)</sup> além de não fermentadores, predominando *Pseudomonas* spp.<sup>(9,10,17)</sup> Entretanto, no nosso estudo, foram isoladas enterobactérias em 94% dos casos e cocos gram-positivos em apenas 2% dos casos, o que mostra um perfil diferente do encontrado em vários estudos realizados em diferentes localidades ao redor do mundo, que isolaram uma maior porcentagem de cocos gram-positivos em pacientes com bexiga neurogênica.<sup>(7-10,17,19,22)</sup>

Observa-se, de forma geral, uma grande resistência à tetraciclina, ampicilina e amoxicilina/ácido clavulânico, com sensibilidade igual ou inferior a 50% para os isolados mais importantes, chegando a 0% de sensibilidade em alguns casos, desconsiderando-se a resistência intrínseca. A maioria das bactérias apresentou baixa sensibilidade ao sulfametoxazol/trimetoprim, principalmente *E. coli*, com sensibilidade de apenas 25,8%. Porém, isolados de *Enterobacter* spp. foram sensíveis ao sulfametoxazol/trimetoprim em 100% dos casos. *E. coli* apresentou um ótimo perfil de sensibilidade frente à nitrofurantoína (92,9%), o que não ocorreu com relação aos outros microrganismos, destacando-se *Klebsiella* spp., com sensibilidade à nitrofurantoína de apenas 20%. Segundo Cardenas & Hooton,<sup>(21)</sup> amoxicilina, nitrofurantoína e sulfa não são boas escolhas devido à elevada resistência dos uropatógenos a esses antimicrobianos em ITU complicada, o que foi confirmado em parte pelo nosso estudo.

O perfil de sensibilidade com relação às cefalosporinas de 1ª geração (cefalotina, cefazolina) demonstra que já se verifica uma considerável resistência a estes antimicrobianos, principalmente por parte de isolados de *Klebsiella* spp. e *P. mirabilis*, apresentando sensibilidade de apenas 50%. Quanto à ceftriaxona e ácido nalidíxico, isolados de *Enterobacter* spp. mostraram relativa resistência, com sensibilidade de 75%, enquanto os demais isolados testados apresentaram ótima sensibilidade frente à ceftriaxona e boa sensibilidade frente ao ácido nalidíxico.

A sensibilidade às fluoroquinolonas (norfloxacino, ciprofloxacino) foi alta, ultrapassando 90%, com exceção de *Klebsiella* spp., que apresentou 83,3% de sensibilidade para

o norfloxacino, ainda considerada boa. As fluoroquinolonas são bem toleradas e apresentam um amplo espectro de ação, além de atingirem altas concentrações na urina e no trato urinário.<sup>(21)</sup> Assim, seriam uma boa opção terapêutica, porém esta classe de antimicrobianos não deve ser utilizada em crianças antes da puberdade, pois pode promover a erosão de cartilagens e prejudicar o crescimento ósseo.<sup>(23)</sup> O cefepime e os aminoglicosídeos foram os antimicrobianos que apresentaram melhor perfil de sensibilidade, verificando-se resistência apenas de um isolado de *P. aeruginosa* resistente à amicacina e gentamicina.

Ressalta-se a ocorrência de bactérias com resistência intrínseca a diversos antimicrobianos, como *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* spp. Observou-se uma baixa prevalência de MDR (2%), além de não ter sido isolado nenhum MRSA, em contraste com outros relatos.<sup>(7-10)</sup>

Esperava-se um perfil de resistência mais elevada, uma vez que a literatura relata uma alta prevalência de resistência em pacientes com bexiga neurogênica devido, principalmente, ao uso constante de antimicrobianos.<sup>(6,8,9)</sup> No entanto, acredita-se que a política instituída pelo corpo médico do HOSPED com relação ao não tratamento de bacteriúria assintomática tenha contribuído em grande parte para o baixo nível de resistência encontrado, reservando-se o tratamento para casos sintomáticos. Além disso, o corpo médico do HOSPED não preconiza a realização de profilaxia antibiótica, que também poderia induzir a resistência microbiana.

De fato, a bacteriúria assintomática parece não causar graves sequelas a longo prazo em pacientes portadores de bexiga neurogênica com baixa pressão intravesical e, portanto, a maioria das autoridades não recomendam o tratamento rotineiro deste quadro, uma vez que não está claro o seu benefício, além do tratamento aumentar a pressão seletiva sobre os microrganismos, aumentando a resistência aos antimicrobianos.<sup>(21)</sup> Além disso, o efeito do curso de uma terapia antibiótica na erradicação de bactéria da bexiga desses pacientes é breve, havendo rapidamente a recuperação da bacteriúria.<sup>(20)</sup>

Tendo em vista que os benefícios da profilaxia antimicrobiana a longo prazo ainda não foram provados, não há justificativa para o uso rotineiro de profilaxia antimicrobiana sistêmica, como estabelecido pela conferência de consenso de ITU do *National Institute on Disability and Rehabilitation Research* – NIDRR. No entanto, a profilaxia antimicrobiana pode melhorar a qualidade de vida de pacientes cuidadosamente selecionados com ITU sintomática recorrente sem causas corrigíveis.<sup>(21)</sup>

## CONCLUSÃO

Verifica-se que é realmente importante a avaliação do perfil dos microrganismos encontrados e seus respectivos perfis de resistência aos antimicrobianos através do anti-

biograma para guiar a terapêutica empírica, uma vez que se observam diferenças significativas do perfil encontrado no nosso estudo em relação a outras populações e serviços. O conhecimento da realidade específica de uma dada população é imprescindível para que se tenha a melhor conduta a respeito dos pacientes.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a toda a equipe multidisciplinar do HOSPED e à Associação de Crianças com Mielomeningocele, Hidrocefalia e Paralisia Cerebral, "Neurinho", Natal/RN, pelo suporte na realização do trabalho.

## ÉTICA

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética do Hospital Universitário Onofre Lopes da UFRN sob o protocolo 389/2009.

### Abstract

*Neurogenic bladder is a dysfunction caused by neurologic complications that leads to a disturbance in the continence and control of micturition, leading to a urinary disorder in different levels. Urinary incontinence is the main symptom presented by patients with neurogenic bladder and urinary tract infection (UTI) is one of the most frequent complications. This study aimed to evaluate the microorganism prevalence and the resistance bacterial profile in urine cultures of outpatients with neurogenic bladder seeking in the Pediatric Hospital of UFRN from November 2009 to November 2010. It's an observational study, and epidemiologic and microbiologic data were collected and quantitatively discussed. The mean age of the patients was 6,5 years, 53% were female and 47% were male. Myelomeningocele was the most common cause of neurogenic bladder (83%). The prevalence of bacteriuria was 72%, in most cases asymptomatic. The most isolated microorganism was E. coli (62%). It was observed a great resistance to ampicillin; amoxicillin/clavulanic acid and tetracycline. The profile obtained presented greater sensibility than expected, probably due the conduct of not treating asymptomatic bacteriuria established by the medical staff of the Pediatric Hospital of UFRN, reserving treatment to the symptomatic cases.*

### Keywords

*Neurogenic bladder; Urinary tract infection; Bacterial resistance*

## REFERÊNCIAS

1. Arango Rave ME, Lince Varela LF, Salazar Sanín C, Hoyos Figueroa FC, Hurtado SN, Rendón Isaza JC. Outcomes the Mitrofanoff technique in the management of patients with neurogenic bladder: the experience in the San Vicente de Paul University Hospital] *Actas Urol Esp.* 2009 Jan;33(1):69-75. [Article in Spanish]
2. Olandoski KP. Avaliação inicial e evolutiva de crianças com bexiga neurogênica congênita atendidas em ambulatório especializado de um hospital de ensino. 2009. 106 p. Dissertação de mestrado - Universidade de São Paulo, São Paulo.
3. Netto Jr. NR, Wroclawski ER. *Urologia: Fundamentos para o clínico.* São Paulo: Sarvier, 2000. 333 p.
4. Toporovski J. *Nefrologia pediátrica.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 777 p.
5. Sociedade Brasileira De Urologia. Projeto Diretrizes: Bexiga Neurogênica na Infância. 2006. 08 p. Disponível em <www.projetodiretrizes.org.br/6\_volume/05-BexigaNeuroInfan.pdf>. Acesso em 20/10/2009.
6. Salomon J, Gory A, Bernard L, Ruffion A, Denys P, Chartier-Kastler E. Urinary tract infection and neurogenic bladder. *Prog Urol.* 2007;17(3):448-53. [Article in French].
7. Salomon J, Denys P, Merle C, Chartier-Kastler E, Perronne C, Gaillard JL, Bernard L. Prevention of urinary tract infection in spinal cord-injured patients: safety and efficacy of a weekly oral cyclic antibiotic (WOCA) programme with a 2 year follow-up--an observational prospective study. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(4):784-8.
8. Murphy DP, Lampert V. Current implications of drug resistance in spinal cord injury. *Am J Phys Med Rehabil.* 2003;82(1):72-5.
9. Waites KB, Canupp KC, Roper JF, Camp SM, Chen Y. Evaluation of 3 methods of bladder irrigation to treat bacteriuria in persons with neurogenic bladder. *J Spinal Cord Med.* 2006;29(3):217-26.
10. Penders J, Huylenbroeck AA, Everaert K, Van Laere M, Verschraegen GL. Urinary infections in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2003;41(10):549-52.
11. Campos T, Mendes P, Maio J. Infecção urinária da criança. *Acta urológica.* 2006;23(4):19-23.
12. Calandra T, Cohen J; International Sepsis Forum Definition of Infection in the ICU Consensus Conference. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2005;33(7):1538-48.
13. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC Jr., Winn WC. *Diagnóstico microbiológico.* 5ª ed. São Paulo: Médica e Científica, 2008. 1565 p.
14. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica.* 2ª ed. São Paulo: Sarvier, 2004. 340 p.
15. Santos Filho L. *Manual de Microbiologia Clínica.* 4ª ed. João Pessoa: Editora universitária/UFPB, 2006. 320 p.
16. Rossi F, Andreazzi DB. *Resistência bacteriana: Interpretando o antibiograma.* São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 118 p.
17. Dilks SA, Schlager T, Kopco JA, Lohr JA, Gressard RP, Hendley JO, Hayden GF. Frequency and correlates of bacteriuria among children with neurogenic bladder. *South Med J.* 1993;86(12):1372-5.
18. Sociedade Brasileira De Infectologia; Sociedade Brasileira De Urologia. Projeto Diretrizes - Infecções do Trato Urinário: Diagnóstico. 2004. 08 p. Disponível em < www.projetodiretrizes.org.br/projeto\_diretrizes/067.pdf>. Acesso em 20/10/2009.
19. Esclarín De Ruz A, García Leoni E, Herruzo Cabrera R. Epidemiology and risk factors for urinary tract infection in patients with spinal cord injury. *J Urol.* 2000;164(4):1285-9.
20. Schlager TA, Dilks S, Trudell J, Whittam TS, Hendley JO. Bacteriuria in children with neurogenic bladder treated with intermittent catheterization: natural history. *J Pediatr.* 1995;126(3):490-6.
21. Cardenas DD, Hooton TM. Urinary tract infection in persons with spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 1995;76(3):272-80.
22. Bakke A, Digranes A, Høisaeter PA. Physical predictors of infection in patients treated with clean intermittent catheterization: a prospective 7-year study. *Br J Urol.* 1997;79(1):85-90.
23. Silva P. *Farmacologia.* 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1352 p.

Correspondência

**Mariana Araújo Paulo de Medeiros**

Rua Paulo Lyra, 2183 – Candelária

59064-550 – Natal, RN

Telefone: (84) 9974-4029; (84) 9441-3530; (84) 3234-7374

## Avaliação do leucograma de mulheres pós-menopausa residentes no município de Catuípe-RS, Brasil

### *Evaluation of leukogram of postmenopausal women living in the city of Catuípe-RS, Brazil*

Sabrina Possobon Daronco<sup>1</sup>

Joice Nedel Ott<sup>2</sup>

Marilei Uecker Pletsch<sup>3</sup>

#### **Resumo**

Os hormônios esteroides, tanto andrógenos quanto estrógenos, afetam o desenvolvimento e o comportamento sexual e uma variedade de outras funções reprodutoras. A fim de avaliar a interferência hormonal no organismo feminino desenvolveu-se este estudo em mulheres pós-menopausa, com no mínimo um ano de amenorreia, residentes na área urbana do município de Catuípe/RS. A análise do leucograma permitiu verificar alterações hematológicas, determinando possíveis interferências no sistema imune de mulheres. Além disso, fez-se referência ao uso, ou não, de Terapia de Reposição Hormonal (TRH) pelas pacientes, a fim de demonstrar a influência hormonal neste período de vida feminino. De acordo com o estudo realizado nestas mulheres pós-menopausa, níveis baixos de estrogênio mostraram atenuar a resposta imune e predispor o organismo à invasão microbiana e infecções. Assim, apesar da necessidade de pesquisas mais aprofundadas comprovando os resultados obtidos, acredita-se que a TRH melhora ou resgata a resposta imune celular afetada após a menopausa, uma vez que os esteroides sexuais têm um papel importante na regulação do sistema imune.

#### **Palavras-chave**

Menopausa; Leucograma; Imunidade; Terapia de Reposição Hormonal (TRH).

## INTRODUÇÃO

Considera-se a menopausa um fenômeno natural que ocorre em mulheres, geralmente, entre os 45 e 55 anos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), este fenômeno é definido por doze meses consecutivos de amenorreia, sem outra causa patológica ou psicológica evidente.<sup>(1)</sup>

As respostas imunológicas celular e humoral podem sofrer modificações de acordo com as alterações hormonais. Essas mudanças podem levar à supressão de alguns tipos celulares que interferem na imunidade. O declínio dos esteroides sexuais tem implicações nos tecidos responsáveis pela resposta imune. Níveis baixos de estrogênio, observados em mulheres após a menopausa, têm mostrado atenuar essas respostas, predispondo o organismo à invasão microbiana.<sup>(2)</sup>

A imunidade inata, responsável pela resposta imune inicial, envolve barreiras físicas, enzimas, complementos e citocinas em seu componente humoral e neutrófilos, basófilos, eosinófilos, macrófagos e células natural killer (NK) em seu componente celular. A resposta imune adaptativa humoral opera por anticorpos produzidos pelos linfócitos B e a imunidade adaptativa celular é mediada pelos linfócitos T.<sup>(2)</sup>

As modificações da resposta imune humoral com a idade incluem: resposta deficiente no reconhecimento de antígenos não-próprios, aumento na produção de auto-anticorpos e complexos imunocirculantes, diminuição na produção de interleucina 4 (IL-4), aumento na secreção de interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e diminuição na síntese de imunoglobulinas. A resposta imunocelular também declina com a idade e resulta em reação retardada aos antígenos de memória e declínio na função dos linfócitos B.<sup>(2)</sup>

O estrogênio estimula a produção de imunoglobulinas, possivelmente, pela inibição dos linfócitos T supressores. Há fortes evidências de que o estrogênio causa mudanças tanto no número total de linfócitos como nos seus diferentes subtipos. Segundo Medeiros et al.,<sup>(2)</sup> estudos clínicos têm mostrado que o estrogênio deprime a imunidade celular, suprime a atividade das células NK, diminui a produção de TNF- $\alpha$ , aumenta a produção de anticorpos e ativa os macrófagos com maior produção de IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, INF- $\alpha$  e TNF- $\alpha$ . Além disso, os estrogênios facilitam a inibição da proliferação das células mononucleares do sangue periférico (PBMC) em resposta a antígenos não-próprios. O estradiol também aumenta os antígenos nas células epiteliais uterinas e as concentrações de IgA e IgG nas secreções deste órgão. A progesterona, por sua vez, tem

<sup>1</sup>Farmacêutica, Especialista em Saúde Pública, Aluna do Curso de Farmácia Habilitação Farmacêutico Bioquímico em Análises Clínicas.

<sup>2</sup>Farmacêutica Bioquímica Responsável Técnica pelo UNILAB - Laboratório de Análises Clínicas da Unijuí.

<sup>3</sup>Professora do DCSa da Unijuí, Orientadora do Projeto de Pesquisa.

efeito imunossupressor sobre o sistema celular e pode aumentar a atividade dos linfócitos T supressores. Vários estudos demonstram que, durante a gravidez, ocorre supressão do sistema imunocelular para prevenir a rejeição materna-fetal, pelo aumento nos níveis de estrogênio e/ou progesterona.

Os androgênios são principalmente supressores das imunidades celular e humoral, tendo a capacidade de modificar tanto as ações dos linfócitos T como dos linfócitos B. Contudo, a testosterona não age nas células imunossupressoras. Androgênios e estrogênios podem ainda suprimir a linfopoiese B em consequência da presença de receptor específico antagonista-androgênico na medula óssea. Via conversão metabólica a estrogênios, os androgênios podem também estimular a resposta imunohumoral.<sup>(2)</sup>

Com isso, entende-se que os estrogênios têm efeitos tanto estimuladores (em doses baixas) como supressores (em altas doses) sobre a função imunológica, enquanto que os androgênios e progesterona parecem suprimir as respostas imunes. Medeiros et al.<sup>(2)</sup> descrevem que foram encontrados, em certas subpopulações de linfócitos, receptores de estrogênio. Nestas células, podem alterar a função, reduzir a produção de fatores imunorreguladores, limitar a expressão de antígenos e diminuir a capacidade dos linfócitos de reagir com outras células. Por isso, modificações no sistema imune em mulheres após a menopausa têm sido parcialmente atribuídas ao hipoestrogenismo.

Para minimizar as consequências da menopausa, a terapia hormonal tem sido utilizada, permitindo a diminuição dos principais sintomas, entre eles aqueles imunológicos.<sup>(3)</sup>

A fim de estudar a menopausa e suas principais transformações no organismo feminino, esta pesquisa teve como objetivo fazer uma avaliação do leucograma de mulheres pós-menopausa. Além disso, a interferência da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) sobre o estado imunológico feminino neste período foi verificada.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa se caracterizou por um estudo do tipo transversal, prospectivo, analítico-descritivo. A população da pesquisa foram mulheres com idade entre 50 e 67 anos, pós-menopausa, residentes no território de abrangência da Unidade de Saúde da Família do Município de Catuípe/RS em sua área urbana. Foi considerado período pós-menopausa, aquele com no mínimo de um ano de amenorreia, identificado pelo relato da paciente à pesquisadora.

O município de Catuípe/RS, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE),<sup>(4)</sup> em 2007, contava com um número de 9.499 habitantes; destes, 5.088 do gênero feminino e 4.411 do gênero masculino. No município, para o mesmo ano, o número de mulheres na faixa etária aproximada à do estudo foi de 962 (Número na faixa etária de 50 a 69 anos, disponível no portal do IBGE (2009).

Inicialmente, realizou-se um levantamento junto às agentes comunitárias de saúde, para se verificar o número efetivo de mulheres na faixa etária determinada nesta avaliação. O tamanho da amostra foi definido através de sorteio, levando em consideração uma margem de 30% do total de mulheres entre 50 e 67 anos de idade, com pelo menos um ano de amenorreia. Contudo, apenas 61 mulheres participaram da coleta de dados. Tendo o aceite das participantes devidamente documentado, através da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), e, estando dentro dos critérios de inclusão para a constituição da amostra, foi dado início à coleta de dados. Cabe ressaltar que o presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí sob o número do parecer consubstanciado número 255/2009, viabilizando a pesquisa descrita.

Amostras de sangue venoso de mulheres na pós-menopausa foram coletadas e o perfil hematológico foi realizado por meio do hemograma automatizado (ABX Micros 60) e pela leitura manual das lâminas de distensão sanguínea coradas pelo método panótico rápido, no UNILAB, Laboratório de Análises Clínicas da Unijuí.

Os dados analisados foram os do leucograma, compreendendo as contagens global e diferencial dos leucócitos bem como sua avaliação morfológica no esfregaço sanguíneo. Os valores para os diferentes tipos leucocitários variaram não só com a idade e o sexo do paciente, mas também com as condições físicas no momento da coleta, como repouso, exercício físico, estresse, período do dia (pré ou pós-prandial), gestação, menstruação ou climatério e com as condições do ambiente como frio, calor e altitude.<sup>(5)</sup>

## RESULTADOS

Em relação à idade, do total de 61 mulheres analisadas, a maioria das pacientes (93,4%) tinha entre 50 a 65 anos. A análise da renda familiar demonstrou que 65,6% das mulheres do estudo (40/61) ganhavam de um a dois salários mínimos e 12 mulheres possuíam renda abaixo de um salário mínimo. Realidade esta que condizia com o grau de escolaridade das mulheres, pois apenas duas delas possuíam o ensino superior completo, enquanto que a maioria, 72,1%, possuía o ensino fundamental incompleto e outras 4 mulheres eram analfabetas.

O tempo de amenorreia foi analisado e verificou-se que a maioria das mulheres, 42,6% (26/61), tinha de seis a dez anos de pausa e, no maior período, de 26 a 30 anos, apenas uma paciente foi registrada, representando um percentual de 1,6%, conforme a Tabela 1.

Em relação ao uso de hormônios de reposição, verificou-se que do total de pacientes, 41 mulheres não faziam ou nunca fizeram reposição hormonal. Dentre as 20 mulheres que utilizavam hormônios, 13,1% (8/20) usavam a terapia a menos de um ano e 9,8% (6/20) faziam uso de um a dois

Tabela 1 - Número e percentual de mulheres conforme o tempo de amenorreia

Tempo amenorreia	Número de mulheres	Porcentagem
Até cinco anos	8	13,1
De seis a dez anos	26	42,6
De 11 a 15 anos	16	26,2
De 16 a 20 anos	7	11,5
De 21 a 25 anos	3	4,9
De 26 a 30	1	1,6
Total	61	100,0

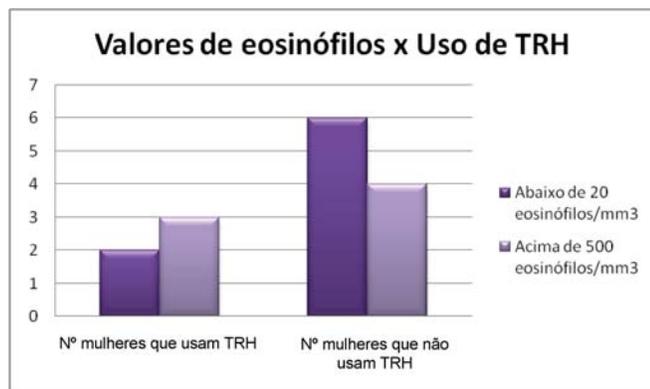
anos. Apenas uma mulher (1,6%) fazia uso de três a quatro anos. Quatro mulheres (6,6%) faziam uso de TRH de quatro a cinco anos e uma fazia uso de dez a vinte anos.

Os resultados demonstraram que a maioria das mulheres, 95,1% (58/61), tinha um total de leucócitos dentro dos valores de normalidade (3.600 a 11.000/mm<sup>3</sup>), para o sexo e para a idade. Apenas 3 mulheres encontravam-se abaixo dos valores preconizados na literatura, sendo que apenas uma destas mulheres fazia uso de hormônio de reposição.

