



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Volume 56 - N 01 | Ano 2024

ISSN 2448-3877



49^o CBAC



Natal-RN

Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
De 16 a 19 de Junho de 2024 – Centro de Convenções

Cerimônia de Abertura

17/06/2024 às 19h

Palestra Magna

18/06/2024 às 16h30

Tema

Terapia gênica e metodologias associadas

Aplicações e o papel do marco regulatório e do parlamento no desenvolvimento desses métodos no Brasil, bem como o papel dos laboratórios neste contexto

Palestrante:
Marcelo Marcos Morales

MD. PhD, Professor Titular da UFRJ, Pesquisador 1A do CNPq, Membro das Academias Nacionais de Farmácia, de Medicina e de Ciências, de Médicos Escritores, Comendador da Ordem Científica Nacional e Comendador da Ordem do Mérito Médico



Festa de Confraternização

19/06/2024 a partir das 18h30

De segunda a
quarta-feira

8h - Atividades Científicas

9h - Feira de Negócios

Confira a programação
científica completa

cbac.org.br



Publicação oficial da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC
Official Publication of Brazilian Society of Clinical Analyses

Volume 56 - Número 1 - 2024

Edição online - ISSN 2448-3877

Editor Emérito/Emeritus Editor

Paulo Murillo Neufeld

Editora-chefe/Editor-in-Chief

Mauren Isfer Anghebem

Produção Editorial/Publisher

Editorarte Projetos de Comunicação e
Editora Ltda.