Quanto aos eosinófilos, 75,4% (46/61) das mulheres encontravam-se dentro dos valores de normalidade para o sexo e a idade. Abaixo de 1%, ou seja, com menos de 20 eosinófilos/mm<sup>3</sup> de sangue, encontravam-se oito mulheres (13,1%). Acima de 5%, com mais de 500 eosinófilos/mm<sup>3</sup> de sangue, verificaram-se apenas sete mulheres (11,5%). A comparação dos resultados com a terapia de reposição hormonal (TRH) encontra-se na Figura 1.

Para os linfócitos, 98,4% (60/61) das mulheres encontravam-se dentro dos valores da normalidade (1.000 a 4.500/mm<sup>3</sup>), sendo que apenas uma mulher (1,6%) apresentava 4.900/mm<sup>3</sup>, ultrapassando o limite superior. Ressalta-se que esta participante não fazia uso de TRH.

Em relação aos basófilos, verificou-se que todas as mulheres analisadas encontravam-se dentro dos valores de normalidade (0 a 200/mm<sup>3</sup>), ou seja, de 0% a 2%. O mesmo em relação aos monócitos, mielócitos, metamielócitos e bastonetes, onde todas as mulheres analisadas estavam dentro dos valores de referência, conforme sexo e idade.

Figura 1. Valores de eosinófilos/mm<sup>3</sup> x Uso de TRH.

Quanto aos neutrófilos, 98,4% das mulheres investigadas (60/61), encontravam-se dentro dos valores de normalidade, que é de 1.700 a 8.200/mm<sup>3</sup> (40-78%), para esse tipo celular (Tabela 2). Enfatiza-se que a participante que apresentou resultados inferiores (1.482 neutrófilos/mm<sup>3</sup>) fazia uso de TRH.

Tabela 2 - Análise dos neutrófilos para as mulheres na pós-menopausa

Resultados	Mulheres pós-menopausa	Percentual de mulheres pós-menopausa
Abaixo de 40%	1	1,6
De 40 a 78%	60	98,4
Total	61	100,0

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O perfil hematológico de mulheres pós-menopausa foi avaliado através da análise do leucograma. Para isso, realizou-se a contagem global e diferencial dos leucócitos, buscando informações sobre o estado imunológico nessa etapa do ciclo biológico da mulher. Além disso, foi possível comparar os resultados obtidos com o uso ou não de hormônio de reposição, a fim de verificar qual a influência do estrôgeno na imunidade de mulheres no período pós-menopausa.

Segundo Zago et al.,<sup>(6)</sup> as leucopenias resultam de menor produção, maior consumo, sequestro ou menor sobrevivência intravascular dos leucócitos. Isso pode significar que há uma deficiência na imunidade dessas mulheres.<sup>(7)</sup> No entanto, os resultados obtidos não foram discrepantes em relação aos valores de normalidade, sendo o resultado mais baixo, 3.200 leucócitos/mm<sup>3</sup>. Dessa forma, acredita-se que este resultado isolado não determine deficiência imunitária na amostra estudada.

Embora os leucócitos desempenhem papel de defesa no organismo, cada subtipo leucocitário detém funções bastante específicas e distintas entre si, que, em conjunto, estruturam o sistema imune. Cabe ressaltar que os leucócitos são agrupados em duas diferentes categorias: os leucócitos mononucleares, que incluem os linfócitos, plasmócitos e monócitos; e os leucócitos polimorfonucleares, ou granulócitos, como os neutrófilos, eosinófilos e basófilos.<sup>(6)</sup>

Os eosinófilos são células que apresentam uma atividade pró-inflamatória e citotóxica considerável, participando de doenças alérgicas, parasitárias e neoplásicas.<sup>(6,8)</sup> Apesar da maioria das mulheres analisadas estarem dentro da normalidade, determinaram-se oito possíveis casos de eosinopenia, definida pela diminuição da contagem de eosinófilos abaixo de 20/mm<sup>3</sup> de sangue (menor que 1%). Dentre estas, duas pacientes faziam uso de TRH e seis não. Segundo Zago et al.,<sup>(6)</sup> a eosinopenia é comum nos hemogramas, representando reações de alarme ao estresse e também possível administração de glicocorticoides.

Já com uma contagem superior a 500 eosinófilos/mm<sup>3</sup> de sangue, ou seja, maior que 5%, foram definidos sete possíveis casos de eosinofilia, onde três mulheres usavam a TRH e quatro não. Cabe ressaltar que os casos de eosinofilia encontrados foram classificados como leves, pois de acordo com Zago et al.,<sup>(6)</sup> quando o número de eosinófilos está entre 550 até 1500/mL, considera-se leve o aumento.

Observou-se que, tanto nos casos de eosinopenia quanto de eosinofilia, a maioria das mulheres não fazia uso de TRH. Logo, confirmam-se os estudos de Medeiros et al.,<sup>(2)</sup> onde os níveis baixos de estrogênio observados em mulheres após a menopausa mostraram atenuar a resposta imune e predispor o organismo à invasão à infecção.

Em relação aos linfócitos, a maioria das mulheres analisadas estava dentro da normalidade, sendo que apenas uma paciente, que também não fazia uso de TRH, indicou uma possível linfocitose, isto é, um aumento da contagem de linfócitos, mais precisamente 4.900 linfócitos/mm<sup>3</sup>, uma vez que o valor de referência para o sexo e a idade é 4.500 linfócitos/mm<sup>3</sup> de sangue.<sup>(5)</sup> Mais uma vez, referenciam-se Medeiros et al.<sup>(2)</sup> cujos estudos clínicos revelaram fortes evidências de que o estrogênio causa mudanças tanto no número total de linfócitos quanto nos seus diferentes subtipos, podendo ser um indicio de uma possível infecção viral.

No caso dos neutrófilos, a maioria das mulheres encontrava-se com seus valores dentro da normalidade. Apenas uma das mulheres analisadas, que fazia uso de TRH, estava com seus valores abaixo da normalidade (1.482 neutrófilos/mm<sup>3</sup> de sangue), indicando uma neutropenia leve,<sup>(6)</sup> já que estava entre 1.000 a 1.500, tendo em vista que os valores de normalidade situam-se entre 1.700 a 8.200 neutrófilos/mm<sup>3</sup>.<sup>(5)</sup> Os neutrófilos são altamente especializados no exercício da fagocitose e destruição intracelular de bactérias.<sup>(7)</sup>

A presença dos basófilos é um importante marcador para reações de choque anafilático, sendo responsáveis pela resposta alérgica e liberação de histamina, o principal mediador antiinflamatório produzido pelos basófilos.<sup>(6)</sup> Em relação ao estudo, todas as mulheres analisadas exibiam valores dentro da normalidade.

Quanto à avaliação mais específica da TRH, Medeiros et al.<sup>(2)</sup> descreveram inúmeros estudos que avaliaram os efeitos da Terapia Hormonal (TH)/Terapia com Estrogênio (TE) sobre a resposta imunocelular em mulheres na pós-menopausa. No conjunto, estes estudos indicaram que a TRH melhora ou resgata a resposta imune celular afetada após a menopausa, mas modificações na imunidade humoral foram também observadas. Já os efeitos da TRH sobre os marcadores de inflamação em mulheres pós-menopausa permanecem ainda sob avaliação, principalmente, no sistema cardiovascular, uma vez que o estrogênio parece tanto estimular como inibir os processos inflamatórios.

### Abstract

*The steroidal hormones (androgenic and estrogenic hormones) affect the development and the sexual behavior and a variety of other reproductive functions. In order to evaluate the hormonal interference in the feminine organism we performed this study in postmenopausal women, with at least a year of amenorrhoea, living in the urban area of Catuípe city, RS. The Leukogram analysis allowed to verify hematological alterations, determining possible interferences in the immune system of postmenopausal women. Besides, it was made reference to the use or not of Therapy of Hormonal Replacement (THR) for the patients in order to demonstrate the hormonal influence in this feminine life period. According to the this study low levels of estrogen showed attenuate the immune response and predispose the organism to the microbial invasion and infections. Despite the need for deeper researches, it is believed that THR improves the cellular immune response after menopause, once the sexual steroids play an important role in regulating the immune system.*

### Keywords

*Menopause; Leukogram; Immunity; Therapy of Hormonal Replacement (THR)*

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministerio da Saúde. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id\\_area=124](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=124)>. Acesso em: 23 jun 2009.
2. Medeiros SF, Maitelli A, Nince AP. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. In: Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v.29, n.11, p.593-601, 2007; Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010072032007001100008&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010072032007001100008&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 17 jun 2009.
3. Valadares AL, Pinto-Neto AM, Conde DM, Osis MJ, Sousa MH, Costa-Paiva L. Depoimentos de mulheres sobre a menopausa e o tratamento de seus sintomas. In: Revista da Associação Médica Brasileira. 2008;54(4):299-304. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302008000400013&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302008000400013&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 17 jun 2009.
4. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 29 nov. 2009.
5. Oliveira RA. Hemograma: como fazer e interpretar. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007. 505p.
6. Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: Fundamentos e Prática. São Paulo: Editora Atheneu, 2001
7. Verrastro T, Lorenzi TF, Neto SW. Hematologia e Hemoterapia - Fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.
8. Rapaport SI. Hematologia: Introdução. São Paulo: Roca, 1990.

Correspondência

**Joice Nedell Ott**

Rua Doze de Outubro, 7109 – Centro

98700-000 – Ijuí, RS

[joice\\_nott@yahoo.com.br](mailto:joice_nott@yahoo.com.br)

# Atividade antifúngica de imidas cíclicas contra *Cryptococcus neoformans*

## Antifungal activity of cyclic imides against *Cryptococcus neoformans*

Igara Oliveira Lima<sup>1</sup>

Ingrid Rodrigues Mariath<sup>2</sup>

Wylly Araújo de Oliveira<sup>1</sup>

Guilherme Eduardo Nunes Dias<sup>1</sup>

Edeltrudes de Oliveira Lima<sup>3</sup>

Valdir Cechinel Filho<sup>4</sup>

Rinalda Araújo G. de Oliveira<sup>3</sup>

### Resumo

A criptococose é uma infecção fúngica causada pela levedura *Cryptococcus neoformans* que acomete tanto hospedeiros normais quanto imunocomprometidos. Nos últimos anos, o número de cepas resistentes a vários antifúngicos de uso clínico tem apresentado um vertiginoso crescimento. Neste contexto, é de fundamental importância a pesquisa de novas alternativas terapêuticas, através do estudo com produtos naturais, substâncias isoladas e sintéticas, como as imidas cíclicas. O presente trabalho teve como objetivo investigar a atividade antifúngica das imidas cíclicas frente a cepas de *Cryptococcus neoformans*. A triagem antifúngica foi realizada utilizando a técnica de difusão em meio sólido. Para a determinação da concentração inibitória mínima, foi empregada a técnica da microdiluição. Foram testadas naftalimidias, succimidias e maleimidias. Dentre estas substâncias, as maleimidias (3,4-dicloro-N-fenil-maleimida, 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida) apresentaram a melhor atividade antifúngica. As naftalimidias e succimidias não apresentaram atividade antifúngica, com exceção da N-fenil-2a, 6a-diclorobiciclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida que inibiu o crescimento de uma cepa. As CIMs das maleimidias variaram entre 3,125 e valores acima de 200 µg/mL. De acordo com os resultados, as maleimidias surgem como candidatas a antifúngicos por atuarem contra uma espécie de microrganismo que comumente causa infecções.

### Palavras-chave

*Cryptococcus neoformans*; Imidas cíclicas; Atividade antifúngica

## INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, as doenças fúngicas superficiais têm sido os processos mais investigadas na clínica médica, entretanto, nas três últimas décadas, as infecções invasivas têm ganhado uma maior importância em decorrência do aumento do número de indivíduos imunocomprometidos na população mundial.<sup>(1)</sup> No Brasil, as taxas globais de infecção fúngica invasiva têm também tido um grande incremento.<sup>(2,3)</sup>

No contexto dessas infecções invasivas, seguem também em expansão as infecções pelo *Cryptococcus neoformans*.<sup>(4)</sup> O *C. neoformans* é uma levedura capsulada, considerada oportunista, que pode infectar hospedeiros normais e indivíduos imunocomprometidos com neoplasias, diabetes, hemopatias graves e ainda aqueles que se encontram transplantados.<sup>(5-7)</sup> Com o surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida, a criptococose tornou-se a micose sistêmica mais frequente e grave neste grupo de pacientes.<sup>(8-10)</sup> A infecção clínica produzida por esta levedura, denominada criptococose, é uma micose que geralmente afeta o pulmão e se dissemina, envolvendo o cérebro, meninges, pele, rins e outros órgãos.<sup>(8,11)</sup>

O tratamento das infecções micóticas, produzidas por fungos oportunistas ou emergentes, é baseado na correção ou supressão dos fatores predisponentes e na terapêutica medicamentosa. Vários fármacos com propriedades antifúngicas têm sido obtidos por biossíntese ou síntese orgânica, os quais são usados no tratamento de infecções causadas por *C. neoformans*, conforme o quadro clínico do paciente. Dentre os principais fármacos utilizados na terapêutica estão a anfotericina B com ou sem flucitosina. Também são utilizados os derivados azólicos, como o itraconazol e o fluconazol. A anfotericina B na forma lipossomal permite alcançar doses mais elevadas em curto espaço de tempo, independente de lesão renal.<sup>(12)</sup>

Foram descritas cepas de *C. neoformans* resistentes à anfotericina B, fluconazol e itraconazol. O uso de fluconazol durante longos períodos de tempo como terapia de manutenção em pacientes com AIDS tem gerado preocupação, devido à diminuição da susceptibilidade do microrganismo. Também foi observado o aumento das concentrações inibitórias mínimas de isolados de *C. neoformans* oriundos de fluido cerebrospinal e sangue.<sup>(13)</sup> Foi observado que

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica.

<sup>2</sup>Analista em Assistência Farmacêutica do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco.

<sup>3</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Micologia.

<sup>4</sup>Universidade do Vale do Itajaí, Núcleo de Investigação Químico-Farmacêuticas.

*C. neoformans* pode apresentar resistência a fluconazol em paciente imunocompetente e sem exposição prévia ao fluconazol.<sup>(14)</sup> Este aumento no perfil de resistência impulsiona a pesquisa de novas drogas.

Neste contexto, faz-se necessária a busca de alternativas terapêuticas por meio de pesquisas de novos compostos que possuam ação antifúngica. As imidas cíclicas são substâncias que contêm o grupo  $-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-\text{CO}-$ , sendo R um átomo de hidrogênio, grupo alquila ou grupo arila. Tais compostos podem ser divididos em subclasses, incluindo as maleimidias, succinimidias, glutarimidias, ftalimidias, naftalimidias, dentre outros e seus respectivos derivados. As imidas cíclicas, substâncias análogas à filantimida possuem diversos efeitos biológicos, a exemplo da ação antimicrobiana, antiespasmódica e analgésica.<sup>(15)</sup>

Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos das imidas cíclicas frente às cepas de *C. neoformans*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Substâncias selecionadas: imidas cíclicas

Foram selecionadas dez imidas cíclicas sintéticas para serem testadas, sendo elas: 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida; 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida; 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida; 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida; 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida; Bis-N-benzil-naftalimida; N-fenil-naftalimida; N-fenil-morborneno-succimida; N-fenil-2a,6a-diclorobiciclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida; N-benzil-2a,6a-diclorobiciclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida (Tabela 1).

### Ensaio microbiológicos

#### Espécies fúngicas

Foram selecionadas cepas de *C. neoformans* a partir da coleção do Laboratório de Micologia da Universidade

Tabela 1 - Nomenclatura e estrutura química das imidas cíclicas testadas

Subclasse	Nomenclatura	Molécula
Maleimidias	3,4-dicloro-N-fenil-maleimida	
	3,4-dicloro-N-benzil-maleimida	
	3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida	
	3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida	
	3,4-dicloro-N-fenil-maleimida	
Naftalimidias	Bis-N-benzil-naftalimida	
	N-fenil-naftalimida	
Succinimidias	N-fenil-morborneno-succimida	
	N-fenil-2a,6a-diclorobiciclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida	
	N-benzil-2a,6a-diclorobiciclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c]succinimida	

Federal da Paraíba e cepas isoladas de amostras clínicas de pacientes portadores de infecções fúngicas.

#### Meios de cultura

O meio utilizado nos ensaios para determinação da atividade antifúngica foi agar de Sabouraud dextrosado (ASD) e caldo de Sabouraud (Difco Laboratories Ltda. - Detroit/USA), preparados conforme as instruções do fabricante.

#### Inóculo

As culturas foram semeadas em ASD e incubadas durante 24-72 horas, à temperatura de 37°C. O inóculo foi preparado em solução de cloreto de sódio a 0,85%. O inóculo foi padronizado seguindo a escala 0,5 de McFarland, com aproximadamente  $1 \times 10^6$  a  $5 \times 10^6$  UFC/mL.<sup>(16,17)</sup>

#### Triagem microbiológica - Difusão em meio sólido

Em placas estéreis, foi colocado 1mL do inóculo do microrganismo. Em seguida, foi adicionado o meio ASD (21mL), fundido a 50°C. Após a solidificação, foram feitos poços com cânulas de vidro de 6x8mm de diâmetro, onde foi depositado 50 L de cada composto sintético, na concentração 1000µg/mL. Foram feitos controles com itraconazol a 30µg/mL (controle positivo). As placas foram incubadas a 37°C, durante 24-48 horas. Cada ensaio foi realizado em duplicata e o resultado foi expresso pela média aritmética dos halos de inibição obtidos nos dois ensaios. O resultado foi considerado positivo, quando o produto produziu um halo de inibição sobre o crescimento do microrganismo igual ou superior a 10mm de diâmetro.<sup>(18,19)</sup>

#### Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

As CIMs das imidas que apresentaram atividade foram determinadas pela técnica de microdiluição, utilizando caldo de Sabouraud. Cada uma das substâncias foram testadas nas concentrações 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL. Em cada poço, adicionaram-se 10µL do inóculo a ser testado. O volume final de cada poço foi 200 µL. As placas foram incubadas a 37°C por 48-72 horas. Nos poços onde houve turvação, demonstra-se a viabilidade da levedura, em contração, se não houve turvação, considerou-se como a concentração inibitória mínima [CIM] das leveduras. A CIM foi considerada como a menor concentração que inibiu o crescimento visível das cepas fúngicas nos poços, sem turvação ou formação de aglomerado (botão), em comparação com o controle.<sup>(20)</sup>

## RESULTADOS

Na Tabela 2, estão registrados os resultados da avaliação antifúngica das imidas cíclicas na concentração 1000µg/mL sobre as cepas de *C. neoformans*. As naftalimidias (Bis-N-benzil-naftalimida e N-fenil-naftalimida) e succimidias (N-fenil-morboneno succimida; N-benzil-2a,6a-diclorobicyclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c]succinimida) não apresentaram atividade antifúngica. Apenas a N-fenil-2a,6a-diclorobicyclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida inibiu o crescimento da cepa EPM-0.

As maleimidias 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida; 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida; 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida inibiram 5 cepas;

Tabela 2 - Triagem das imidas cíclicas contra leveduras das espécies *Cryptococcus neoformans*

<i>C. neoformans</i>	Imidas*										Crescimento**	Antifúngico***
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
VAL- 1	0	0	0	0	0	0	0	20	18	16	+	22
FGF- 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	24
ICB-59	0	0	0	0	0	14	20	20	14	20	+	23
FGF-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	24
JSS-7	0	0	0	0	0	11	11	10	14	12	+	21
JM-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	22
FCF-119	0	0	0	0	0	14	14	16	20	14	+	25
FCF-102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	23
EPM-737	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	23
EPM-0	0	12	0	0	0	20	18	0	0	0	+	24
LM-283	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	24
LM-570	0	0	0	0	0	16	15	0	14	14	+	26

(\*) Imidas cíclicas: 1, N-fenil-morboneno-succimida; 2, N-fenil-2a,6a-diclorobicyclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c] succinimida; 3, N-benzil-2a,6a-diclorobicyclo (2,2,1)-hepta-4-eno [5,6-c]succinimida; 4, Bis-N-benzil-naftalimida; 5, N-fenil-naftalimida; 6, 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida; 7, 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida; 8, 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida; 9, 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida; 10, 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida.

(\*\*): +, Crescimento do microrganismo em meio de cultura isento de antifúngico. (\*\*\*) : Tamanho do halo de inibição em mm.

e a maleimida 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida inibiram o crescimento de 4 cepas. As cepas de *C. neoformans* ICB-59, FCF-119 e JSS-7 foram as mais sensíveis às maleimidas. O itraconazol a 30µg/mL foi o antifúngico utilizado.

Baseado na triagem microbiológica das imidas cíclicas apresentadas na Tabela 2, sobre as cepas testadas, foi realizada a determinação da CIM do grupo das maleimidas.

Os resultados da determinação da CIM frente às cepas de *C. neoformans* estão registrados na Tabela 3. Nesta, observa-se que a 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida foi o composto que apresentou efeito considerável frente às cepas ICB-59, FCF-119, LM-570 e JSS-7, cujas CIMs foram 3,1 µg/mL para a cepa ICB-59 e 6,2 µg/mL para as demais cepas. O composto 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida apresentou CIM de 12,5 µg/mL frente às cepas ICB-59 e FCF-119, de forma que essa maleimida se mostrou mais ativa quando comparada com a 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida e 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida (Tabela 3). A 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida apresentou uma CIM de 6,2 µg/mL frente à cepa FCF-119, sendo esta a mais sensível à ação das maleimidas testadas no presente trabalho. Como na triagem microbiológica algumas cepas foram resistentes às maleimidas, elas não foram testadas na determinação da CIM.

Tabela 3 - Resultados da avaliação da CIM (µg/mL) das imidas cíclicas sobre cepas de *Cryptococcus neoformans*.

Imidas	ICB-59	FCF-119	LM-570	EPM-0	JSS-7
3,4-dicloro-N-fenil-maleimida	100	> 200	> 200	> 200	-
3,4-dicloro-N-benzil-maleimida	50	12,5	> 200	> 200	-
3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida	12,5	12,5	-	-	-
3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida	> 200	6,2	> 200	-	> 200
3,4-dicloro-N-fenil-maleimida	3,1	6,2	6,2	-	6,2
Controle de crescimento	+	+	+	+	+

(+): Crescimento do microrganismo no meio de cultura isento de antifúngico.

(-): Cepa não testada com a maleimida por ter sido resistente no teste de triagem microbiológica.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

*C. neoformans* é uma espécie fúngica amplamente distribuída, sendo o agente etiológico responsável pela criptococose, uma micose pulmonar e disseminada que afeta preferencialmente pacientes imunossuprimidos.<sup>(4)</sup> Assim, a criptococose é uma infecção fúngica grave e que necessita de pronta intervenção. Entretanto, o protocolo terapêutico existente nem sempre resulta num tratamento eficaz, uma vez que se deve considerar a existência de cepas resistentes.<sup>(21)</sup> Neste sentido, pesquisas com produtos naturais, a exemplo de plantas e fitoconstituintes isolados ou de produtos sintéticos, têm surgido para o desenvolvimento de

fármacos na perspectiva de buscar fármacos mais eficazes e com menos efeitos colaterais.<sup>(22)</sup> Assim, o presente trabalho teve como finalidade estudar o efeito das imidas cíclicas frente ao crescimento de cepas de *C. neoformans*

Análogos de amidas demonstraram ter excelente atividade *in vitro* contra espécies de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *C. neoformans*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*. Tais substâncias apresentaram baixa concentração inibitória mínima.<sup>(23,24)</sup>

Verificou-se a atividade antifúngica das imidas 3,4-dicloro-N-fenil-metil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida contra cepas de *Candida* sp.<sup>(25)</sup> Ainda neste estudo, foi observado que as maleimidas apresentaram maior atividade inibitória que as succimidas e naftalimidas. Na avaliação da ação antifúngica de imidas frente às cepas da levedura *Malessezia* sp. em que 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida inibiram o crescimento das cepas e apenas a 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida não apresentou tal efeito.<sup>(26)</sup>

Pontes et al.<sup>(27)</sup> realizaram uma avaliação das imidas sobre cepas de *Trichosporon asahii* e *Trichosporon inkin* e todas as maleimidas estudadas foram capazes de inibir o crescimento dos microrganismos testados, nas concentrações entre 200 e 25 µg/mL. Gayoso et al.<sup>(28)</sup> avaliaram a ação da 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida frente a cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Geotrichum candidum* isoladas de onicomioses e observaram que as maleimidas testadas apresentaram ação antifúngica com CIMs entre 100 e 200 µg/mL.

Recentemente, foi demonstrado que as imidas 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida, 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida e 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida apresentaram ação fungistática e fungicida contra cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. colliculosa*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*.<sup>(29)</sup>

Este trabalho demonstrou que as maleimidas apresentaram ação antifúngica e o mesmo não foi observado para as naftalimidas e succimidas.

As maleimidas mostraram efeito antifúngico que parece estar relacionados à presença da dupla ligação imídica na ação biológica. Um fator que limita o uso dos antifúngicos é a crescente resistência dos fungos frente a esses agentes, dificultando a terapêutica das micoses.<sup>(13)</sup> Como exemplo, tem-se a resistência do *C. neoformans* ao fluconazol<sup>(30)</sup> e ao itraconazol.<sup>(31)</sup> O tratamento de infecções com cepas resistentes se torna um desafio aos pesquisadores, o que impulsiona a pesquisa de novas drogas.

Na procura de novos fármacos antifúngicos, as imidas cíclicas constituem um importante grupo químico e uma fonte potencial de antimicrobianos com atividade frente a infecções invasivas causadas por fungos.

**Abstract**

*Cryptococcosis is a fungal infection caused by the yeast Cryptococcus neoformans that infects normal and immunocompromised hosts. In recent years, the number of fungal strains resistant to antifungal drugs has been increasing. Therefore, it is important the search of new therapeutics alternatives, through the study with natural products, isolated and synthetic substances, such as cyclic imides. This work aimed to study the antifungal activity of cyclic imides against strains of Cryptococcus neoformans. The screening was performed using the diffusion agar method. Microbroth dilution assays were used for the determination of minimum inhibitory concentration. Naftalimides, succimides and maleimides were tested. Among these substances, the maleimides (3,4-dichloro-N-fenil-maleimide, 3,4-dichloro-N-benzil-maleimide, 3,4-dichloro-N-phenyl-propyl-maleimide, 3,4-dichloro-N-phenyl-maleimide and 3,4-dichloro-N-phenyl-butyl-maleimide) showed the best antifungal activity. Naftalimides and succimides showed no activity, with the exception of N-fenil-2a,6a-dichlorobicyclic (2,2,1)-hepta-4-ene [5,6-c] succinimide that inhibited the growing of one strain. The MICs of maleimides ranged between 3.125 and values above 200 µg/mL. According to results, maleimides appear as candidates to antifungals for their activity against the microorganism that frequently causes infections.*

**Keywords**

*Cryptococcus neoformans; Cyclic imides; Antifungal activity*

**REFERÊNCIAS**

- Brown JM. Fungal infections in bone marrow transplant patients. *Curr Opin Infect Dis.* 2004;17(4):347-52.
- Faruqi AH. Study of 1324 cases of dermatomycosis. *Indian J Dermatol.* 1984;29(3):7-16.
- Abraham AML, Gómez ALB, Andreu CF. Aislamiento de dermatofitos a partir de niños sin signos clínicos de dermatofitose. *Rev Cub Med Trop.* 1986;38(2):147-50.
- Perfect JR, Casadevall A. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin N Am.* 2002;16:837-74.
- Hibberd DL, Rubin RH. Clinical aspects of fungal infection in organ transplant recipients. *Clin. Inf. Dis.* 1994;19(1):33-40.
- Zaragoza O, Telzak A, Bryan RA, Dadachova E, Casadevall A. The polysaccharide capsule of the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans* enlarges by distal growth and is rearranged during budding. *Mol Microbiol.* 2006;59(1):67-8.
- Frases S, Pontes B, Nimrichter L, Viana NB, Rodrigues ML, Casadevall A. Capsule of *Cryptococcus neoformans* grows by enlargement of polysaccharide molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(4):1228-33.
- Eng RH, Bishburg E, Smith SM. Cryptococcal infections in patients with acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med.* 1986 Jul;81(1):19-23.
- Powderly WC. Meningitis criptocócica y sida. *Infect Microbiol Clin.* 1994;6(2):49-56.
- Negrón R, Arechavala A, Robles AM, Bianchi M, Bava A, Helou S. Revisión clínica y evolución terapéutica de pacientes con criptococosis asociada al sida. *Rev Iberoam Micol.* 1995;12:12-15.
- Liu EW, Chun CD, Chow ED, Chen C, Madhani HD, Noble SN. Systematic genetic analysis of virulence in the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Cell.* 2008;135(1):174-88.
- Jarvis JN, Dromer F, Harrison TS, Lortholary O. Managing cryptococcosis in the immunocompromised host. *Curr Opin Infect Dis.* 2008;21(6):596-603.
- Brandt ME, Pfaller MA, Hajjeh RA, Hamill RJ, Pappas PG, Reingold AL, et al. Trends in antifungal drug susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates in the United States: 1992 to 1994 and 1996 to 1998. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(11):3065-9.
- Orni-Wasserlauf R, Izkhakov E, Siegman-Igra Y, Bash E, Polacheck I, Giladi M. Fluconazole-resistant *Cryptococcus neoformans* isolated from an immunocompetent patient without prior exposure to fluconazole. *Clin Infect Dis.* 1999;29(6):1592-3
- Cechinel Filho V, Campos F, Corrêa R, Yunes RA, Nunes RJ. Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. *Quim Nova.* 2003;26(2):230-41.
- Casals JB. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. *J Clin Pathol.* 1979;32(7):719-22.
- Plempel M, Berg D, Buchel DB, Abbink D. Test methods for antifungal agents - a critical review. *Mykosen.* 1986;30(1):28-34.
- Vincent JG, Vincent HW. Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1944;25:162-4.
- Shadomy S, Espinel-Ingroff A, Gebhar RJ. In vitro studies with SF 86-327, a new orally active allylamine derivatives. *Sabouraudia.* 1985 Apr;23(2):125-32.
- CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. Table M27 A2. 2006. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicos/cls/cls\\_i\\_OPASM27A2.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/cls/cls_i_OPASM27A2.pdf).
- Silver LL, Bostian KA. Discovery and development of new antibiotics: the problem of antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37(3):377-83.
- Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, Matos MO, Moreira FO, Scio E, Coimbra ES. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111(2):396-402
- Aquino PMP, Lima O, Farias MP, Freire KRL, Souza EL, Cechinel Filho V, Correa R, Nunes RJ, Andricopulo A. Atividade antifúngica de maleimidas contra dermatófitos de *Tinea capitis*. *Rev Bras Anál Clín.* 2003;35(4):191-4.
- Uchida T, Kagoshima Y, Konosu T. Amide analogs of antifungal dioxane-triazole derivatives: synthesis and in vitro activities. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(7):2013-7.
- Dantas ZMR, Lima EO, Vasconcelos-Filho PA, Cechinel Filho V. Susceptibilidade in vitro de espécies de *Candida* à maleimidas, naftalimidas e succimidas. *Rev Bras Farm.* 2000;81(42):31-5.
- Lima EO, Belém LF, Cechinel Filho V, Corrêa R, Nunes RJ, Andricopulo A, Silva VE. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Malassezia furfur* a imidas cíclicas. *Rev Bras Cienc Farm.* 2002; 38:443-50
- Pontes ZBVS, Lima EO, Cechinel Filho V. Profile of susceptibility in vitro of *Trichosporon asahii* and *Trichosporon inkin* strains against cyclic imides. *Rev Bras Cienc Farm.* 2007;43:273-9.
- Gayoso CW, Lima EO, Souza EL, Cechinel Filho V, Trajano VN, Pereira FO, Lima IO. Antimicrobial effectiveness of maleimides on fungal strains isolated from onychomycosis. *Braz Arch Biol Technol.* 2006;49(4):661-4.
- Sortino M, Cechinel Filho V, Corrêa R, Zacchino S. N-Phenyl and N-phenylalkyl-maleimides acting against *Candida* spp.: Time-to-kill, stability, interaction with maleamic acids. *Bioorg Med Chem.* 2008;16(1):560-8.
- Armengou AC, Porcar J, Mascaro F, Garcia-Bragado S. Possible development of resistance to fluconazole during suppressive therapy for AIDS-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis.* 1996;23(6):1337-8
- Davey KG, Johnson E, Holmes MAD, Szekealy A, Warnock DW. In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates to fluconazole and itraconazole. *J Antimicrob Chemother.* 1998;42(2): 217-20.

Correspondência

**Edeltrudes de Oliveira Lima**

Laboratório de Micologia,

Departamento de Ciências Farmacêuticas/CCS/UFPB

Campus Universitário I, Bairro Castelo Branco I,

58059-900 – João Pessoa, PB, Brasil.

E-mail: edelolima@yahoo.com.br

# Avaliação da qualidade dos discos utilizados em testes de suscetibilidade a antimicrobianos pelo método de disco-difusão

## *Evaluation of the quality of the disks used in antimicrobial susceptibility test by the disk diffusion method*

Marcelo Goulart Dário<sup>1</sup>

Flávia Martinello<sup>2</sup>

Caio Roberto Salvini<sup>3</sup>

Márcio Luiz Gil<sup>4</sup>

Luiz Alberto Peregrino Ferreira<sup>2</sup>

### Resumo

O Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos por disco-difusão é importante na rotina laboratorial, porque permite determinar a sensibilidade ou a resistência bacteriana aos antimicrobianos, com praticidade e baixo custo. Essa técnica é essencial no monitoramento da resistência bacteriana e para a prescrição racional dos antimicrobianos na terapêutica. Entretanto, a qualidade dos discos e o controle ineficiente dos testes interferem na confiabilidade dos resultados. Por isso, avaliamos a qualidade dos discos comercializados no Brasil seguindo recomendações padronizadas, e propomos uma nova técnica de inoculação das placas de ágar, visando melhorar o controle de qualidade dos testes. Observamos resultados insatisfatórios para grande parte dos discos analisados, independente do fabricante. Além da necessidade de cuidados na fase pré-analítica dos testes por disco-difusão, é importante adotar procedimentos que permitam aumentar o controle de qualidade dos testes por discos-difusão. Apontamos que esse fato é possível com a utilização da técnica de inoculação analisada nesta pesquisa.

### Palavras-chave

Controle de Qualidade; Resistência bacteriana; Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão

## INTRODUÇÃO

O uso inadequado e indiscriminado de fármacos antimicrobianos na propeleutica humana<sup>(1,2)</sup> e veterinária,<sup>(3)</sup> na indústria de alimentos<sup>(4)</sup> e em produtos de higiene e limpeza<sup>(5)</sup> são apontados como fatores que contribuíram para o surgimento de patógenos multirresistentes nas últimas décadas.<sup>(6,7)</sup> O surgimento desse tipo de microrganismo causa grande preocupação na saúde, pois a descoberta e síntese de novos antimicrobianos não acompanha o incremento da resistência bacteriana.<sup>(8,9)</sup>

Esse fato culminou com o desenvolvimento de sistemas de vigilância de resistência bacteriana, que geram dados estatísticos a partir dos resultados laboratoriais obtidos por instituições conveniadas (p. ex.: hospitais sentinela),<sup>(10,11,12)</sup> permitindo que organizações de saúde desenvolvam planos de ação contra a resistência.<sup>(13)</sup> Dessa maneira, as análises realizadas em instituições sentinela devem seguir técnicas

rigidamente padronizadas, permitindo que os sistemas de vigilância compilem os resultados de diferentes instituições.<sup>(14-16)</sup> Além disso, a correta informação sobre a sensibilidade ou resistência bacteriana favorecem a prescrição criteriosa de antimicrobianos na terapêutica.<sup>(17)</sup>

O Teste de Suscetibilidade a Antimicrobianos (TSA) é amplamente utilizado pelos laboratórios de microbiologia clínica para a vigilância de resistência. Embora existam outras técnicas recomendadas e padronizadas, muitos laboratórios utilizam rotineiramente o método de disco-difusão ou método de "Kirby-Bauer", pois permite analisar o perfil das bactérias frente a um grande número de antimicrobianos, com baixo custo e fácil execução, quando comparada com os outros métodos existentes.<sup>(18)</sup> Essa técnica é realizada na rotina de laboratórios de microbiologia clínica, muitas vezes seguindo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que determina uma série de parâmetros para garantir a qualidade do teste.<sup>(16)</sup>

Trabalho realizado no Laboratório Avançado de Qualidade em Saúde - LAQUAS

<sup>1</sup>Aluno do Curso de Graduação em Farmácia - Habilitação Análises Clínicas - UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis-SC.

<sup>2</sup>Professor do Departamento de Análises Clínicas - UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis-SC.

<sup>3</sup>Diretor Geral e Microbiologista do Laboratório Saldanha, Lages - SC; Coordenador da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e Microbiologista Clínico do Hospital Nossa Senhora dos Prazeres, Lages - SC; Professor dos cursos de Especialização em Microbiologia Clínica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas - SBAC - em Goiânia, Manaus e Rio de Janeiro. Laboratório Saldanha Ltda, Lages-SC.

<sup>4</sup>Microbiologista do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário - UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina, Hospital Universitário, Laboratório de Análises Clínicas, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis-SC.

Vários fatores podem interferir na execução correta do método por disco-difusão: a quantidade bacteriana no inóculo, a inoculação das bactérias na superfície do ágar e a espessura do ágar.<sup>(19)</sup>

Embora os procedimentos pré-analíticos e analíticos sejam rigidamente controlados, o controle da qualidade nesse método é muitas vezes ineficiente, pois o método de inoculação das bactérias na superfície do ágar não permite verificar simultaneamente o perfil das bactérias testadas e a qualidade das análises. A forma ideal de incrementar a qualidade e a confiabilidade nos resultados seria o controle diário e disco-a-disco do TSA.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade dos discos de antimicrobianos comercializados no Brasil e utilizados em TSA, bem como avaliar preliminarmente uma nova técnica de inoculação das placas de ágar empregadas nos teste de susceptibilidade pelo método de disco-difusão.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação do Ágar Mueller-Hinton

O ágar Mueller-Hinton foi preparado a partir de uma base desidratada disponível comercialmente, seguindo as instruções do fabricante (HIMEDIA®), e a confecção das placas seguiu as recomendações da CLSI.<sup>(19)</sup> Após esterilização em autoclave, o meio de cultura foi resfriado em banho-maria entre 45 e 50°C. Em seguida, foram vertidos exatamente 64 mL de meio pronto para uso em placas de Petri de fundo chato em vidro, adquiridas no mercado nacional, de modo a garantir uma profundidade uniforme de aproximadamente 4 mm. Para isso, foi determinado o diâmetro interno de todas as placas, com auxílio de um paquímetro e foram utilizadas apenas as placas que apresentavam diâmetro interno de 135,00 + 0,35 mm. Além disso, para garantir a espessura uniforme de meio por toda a placa foi realizado o nivelamento da bancada de preparo. As placas foram deixadas em temperatura ambiente até solidificação do meio e posteriormente armazenadas em geladeira (2° a 8°C).

### Amostras bacterianas

Conforme preconizado pelo CLSI,<sup>(19)</sup> foram utilizadas as cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC), indicadas para o controle de qualidade em TSA por disco-difusão: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (susceptível à oxacilina e penicilina) e *Escherichia coli* ATCC 25922 (beta-lactamase negativa). Para a cultura estoque, as cepas de referência foram armazenadas à temperatura -70°C em tubos contendo caldo TSB (caldo tríptico de soja, OXOID®) acrescido de 15% de glicerol. Para a confecção da cultura de trabalho, as culturas estoques foram descongelados e com o auxílio de uma alça bacteriológica foi realizada a inoculação das cepas em tubos contendo ágar Mueller-Hinton inclinado, sendo incubados a 37°C (16 a 18 horas) e, posteriormente, armazenadas a 4°C, até o momento do uso.

### Preparação do inóculo bacteriano

As culturas em tubos, previamente armazenadas a 4°C, foram retiradas da refrigeração e deixadas sobre a bancada até atingirem a temperatura ambiente. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, foi realizada a passagem das cepas para placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton, de forma a obter colônias isoladas após incubação a 37°C (16 a 18 horas). Posteriormente, cinco colônias bem isoladas do mesmo tipo morfológico foram selecionadas da placa de ágar e suspensas em 5 mL de caldo TSB de forma a alcançar a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala McFarland. A concentração bacteriana para o inóculo foi ajustada pela adição de caldo TSB estéril e por turbidimetria,<sup>(19)</sup> com auxílio de um espectrofotômetro (MDO-MF0.5®), sendo abolido o ajuste de turbidez por comparação visual.

### Inoculação das placas de teste

Uma vez obtido o inóculo bacteriano nas condições ideais, o mesmo foi utilizado dentro do período de 15 min após ajustada a turbidez. Após homogeneização da suspensão bacteriana, um *swab* estéril de algodão foi umedecido na cultura, sendo retirado o excesso de suspensão bacteriana por compressão do *swab* contra a parede interna do tubo acima do nível do líquido.<sup>(19)</sup>

Foram realizadas duas técnicas de inoculação: a primeira, tradicionalmente utilizada na rotina de laboratórios de microbiologia e a segunda, desenvolvida e proposta neste trabalho como ensaio preliminar. Na inoculação pela técnica tradicional, um *swab* preparado como descrito anteriormente foi esgotado na forma de estrias por toda a superfície do ágar estéril, em três direções, girando a placa em ângulo de 60°, após cada estria, e, por fim, passando-se o *swab* na margem da placa de ágar, de forma a garantir a distribuição uniforme do inóculo.<sup>(19)</sup> Para a realização da técnica de inoculação sob avaliação preliminar neste trabalho, foi utilizado um equipamento protótipo, onde as placas prontas para uso eram fixadas. Na medida em que as placas eram giradas com o auxílio do aparelho (movimento de rotação), um *swab* preparado como descrito anteriormente foi utilizado para realizar a inoculação na superfície do ágar (Figura 1) em uma área compreendida entre a margem da placa e 24 mm em direção ao centro da mesma (Inóculo 1). Um outro *swab* preparado com o mesmo inóculo bacteriano e da mesma forma que o anterior foi utilizado para realizar a inoculação da área restante da superfície da placa, a partir do centro em direção à margem, respeitando uma distância de 3 mm em relação à primeira área inoculada (Inóculo 2). Anteriormente à aplicação dos discos, as placas foram deixadas sobre a bancada por cerca de cinco minutos, para a redução do excesso de umidade.

### Aplicação dos discos

Os antimicrobianos testados (Tabela 1) foram escolhidos conforme os procedimentos de rotina do Setor de

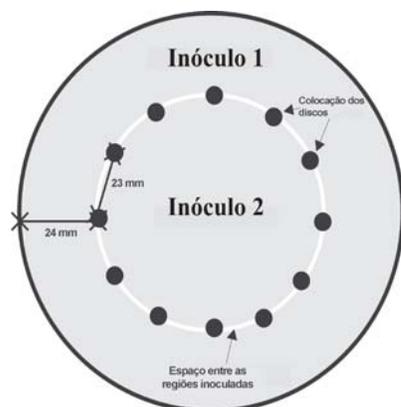


Figura 1. Representação esquemática da superfície das placas de teste, inoculadas através da nova técnica proposta neste trabalho. Em cinza, as diferentes áreas inoculadas de forma circular (Inóculo 1 e 2) e separadas por uma distância de 3 mm (Linha branca). Os círculos pretos mostram as coordenadas de colocação dos discos, em relação a margem da placa (24 mm) e de um disco para outro (23 mm)

Microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, seguindo recomendações do CLSI, assim como o custo-benefício, a eficácia terapêutica e o perfil de resistência das cepas bacterianas isoladas no hospital.<sup>(20)</sup> Discos com antimicrobianos de cinco diferentes fabricantes foram analisados. Os frascos contendo os discos foram armazenados em temperatura de 2 a 8°C, até uma hora antes da sua utilização, quando eram colocados em temperatura ambiente.<sup>(19)</sup> A aplicação dos discos foi realizada com o auxílio de uma pinça estéril, pressionando-os suavemente para o contato total com a superfície do ágar. Conforme ilustra a Figura 1, no máximo 12 discos foram colocados por placa em locais pré-determinados: a 23 mm entre um disco e outro, medida centro a centro de cada disco, e de 24 mm em relação à margem da placa, onde, para as placas inoculadas através da nova técnica, tais coordenadas direcionavam à fronteira de separação das duas áreas inoculadas. Posteriormente à

Tabela 1 - Relação de discos e de fabricantes analisados, e variações de diâmetro dos halos de inibição do crescimento recomendadas para as cepas ATCC

Antimicrobianos	Variação <sup>(2)</sup>	Fabricantes <sup>(1)</sup>				
		CEFAR®	DME®	LABORCLIN®	NEWPROV®	OXOID®
<b><i>E. coli</i> (ATCC 25922)</b>						
Ácido Nalidíxico 30 g	22-28	X	X	X	X	X
Amicacina 30 g	19-26	X	X	X	X	X
Amoxicilina/Ácido Clavulânico 20/10 g	18-24	X	X	X	X	X
Ampicilina 10 g	16-22	X	NA <sup>(3)</sup>	X	X	X
Cefalotina 30 g	15-21	X	X	X	X	X
Cefazolina 30 g	21-27	X	X	X	X	NA
Cefepima 30 g	31-37	X	X	X	X	NA
Cefotaxima 30 g	29-35	X	X	X	X	NA
Cefoxitina 30 g	23-29	X	X	NA	X	X
Ceftazidima 30 g	25-32	X	X	X	X	NA
Ceftriaxona 30 g	29-35	X	X	X	X	X
Cefuroxima 30 g	20-26	X	X	X	X	X
Ciprofloxacina 5 g	30-40	X	X	X	X	X
Gentamicina 10 g	19-26	X	X	X	X	X
Imipemem 10 g	26-32	X	X	X	X	X
Nitrofurantoina 300 g	20-25	X	X	X	X	X
Norfloxacina 10 g	28-35	X	X	X	X	X
Sulfametoxazol/Trimetoprim 23,75/1,25 g	23-29	X	X	X	X	X
<b>Total analisado</b>		<b>18</b>	<b>17</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>14</b>
<b><i>S. aureus</i> (ATCC 25923)</b>						
Cefoxitina 30 g	23-29	X	X	NA	X	X
Ciprofloxacina 5 g	22-30	X	X	X	X	X
Clindamicina 2 g	24-30	X	X	X	X	X
Cloranfenicol 30 g	19-26	X	X	X	X	X
Eritromicina 15 g	22-30	X	X	X	X	X
Gentamicina 10 g	19-27	X	X	X	X	X
Nitrofurantoina 300 g	18-22	X	X	X	X	X
Norfloxacina 10 g	17-28	X	X	X	X	X
Oxacilina 1 g	18-24	X	X	X	X	X
Penicilina G 10 U	26-37	X	X	X	X	X
Sulfametoxazol/Trimetoprim 23,75/1,25 g	24-32	X	X	X	X	X
Vancomicina 30 g	17-21	X	X	X	X	X
<b>Total analisado</b>		<b>12</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>12</b>

1) CEFAR Diagnostica Ltda; DME - Diagnósticos Microbiológicos Especializados; LABORCLIN Produtos para Laboratórios Ltda; NEWPROV Produtos para Laboratório Ltda e OXOID Brasil Ltda.