Editores Associados/Associate Editors

Bacteriologia Clínica/Clinical Bacteriology

Joseli Maria da Rocha Nogueira

Hematologia Clínica/Clinical Hematology

Marcos Kneip Fleury

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

Lenilza Mattos Lima

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

Mauren Isfer Anghebem

Imunologia e Virologia Clínica/Clinical

Immunology and Virology

Dennis Armando Bertolini

Patologia Clínica Veterinária/Veterinary

Clinical Pathology

Breno Fernando Martins de Almeida

Daniele Silvano Gonçalves

Citologia Clínica/Clinical Cytology

Júlio César Merlin

Micologia Clínica/Clinical Micology

Sarah Gonçalves

Paulo Murillo Neufeld

Uroanálise e Líquidos Biológicos/

Uroanalysis and Biological Liquids

José Antonio Poloni

Gestão e Controle da Qualidade/Quality

Management and Control

Flávia Martinello

Corpo Editorial/Editorial Board

Adriana Dalpiccoli Rodrigues - Brasil

Adriana Medianeira Rossato - Brasil

Alceu Toledo Júnior - Brasil

Alexandre Januário da Silva - EUA

Alexandre Sherlley Casimiro Onofre - Brasil

Amadeo Sáez-Alquézar - Brasil

Ana Cristina Rivas Da Silva - Brasil

Ana Paula Giolo Franz - Brasil

Andréa Regina De Souza Baptista - Brasil

Andrea Silva - Chile

Antônio Walter Ferreira - Brasil

Carlos Alberto Mayora Aita - Brasil

Carlos Álvarez - Chile

Carmen Paz Oplustil - Brasil

Claudia Regina Bonini - Brasil

Diogo André Pilger - Brasil

Eduardo Álvarez Duarte - Chile

Eleine Kuroki Anzai - Brasil

Fabiane Gomes de Moraes Rego - Brasil

Fabício Souza Campos - Brasil

Fernando Finoketti - Brasil

Izabella Castilho R. dos Santos Weiss - Brasil

Jaime Antônio Abrantes - Brasil

José Antonio Mainardi de Carvalho - Brasil

Juliane Araújo Greinert Goulart - Brasil

Lisiane da Luz Rocha Balsan - Brasil

Luis Conrado Zoror Cornejo - Chile

Marcos Kneip Fleury - Brasil

Maria Elizabeth Menezes - Brasil

Maria Regina Reis Amendoeira - Brasil

Marileia Scartezini - Brasil

Marilise Brittes Rott - Brasil

Neci Matos Soares - Brasil

Patrício Godoy Martinez - Chile

Patrick Menezes Lourenço - Brasil

Pedro Alves D'azevedo - Brasil

Pedro Henrique Gazzinelli Guimarães - EUA

Raíssa Nunes dos Santos - Brasil

Raul Girardi - Argentina

Ricardo David Couto - Brasil

Ricardo Luiz Dantas Machado - Brasil

Samuel Ricardo Comar - Brasil

Silvia Helena Rabelo dos Santos - Brasil

Simone Martins de Castro - Brasil

Tiana Tasca - Brasil

Valdiery Silva de Araújo - Brasil

Victor Silva - Chile

Viviana Galimbert Arruk - Brasil

Vladimir Vicente Cantarelli - Brasil



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA/EXECUTIVE BOARD

Maria Elizabeth Menezes (SC)

Presidente/President

Marcos Kneip Fleury (RJ)

Vice-Presidente/Vice-President

Juno Damasceno Silva (RJ)

Secretário-Geral/General Secretary

Vanderlei Eustáquio Machado (MG)

Secretário/Secretary

André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)

Tesoureiro/Treasurer

Jorge Luiz Joaquim Terrão (ES)

Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

Conselho Fiscal/Fiscal Board

Titulares/ Holders

Cláudio José de Freitas Brandão (BA)

Marcello Ávila Mascarenhas (RS)

Flávia Martinello (SC)

Suplentes/Alternates

Iberê Ferreira da Silva Júnior (MT)

Fernando Luís Bacelar de Carvalho Lobato (MA)

Júlio César Merlin (PR)

Endereço para correspondência/Editorial Office

Rua Vicente Licínio, 99 - Tijuca - Rio de Janeiro, RJ - Brasil CEP: 20270-902 – Fone: 21 2187-0800 E-mail: rbac@sbac.org.br

Editorial / Editorial

- 3** **RBAC: há 55 anos divulgando ciência**
RBAC: 55 years of disseminating science
Anghebem MI

Artigos de revisão / Review articles

- 5** **Disseminação da resistência aos antimicrobianos no contexto de saúde única: uma breve revisão**
Dissemination of resistance to antimicrobials in the unique health context: a brief review
Silva LOP, Estevam LB, Nogueira JMR

Artigos originais / Original articles

- 12** **Anemia associada a parasitoses na população residente do município de Tomé-Açu, Estado do Pará**
Anemia associated with parasitosis in the resident population of the municipality of Tomé-Açu, State of Pará
Lobato JEG, Barros LJV, Santos TV, Sant Anna CC
- 19** **Prevalência de casos de vaginite e vaginose em mulheres atendidas pelo SUS residentes no município de Salvador-Bahia**
Prevalence of vaginitis and vaginosis cases in women attended by SUS in the county of Salvador-Bahia
Silva TKLA, Barros DPO
- 28** **Haematological and biochemical parameters associated with *Candida* spp. infections in patients with severe Covid-19**
*Parâmetros hematológicos e bioquímicos associados com infecção por *Candida* spp. em pacientes com Covid-19 severa*
Lima K, Silva ÁMB, Santos ITS, Soares GHS, Araújo RBG, Leal GRA, Silva VR, Silva WRC, Silva AP, Diniz MV, Lima JLC
- 34** **Estudo preliminar de um modelo em Excel para auxiliar na identificação de Enterobacterales para usuários de provas bioquímicas manuais**
Preliminary study of an Excel model to assist in the identification of Enterobacterales for users of manual biochemical tests
Bonetti AF

Relato de caso / Case report

- 44** **Sinergismo de ceftazidima/avibactam e aztreonam, associado à polimixina, para tratamento de dupla infecção por bactérias pan-resistentes**
Synergism of ceftazidime/avibactam and aztreonam, associated with polymixin, for the treatment of dual infections by pan-resistant bacteria
Vieira JFP, Antunes TT, Veloso DS, Oliveira TC, Ribeiro IF, Marques IDB, Bezerra JL, Sá LF, Vieira TL, Vaz JS, Costa DM

- 50** **Instruções aos autores/Instructions for authors**

RBAC: há 55 anos divulgando ciência

RBAC: 55 years of disseminating science

Mauren Isfer Anghebem | Editora Chefe da RBAC

A missão da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC é estimular o crescimento e a constante atualização do setor de Análises Clínicas em suas competências técnicas, gestão e tecnologia, buscando a melhoria dos processos e a segurança do paciente.