(2) Variação no diâmetro do halo de inibição do crescimento recomendada pela CLSI.

(3) NA= Não analisado.

aplicação dos discos, as placas de teste foram incubadas a 37°C por 16 a 18 horas.

### Leitura e avaliação dos resultados

As placas foram inspecionadas visualmente para avaliar a qualidade do cultivo, observando uniformidade no crescimento, presença de microrganismos contaminantes, colocação correta dos discos e definição dos halos de inibição do crescimento bacteriano. A seguir, com auxílio de um contador mecânico de colônias (POENIX CP-602) para iluminar a placa invertida, e uma régua foram determinados o diâmetro dos halos. Os resultados obtidos foram interpretados e comparados com as variações preconizadas pela CLSI, conforme apresenta a Tabela 1.<sup>(19)</sup> Os antibiogramas foram realizados, com a mesma cepa e os mesmos antimicrobianos, cinco vezes por cinco dias consecutivos, simulando a frequência dos testes semanais de controle de qualidade.<sup>(19)</sup>

## RESULTADOS

As placas de Petri em vidro adquiridas comercialmente para a realização deste estudo apresentaram variações significativas no diâmetro interno, embora fossem de um único fabricante. Além disso, testes iniciais na bancada de preparo das placas de ágar Mueller- Hinton revelaram que a

falta de nivelamento gerava variações na espessura do meio em diferentes posições nas placas. Conforme representado na Figura 2, testes preliminares demonstraram que a técnica de inoculação proposta neste trabalho produziu resultados iguais aos obtidos nos ensaios realizados através da técnica utilizada nas rotinas do TSA. Do mesmo modo, esses resultados preliminares confirmaram que a distância de 3 mm existente entre as duas regiões inoculadas pela nova técnica, não interferiu nos resultados obtidos, bem como na interpretação do diâmetro dos halos de inibição do crescimento. A Tabela 2 apresenta os diâmetros dos halos de inibição do crescimento obtidos em todos os testes realizados, utilizando a técnica de inoculação proposta neste trabalho, bem como o valor médio dos cinco resultados obtidos para cada antimicrobiano analisado. A Figura 3 apresenta graficamente alguns dos resultados obtidos nas análises, utilizando a cepa de *E. coli*. Conforme observa-se nesse gráfico, independente do fabricante, todos os discos contendo a associação dos antimicrobianos amoxicilina/ácido clavulânico produziram halos dentro da variação recomendada. Por outro lado, todos os discos de ceftriaxona, de todos os fabricantes, apresentaram diâmetro do halo de inibição do crescimento fora da recomendação. Para os demais antimicrobianos, independente do fabricante, foi observado que alguns discos apresentaram halos com

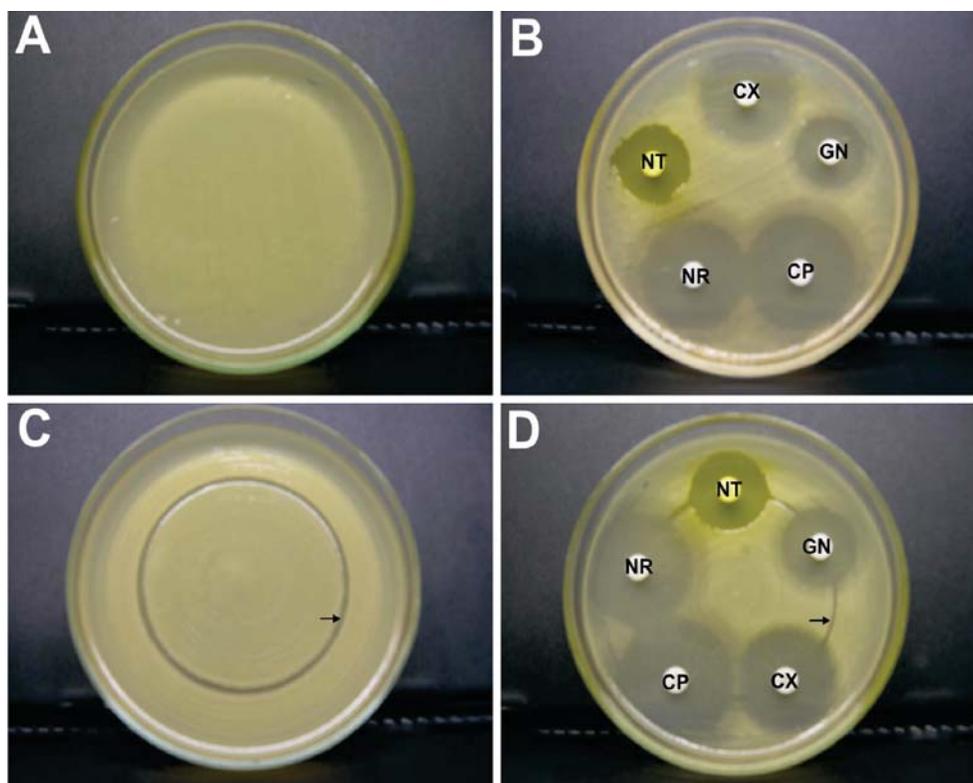


Figura 2 - Representação dos resultados obtidos nas análises preliminares utilizando as duas técnicas de inoculação. Placas inoculadas com *E. coli* ATCC 25922 através da técnica tradicional (quadros A e B) e com a técnica proposta neste trabalho (quadros C e D). Placas de teste (quadros B e D) contendo os discos de Cefoxitina (CX), Ciprofloxacina (CP), Gentamicina (GN), Nitrofurantóina (NT) e Norfloxacina (NR). As setas nos quadros C e D indicam a distância de 3mm entre as duas regiões inoculadas pela nova técnica



os fabricantes. Por outro lado, os demais antimicrobianos apresentaram valores de diâmetro médio dentro e outros fora da

recomendação, para alguns fabricantes, como demonstra graficamente os resultados da oxacilina e da vancomicina.

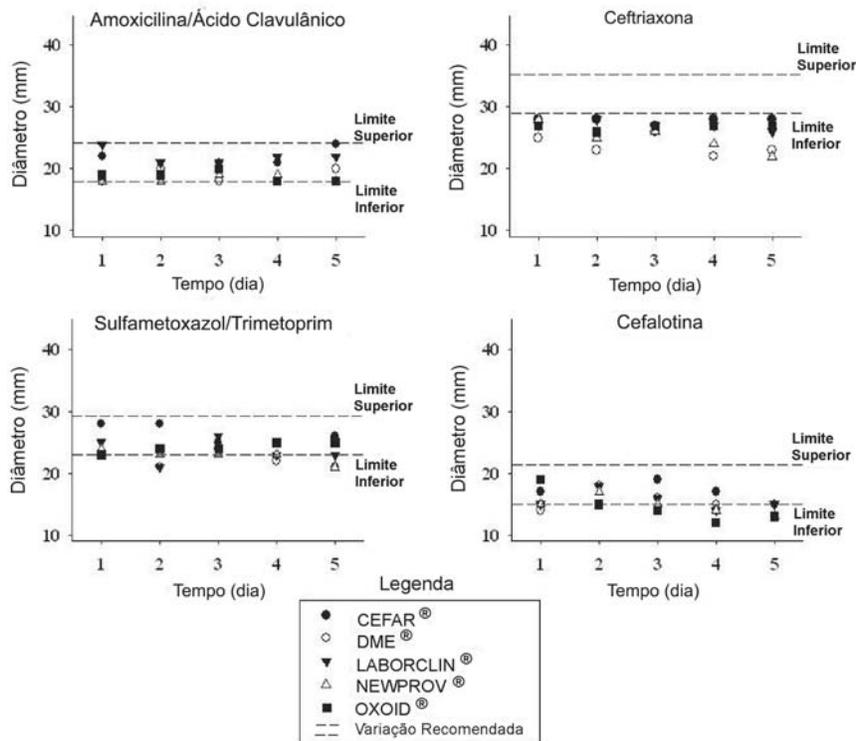


Figura 3. Representação gráfica dos resultados obtidos com os discos de Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Ceftriaxona, Sulfametoxazol/Trimetoprim e Cefalotina, utilizando *E. coli* ATCC 25922 como bactéria inóculo.

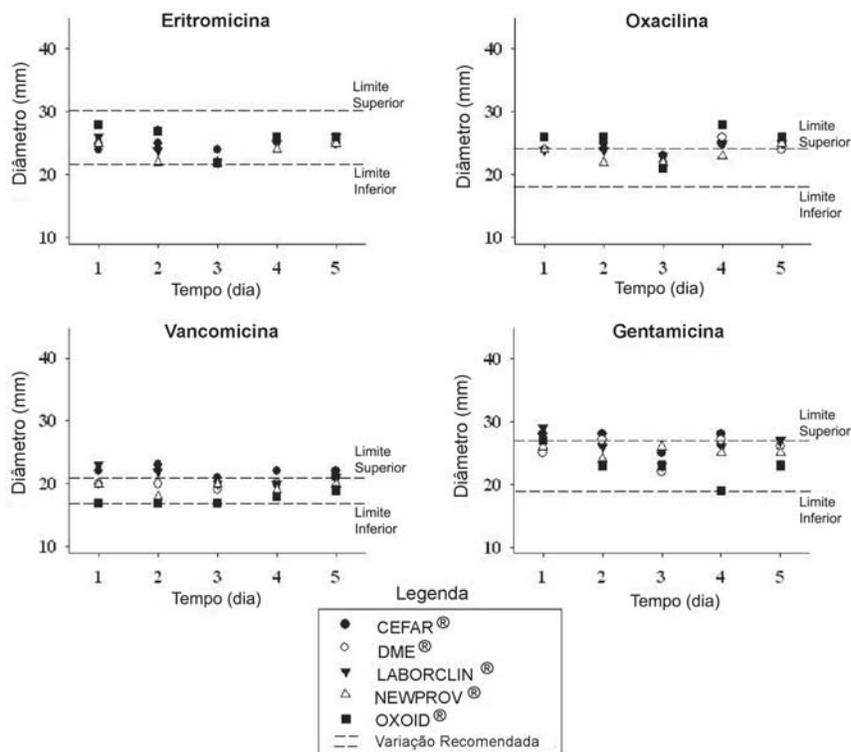


Figura 4. Representação gráfica dos resultados obtidos com os discos de Eritromicina, Oxacilina, Vancomicina e Gentamicina, utilizando *S. aureus*, cepa ATCC 25923 como bactéria inóculo.

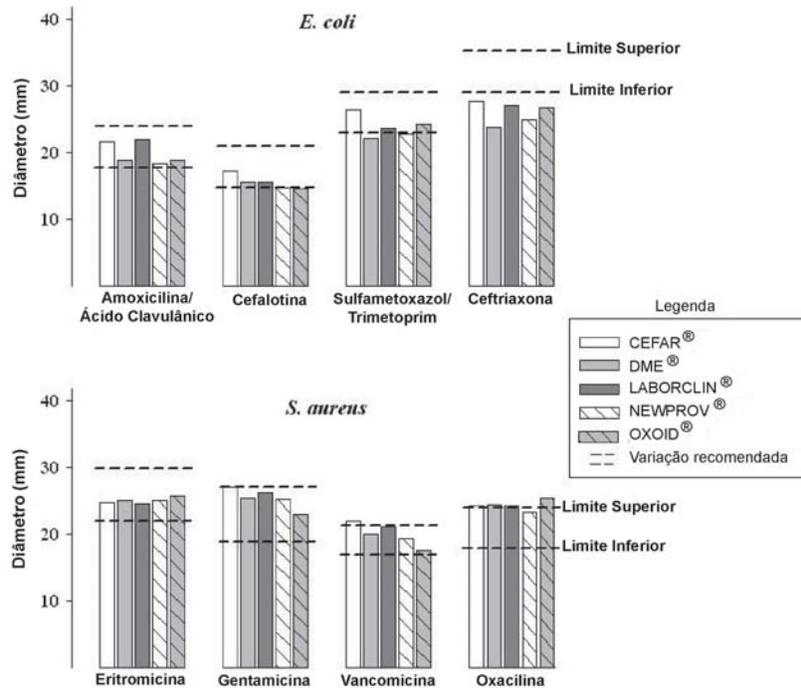


Figura 5. Representação gráfica dos valores de diâmetro médio dos halos de inibição do crescimento obtidos nos teste com *E. coli* ATCC 25922 para os discos de Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Cefalotina, Sulfametoxazol/Trimetoprim e Ceftriaxona, e com *S. aureus* ATCC 25923 para os discos de Eritromicina, Gentamicina, Vancomicina e Oxacilina. As barras representam o diâmetro médio dos cinco testes realizados com os discos dos diferentes fabricantes.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Quando a espessura do ágar, a concentração bacteriana no inóculo e a qualidade dos discos estão em desacordo com as padronizações sugeridas, ocorre a interpretação incorreta dos resultados.<sup>(21,22)</sup> Nas análises preliminares, encontramos bancadas desniveladas e variações nas dimensões das placas de Petri e adotamos medidas corretivas para esses problemas. Assim, é de suma importância que os laboratórios de microbiologia averiguem a existência de problemas semelhantes e adotem medidas corretivas, além de seguir as recomendações do CLSI.

As análises mostraram que a maior parte dos discos testados, independente do fabricante, apresentou resultado insatisfatório. Esses resultados apontam para uma baixa qualidade dos discos comercializados no Brasil, o que também foi constatado em estudo semelhante.<sup>(23)</sup> Acreditamos que esses resultados sejam decorrentes do transporte e/ou da estocagem inadequada dos discos antes de chegarem ao laboratório de rotina microbiológica, necessitando assim de correção das falhas que estão comprometendo a qualidade dos discos. São necessárias ações de órgãos reguladores como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), implementando e fiscalizando o cumprimento de normas rígidas que garantam a qualidade dos discos, desde o processo de fabricação até os laboratórios de microbiologia. Apontamos à necessidade de se adotarem estratégias mais rígidas, além dos métodos padro-

nizados existentes,<sup>(19,24-27)</sup> que garantam maior controle da qualidade. É fundamental abolir a comparação visual para o preparo do inóculo bacteriano e utilizar a turbidimetria. Apontamos ainda a necessidade de realizar o controle individual de cada disco utilizado e em todos os testes.

Em avaliações bioquímicas, é utilizado um soro controle que permite determinar simultaneamente o resultado clínico e a qualidade do teste.<sup>(28)</sup> Pela necessidade de utilizar culturas bacterianas puras em microbiologia, o controle, em paralelo, é impossível através da técnica de inoculação tradicional. Entretanto, a inoculação em forma circular avaliada preliminarmente neste trabalho mostrou ser possível inocular de forma isolada, duas diferentes regiões da mesma placa. Por isso, a utilização da metodologia proposta, aqui sob estudo preliminar, parece permitir a análise da susceptibilidade do isolado clínico e, de forma simultânea, avaliar a qualidade da análise com uma cepa ATCC, diariamente e disco-a-disco.

O controle da qualidade simultâneo é importante pois alguns discos de um mesmo frasco podem não apresentar condições ótimas de uso, conforme observado neste trabalho. Assim, com a utilização da técnica de inoculação sob análise inicial nesta investigação, poderia ser abolido o controle da qualidade por lote realizado atualmente, dando lugar à análise minuciosa, disco-a-disco, dos testes, independente do fabricante dos insumos ou da correta execução do TSA. No entanto, mais estudos devem ser procedidos para a confirmação dos resultados preliminares aqui informados.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a profa. Dra. Ana Lúcia da Costa Darini da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP), por fornecer as cepas bacterianas ATCC e ao prof. Dr. Boris Stambuk da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pela utilização do espaço físico e equipamentos do seu laboratório.

### Abstract

*The Antimicrobial Susceptibility Test by disk-diffusion is important in laboratorial routine, because it allows to determine bacterial sensibility or resistance to antimicrobials with practice and low cost. This technique is essential in bacterial resistance surveillance and to antimicrobials criterions prescription in therapeutic. However, disk quality and tests inefficient control intervene in reliability of results. Therefore, we evaluate the disk quality commercialized in Brazil following standard recommendations, and we proposed a new inoculation technique of ágar plates, aiming to improve the tests quality control. We observe unsatisfactory results for high half analyzed disks, independent of manufacturers. In addition to need for care in pre-analytical phase of tests by disk-diffusion, it is important to adopt procedures that allow to increase the tests quality control by disk-diffusion. We pointed that this fact is possible with the utilization of the inoculation technique analyzed in this research.*

### Keywords

Quality control; Bacterial resistance; Disk Diffusion Antimicrobial Sensibility Tests

## REFERÊNCIAS

1. Austin DJ, Kristinsson KG, Anderson RM. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(3):1152-6.
2. Cizman M. The use and resistance to antibiotics in the community. *Int. Int J Antimicrob Agents*. 2003;21(4):297-307.
3. Caprioli A, Busani L, Martel JL, Helmuth R. Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *Int J Antimicrob Agents*. 2000; 14(4):295-301.
4. Sumano-López H, Gutiérrez-Olvera L. Problemática del uso de Enrofloxacin en la Avicultura en México. *Vet Méx*. 2000;31(2): 137-45.
5. Aiello AE, Larson EL, Levy SB. Consumer antibacterial soaps: effective or just risky? *Clin Infect Dis*. 2007;45 Suppl 2:S137-47.
6. Carmeli Y, Eichelberger K, Soja D, Dakos J, Venkataraman L, DeGirolami P, Samore M. Failure of quality control measures to prevent reporting of false resistance to imipenem, resulting in a pseudo-outbreak of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):595-7.
7. Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000;33(3):281-301.
8. Levy SB. The 2000 Garrod lecture. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2002; 49(1):25-30.
9. Wright GD, Sutherland AD. New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends Mol Med*. 2007;13(6):260-7.
10. Davison HC, Low JC, Woolhouse ME. What is antibiotic resistance and how can we measure it? *Trends Microbiol*. 2000;8(12):554-9.
11. Karlowsky JA, Sahm DF. Antibiotic resistance - is resistance detected by surveillance relevant to predicting resistance in the clinical setting? *Curr Opin Pharmacol*. 2002;2(5):487-92.
12. Critchley IA, Karlowsky JA. Optimal use of antibiotic resistance surveillance systems. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(6):502-11.
13. World Health Organization. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva: WHO; 2001. WHO document WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2
14. Sahm DF. Information Technology: A means for enhancing surveillance of antimicrobial resistance. *Clin Microbio Newslet*. 1999;21(21):169-72.
15. Kiehlauch JA, Hannett GE, Salfinger M, Archinal W, Monserrat C, Carlyn C.. Use of the National Committee for Clinical Laboratory Standards Guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratories. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(9):3341-8.
16. Tenover FC, et al. Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance: Proficiency testing and quality control results from The World Health Organization's external quality assurance system for antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol*. 2001;39(1):241-50.
17. Masterton R. The importance and future of antimicrobial surveillance studies. *Clin Infect Dis*. 2008;47 Suppl 1:S21-31.
18. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*. 1998;26(4):973-80.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. ninety ed. Approved standard M02-A9; Wayne, PA: CLSI, 2006.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Sixteenth informational supplement. M100S17. Wayne, PA: CLSI; 2007.
21. King A, Brown DF. Quality assurance of antimicrobial susceptibility testing by disc diffusion. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48 Suppl 1:71-6.
22. Zapantis A, Lacy MK, Horvat RT, Grauer D, Barnes BJ, O'Neal B, Coudry R. Nationwide antibiogram analysis using NCCLS M39-A guidelines. *J Clin Microbiol*. 2005;43(6):2629-34.
23. Sejas LM, et al. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. *J Bras Pat Méd Lab*. 2003;39(1):27-35.
24. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (Anvisa). Tecnologia em Serviços de Saúde - Controle Interno da Qualidade para Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos (Termo de Cooperação nº 37). Anvisa/OPAS/OMS:Brasília, 2006.
25. Andrews JM; BASC Working Party on Susceptibility Testing. BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 5). *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(3):511-29.
26. British Society For Antimicrobial Chemotherapy (BSAC). BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing, version 6.1, February 2007. Disponível em: <[http://www.bsac.org.uk/\\_db/\\_documents/version\\_6.1.pdf](http://www.bsac.org.uk/_db/_documents/version_6.1.pdf)>.
27. Members of the SFM Antibiogram Committee. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie report 2003. *Int J Antimicrob Agents*. 2003;21(4):364-9.
28. Santos CCM, et al. Performance e características de soro controle pronto para uso. *Laes/Haes*. 1992;13(75):43-8.

Correspondência

**Luiz Alberto Peregrino Ferreira**  
Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Análises Clínicas  
Campus Universitário, Trindade  
88040-900 – Florianópolis, SC  
lulaperegrino@ccs.ufsc.br

## Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em crianças e adolescentes com 1 a 13 anos de idade, Teresina-PI, Brasil

### Prevalence of *Streptococcus pyogenes* in children and adolescents with 1 to 13 years old, Teresina-PI, Brazil

Thalita Yanomany Lima Leal de Sousa<sup>1</sup>

Thamires Mendonça de Carvalho<sup>2</sup>

Silvana Sales Silva<sup>2</sup>

Rayra Pureza Teixeira Barbosa<sup>3</sup>

Alessandra Lages Oliveira de Azevedo<sup>4</sup>

Maria do Rosário Conceição Moura Nunes<sup>5</sup>

#### Resumo

O estudo teve o objetivo de identificar a prevalência de *Streptococcus pyogenes* na secreção de orofaringe em crianças e adolescentes com 1 a 13 anos de idade. Trata-se de uma abordagem quantitativa, na qual foi coletada secreção de orofaringe de 80 crianças e adolescentes moradores de uma vila na cidade de Teresina-PI. A cultura de orofaringe foi realizada em *Trypticase Soy Agar* acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado, seguido de incubação à temperatura de 35±2°C em atmosfera de microaerofilia por 18-24 horas. A identificação do *S. pyogenes* foi feita através da prova da catalase, sensibilidade a bacitracina e teste de Pyrrolidoniil Arilamidase (PYR). Dos 80 participantes, 41 (51,3%) eram do sexo masculino e 39 (48,7%) eram do sexo feminino. Foram isoladas 12 amostras de *S. pyogenes*. A prevalência global foi estimada em 15%. Todos que obtiveram cultura positiva para *S. pyogenes* tinham acesso regular a escola (16,9%). A prevalência de *S. pyogenes* encontrada está relacionada às condições geográficas, sazonais, socioeconômicas e ambientais da região habitada. A importância do diagnóstico correto direciona a população para o tratamento adequado, visando à erradicação da bactéria, prevenindo as complicações supurativas e não supurativas, contribuindo também para o uso racional dos antimicrobianos.

#### Palavras-chave

*Streptococcus pyogenes*; Faringite estreptocócica; Prevalência

## INTRODUÇÃO

A faringite é definida como uma infecção de faringe e/ou tonsilas,<sup>(1,2)</sup> sendo a patologia mais comum em crianças e adolescentes com idade entre 5 a 15 anos.<sup>(3)</sup> Na maioria dos casos, os vírus são responsáveis por este tipo de infecção (40%) e as bactérias correspondem a 30% dos diagnósticos de faringite; no restante dos casos (30%), não é possível identificar o agente patológico. O principal agente etiológico causador da faringite bacteriana é o *Streptococcus pyogenes*.<sup>(4)</sup> A faringite estreptocócica causa febre alta e dor à deglutição, com mal-estar geral, anorexia e astenia, geralmente acompanhados por náuseas, vômitos e dor abdominal.<sup>(5)</sup>

Além da faringite e/ou tonsilite, o *S. pyogenes* causa infecções supurativas como síndrome do choque tóxico estreptocócica, fasciíte necrotizante, febre escarlatina e infecções de pele (incluindo impetigo, erisipela e diversas formas de piodermites) e infecções não supurativas como

glomerulonefrite difusa aguda, febre reumática e a doença reumática do coração.<sup>(6)</sup>

Mundialmente são registrados 616 milhões de casos/ano de faringite causada por *Streptococcus* β-hemolítico do Grupo A, principalmente o *S. pyogenes*.<sup>(7)</sup> A prevalência de *S. pyogenes* na secreção de orofaringe de crianças pode variar entre 9-34,1% em diversos países.<sup>(8,6)</sup> Estima-se que a febre reumática e a doença reumática do coração afeta cerca de 20 milhões de pessoas em todo o mundo, estas são as principais causas de morte cardiovascular nos primeiros cinco anos de vida nos países em desenvolvimento.<sup>(9)</sup>

A faringite estreptocócica representa uma grande fonte de transtornos sociais como perda de aulas, além da necessidade do uso de antimicrobianos repetidamente, e do potencial de complicações supurativas e não supurativas.<sup>(10)</sup> Por este motivo, além do diagnóstico clínico, faz-se necessário o diagnóstico laboratorial representado pela cultura de orofaringe, sendo considerado o "padrão ouro" para o diagnóstico de SBGA 8<sup>(11)</sup> com o objetivo de identificar o agente

Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – Novafapi.

<sup>1</sup>Pós-graduanda na Especialização em Biotecnologia pelo Instituto Federal do Piauí (IFPI).

<sup>2</sup>Acadêmica da Graduação em Biomedicina pela Faculdade Novafapi.

<sup>3</sup>Acadêmica da Graduação em Medicina pela Faculdade Novafapi.

<sup>4</sup>Especialista em Microbiologia pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

<sup>5</sup>Doutora em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

causador e administrar corretamente a terapia antimicrobiana. Caso a faringite seja decorrente de um vírus, o tratamento com antimicrobianos será ineficaz e poderá promover a resistência de microrganismos ao antibiótico utilizado.<sup>(2)</sup>

Diante da enorme importância que a epidemiologia da infecção estreptocócica apresenta no Brasil, poucos estudos epidemiológicos apresentando taxas de prevalência para *S. pyogenes* isolados de orofaringe em crianças e adolescentes brasileiros foram encontrados. Portanto, este estudo teve o objetivo de identificar a prevalência de *S. pyogenes* na secreção de orofaringe em crianças e adolescentes com 1 a 13 anos de idade moradores de uma vila na cidade de Teresina-PI.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se um estudo observacional, descritivo, transversal, com abordagem quantitativa, envolvendo 80 crianças e adolescentes na faixa etária de 1 a 13 anos, moradores da vila Ladeira do Uruguai, Teresina-PI. As amostras foram analisadas no Laboratório de Microbiologia Clínica pertencente a Faculdade NOVAFAP, no período de março a maio de 2011. A secreção de orofaringe dos participantes foi colhida no horário da manhã com *swab*. Os espécimes foram inoculados em placas contendo *Trypticase Soy Agar* (Becton, Dickinson and Company®-USA) acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado. As placas foram incubadas a temperatura de 35±2°C em atmosfera de microaerofilia por 18-24 horas.

Após o crescimento em agar, as colônias foram analisadas quanto a morfologia e padrão de hemólise, em seguida, foi realizado o método de coloração de Gram a fim de determinar as características morfotintórias das bactérias isoladas. Para caracterizar o microrganismo como pertencente ao gênero *Streptococcus*, foi realizada a prova da catalase. A diferenciação de *S. pyogenes* de outros estreptococos β-hemolíticos foi feita pelos testes de sensibilidade a bacitracina 0,04U (Laborclin® - Brasil), e confirmado com a realização do teste de PYR (Probac do Brasil).

## RESULTADOS

Das 80 crianças e adolescentes que participaram do estudo, foram isoladas 12 amostras de *S. pyogenes*. A prevalência global foi estimada em 15,0%. Na estratificação por idade observa-se que a maior prevalência ocorreu na faixa etária de 11 anos (50,0%). A faixa etária de 1 a 6 anos obteve o maior número de examinados. Da amostra total de participantes, 51,3% eram do sexo masculino e 48,8% eram do sexo feminino. Não houve diferença na taxa de prevalência da positividade entre os gêneros (Tabela 1). A maioria dos participantes frequentavam creche ou unidade escolar. Todos que obtiveram cultura positiva para *S. pyogenes* tinham acesso regular a escola (Tabela 2).

Tabela 1 - Distribuição dos indivíduos examinados por gênero e idade

		Casos					
		Positivos		Negativos		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Gênero	Feminino	6	15,38	33	84,62	39	100,00
	Masculino	6	14,63	35	85,37	41	100,00
Total		12	15,00	68	85,00	80	100,00
Idade (anos)	1	-	-	5	100,00	5	100,00
	2	-	-	4	100,00	4	100,00
	3	-	-	6	100,00	6	100,00
	4	1	9,09	10	90,91	11	100,00
	5	1	16,67	5	83,33	6	100,00
	6	1	16,67	5	83,33	6	100,00
	7	-	-	4	100,00	4	100,00
	8	1	14,29	6	85,71	7	100,00
	9	1	16,67	5	83,33	6	100,00
	10	1	11,11	8	88,89	9	100,00
	11	3	50,00	3	50,00	6	100,00
	12	-	-	2	100,00	2	100,00
	13	3	37,50	5	62,50	8	100,00
Total		12	15,00	68	85,00	80	100,00

Fonte: Pesquisa direta.

Tabela 2. Positividade e frequência creche/escola. Teresina (PI), 2011

		Casos					
		Positivos		Negativos		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Frequente creche/ unidade escolar	Sim	12	16,90	59	83,10	71	100,00
	Não	-	-	9	100,00	9	100,00
	Total	12	15,00	68	85,00	80	100,00

Fonte: Pesquisa direta. P > 0,05

## DISCUSSÃO

Faringite aguda é decorrente da inflamação da faringe. A maioria dos casos de faringites é causada por vírus, apenas 30,0% são de origem bacteriana. *S. pyogenes* é a bactéria isolada com maior frequência nas faringites bacterianas, recebendo a classificação de faringite estreptocócica. Para diferenciar faringite estreptocócica das faringites causadas por outros agentes etiológicos é necessária a realização do diagnóstico laboratorial através da cultura da secreção de orofaringe, além dos aspectos clínicos e epidemiológicos.<sup>(4)</sup>

Países que apresentam clima tropical ou subtropical, como o Brasil, a prevalência de *S. pyogenes* é considerada baixa.<sup>(12)</sup> Neste estudo, a prevalência de *S. pyogenes* isolados da secreção de orofaringe de crianças e adolescentes foi estimada em 15,0%. A faixa etária de 7-13 anos apresentou maior colonização por *S. pyogenes*, devido ao maior contato social desses indivíduos. No ano de 2010, em Salvador-BA, foi verificada uma prevalência de 12,0% em crianças com idade entre 3-15 anos que habitavam favelas e bairros.<sup>(13)</sup> Em Ancara, Turquia, foram isolados 61 (75,4%) *S. pyogenes*

de crianças saudáveis frequentadoras de creches com idade entre 1-6 anos, observou-se também que a taxa de prevalência de *S. pyogenes* sofria variação conforme a estação climática; na primavera 1,03%, no verão 1,2%, no inverno 2,26% e no outono 4,08%.<sup>8(11)</sup>

Estudos mostram que frequentar creches ou escolas representa um fator de risco para população pediátrica em adquirir *S. pyogenes* como colonizador da microbiota da orofaringe. Infecções do trato respiratório superior acometem crianças que frequentam creche/escola com uma frequência de 2 a 18 vezes maior do que crianças na mesma faixa etária não institucionalizadas. Estudo comparativo da presença de *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico do grupo A na orofaringe de crianças, realizado em São Paulo-SP, mostrou que 8,0% das crianças que frequentavam creche estavam colonizadas por *S. pyogenes* e nas crianças não institucionalizadas essa taxa baixava para 2,0%. Ainda no mesmo estudo, em Porto Velho-RO, a taxa de colonização por *S. pyogenes* foi de 24,0% nas crianças institucionalizadas e 16,0% nas crianças que não frequentavam creche.<sup>14</sup>

Neste estudo, não houve associação entre a condição de frequentar creche/escola com a positividade dos casos, visto que o tamanho da amostra possa ter influenciado na comparação estatística dos dados. Além disso, a ausência de casos positivos no grupo de crianças não institucionalizadas dificultou a análise estatística. Também não foi observado diferença significativa entre o sexo feminino (15,38%) e o sexo masculino (14,63%), segundo Maciel et al.<sup>15</sup> (2003), a prevalência de *S. pyogenes* é semelhante em ambos os sexos.

Faringites virais apresentam um prognóstico benigno, onde não há riscos de complicações ou sequelas imunológicas, além de não possuir um tratamento específico, enquanto que a faringite estreptocócica pode evoluir causando complicações supurativas, como abscesso periamigdaliano, linfadenite cervical, mastoidite, sinusite e otite média, ou complicações não supurativas, como febre reumática e a doença reumática cardíaca.<sup>16</sup> Estas complicações podem ser prevenidas através da antibioticoterapia adequada, utilizada para o tratamento da faringite estreptocócica.<sup>17</sup>

A diferença nas taxas de prevalência de *S. pyogenes* isolados em crianças e adolescentes está relacionada com as diferenças geográficas de cada região, apresentando-se mais elevadas nas áreas urbanas em países de clima temperado, principalmente durante as estações frias. Essas taxas também dependem das condições socioeconômicas e ambientais da população, sendo maior em crianças com idade escolar e em locais onde há aglomeração de pessoas.<sup>18</sup>

O portador assintomático carrega o *S. pyogenes* por um longo período, favorecendo sua transmissão para outros e influenciando na cadeia epidemiológica. Segundo Kan et al.<sup>19</sup> (2010), a prevalência de portadores assintomáticos com idade escolar foi de 3,7-21,4% na China. Em Las Palmas,

Espanha, foi observada uma prevalência de 6,0% e nos Estados Unidos 7,0%. Em Recife-PE, foi verificada uma pequena taxa de prevalência (0,8%) quando comparada a outros estudos como na Índia e no Iran, onde foram encontradas taxas mais elevadas, 18,8% e 22,0%, respectivamente. Altas taxas de portadores assintomáticos podem ser encontradas no inverno e final da primavera, decaindo no verão.<sup>15</sup>

A importância do diagnóstico correto tem como principal objetivo tornar racional o uso de antimicrobianos. A finalidade da antibioticoterapia é a erradicação do *S. pyogenes* da orofaringe e, conseqüentemente, prevenir as complicações supurativas e não supurativas, além de encurtar o período da doença evitando transtornos sociais. O uso indiscriminado de antimicrobianos favorece o aumento das taxas de resistência em diversas bactérias. Infecções causadas por *S. pyogenes* são facilmente tratadas com penicilina, portanto é necessário haver o controle do uso da droga para evitar o surgimento de mecanismos de resistência por *S. pyogenes*, como vem acontecendo com macrolídeos e tetraciclina.<sup>20</sup>

Segundo CLSI<sup>21</sup> (2011), o teste de sensibilidade a penicilina para *S. pyogenes* só pode ser liberado através do método de microdiluição ou E-test®, informando a concentração inibitória mínima da droga que deve ser utilizada para inativar o microrganismo. A importância deste fato deve-se ao controle do uso da penicilina, visto que até o momento não há registro de *S. pyogenes* resistentes a esta droga, porém já tem sido relatado isolados de *S. pyogenes* apresentando sensibilidade diminuída a este antimicrobiano, portanto faz-se necessário que o médico tenha conhecimento da exata concentração de penicilina que irá atuar contra *S. pyogenes* de maneira eficaz, evitando a utilização de uma alta dosagem desnecessária.

De acordo com Irfan Sevinc et al.<sup>11</sup> (2008), a penicilina continua sendo o tratamento de escolha para faringite estreptocócica, não sendo observado perfil de resistência em *S. pyogenes*.<sup>9</sup> Os macrolídeos são uma alternativa terapêutica para pacientes alérgicos aos  $\beta$ -lactâmicos, porém tem sido documentando um aumento nas taxas de resistências dessas drogas por *S. pyogenes*.<sup>20</sup> Apesar da menor eficácia devido ao aumento da resistência, os macrolídeos continuam sendo utilizados no tratamento de infecções estreptocócicas faringianas em pacientes alérgicos aos  $\beta$ -lactâmicos com hipersensibilidade imediata, mas é necessária a realização de uma vigilância epidemiológica para fazer recomendações, avaliar medidas de controle e realizar planejamentos baseado no perfil de resistência de *S. pyogenes* não susceptíveis aos macrolídeos.

## CONCLUSÃO

A prevalência de *S. pyogenes* encontrada está relacionada às condições geográficas, sazonais, socioeconômicas e ambientais do país. A importância do diagnóstico

correto da faringite estreptocócica direciona a população para o tratamento adequado, visando à erradicação do *S. pyogenes* e prevenindo as complicações supurativas e não supurativas. Há necessidade de vigilância epidemiológica para avaliar o aumento da prevalência de *S. pyogenes* bem como seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos utilizados no tratamento das infecções causadas por este microrganismo.

Este estudo foi realizado após aprovação do Protocolo de Pesquisa nº 0465.0.043.000-10, pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) - Faculdade NOVAFAPÍ.

### Abstract

*The study aimed to identify the prevalence of Streptococcus pyogenes in throat secretions of children and adolescents 1-13 years of age. It is a quantitative approach, in which it was collected throat secretions of 80 children and adolescents living in a village in the city of Teresina-PI. A throat culture was performed on Trypticase Soy Agar plus 5% defibrinated sheep blood, followed by incubation temperature of 35±2°C in microaerophilic atmosphere for 18-24 hours. The identification of S. pyogenes was made by the catalase, sensitivity to bacitracin and Pyrrolidonyl Arylamidase (PYR) test. Of the 80 participants, 41 (51.3%) were male and 39 (48.7%) were female. Were isolated from 12 samples of S. pyogenes. The overall prevalence was estimated at 15%. Everyone who had positive culture for S. pyogenes had regular access to school (16.9%). The prevalence of S. pyogenes found to be related to geographic, seasonal, socioeconomic and environmental determinants of human habitation. The importance of correct diagnosis directs people to appropriate treatment aimed at eradicating the bacteria, preventing suppurative and nonsuppurative, also contributing to the rational use of antimicrobials.*

### Keywords

*Streptococcus pyogenes; Streptococcal pharyngitis; Prevalence*

## REFERÊNCIAS

- Bisno AL, Rubin FA, Cleary PP, Dale JB; National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Prospects for a group A streptococcal vaccine: rationale, feasibility, and obstacles--report of a National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop. *Clin Infect Dis*. 2005;41(8):1150-6.
- Regoli M, Chiappini E, Bonsignori F, Galli L, de Martino M. Update on the management of acute pharyngitis in children. *Ital J Pediatr*. 2011;37:10.
- Morais S, Teles A, Ramalheira E, Roseta J. Amigdalite estreptocócica - presunção clínica versus diagnóstico. *Acta Médica Portuguesa*. 2009;22(6):773-8.
- Mateo GF, Conejero J, Martinel EG, Baba Z, Dicono S, Echasabal M, et al. Diagnóstico precoce de faringite estreptocócica em pediatria: validación de uma técnica antigénica rápida. *Aten Primaria*. 2010;42(7):356-63.
- Choby BA. Dignosis and tratament of streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician*. 2009;79(5):383-90.
- Kumar R, Vohra H, Chakraborty A, Sharma YP, Bandhopadhyaya S, Dhanda V, et al. Epidemiology of group A streptococcal pharyngitis & impetigo: a cross-sectional & follow up study in a rural community of northern India. *Indian J Med Res*. 2009;130(6):765-7.
- Carapetis JR. The current evidence for the burden of group A streptococcal diseases. WHO/FCH/CAH/05-07 Geneva: World Health Organization; 2004. Acessado em: 26 abr 2011. Disponível em : [http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO\\_FCH\\_CAH\\_05.07.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_FCH_CAH_05.07.pdf).
- Campbell J, Sow S, Diallo S, Keita M, Pega C, Tamboura B. The epidemiology of group A *Streptococcus* among children in Bamako, Mali. In: Program and abstracts of the XVI<sup>th</sup> Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases, held on Palm Cove, Cairns, Australia. 25-29 Sep 2005. p. 105.
- Myers AL, Jackson MA, Selvarangan R, Goering RV, Harrison C. Genetic commonality of macrolide-resistant group A beta hemolytic streptococcus pharyngeal strains. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009;8:33.
- Omurzakova NA, Yamano Y, Saatova GM, Alybaeva MS, Nishioka N, Nakajima T. Prevalence of Group A beta-Hemolytic *Streptococcus* among children with tonsillopharyngitis in Kyrgyzstan: the difficulty of diagnostics and therapy. *Open Rheumatol J*. 2010;4:39-46.
- Sevinc I, Enoz M. The prevalence of group A beta-hemolytic *Streptococcus* in healthy Turkish children in day-care centers in Ankara. *Chang Gung Med J*. 2008;31(6):554-8.
- Vincent MT, Celestin N, Hussain AN. Pharyngitis. *Am Fam Physician*. 2004;69:1465-70.
- Erdem G, Mizumoto C, Esaki D, Reddy V, Kurahara D, Yamaga K, Abe L, Johnson D, Yamamoto K, Japlan EL. Group A streptococcal isolates temporally associated with acute rheumatic fever in Hawaii: differences from the continental United States. *Clin Infect Dis*. 2007;45(3):e20-e24.
- Tartof SY, Reis JN, Andrade AN, Ramos RT, Reis MG, Riley LW. Factors associated with group A *Streptococcus* emm type diversification in a large urban setting in Brazil: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2010;10:327.
- Vieira FMJ, Figueiredo CR, Soares MC, Weckx LY, Santos O, Magalhães G, et al. Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em orofaringe de crianças que frequentam creches: estudo comparativo entre diferentes regiões do país. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2006;72(5):587-91.
- Carvalho CMN, Marques HHS. Recomendação do departamento de infectologia da sociedade brasileira de pediatria para conduta de crianças e adolescentes com faringoamigdalites agudas. *J Pediatr*. 2006;82(1):79-82.
- Limura T, Amano Y, Matsue T, Onogawa T, Endo M, Okuno R, et al. Epidemiological survey for hemolytic streptococci isolated from children in Tokyo. *Kansenshogaku Zasshi*. 2001 Apr;75(4):314-25. [Article in Japanese]
- Sha K, Xu PR, Duo LK, Gu LB, Gao XM, Ji P. Prevalence of upper respiratory tract group A *Streptococcus* carriage in school-age children from Tulufan City and Buerjin County of Xinjiang Province. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2010;12(8):616-8. [Article in Chinese].
- Maciel A, Aca IS, Lopes ACS, Malagueño E, Sekiguchi T, Andrade GP. Portadores assintomáticos de infecções por *Streptococcus pyogenes* em duas escolas públicas na cidade do Recife, Pernambuco. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2003;3(2):175-80.
- Pavlovic L, Grego E, Sipetic-Grujicic S. Prevalence of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* collected in Serbia. *Jpn J Infect Dis*. 2010;63(4):275-6
- Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 21th Informational Supplement. CLSI Publication M100-S21, Wayne, PA: CLSI; 2011.

Endereço eletrônico

**Thalita Yanomany Lima Leal de Sousa**  
E-mail: [thalitayanomany@hotmail.com](mailto:thalitayanomany@hotmail.com)

## Efeito da refrigeração em amostras de urina procedentes de postos de coleta, para a realização de urinálise

### *Effect of cooling in urine samples from collection ranks for the accomplishment of urinalysis*

Adriano Carlos Soares<sup>1</sup>  
Elsa Fernandes da Silva<sup>2</sup>  
Helena Facury Barbosa<sup>3</sup>  
Valter Roberto Linard<sup>4</sup>

#### **Resumo**

Trata-se de uma pesquisa experimental com a participação de voluntários de ambos os sexos com idade entre 18 a 60 anos. As amostras utilizadas neste estudo foram amostras de urina. Estas foram enviadas imediatamente ao laboratório de microbiologia, onde, sob condições ideais, foram submetidas a duas metodologias para conservação sob refrigeração, denominadas, respectivamente, de Situação Temporal Dois (ST2) e Situação Temporal Três (ST3) e comparadas à Situação Temporal Padrão, representada por uma análise imediata da amostra (ST1). Os resultados foram avaliados pelo teste de Wilcoxon, que evidenciou, em relação às situações ST1 e ST2, uma diferença significativa de apenas um parâmetro (hemácias), enquanto que, na comparação entre as situações ST1 e ST3, obteve-se alterações significativas em vários parâmetros como: cristais, hemácias, células e aspecto. O estudo confirma que a refrigeração não é uma metodologia tão eficaz no que se refere à conservação de amostras para a realização da urinálise.