Um dos princípios que direcionam as ações da SBAC é difundir informação à população. E, com a visão de ser referência nacional para o desenvolvimento contínuo do setor de Análises Clínicas, em 1969 a SBAC lançou o seu periódico científico, a Revista Brasileira de Análises Clínicas – RBAC.

A RBAC é publicada trimestralmente, de forma exclusivamente eletrônica. A versão digital das edições de 1997 até o presente está disponível no site da RBAC (<https://www.rbac.org.br/a-sbac/>). Atualmente, a RBAC está indexada em repositórios de publicações científicas de acesso aberto, como o CrossRef Search, Diretório de Políticas Editoriais das Revistas Científicas Brasileiras (Diadorim – IBICT), Eletronic Journals Library – University Library of Regensburg (EZ3), Google Scholar, Latindex, LILACS (Literatura Latino/americana e do Caribe em Ciências da Saúde), Miguilin, Qualis Periódicos (CAPES), Repositório da Produção Intelectual da USP (ABCD USP), e Sumários.org.

Em consonância com os valores da SBAC, a RBAC divulga conhecimento diversificado buscando a promoção de aprendizagem contínua, transversal, multidisciplinar, multiprofissional e relevante para o segmento laboratorial e para a sociedade. O escopo da RBAC abrange o campo da medicina laboratorial e análises clínicas, incluindo Bacteriologia Clínica, Biologia Molecular, Bioquímica Clínica, Citologia Clínica, Gestão e Controle da Qualidade, Hematologia Clínica, Imunologia e Virologia Clínica, Micologia Clínica, Parasitologia Clínica, Patologia Clínica Veterinária e Uroanálise e Líquidos Biológicos.

Os manuscritos podem ser submetidos dentro das seguintes categoriais de comunicação científica: Artigo de Revisão, Artigo Original, Carta ao Editor, Comunicação Breve, Editorial, Imagens em Análises Clínicas, Nota Técnica, Posicionamento da SBAC, Relato de Caso.

A RBAC foi gerenciada pelos editores-chefes, Dr. Mateus Mandu de Souza (*in memoriam*) e Dr. Paulo Murillo Neufeld. Em 2023, o Conselho Editorial da RBAC passou a ser coordenado por mim, Mauren Isfer Anghebem.

O processo de editoração de um periódico científico é desafiador. Para dialogar com a sociedade civil e científica e manter a periodicidade da publicação, a RBAC deve contar com editores e revisores comprometidos e com a contribuição dos autores no envio de artigos de qualidade.

O papel do editor-chefe e dos editores associados em selecionar os manuscritos com potencial para publicação se baseia em critérios editoriais como originalidade,

Recebido em 05/03/2024 | Aprovado em 29/04/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400172

escopo, solidez, tamanho amostral, impacto dos resultados na área laboratorial, questões estruturais, e o equilíbrio da cobertura temática da RBAC.

Todas as contribuições enviadas para publicação na RBAC são revisadas às cegas por, ao menos, dois especialistas na área, denominados revisores. Os revisores julgam o mérito científico dos manuscritos submetidos ao periódico, no que chamamos de revisão por pares, ou *peer-review*. Este processo objetiva a melhoria do manuscrito e a garantia de que seja publicada informação científica relevante e qualificada.

Em 2024, a SBAC comemora os 55 anos da RBAC. Ao longo destes anos, a RBAC se posiciona como um dos principais veículos nacionais de divulgação de informação científica na área laboratorial. Para celebrar o aniversário do seu periódico científico, a SBAC selecionará, a cada edição, a partir da próxima, o melhor artigo científico aprovado pelo Corpo Editorial da RBAC. Este artigo selecionado será publicado na sua língua nativa e em inglês. A tradução do artigo será custeada pela SBAC.