#### **Palavras-chave**

Qualidade; Refrigeração; Urinálise

## INTRODUÇÃO

A análise da urina, também conhecida como urinálise, foi o começo da medicina laboratorial. Referências ao estudo da urina foram encontradas em desenhos de homens das cavernas e nos hieróglifos egípcios, como o papiro cirúrgico de Edwin Smith, datado de cerca de 1700 aC.<sup>(1)</sup> Embora não contassem com métodos sofisticados de estudo, eles eram capazes de obter informações diagnósticas a partir de observações básicas como cor, turvação, odor, volume, viscosidade e até mesmo a presença de açúcar em certas amostras.<sup>(2,3)</sup> Muitos nomes conhecidos da medicina estão ligados ao estudo da urina, inclusive Hipócrates (460-370 aC.), que escreveu sobre uroscopia. Em decorrência do aumento do conhecimento científico-tecnológico observado no século XX, a realização do exame de urina evoluiu, tornando-se uma ciência plena, denominada urinálise.<sup>(2,3)</sup> Através do exame de urina, o clínico obtém informações valiosas sobre patologias renais e do trato urinário, bem como de algumas enfermidades extra-renais. Sendo assim, devido ao baixo custo, simplicidade e facilidade na obtenção

da amostra para a análise, este exame é considerado como rotina.<sup>(4,5,6)</sup>

A urinálise básica (rotina) divide-se em quatro partes, sendo: avaliação da amostra, exame superficial/físico, triagem química e exame do sedimento. A avaliação da amostra é um fator fundamental para a confiabilidade do laudo. Alterações significativas nessa etapa acarretarão em discordância de diagnóstico, uma vez que amostras com características alteradas pode provocar um laudo final incorreto e, conseqüentemente, uma falsa interpretação, levando a falhas no diagnóstico.<sup>(7)</sup> Cada laboratório deve estabelecer diretrizes formalizadas e imparciais para o critério de aceitação e rejeição de amostras. Estas diretrizes deverão ser baseadas nos Requisitos e Recomendações para o Exame de Urina da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT).<sup>(8)</sup> Esta norma recomenda que o exame de urina seja realizado no prazo máximo de duas horas, após a coleta. Na impossibilidade do teste ser realizado dentro deste prazo, o documento determina que a amostra seja refrigerada à temperatura de 2°C a 8°C. A monitoração de vários interferentes nos resultados das análises clínico-laboratoriais

<sup>1</sup>Farmacêutico-Bioquímico, Mestre em Ciências Naturais e da Saúde, professor dos cursos de graduação em Farmácia, Engenharia Ambiental, Química e Ciências Biológicas e de pós-graduação no programa de Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente do Centro Universitário de Caratinga – UNEC, Caratinga MG.

<sup>2</sup>Bióloga, técnica do laboratório de Microbiologia, no Centro Universitário de Caratinga - UNEC, Caratinga, MG.

<sup>3</sup>Médica, Doutora em Medicina, prof.(a) adjunto da Faculdade de Medicina da UFMG e Professora nos cursos de graduação em Medicina e de Farmácia e de pós-graduação nos programas de Mestrado em Ciências Naturais e da Saúde e no de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Centro Universitário de Caratinga, MG.

<sup>4</sup>Biólogo, Doutor, professor dos cursos de graduação em Medicina, Enfermagem e Farmácia, e de pós-graduação nos programas de Mestrado em Ciências Naturais e da Saúde e no de Meio Ambiente e Sustentabilidade do Centro Universitário de Caratinga, MG.

originados pelo sistema de transporte de amostras de um posto de coleta para o local de realização fase analítica é de extrema importância, por conseguinte.<sup>(9)</sup> A validação pode ser feita comparando-se os resultados das análises de urina de amostras advindas de postos de coleta, ou mantidas sob as mesmas condições no local efetivo das análises, com amostras recentemente colhidas e imediatamente analisadas.<sup>(9)</sup>

O presente estudo visou determinar a qualidade da amostra de urina conservada sob refrigeração para a realização de urinálise, empregando dois protocolos, um de uso corrente e outro proposto na investigação aqui informada, que demonstrou ser mais adequado à manutenção das características originais das amostras.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Caratinga (UNEC), localizado na região leste de Minas Gerais, no período de outubro a novembro de 2009, onde 50 voluntários com idades entre 18 a 60 anos, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), foram orientados a colher o jato médio da urina pela manhã, em frascos estéreis, após higienização prévia da região genital, e encaminhá-los ao Laboratório de Microbiologia do UNEC. Este procedimento resultou na coleta de 50 amostras válidas, pois volumes inferiores a 50 mL foram rejeitados. Para o presente estudo, foram definidas três situações temporais (Tabela 1). Estas tiveram a finalidade de comparar a qualidade do exame realizado em amostras urinárias colhidas em um laboratório sede e processadas imediatamente (padrão ouro), com aquelas amostras colhidas e provenientes de seu posto de coleta, com vistas à verificação da validação dos procedimentos realizados nestas unidades.<sup>(9)</sup>

Tabela 1 - Procedimentos executados nas amostras urinárias entregues para a urinálise

Denominação	Procedimentos executados	Situação
Situação Temporal 1 (Padrão Ouro)	O horário da coleta foi as sete (07) horas da manhã, o horário estipulado para primeira análise às oito horas da manhã, sendo esta urina recente.	ST1
Situação Temporal 2 (Proposta de mudança da metodologia atual)	O horário da coleta foi as sete (07) horas da manhã, sendo centrifugada imediatamente uma alíquota de 10 mL, cujo sedimento foi refrigerado e analisado sete horas após a coleta.*	ST2
Situação Temporal 3 (metodologia atual empregada em laboratórios que possuem postos de coleta)	O horário da coleta foi as sete (07) horas da manhã, sendo conservada sob refrigeração, nos próprios frascos e analisado sete horas após a coleta.**	ST3

\* proposta de mudança da metodologia mais empregada atualmente

\*\* como geralmente acontece em amostras advindas de postos de coleta

A coleta das amostras foi realizada no horário de sete horas da manhã. Enviadas ao laboratório, as amostras foram submetidas à triagem química. A primeira análise foi procedida às oito horas, uma hora depois da coleta. Esta urina recente foi denominada de *Situação Temporal 1* (ST1). A segunda análise, com o sedimento urinário refrigerado, foi realizada sete horas após a coleta, sendo denominada de *Situação Temporal 2* (ST2). A terceira análise, com amostras de urina conservadas sob refrigeração no próprio frasco coletor e também realizada sete horas após a coleta, foi considerada a *Situação Temporal 3* (ST3) (Tabela 1). Para análise química foram empregadas fitas reagentes e para a avaliação do sedimento foi utilizada microscopia ótica. Os procedimentos de análise das amostras de urina foram realizados de acordo com a literatura.<sup>(8)</sup>

A urina de rotina foi processada seguindo a padronização da ABNT.<sup>(8)</sup> Para avaliar os caracteres gerais, bem como os elementos anormais da amostra (características químicas), foram utilizadas tiras reativas (Human-Test). O pH foi confirmado através de aferição por medidor de pH de bolso. Quanto ao critério de cor e turvação, foi adotada uma escala que varia de incolor a azul-esverdeado.<sup>(7)</sup> O odor foi verificado de maneira usual (percepção olfativa) e associado à seguinte classificação: sui generis (normal), ligeiramente amoniacal (pouco nauseante) e amoniacal (nauseante).<sup>(10)</sup>

A sedimentoscopia foi realizada segundo as normas e critérios da ABNT.<sup>(8)</sup> Para a análise, foi retirada uma alíquota de 10 mL e centrifugada a 1500 a 2000 rpm, em centrífuga sorológica (Celm), durante 5 minutos. Em seguida, foi separado um sedimento de cerca de 0,20 mL. O sedimento foi suspenso e retirado, através da micropipeta de volume fixo (20 µL), uma alíquota de 20µL, que foi depositada em lâmina e lamínula e encaminhada para análise microscópica. Foram contados os elementos figurados em 10 campos microscópicos e calculada a média dos resultados. As células epiteliais, cilindros, cristais, fosfatos e uratos amorfos foram classificados em ausentes, quando não observado nenhum elemento, raras, quando observados até três elementos por campo, algumas, quando observados de 4 a 10 elementos por campo, numerosas, quando acima de 10 elementos por campo e, finalmente, maciças, quando o campo estiver tomado por um dos elementos figurados, impedindo a visualização dos outros. Estes parâmetros foram avaliados em aumento de 100x. Os leucócitos e as hemácias foram observados com aumento de 400x e a média dos resultados foi calculada após a observação de dez campos, sendo os resultados expressos em número de elementos por campo microscópico.

Os termos piúria e hematúria maciça foram utilizados quando o campo microscópico encontrava-se tomado por um dos elementos figurados citados. Para bactérias, o aumento microscópico recomendado para sua visualização em urinálise é de 400x e a terminologia adotada no resultado da observação foi ausente (nenhuma célula bacteriana), raras

(quando se observou de 1 a 10 células bacterianas por campo), bacteriúria moderadamente aumentada (de 11 a 99 células bacterianas por campo), bacteriúria aumentada, flora bacteriana aumentada (FBA) (acima de 99 por campo). Para a análise sedimentoscópica da urina de rotina, foram utilizadas três lâminas por situação (ST1, ST2 e ST3), totalizando nove lâminas por amostra. Todas as amostras, cujo volume inicial foi inferior a 50 mL, foram desqualificadas para o estudo, pois foi utilizada uma alíquota de 10 mL para cada situação temporal.

A análise estatística foi realizada para validar os resultados provenientes do procedimento. Para tanto, foi empregado o teste de Wilcoxon, que envolve variáveis qualitativas e quantitativas, sendo ideal para a análise de testes não-paramétricos.<sup>(11)</sup> Foi considerado um alfa de 5% de probabilidade para evidenciar se as metodologias utilizadas apresentavam valores diferentes ou concordantes nas amostras estudadas

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de Wilcoxon aplicado aos caracteres gerais do exame de urina mostra que, quando comparadas as situações ST1 e ST2, estas não apresentam diferenças significativas em nenhum dos parâmetros analisados: aspecto, cor, densidade, odor, pH e volume (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise comparativa dos caracteres gerais das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST2 (amostra centrifugada e refrigerada)

ST1/ST2	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Asp2-asp1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Cor2-Cor1	,157	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Den2 - Den1	,317	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Odor2 -Odor1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
pH2-pH1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Vol2- Vol1	,655	ST1 = ST2, os laudos serão iguais

Asp1 - aspecto 1 na situação ST1; Asp 2 - aspecto na situação ST2; cor1 - cor na situação ST1; cor2 - cor na situação ST2; Den1 - densidade na situação ST1; Den2 - densidade na situação ST2; odor1 - odor na situação ST1; odor2 - odor na situação ST2; pH1 - Potencial hidrogeniônico (pH) na situação ST1; Potencial hidrogeniônico (pH) na situação ST2; vol1 - volume na situação ST1; vol2 - volume na situação ST2

Ao se analisarem os resultados da triagem físico-química ocorrida nas situações ST1 e ST2, pode-se inferir que não há diferenças significativas entre os parâmetros (Tabela 3).

Finalmente, quando comparados os resultados do teste de Wilcoxon oriundos da sedimentoscopia entre a ST1 e ST2, é possível observar que, somente no parâmetro hemácias, ocorreram diferenças significativas (para um nível de significância de 5%) (Tabela 4).

Na sedimentoscopia, os dados revelaram que as situações ST1 e ST2 diferiram apenas na análise de hemácias, portanto, à exceção desse parâmetro, as amostras que foram submetidas a sedimentoscopia obtiveram um

Tabela 3 - Análise comparativa da triagem físico/química das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST2 (amostra centrifugada e refrigerada)

ST1/ST2	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Sang2- Sang1	,157	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Nit2 - Nit1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Prot2 - Prot1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Bilir2 - Bilir1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Glico2 - Glico1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Ceto2 - Ceto1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Urobil2 -Urobil1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Hemo2 -Hemo1	,157	ST1 = ST2, os laudos serão iguais

Sang1 - sangue na situação ST1; sang2 - sangue na situação ST2; nit1 - nitrato na situação ST1; nit2 - nitrato na situação ST2; prot1 - proteína na situação ST1; prot2 - proteína na situação ST2; bilir1 - bilirrubina na situação ST1; bilir2 - bilirrubina na situação ST2; glico1 - glicose na situação ST1; glico2 - glicose na situação ST2; ceto1 - cetona na situação ST1; ceto2 - cetona na situação ST2; urobil1 - urobilinogênio na situação ST1; urobil2 - urobilinogênio na situação ST2; hemo1 - hemoglobina na situação ST1; hemo2 - hemoglobina na situação ST2.

Tabela 4 - Análise comparativa da sedimentoscopia das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST2 (amostra centrifugada e refrigerada)

ST1/ST2	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Cel2 - Cel1	,954	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Cilin2 - Cilin1	1,000	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Crist2 - Crist1	,124	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Flora2 - Flora1	,197	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Hema2 - Hema1	,001	ST1 ≠ ST2, os laudos serão discordantes
Muco2 - Muco1	,317	ST1 = ST2, os laudos serão iguais
Pio2 - Pio1	,607	ST1 = ST2, os laudos serão iguais

Cel1 - célula na situação ST1; Cel2 - célula na situação ST2; cilindro1 - cilindro na situação ST1; cilin2 - cilindro na situação ST2; crist1 - cristais na situação ST1; crist2 - cristais na situação ST2; flora1 - flora bacteriana na situação ST1; flora2 - flora bacteriana na situação ST2; hema1 - hemácia na situação ST1; hema2 - hemácia na situação ST2; muco1 - muco na situação ST1; muco2 - muco na situação ST2; pio1 - piócito na situação ST1; pio2 - piócito na situação ST2.

resultado em maior conformidade com a situação ST1 (padrão).

Na comparação entre as situações ST1 com ST3 vê-se que, em relação aos caracteres gerais, tanto o aspecto quanto o pH apresentaram diferenças significativas, sendo assim, os laudos gerados pela situação ST1 serão discordantes em relação aos da situação ST3 (Tabela 5). Esses resultados apontam discrepâncias significativas na parte de caracteres gerais (aspecto e pH) e sedimentoscopia, onde ocorreram divergências na contagem de células, cristais, muco, hemácias e piócitos.

Quando se analisa os resultados advindos da triagem físico-química das situações ST1 e ST3 (Tabela 6), pode-se observar que não há diferença significativa entre os parâmetros analisados, sendo assim não haverá laudos discordantes nos parâmetros físico/químicos entre as situações ST1 e ST3.

Quando comparados os resultados do teste de Wilcoxon das situações ST1 e ST3 obtidos na sedimen-

Tabela 5 - Análise comparativa dos caracteres gerais das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST3 (amostra refrigerada e analisada 7 horas após a coleta)

ST1/ST3	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Asp3-asp1	,025	ST1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Cor3-Cor1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Den3 - Den1	,334	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Odor3 - Odor1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
pH3-pH1	,000	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Vol3 - Vol1	,317	ST1 = ST3, os laudos serão iguais

Asp1 - aspecto 1 na situação ST1; Asp 3 - aspecto na situação ST3; cor1 - cor na situação ST1; cor3 - cor na situação ST3; Den1 - densidade na situação ST1; Den3 - densidade na situação ST3; odor1 - odor na situação ST1; odor3 - odor na situação ST3; pH1 - Potencial hidrogeniônico (pH) na situação ST1; pH3 - Potencial hidrogeniônico (pH) na situação ST3; vol1 - volume na situação ST1; vol3 - volume na situação ST3.

Tabela 6 - Análise comparativa da triagem físico/química das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST3 (amostra refrigerada e analisada 7 horas após a coleta)

ST1/ST3	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Sang3 - Sang1	,157	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Nit3 - Nit1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Port3 - Prot1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Bilir3 - Bilir1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Glico3 - Glico1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Ceto3 - Ceto1	1,000	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Urobil3 - Urobil1	1,000	S1T = ST3, os laudos serão iguais
Hemo3 - Hemo1	,157	ST1 = ST3, os laudos serão iguais

Sang1 - sangue na situação ST1; sang3 - sangue na situação ST3; nit1 - nitrito na situação ST1; nit3 - nitrito na situação ST3; prot1 - proteína na situação ST1; prot3 - proteína na situação ST3; bilir1 - bilirrubina na situação ST1; bilir3 - bilirrubina na situação ST3; glico1 - glicose na situação ST1; glico3 - glicose na situação ST3; ceto1 - cetona na situação ST1; ceto3 - cetona na situação ST3; urobil1 - urobilinogênio na situação ST1; urobil3 - urobilinogênio na situação ST3; hemo1 - hemoglobina na situação ST1; hemo3 - hemoglobina na situação ST3.

toscopia, pode-se observar um grande número de parâmetros discordantes, com diferenças significativas, sendo eles: células, cristais, hemácias, muco e piócitos. Desse modo, a análise de uma urina pela situação temporal três (ST3) levará a um laudo discordante, para os parâmetros mencionados, como verificado na Tabela 7.

Verifica-se que a ST2 difere apenas quanto ao parâmetro de hemácias, quando se realiza uma análise utilizando a metodologia ST2 (proposta pelo presente experimento), corroborando para a obtenção de um laudo final mais próximo da situação ideal, que é a análise imediata (Tabela 8). Em se tratando da comparação entre os parâmetros analisados nas situações ST1 e ST3, a Tabela 8 demonstra que esse tipo de procedimento só não sofre

Tabela 7 - Análise comparativa da sedimentoscopia das situações ST1 (amostra não refrigerada) e ST3 (amostra refrigerada e analisada 7 horas após a coleta)

ST1/ST2	Valores de P =	Significado (para alfa de 5%)
Cel3 - Cel1	,001	ST1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Cilin3 - Cilin1	,317	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Crist3 - Crist1	,000	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Flora3 - Flora1	,385	ST1 = ST3, os laudos serão iguais
Hema3- Hema1	,000	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Muco3 - Muco1	,025	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Pio3 - Pio1	,037	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes

Sang1 - sangue na situação ST1; sang3 - sangue na situação ST3; nit1 - nitrito na situação ST1; nit3 - nitrito na situação ST3; prot1 - proteína na situação ST1; prot3 - proteína na situação ST3; bilir1 - bilirrubina na situação ST1; bilir3 - bilirrubina na situação ST3; glico1 - glicose na situação ST1; glico3 - glicose na situação ST3; ceto1 - cetona na situação ST1; ceto3 - cetona na situação ST3; urobil1 - urobilinogênio na situação ST1; urobil3 - urobilinogênio na situação ST3; hemo1 - hemoglobina na situação ST1; hemo3 - hemoglobina na situação ST3.

Tabela 8 - Análise comparativa dos parâmetros alterados no exame de urina

Comparações	Valores de P =	Exame Comparado	Significado (para alfa de 5%) dos parâmetros comparados
Hema2 - Hema1	,001	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST2, os laudos serão discordantes
Asp3-asp1	,025	Caracteres gerais	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
pH3-pH1	,000	Caracteres gerais	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Cel3 - Cel1	,001	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Crist3 - Crist1	,000	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Hema3- Hema1	,000	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Muco3 - Muco1	,025	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes
Pio3 - Pio1	,037	Sedimentoscopia	St1 ≠ ST3, os laudos serão discordantes

alteração quando confrontados os dados obtidos da triagem físico-química. Quanto às demais partes que compõem a urinálise, os caracteres gerais sofrem alterações em aspecto e pH, enquanto que na mesma comparação a sedimentoscopia sofre alteração em número de células, cristais, hemácias, muco e piócitos (Tabela 8).

Na Tabela 9, verifica-se, para a urinálise, que a hipótese levantada quanto à situação ST2 ser igual à ST1 apresenta-se favorável, pois a mesma difere em apenas um parâmetro (hemácias), sendo que este fato já está descrito na literatura como um parâmetro divergente que pode aparecer no caso da refrigeração.<sup>(7)</sup>

Tabela 9 - Comparação das hipóteses propostas no experimento

Situação	Divergência	Evidência	Interpretação
ST1=ST2	Hemácias	ST1=ST2 [diferindo em um parâmetro]	A refrigeração não constitui um bom método de conservação de amostra urinária para a realização de urinálise
ST1=ST3	Aspecto, pH, células cristais, muco, hemácias e piócitos	ST1?ST3	

Quanto à hipótese de ST3 ser igual a ST1, é demonstrado, no presente estudo, que estas condições são estatisticamente diferentes, pois vários parâmetros se tornaram discordantes, quando amostras foram analisadas após a refrigeração.

## CONCLUSÃO

A refrigeração não é um bom método de conservação de amostras urinárias.

A Situação Temporal dois (ST2) mostrou-se uma proposta alternativa para a solução dos problemas de discordâncias apresentados.

A reavaliação da norma regulamentadora vigente [ABNT], no que tange à conservação de amostras para realização de urinálise, se faz necessária, bem como é necessária a realização de estudos complementares e testes com outras situações (coleta domiciliar, por exemplo), de maneira a permitir a avaliação do impacto das discordâncias de parâmetros no laudo final.

## Summary

*This is an experimental research involving volunteers from both sexes, and age between 18 to 60 years. The samples used in this study were samples of urine. These were sent immediately to the microbiology laboratory where, under ideal conditions, were subjected to two methodologies for conservation under refrigeration, called of temporal situation ST2 and ST3 and compared to a pattern temporal situation, represented by an immediate analysis of the sample [ST1]. The results were evaluated using the Wilcoxon test,*

*which showed, in relation to situations ST1 and ST2, a significant difference in only one parameter [RBCs], while in the comparison between ST1 and ST3 situations, was obtained significant changes in various parameters such as: crystals, red blood cells, and cell aspect. The study confirms that refrigeration is not an effective method for the preservation of samples for performing urinalysis.*

## Keywords

*Quality; Inter-coolers; Urinalysis parameters.*

## REFERÊNCIAS

- Colombeli, A.S.S. & M. Falkenberg. - Comparação de bulas de duas marcas de tiras reagentes utilizadas no exame químico de urina. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 42: 85-93, 2006.
- Bolodeoku, J. & D. Donaldson. - Urinalysis in clinical diagnosis. *J Clin Pathol*, 49: 623-626, 1996.
- Strasinger, S. K. - Uroanálise e fluidos biológicos. 3. ed. São Paulo: Editora Premier, 1996.
- Ravel, R. - Laboratório clínico. Aplicações clínicas dos dados laboratoriais. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- Lammers, R. L. et al. Comparison of test characteristics of urine dipstick and urinalysis at various test cutoff points. *Annals of Emergency Medicine*, 38(5): 505-512, 2001.
- Lima, O. A. et al. - Métodos de laboratório aplicados à clínica: Técnica interpretação. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- Henry, J.B. - Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20ª ed. São Paulo: Manole, 2008.
- Associação Brasileira De Normas Técnicas. Laboratório clínico: requisitos e recomendações para o exame de urina, NBR 15268. Rio de Janeiro, 2005. 8p.
- Gabriel JR., A. et al. - Validação do sistema de transporte e das dosagens de amostras biológicas enviadas para a central de um laboratório de grande porte. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 43: 235-240, 2007.
- Vallada, E. P. - Manual de exame de urina. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
- Morettin, P.A. & Bussab, W. O. - Estatística básica. 5a ed. São Paulo: Saraiva, 2005.

Correspondência

**Adriano Carlos Soares**

*Curso de Farmácia; Engenharia; Química e Ciências Biológicas  
Centro Universitário de Caratinga  
BR 116 - KM 526 – Bairro das Graças  
35300-000 – Caratinga, MG, Brasil  
Fone: 033 33294590; E-mail: adrianosoares@funec.br*

## Leishmaniose visceral humana registrada no estado do Pará, Brasil

### Visceral leishmaniasis records In the Pará state, Brazil

Igor Teles de Menezes Macedo Chaves  
Marily Borges Pacheco

#### Resumo

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença infecciosa causada pelo protozoário *Leishmania chagasi*, sendo um problema de saúde pública. É transmitido pela picada do inseto *Lutzomyia longipalpis*. Assim, é comumente observada em regiões tropicais e subtropicais do planeta. O objetivo deste estudo foi analisar os dados obtidos no Serviço de Leishmaniose do Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN/PA). Foram analisadas 4.897 amostras sorológicas, onde 1.729 (35%) foram positivas. Através dos resultados encontrados, observou-se a necessidade de um maior controle em relação à doença

#### Palavras-chave

Leishmaniose; Leishmaniose visceral; Calazar

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar, como é mais conhecida, é uma zoonose típica de regiões tropicais, causada por protozoários pertencente à família *Trypanosomatidae* e gênero *Leishmania*. Apresentam uma forma promastigota, que se desenvolve no trato alimentar de um hospedeiro intermediário, e a forma amastigota, que se localiza e se multiplica no interior de células do sistema mononuclear fagocitário de um hospedeiro vertebrado.<sup>(1)</sup>

A transmissão de *Leishmania chagasi*, principal agente etiológico da LV, no Brasil, se dá pela picada de fêmeas de insetos dípteros, pertencentes à família *Psychodidae*, gênero *Lutzomyia*, cujo principal vetor é a espécie *Lutzomyia longipalpis*.<sup>(2)</sup> Na Europa, *Phlebotomus* é o principal gênero de díptera envolvido. Não há relatos de transmissão pessoa a pessoa tanto no Brasil quanto no continente europeu.<sup>(3)</sup> No mundo, há uma variedade de espécies de *Leishmania* que causam doença (algumas fatais), atingindo cerca de 12 milhões de pessoas em 90 países. Cerca de 2 milhões de novos casos surgem a cada ano, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Com o aumento das viagens internacionais, a leishmaniose está sendo importada para áreas não endêmicas.<sup>(4)</sup>

No Brasil, epidemias urbanas foram observadas em várias cidades e a doença tem sido verificada como infecção oportunista em pacientes com AIDS, à semelhança do que se observa no sul da Europa.<sup>(5)</sup> Vale ressaltar que a LV é endêmica em 20 Unidades Federadas, tendo sido registradas médias anuais de 3.380 novos casos, incidência de 2/100.000 habitantes e letalidade de 5,3%, no período de 1994 a 2003.<sup>(6)</sup>

O repasse da informação correta sobre a LV à população por diferentes meios de comunicação pode constituir ferramenta importante para as ações de prevenção e controle da doença.<sup>(7)</sup> A internet é principalmente utilizada pela população urbana e pode auxiliar na disseminação de informação de diferentes áreas do conhecimento, incluindo as relativas à saúde, prevenção e controle de doenças.<sup>(8)</sup>

Desse modo, o presente estudo tem o propósito de analisar os dados obtidos no Serviço de Leishmaniose do Laboratório Central do Estado do Pará (LACEN/PA), durante o período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008, com o intuito de auxiliar os profissionais do sistema de saúde no controle da doença.

## MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo de 4.897 casos de LV, no período de janeiro/2004 a dezembro/2008, obtidos por verificação das fichas de notificações epidemiológicas encaminhadas por diversos municípios ao Serviço de Leishmaniose do LACEN/PA, para diagnóstico confirmado através da pesquisa de anticorpos pela técnica de imunofluorescência indireta. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram título sorológico igual ou superior a 1/80.

## RESULTADOS

No ano de 2004, dos 663 casos analisados, 243 foram positivos (36,6%); em 2005 dos 814 casos, 314 foram positivos (38,6%); em 2006 dos 1.179 casos, 385 foram positivos (32,6%); em 2007 dos 1.194 casos, 356 foram

Trabalho realizado no Laboratório Central do Estado do Pará – LACEN/PA

<sup>1</sup>Divisão de Biologia Médica, Serviço de Leishmaniose – LACEN/PA

<sup>2</sup>Divisão de Análises de Produtos, Serviço de Toxicologia – LACEN/PA

positivos (29,8%) e, em 2008, dos 1.047 casos, 431 foram positivos (41,16%), ou seja, do total de casos de LV diagnosticados pelo LACEN/PA nos últimos cinco anos, 1.729 (35%) foram positivos e 3.168 (65%) foram negativos. O maior número de casos positivos (431) ocorreu no ano de 2008.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados obtidos, verificou-se que a LV acometeu 35% dos indivíduos. Tal valor foi mais baixo do que os dados mostrados na literatura consultada, onde se observou valores entre 42% a 75,5%.<sup>(9-11)</sup> Estes valores indicam a necessidade de um maior controle sobre a doença, através da capacitação profissional e divulgação de informações sobre a LV.<sup>(7,12)</sup> É necessária a manutenção de políticas públicas voltadas para a continuação do tratamento com antiparasitários, bem como a consolidação da educação continuada, tanto para a população, quanto para os profissionais da saúde envolvidos no controle da doença.

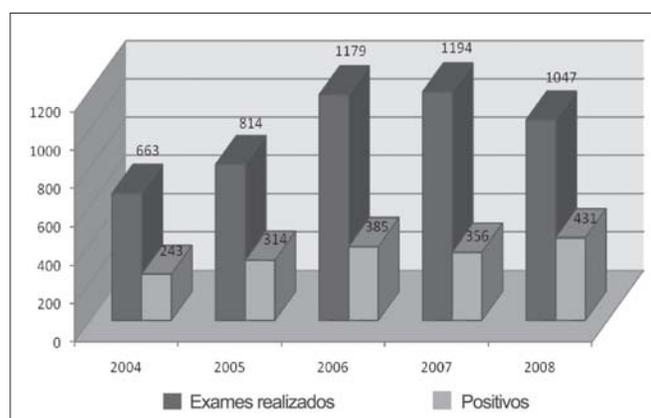


Figura 1. Número de casos de LV no Estado do Pará, entre os anos de 2004 e 2008, com respectiva positividade diagnosticada pelo LACEN/PA.

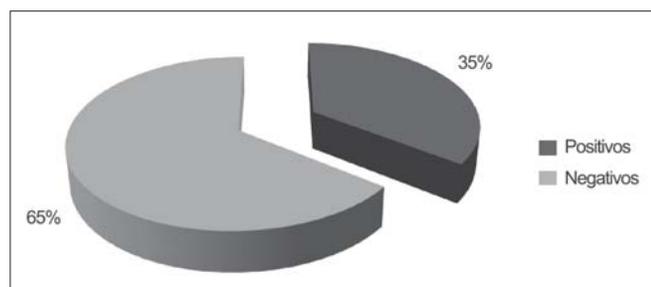


Figura 2. Resultados dos exames de imunofluorescência realizados no período de janeiro 2004 a dezembro 2008 pelo LACEN/PA.

### Abstract

The visceral leishmaniasis (VL) is an infectious disease caused by protozoan *Leishmania chagasi*, is a problem for public health. It is transmitted by the bite of *Lutzomyia longipalpis* insect. Thus, it is commonly found in tropical and subtropical regions of the planet. This study aimed to analyze the data obtained in the Office of the Central Laboratory of Leishmaniasis of the State of Pará (LACEN/PA). Four thousand eight hundred and ninety-seven (4.897) serum samples were analyzed, where 1.729 (35%) were positive. According to these results, a better control of the disease is necessary.

**Keywords:** Leishmaniosis; Visceral leishmaniasis; Calazar

## REFERÊNCIAS

1. Feitosa MM, et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no Município de Araçatuba - São Paulo (Brasil). Rev. Clin. Vet. 2000;5(28):36-44.
2. Rey L. Parasitologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.
3. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 3ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2004. 200 p. v.: II.
4. Rang HP, Dale MM. Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.
5. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral grave: normas e condutas. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 60 p.
6. Maia-Elkhoury AN, Carmo EH, Sousa-Gomes ML, Mota EI. Analysis of visceral leishmaniasis reports by the capture-recapture method. Rev Saude Publica. 2007;41(6):931-7. [Article in Portuguese]
7. Luz ZM, Schall V, Rabello A. Evaluation of a pamphlet on visceral leishmaniasis as a tool for providing disease information to healthcare professionals and laypersons. Cad Saude Publica. 2005;21(2):606-2.
8. Souza CLN, Luz ZP, Rabello A. Análise da informação sobre a leishmaniose visceral disponível em portais brasileiros da rede mundial de computadores: internet. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2008;41(4):352-7.
9. Costa CHN, Tapety CMM, Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2007;40(4):415-9.
10. Mestre GLC, Fontes CJF. A expansão da epidemia da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2007;40(1):42-8.
11. Silva AR, et al. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral, na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2008;41(4):358-64.
12. Luz ZM, Carneiro M, Schall V, Rabello A. The organization of health services and visceral leishmaniasis: an integrated intervention to improve diagnosis and treatment. Cad Saude Publica. 2009;25(5):1177-8.

Correspondência

**Igor Teles de Menezes Macedo Chaves**  
Lacen/PA – Laboratório Central do Estado do Pará  
Divisão de Biologia Médica – Serviço de Leishmaniose  
Rodovia Augusto Monte Negro, KM 10,  
Distrito de Icoaraci  
66823-010 – Belém, PA  
Tel: (91) 3202-4900 / 3202-4903  
igortchaves@gmail.com

## Estudo neonatal das hemoglobinopatias realizado em laboratório privado de Fortaleza-CE, Brasil

### *Study of neonatal hemoglobinopathy held in private laboratory of Fortaleza-CE, Brazil*

Odalécia Torres Carneiro<sup>1</sup>  
Romélia Pinheiro Gonçalves<sup>2</sup>  
Luís Gonzaga Moura Xavier<sup>3</sup>

#### **Resumo**

As hemoglobinopatias são as doenças genéticas mais frequentes na população humana. Cerca de 12 a 15% da população no mundo é portadora de uma ou mais formas de hemoglobinas anormais, resultando em um grande problema de saúde pública. O diagnóstico neonatal possibilita o tratamento e o aconselhamento genético precoce, incluindo a conscientização dos portadores sobre o risco do nascimento de homocigotos. O presente estudo teve o objetivo de determinar a frequência das hemoglobinopatias entre os recém-nascidos que se submeteram à triagem neonatal em laboratório privado de Fortaleza-CE, no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2008. Trata-se de um estudo retrospectivo, através de uma pesquisa realizada em 3.587 cromatogramas de recém-nascidos, submetidos aos testes de triagem neonatal. As amostras de sangue dos recém-nascidos foram coletadas em papel de filtro e a técnica utilizada foi à cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Dos 3.587 cromatogramas estudados, 47 (1,31%) apresentaram hemoglobinas anormais, das quais, 37 (1,03%) Hb AS, 08 (0,22%) Hb AC, 01 (0,03%) Hb AD-Los Angeles e 01 (0,03 %) Hb SS. A prevalência de 1,31% de hemoglobina anormais observada neste estudo foi compatível com dados da literatura nacional e regional.

#### **Palavras-chave**

Hemoglobinopatias; Triagem neonatal; anemia falciforme

## INTRODUÇÃO

As hemoglobinas anormais são decorrentes, fundamentalmente, de duas causas: alteração na estrutura da molécula, onde a substituição de um simples aminoácido por outro diferente produz a formação de hemoglobinas variantes e desequilíbrio quantitativo na produção de cadeias alfa, beta, gama ou delta, dando origem às diferentes formas de talassemias, que são distinguidas de acordo com a supressão parcial ou total da cadeia afetada.<sup>(1)</sup>

A anemia falciforme é uma hemoglobinopatia hereditária caracterizada pela mutação no gene da globina, onde há a substituição do ácido glutâmico pela valina na 6ª posição da cadeia beta. A troca de aminoácidos favorece a polimerização e a formação de tactoídes (rígidos cristais capazes de deformar o eritróide, assumindo a forma de foice), sob condições de baixo teor de oxigênio ou baixo pH. Isto levará ao aumento da viscosidade sanguínea, estase e obstrução mecânica das pequenas artérias e capilares, ocasionando encurtamento da vida média dos glóbulos vermelhos, fenômenos de vaso-oclusão e episódios de dor e lesão de órgãos.<sup>(2)</sup>

O traço falciforme se caracteriza pela presença da Hb S na forma heterocigota. O portador não apresenta alterações clínicas e hematológicas evidentes. As crises podem ocorrer em situações onde a tensão de oxigênio é muito baixa a exemplo de vôos em cabines não pressurizadas, anemias, casos de anestesia geral no período de hipóxia e grandes altitudes.<sup>(3)</sup>

Na hemoglobinopatia C, ocorre a substituição do ácido glutâmico pela lisina na posição 6 da cadeia  $\beta$ . A consequência dessa mutação é a cristalização da hemoglobina na parte central do eritrócito, caracterizando a célula-alvo.<sup>(4)</sup> Os portadores heterocigotos são assintomáticos e os homocigotos são caracterizados por anemia hemolítica de intensidade variável.<sup>(5)</sup>

Na hemoglobinopatia D, os heterocigotos não apresentam anomalias hematológicas e os homocigotos têm anemia hemolítica leve.<sup>(6)</sup>

A triagem neonatal tem o objetivo de diagnosticar precocemente as doenças, que habitualmente não apresentam sintomas neste período e assim intervir no seu curso natural.<sup>(7)</sup> Assim, julgamos oportuna a investigação da frequência de hemoglobinas variantes através do teste de

<sup>1</sup>Farmacêutica-Bioquímica, Aluna do Curso de Especialização em Hematologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da UFC.

<sup>2</sup>Professora Associado de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológica da FFOE/UFC.

<sup>3</sup>Médico Patologista do Laboratório Clementino Fraga, Mestrado em Saúde Pública pela UFC e Mestrando em Patologia pela UFC.

pezinho em recém-nascido. Ressalta-se a importância do estudo considerando que o diagnóstico precoce configura-se como um ganho e um avanço das ações de saúde, principalmente no que diz respeito à redução de complicações e risco de morte.<sup>(6)</sup>

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi conduzido um estudo retrospectivo, através de uma pesquisa realizada em 3.587 cromatogramas de recém-nascidos, submetidos aos testes de triagem neonatal em um laboratório privado de Fortaleza-CE, no período de Janeiro de 2005 a Dezembro de 2008.

A coleta de sangue dos recém-nascidos foi realizada nos primeiros dias de vida, por punção com lanceta padronizada no calcanhar do paciente. As amostras de sangue foram coletadas em papel de filtro.

A técnica utilizada foi a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), estabelecida pelo sistema automatizado Variant (Bio-Rad),<sup>(9)</sup> que proporciona um processamento rápido das amostras com alto índice de reprodutibilidade e exatidão, constituindo-se num excelente método para triagem neonatal.

As informações demográficas foram pesquisadas no banco de dados do laboratório, onde os resultados dos exames ficam armazenados.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, de acordo com a Resolução n° 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

## RESULTADOS

No período de janeiro de 2005 a dezembro de 2008, foram analisados 3.587 cromatogramas de recém-nascidos. Desses, 3.540 (98,69%) apresentaram fenótipos hemoglobínicos normais e 47 (1,31%) anormais (Figura 1).

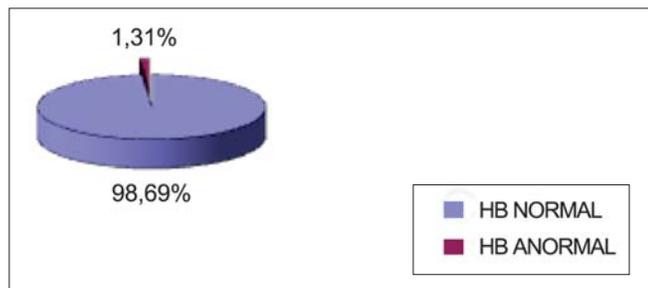


Figura 1. Distribuição percentual das hemoglobinas encontradas nos recém-nascidos.

A Figura 2 apresenta os fenótipos hemoglobínicos onde foram evidenciados 3.540 (98,69%) Hb AA; 37 (1,03%) Hb AS; 01 (0,03%) Hb SS; 08 (0,22%) Hb AC; 01 (0,03%) Hb AD.

A frequência de recém-nascidos do sexo feminino foi ligeiramente maior que a do sexo masculino. Dos 1.818 (50,68%) recém-nascidos do sexo feminino, 20 (1,10%) apresentaram hemoglobinas anormais, assim como dos

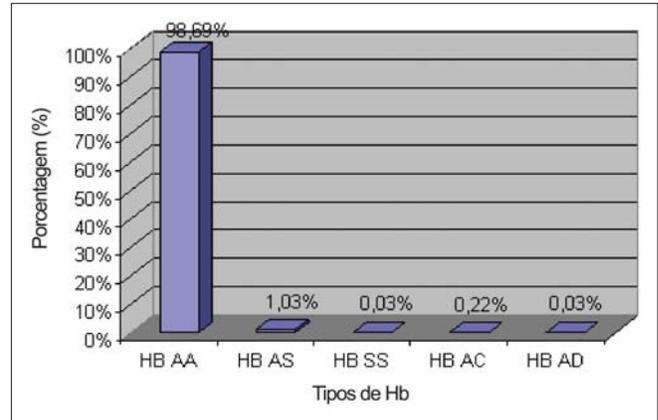


Figura 2. Estratificação dos recém-nascidos em relação ao tipo de hemoglobina.

1.769 (49,32%) do sexo masculino, 27 (1,52%) com hemoglobinas anormais.

## DISCUSSÃO

O presente estudo nos permitiu a identificação de 1,31% de recém-nascidos com fenótipos hemoglobínicos anormais, onde as hemoglobinas prevalentes foram Hb AS (1,03%) e Hb AC (0,22%).

Segundo dados divulgados pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), no período de 2001 a 2005, foram identificados 284 portadores de fenilcetonúria; 2.270 portadores de hipotireoidismo congênito; 2.554 portadores de hemoglobinopatias; e 68 portadores de fibrose cística. Como se pode observar, as hemoglobinopatias são as doenças genéticas mais frequentes entre recém-nascidos brasileiros, quando comparadas às demais doenças diagnosticadas pelo PNTN10.

A prevalência das hemoglobinopatias na população é variável entre as regiões brasileiras, pois está intimamente ligada ao processo de formação étnica de cada uma delas.<sup>(11)</sup> Dentre as hemoglobinas variantes, as mais frequentes são a Hb S e a C, ambas de origem africana, mostrando a intensa participação de negros na composição populacional brasileira.<sup>(12)</sup>

Na literatura relativa aos dados brasileiros, podem ser citados alguns trabalhos de diagnóstico neonatal de hemoglobinopatias. Em Pernambuco, de 1996 a 1997, foram encontrados 105 (5,3%) recém-nascidos com presença de Hb S. Destes, 102 (5,1%) Hb AS e 3 (0,2%) Hb SC.<sup>(13)</sup> Outro estudo, no Rio Grande do Norte, em 2001, foram analisadas 1.940 amostras de sangue de cordão umbilical, sendo que 37 (1,91%) apresentaram hemoglobinas anormais, das quais 29 (1,5%) Hb AS, seis (0,31%) Hb C, uma (0,05%) Hb SS e uma (0,05%) Hb Bart's, sugerindo alfa talassemia.<sup>(14)</sup> A prevalência de 1,5% para o traço falciforme encontrada no Rio Grande do Norte e 1,31% no Ceará mostrou-se inferior à observada em Pernambuco (5,1%). Essa diferença pode ser

explicada pelo grande contingente de escravos africanos trazidos para o estado de Pernambuco, durante o período colonial brasileiro, fato que não ocorreu no Rio Grande do Norte e Ceará.

Embora se saiba que não existe relação entre a prevalência de hemoglobinas anormais e sexo dos recém-nascidos, uma vez que o gene responsável por essa doença não está ligado ao sexo e sim a genes autossômicos dominantes que estão localizados nos cromossomos 11 e 16, como nota, no presente estudo, os recém-nascidos do sexo masculino apresentaram maior prevalência de hemoglobinas variantes do que os do sexo feminino, assim como no trabalho realizado, em outra instituição, no período de 2001 a 2002, no Ceará.<sup>(9)</sup>

Em 2002, Gomes realizou uma investigação de Hb anormais em recém-nascidos no Hospital Infantil Albert Sabin, Fortaleza-CE, encontrando uma incidência de 4,15%. A prevalência de Hb AS (3,56%) mostrou-se superior a Hb AC (0,30%).<sup>(4)</sup> Sousa, em 2005, realizou um estudo sobre as hemoglobinopatias em população infantil de um município maranhense, onde obteve índice de hemoglobinas normais de 94,9% e hemoglobinas anormais de 5,1%, sendo que Hb AS 4,6% e Hb AC 0,5%, também mostrando a superioridade das Hb AS sobre as Hb AC.<sup>(6)</sup> Ao que se refere à prevalência das Hb AS sobre Hb AC, os nossos resultados foram semelhantes, constatando-se, então, que a hemoglobina S é a hemoglobina estrutural anormal mais observada em nosso meio.

A detecção de indivíduos portadores de hemoglobinas variantes é extremamente importante para a saúde pública, pois, além de representarem fonte de novos heterozigotos, podem, por meio de casamentos entre portadores, dar origem a indivíduos homozigotos (SS) e duplos heterozigotos (SC).<sup>(15)</sup>

## CONCLUSÃO

- O resultado deste estudo mostrou uma frequência de 1,31% de hemoglobinas anormais nos recém-nascidos;
- As hemoglobinas variantes mais frequentes foram Hb AS e Hb AC;
- Observou-se maior prevalência de hemoglobinopatia no sexo masculino;
- A triagem neonatal permite o diagnóstico e o tratamento precoce dessas hemoglobinopatias, aumentando a sobrevivência e a qualidade de vida dos seus portadores, diminuindo as suas sequelas e atenuando as suas complicações clínicas.