Além disso, este ano teremos uma edição especial temática em comemoração aos 55 anos de RBAC!

Acesse o link para submissão: <https://www.rbac.org.br/submissao/>

Disseminação da resistência aos antimicrobianos no contexto de saúde única: uma breve revisão

Dissemination of resistance to antimicrobials in the unique health context: a brief review

Lillian Oliveira Pereira da Silva¹, Letícia Brasil Estevam², Joseli Maria da Rocha Nogueira³

¹ Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Fundação Técnico-Educacional Souza Marques, Especialização em Análises Clínicas. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Departamento de Ciências Biológicas. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

A resistência aos antimicrobianos (RAM) é responsável por mais de 700 mil mortes anuais, estando relacionada a processos comuns de um mundo globalizado e impactando diretamente na saúde humana, animal e ambiental, uma vez que sua disseminação pode ocorrer a partir de diferentes fontes e reservatórios, através da contaminação ambiental, contato com animais infectados e, principalmente, através da alimentação, onde os antimicrobianos são utilizados não só para a prevenção e/ou tratamento de infecções, mas também para a promoção do crescimento dos animais. Visto isso, o presente trabalho teve como objetivo discorrer sobre as vias de disseminação dos genes de resistência aos antimicrobianos e das bactérias resistentes aos antimicrobianos, explorando as possibilidades de uma nova pandemia causada por bactérias resistentes. Muitos fármacos utilizados no âmbito veterinário ou agropecuário também podem ser empregados no tratamento de infecções em humanos, favorecendo a resistência cruzada e, conseqüentemente, a disseminação de microrganismos resistentes e seus genes relacionados. Com base nos resultados levantados, urge a necessidade de aprimorar a vigilância ambiental, além de estabelecer um controle mais rigoroso quanto ao uso de antimicrobianos, a fim de tentar mitigar o avanço da resistência bacteriana, tendo em vista o risco para a saúde pública mundial.

Palavras-chave: Resistência aos antimicrobianos; Saúde única; Uso indiscriminado de antimicrobianos.

Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) is responsible for more than 700,000 deaths annually, being related to common processes in a globalized world and directly impacting human, animal and environmental health, since its spread can occur from different sources and reservoirs, through environmental contamination, contact with infected animals and, mainly, through food, where antimicrobials are used not only to prevent and/or treat infections, but also to promote animal growth. Given this, the present work aimed to discuss the dissemination pathways of antimicrobial resistance genes and antimicrobial-resistant bacteria, exploring the possibilities of a new pandemic caused by resistant bacteria. Many drugs used in the veterinary or agricultural sector can also be used to treat infections in humans, favoring cross-resistance and, consequently, the spread of resistant microorganisms and their related genes. Based on the results obtained, there is an urgent need to improve environmental surveillance, in addition to establishing more rigorous control over the use of antimicrobials, in order to try to mitigate the advancement of bacterial resistance, taking into account the risk to global public health.

Keywords: Antimicrobial resistance; Indiscriminate use of antimicrobials; One Health.

Correspondência

Lillian Oliveira Pereira da Silva

E-mail: silvalop95@gmail.com

Recebido em 03/10/2023 | Aprovado em 23/01/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400149

INTRODUÇÃO

Infeções por bactérias resistentes são uma das maiores preocupações de saúde pública mundial, haja vista o aumento dos custos dos pacientes, uma vez que os fármacos comercializados atualmente passam a ser considerados ineficazes.^(1,2) Ainda que a antibioticoterapia tenha sido revolucionária, a pressão seletiva causada pela utilização incorreta desses fármacos acaba favorecendo o surgimento de mutações e, conseqüentemente, o avanço da resistência aos antimicrobianos (RAM).^(3,4)

De acordo com o último relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil está entre os 20 países que mais consomem antibióticos em todo o mundo, com uma média de 22 doses por cada mil habitantes, em que ao menos 50% dos antimicrobianos prescritos são dispensados e/ou utilizados de maneira incorreta.⁽⁵⁻⁷⁾

Por sua vez, a RAM causa cerca de 700 mil mortes anuais, cuja previsão era de mais de 10 milhões de mortes até 2050.⁽⁸⁾ Contudo, ressalta-se que estes dados foram publicados antes da pandemia da Covid-19, a qual elevou o consumo de antimicrobianos no país.⁽⁴⁾ É a partir dessa premissa que há uma grande preocupação com o agravamento da resistência bacteriana em todo o mundo e, por conseqüência, uma futura pandemia causada por microrganismos pan-resistentes.