### Abstract

*Hemoglobinopathies are the most frequent genetic diseases in the human population. Roughly 12 to 15% of the world's population carries one or more forms of abnormal hemoglobin, resulting in a major public health problem. The neonatal diagnosis enables early treatment and genetic counseling, including carriers aware of the risk of homozygote. This study aimed to determine frequency of hemoglobin among infants who underwent neonatal screening in the private Fortaleza, from January 2005 to December 2008. This is a retrospective study through a survey conducted in 3587 chromatograms of newborns tested for neonatal screening. Blood*

*samples of newborns were collected on filter paper and the same technique to liquid chromatography (HPLC). Chromatograms of 3587, 47 (1.31%) had abnormal hemoglobin, of which 37 (1.03%), Hb AS, 08 (0.22%) Hb AC, 01 (0.03%) Hb AD-Los Angeles and 01 (0.03%) Hb SS. The prevalence of 1.31% abnormal hemoglobin observed in this study was consistent with literature data nationally and regionally.*

### Keywords

*Hemoglobinopathies; Neonatal; Sickle cell anemia*

## REFERÊNCIAS

1. Naoum PC, Angulo IC, Brandão AC, Graciano RAS, Spir M, Nomura E, Anjos I. D. Detecção e conscientização de portadores de hemoglobinopatias nas regiões de São José do Rio Preto e Presidente Prudente, SP (Brasil). *Rev Saúde Pública*. 1985;19(4):364-73.
2. Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997. p. 69-72.
3. Azevedo M R A. Hematologia básica: fisiologia e estudo laboratorial. 4. ed. São Paulo: Livraria Luana, 2008. p.137-140.
4. Gomes FVBAF, Cordeiro VF, Matos JC. Perfil eletroforético das hemoglobinas em pacientes de 0 a 2 anos do Hospital Universitário Infantil Albert Sabin. In: Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia, São Paulo. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 2003.
5. Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 19. ed. Manole Ltda, 1999. p. 641-643.
6. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Fundamentos em Hematologia. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.20-24.
7. Mendonça AC, Garcia JL, Almeida CM, Megid TBC, Fabron A Jr. Muito além do "Teste do Pezinho". *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2009;31(2):88-93.
8. Sousa FG M, Araújo TL. Hemoglobinopatias em população infantil de um município maranhense. *Rev Enferm UERJ*, Rio de Janeiro. 2005;13(3):325-30.
9. Pinheiro LS, Gonçalves RP, Tomé CAS, Alcântara AEE, Marques A RC, Da Silva MMM. Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006;28(2):122-5.
10. Diniz D, Guedes C, Barbosa L, Tauil PL, Magalhães I. Prevalência do traço e da anemia falciforme em recém-nascidos do Distrito Federal, Brasil, 2004 a 2006. *Rev Saúde Pública*. 2009;25(1):188-94.
11. Melo-Reis PR, Araújo LMM, Dias-Penna KGB, Mesquita MM, Castro FS, Costa SHN. A importância do diagnóstico precoce na prevenção das anemias hereditárias. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2006;28(2):149-52.
12. Zanatta T, Manfredini V. Comparação entre métodos laboratoriais de diagnóstico de doenças falciformes. *NewsLab*. 2009;94:180-94.
13. Bandeira FMGC, Leal MC, Souza RR, Furtado VC, Gomes YM, Marques NM. Características de recém-nascidos portadores de hemoglobinas "S" detectados através de triagem em sangue de cordão umbilical. *J. Pediatr*. 1999;75:167- 71.
14. Araújo MCPE, Serafim ESS, De Castro Jr., WAP, De Medeiros TMD. Prevalência de Hemoglobinas anormais em recém-nascidos da cidade de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2004;20(1):123-8.
15. Orlando GM, Naoum PC, Bonini-Domingos CR. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000;22(2):111-21.

Correspondência

**Odalécia Torres Carneiro**

Rua Eduardo Sabóia, 75 / Bloco: B, Apto. 201 – Papicu  
60175-145 – Fortaleza – CE, Brasil  
Tel.: (85) 88320970/(85) 99033393  
E-mail: odalecia@yahoo.com.br

## Prevalência de enteroparasitas em crianças de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá - SP, Brasil

### Prevalence of intestinal parasites in children of a poor community in city of Guaratinguetá - SP, Brazil

Ana Paula Pereira Rosa<sup>1</sup>

Fabiana Conceição Abissi da Silva<sup>1</sup>

Mariana Saraiva Porte Fernandes<sup>1</sup>

Marina Conde Malta Dias<sup>1</sup>

Ana Maria Cuglianna<sup>2</sup>

#### Resumo

As enteroparasitoses constituem um dos principais problemas de saúde pública, apresentando-se de forma endêmica em diversas áreas do Brasil. A população de maior risco é a infantil e, por esta razão, objetivou-se realizar um trabalho junto às crianças assistidas pela Pastoral da Criança da Igreja Católica de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá, SP. Do total de 100 amostras fecais analisadas, 54,0% foram negativas e 46,0% foram positivas para um ou mais parasitas, assim distribuídos: 60,9% parasitados por *Endolimax nana*; 23,9% por *Giardia lamblia*; 21,7% por *Entamoeba coli*; 6,5% por *Iodamoeba butschilii*; 21,7% por *Trichuris trichiura*; 17,4% por *Ascaris lumbricoides*; 4,4% por *Enterobius vermicularis*; 4,4% por *Strongyloides stercoralis*; 2,2% por Ancilostomídeos.

#### Palavras-chave

Parasitoses intestinais; Crianças; Epidemiologia

## INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais são processos patológicos mais comuns no mundo, sendo endêmicas principalmente em países em desenvolvimento, constituindo-se um grave problema de saúde pública nestas regiões. No Brasil, nos últimos anos, tem se verificado a redução da prevalência das infestações por enteroparasitas, no entanto, algumas áreas consideradas mais pobres mostram ainda taxas próximas a 30%, quando se considera a ocorrência de pelo menos uma classe de enteroparasitas.<sup>(1)</sup>

Inúmeros trabalhos têm evidenciado o alto grau de infestação por enteroparasitas em pessoas das mais variadas idades, mas os indivíduos jovens continuam sendo os mais atingidos por esses patógenos. Infelizmente, é nessa faixa etária que as consequências exercidas pela parasitose tornam-se mais acentuadas, estabelecendo uma causa importante de morbidade e mortalidade.<sup>(2)</sup> Vários estudos têm mostrado que a educação continuada contribuem para a diminuição da prevalência das enteroparasitoses, mas para que isso ocorra, é preciso que se tenha completo conhecimento da realidade em que a população afetada esta inserida.<sup>(3)</sup>

Em função da enorme extensão do território brasileiro e das barreiras geográficas, uma grande quantidade de locais no país não são cobertos pelos agentes de saúde. Com acesso difícil, a população permanece sem informação acerca de prevenção e controle das doenças às quais estão

expostas.<sup>(4)</sup>

O objetivo deste estudo foi verificar a frequência de infecções causadas por parasitas intestinais em lactentes e escolares moradores de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá/SP e assistidas pela Pastoral da Criança mantida pela Igreja Católica. A escolha desta comunidade foi baseada no fato de que apresentam características sociopolíticodemográficas que podem contribuir para uma alta prevalência de enteroparasitas, já que se trata de uma região precária em termos de saneamento básico e urbanização e com uma população de baixa renda.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desse estudo, 128 crianças, de ambos os sexos, entre lactentes e escolares, e assistidas pela Pastoral da Criança de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá-SP foram incluídas. Trata-se de um estudo quantitativo analítico-descritivo avaliado estatisticamente por porcentagem simples em programa Excel. No período de mai/08 a fev/09, foram realizadas 121 visitas domiciliares, sendo que destas, 69 foram para a entrega dos potes coletores, recolhimento das assinaturas dos termos de consentimento livre e esclarecido e 52 foram acompanhadas de médico pediatra para a propedêutica dos casos positivos, para enteroparasitas.

As amostras fecais, uma por criança estudada, eram identificadas conforme a ordem de obtenção das mesmas e

<sup>1</sup>Acd. Enf. das Faculdades Integradas Teresa D'Ávila - Lorena, SP.

<sup>2</sup>Profa. Ms. de Parasitologia das Faculdades Integradas Teresa D'Ávila - Lorena, SP.

recolhidas semanalmente num montante de dez e encaminhadas ao Laboratório Médico Vital Brasil. Essas amostras foram analisadas utilizando-se o método de sedimentação.<sup>(5)</sup>

### RESULTADOS

Foram entregues em visitas domiciliares 128 potes coletores universais. O percentual de retorno do material coproparasitológico foi de 78,13%, ou seja, foram analisadas 100 amostras fecais, sendo que o maior percentual [57,0%] pertencia ao sexo feminino. Do total de amostras analisadas, 46,0% foram positivas e, destas, 48,9% estavam infectadas por um único parasita e 51,1% por mais de um organismo parasitário. Das 46 amostras positivas, o maior percentual foi também do sexo feminino [60,87%] [Gráfico 1].

Dentre os parasitas observados, o protozoário mais prevalente foi a *Endolimax nana* com um percentual de

60,9% (n=28). Dos protozoários patogênicos, a *Giardia lamblia* foi a mais encontrada, com 23,9% (n=11), seguida da *Entamoeba coli*, com 21,7% e da *Iodamoeba butschilii*, com 6,5% (n=3).

Com relação aos helmintos, *Trichuris trichiura* foi o mais observado, com um percentual de 21,7% (n=10), seguido pelo *Ascaris lumbricoides* com 17,4% (n=8), *Enterobius vermicularis* com 4,4% (n=2), *Strongyloides stercoralis* com 4,4% (n=2) e *Ancilostomídeos* com 2,2% (n=1).

A maior diversidade de parasitas encontrados em uma mesma amostra somou 04 organismos diferentes (*Enterobius vermicularis* + *Entamoeba coli* + *Endolimax nana* + *Iodamoeba butschilii*), num percentual de 2,17%. A associação mais comum encontrada foi *Ascaris lumbricoides* + *Trichuris trichiura* + *Giardia lamblia*, com taxa de 10,86% (n=5), seguida de *Entamoeba coli* + *Endolimax nana*, com 8,68% (n=4) do total de associações (Tabela 1).

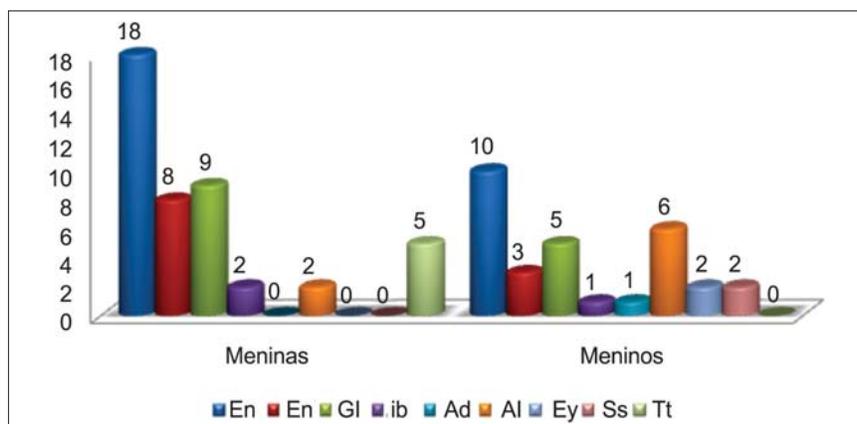


Gráfico 1. Distribuição da prevalência de enteroparasitas por espécie observados em função do sexo, ao exame de fezes de 100 crianças de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá/SP.

Legenda: En – *Endolimax nana*; Ec – *Entamoeba coli*; Gi – *Giardia lamblia*; Ib – *Iodamoeba butschilii*; Ad – *Ancylostoma duodenale*; Al – *Ascaris lumbricoides*; Ey – *Enterobius vermicularis*; Ss – *Strongyloides stercoralis*; Tt – *Trichuris trichiura*

Tabela 1 - Distribuição dos enteroparasitas por espécie e suas associações observado em função do sexo, ao exame de fezes de 100 crianças de uma comunidade carente do município de Guaratinguetá-SP

Associações de parasitas	Sexo feminino (n=28)	Sexo masculino (n=18)	% (n=46)
H + H			
Ac + Al + Tt	-	1	2,17
Al + Ss	-	1	2,17
H + P			
Al + Ss + En	-	1	2,17
Al + Tt + Gi	-	3	10,86
Ev + En	-	1	2,17
Ev + Ec + En + Lb	-	1	2,17
Ss + En	1	-	2,17
Tt + Ec + En	1	-	2,17
Tt + En	-	1	2,17
Tt + Gi	2	-	4,34
P + P			
Ec + En	3	1	8,68
Ec + En + Lb	1	-	2,17
En + Gi	1	1	4,34
En + Lb	1	-	2,17

H = helmintos; P = protozoários; Em = *Endolimax nana*; Ec = *Entamoeba coli*; Gi = *Giardia lamblia*; Lb = *Iodamoeba butschilii*; Ac = *Ancilostomídeos*; Al = *Ascaris lumbricoides*; Ev = *Enterobius vermicularis*; Ss = *Strongyloides stercoralis*; Tt = *Trichuris trichiura*

## DISCUSSÃO

Os percentuais de positividade encontrados neste estudo conflitam com aqueles encontrados no estudo realizado por Macedo et al,<sup>(4)</sup> em pré-escolares de uma instituição pública da região centro-sul de Manaus-AM, onde o percentual de amostras positivas foi de 52,12%.

O alto percentual de parasitos intestinais aqui observados foi obtido utilizando-se apenas uma única amostra fecal, o que é relevante se comparado com os 17,91% de positividade obtidos no estudo de Komagome et al,<sup>(6)</sup> que utilizou três amostras fecais e analisou o material por mais de um método de diagnóstico. Estes dados também podem ser indicadores de que além da possibilidade de existir um número muito maior de crianças parasitadas, outros membros das famílias pesquisadas também podem estar positivos.

Ao se analisar a correlação entre as faixas etárias e a distribuição percentual dos principais agentes encontrados, observa-se que as crianças com idade entre 9 e 12 anos tiveram uma maior taxa de enteroparasitas, ou seja, 39,13% (n=18). Isto demonstra que a exposição a fatores de riscos externos sobrepõe-se aos fatores de proteção orgânicos e contribuem para a alta prevalência de parasitas intestinais nesta faixa etária. Fato este também considerado nos estudos de Marquez et al,<sup>(7)</sup> em Londrina-PR, e Rocha et al,<sup>(8)</sup> em Natal-RN.

Ressalta-se que o percentual encontrado de protozoários foi superior ao observado por Sales et al,<sup>(9)</sup> que relataram ter encontrado 39,4% para *Endolimax nana*, 33,8% para *Entamoeba coli*, 14,1% para *Giardia lamblia* e 2,8% para *Iodamoeba butschilii*. Com relação aos helmintos, os achados são contrários aos mencionados por Macedo et al,<sup>(4)</sup> em Manaus-AM, onde o percentual encontrado foi de 20,4% para *Ascaris lumbricoides* e 10,2% para *Trichuris trichiura* e aqueles relatados por Carvalho et al,<sup>(10)</sup> onde a maior prevalência foi de *Ascaris lumbricoides* com 10,3%, seguida de *Trichuris trichiura* com 4,7%, *Ancilostomídeos* com 2,9% e *Enterobius vermicularis* com 1,2%. Não obstante esses percentuais, constata-se que *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* são os parasitas intestinais mais frequentes na infância, o que é corroborado por diversos outros estudos.<sup>(9,11-13)</sup>

A maior prevalência de protozoários intestinais (69,33%) em relação aos helmintos (30,67%) se deve, provavelmente, ao fato de que 100% das residências da comunidade estudada não têm rede de esgoto e sim fossa séptica como única forma de esgotamento sanitário e seus dejetos são depositados próximos aos domicílios. Houve semelhança nos percentuais encontrados por Gilio et al<sup>(14)</sup> em índios da reserva Rio das Cobras, no município de Nova Laranjeiras-PR, e com os resultados encontrados no estudo de Macedo et al<sup>(15)</sup> em escolas da rede municipal de Paracatu-MG.

Dentre os helmintos, a grande maioria das infestações se deu por aqueles organismos cuja contaminação

se faz pela ingestão de ovos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis*), quando comparado com os parasitos cuja infectividade ocorre por penetração da pele como os *Ancilostomídeos* e *Strongyloides stercoralis*. Apesar do percentual de 4,4% para *Enterobius vermicularis* ser relativamente baixo, isso pode estar ligado a um resultado falso negativo, pois o melhor método para sua análise é o da fita adesiva ou método de Graham, segundo De Carli.<sup>(16)</sup>

A situação precária da maioria das famílias estudadas é um fator crítico. Muitas delas vivem em casas sem assoalho, as crianças andam descalças e não possuem hábitos corretos de higiene e alimentação. A essa problemática somam-se ainda um número elevado de indivíduos por família, presença de um único banheiro, uso de dormitório coletivo, elevada quantidade de animais domésticos. Um outro fator de extrema relevância é a ausência de atenção básica à saúde, pois a Unidade Básica de Saúde - UBS mais próxima fica à 10 km de distância, o que, de certa forma, leva a um afastamento da população desta comunidade dos programas do Ministério da Saúde. Situação semelhante à dessa comunidade tem sido também apontada por diversos outros autores em diferentes estudos.<sup>(12,17-20)</sup>

## CONCLUSÃO

Em países em desenvolvimento, a falta de abastecimento de água potável e saneamento básico associados à pobreza e nutrição inadequada têm sido um dos principais fatores responsáveis pelos elevados índices de morbidade e mortalidade infantil. As enteroparasitoses têm maior prevalência nas classes salariais mais baixas e com menor nível escolar. A prevenção dos agravos à saúde depende, portanto, de se avaliar não apenas o perfil epidemiológico, mas também as características de vida, cultura, práticas e atitudes da comunidade. O presente estudo, não apenas corrobora com este fato, mas também mostra que os percentuais de positividade das amostras fecais para enteroparasitas condizem com outros trabalhos publicados na literatura que estudaram populações semelhantes. A implementação de medidas de saneamento básico e programas assistenciais e educativos são fundamentais para a redução da prevalência de enteroparasitas.

## AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Médico Vital Brasil, ao Dr. Daniel Saraiva Porte Fernandes e à Pastoral da Criança da Comunidade de Nossa Senhora das Graças em Guaratinguetá-SP.

### Abstract

*The intestinal parasites are major public health problems, presenting an endemic form in several areas of Brazil. The largest population at risk are children and, therefore, aimed to achieve a working with children assisted by Pastoral da Criança of Catholic Church in a*

poor community in the city of Guaratinguetá, SP. Of the total of 100 stool samples analyzed, 54.0% were negative and 46.0% were positive for one or more worms are distributed as follows: 60.9% parasitized by *Endolimax nana*, 23.9% by *Giardia lamblia*, 21.7% for *Entamoeba coli*; 6.5% by *Iodamoeba butschilii*; 21.7% for *Trichuris trichiura*, 17.4% *Ascaris lumbricoides*, 4.4 % by *Enterobius vermicularis*, 4.4% *Strongyloides stercoralis*, 2.2% by *Ancylostomidaeos*.

#### Keywords

Intestinal parasites; Children; Epidemiology

## REFERÊNCIAS

1. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano Nacional de Vigilância e Controle de Enteroparasitoses. 2005. In: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/enteroparasitoses\\_pano\\_nacional.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/enteroparasitoses_pano_nacional.pdf). Acesso em: 02 out 2007.
2. Ferreira H, et al. Estudo epidemiológico localizado da frequência e fatores de risco para enteroparasitoses e sua correlação com o estado nutricional de crianças em idade pré-escolar. *Ciênc. Biol. Saúde*. 2006;12(4):33-40.
3. Barreto JG. Detecção da incidência de enteroparasitos nas crianças carentes da cidade de Guaçuí-ES. *Rev Bras Anál Clín*. 2005;38: 221-3.
4. Macedo MFM, et al. Helminthíases em pré-escolares de uma escola pública no município de Manaus, Amazonas, Brasil. *Boletim da Saúde*. 2008;22(1):39-47.
5. Hoffmann WA, Pons JA, Janner JL. The sedimentation - concentration method in Schistosomiasis mansoni. *Journal of Public Health, Puerto Rico*. 1934;9:281-98.
6. Komagome HS, et al. Fatores de risco para infecção parasitária intestinal em crianças e funcionários de creche. *Cienc. Cuid, Saúde*. 2007;6(2):442-7.
7. Marquez AS, et al. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de um bairro de baixa renda de Londrina - Paraná. *Cient. Cien. Biol. Saúde*. 2002;4(1):55-9.
8. Rocha GKAM, et al. Prevalência de anemia em crianças e adolescentes portadores de enteroparasitoses. *News Lab*, 64 ed. 2004, 118-126 p.
9. Sales MSN. Enteroparasitoses em comunidade escolar de instituições de ensino circunvizinhas à Universidade Iguazu, Município de Nova Iguaçu - RJ. In: *Anais do 20º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária*, Belo Horizonte, set 2004.
10. Carvalho OS, et al. Prevalência de helmintos intestinais em três mesorregiões do Estado de Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35(6):597-600.
11. Ludwig KM, et al. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitos intestinais na população de Assis, estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;132(5):547-55.
12. Tavares-Dias M, Grandini AA. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999; 32(1):63-5.
13. Uchôa CMA, et al. Enteroparasitoses em crianças de creche. In: *Anais do 20 Congresso de Extensão Universitária*, Belo Horizonte, set 2004.
14. Gilio J et al. Parasitismo intestinal em índios da reserva indígena Rio das Cobras. *Rev Bras Anál Clín*. 2006;38(3):193-5.
15. Macedo HS. Prevalência de parasitos e comensais intestinais em crianças de escolas da rede pública municipal de Paracatu (MG). *Rev Bras Anál Clín*. 2005;37:209-13.
16. De Carli GA. *Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas*. Rio de Janeiro, Editora Medsi, 1994.
17. Alves MS, et al. Incidência de parasitoses em escolares da Escola Municipal de Educação Infantil "Santana Itatiaia", Juiz de Fora - MG e sua possível correlação com a qualidade da água para consumo. *Rev Bras Anál Clín*. 1998;30(4):185-7.
18. Costa-Cruz J M, et al. Inquérito coproparasitológico em escolares de Uberlândia, MG. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1991;24:141.
19. Giraldi N, Vidotto O, Navarro IT, Garcia JL. Enteroparasites prevalence among daycare and elementary school children of municipal schools, Rolândia, PR, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001 Jul-Aug;34(4):385-7.
20. Neves DP, et al. *Parasitologia Humana*. 11 ed. São Paulo, Editora Atheneu, 2005, 494 p.

Correspondência

**Ana Paula Pereira Rosa**

Rua Papa João XXIII, 344 – Pedregulho  
12511-060 - Guaratinguetá, SP  
anapaulapr@hotmail.com