Ainda que haja um estímulo crescente ao estudo e desenvolvimento de novos antimicrobianos, trata-se de um processo lento, necessitando de diversas etapas para se obter algum resultado conclusivo e de grande valia para a comunidade.⁽⁹⁾ De acordo com a OMS, os antimicrobianos que estão sendo desenvolvidos ainda não são capazes de contornar a problemática relacionada às famílias bacterianas mais perigosas do mundo, que podem ser identificadas no Quadro 1.

Não obstante, a RAM pode impactar diretamente na saúde humana, animal e ambiental, conforme o conceito de Saúde única, uma vez que sua disseminação ocorre a partir de diferentes fontes e reservatórios, como a agricultura, principal área consumidora de antimicrobianos, e a pecuária, onde estes fármacos são utilizados não só para a prevenção e/ou tratamento de infecções, mas também para a promoção do crescimento dos animais.^(11,12)

A partir disso, o presente trabalho tem como objetivo discutir sobre as vias de disseminação dos genes de resistência aos antimicrobianos (ARG, do inglês *antimicrobial resistant*

gene) e das bactérias resistentes aos antimicrobianos (ARB, do inglês *antimicrobial resistant bacteria*), explorando as possibilidades de uma nova pandemia causada por bactérias resistentes aos antimicrobianos, uma vez que a propagação destes microrganismos é facilitada pela globalização.

METODOLOGIA

A metodologia se baseou em uma revisão da literatura, por meio da busca de artigos e trabalhos acadêmicos que abordassem a relação entre a resistência aos antimicrobianos e as diferentes vias de disseminação dos genes de resistência. O levantamento foi realizado no PubMed e no Google Acadêmico, utilizando a seguinte estratégia de busca:

(Resistência Bacteriana) OR (*Bacterial resistance*) AND (Zoonose) OR (*Zoonosis*) AND (Disseminação) OR (*Dissemination*) AND (Saúde única) OR (*One Health*) AND (Peixes) OR (*Fishes*) OR (Aquicultura) OR (*Aquaculture*) OR (Piscicultura) OR (*Pisciculture*) AND (Animais domésticos) OR (*Domestic animals*) AND (Agricultura) OR (*Agriculture*) AND (Resistoma) OR (Resistome) AND (Efluentes) OR (*Effluents*) AND (Alimentos) OR (*Foods*)

Para abreviar o processo de busca e seleção dos artigos, foram estipulados atalhos metodológicos, conforme o Quadro 2.

Para a seleção dos artigos, optou-se pela presença das palavras-chave, leitura dos títulos, seguida da leitura dos resumos e leitura na íntegra, onde os trabalhos que apresentavam relação com a pergunta de pesquisa do presente estudo; 35 artigos foram selecionados para compor os resultados desta revisão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resistência bacteriana é responsável por milhares de mortes em todo o mundo, onde o avanço de linhagens resistentes acaba por diminuir a eficácia da antibioticoterapia disponível atualmente.⁽¹³⁾ No que tange a saúde única, é importante instigar a atuação multissetorial e multidisciplinar frente à RAM, uma vez que sua disseminação está diretamente relacionada a processos comuns de uma cadeia globalizada, como o trânsito de pessoas, comércio de animais vivos e de produtos alimentares, bem como por contato direto e/ou indireto, cadeia alimentar, água ou a partir do estrume utilizado na agricultura, conforme a Figura 1.^(13,14)

Quadro 1

Agentes patogênicos prioritários para o desenvolvimento de novos antibióticos.

Prioridade 01: Crítica	<i>Acinetobacter baumannii</i> , resistente a carbapenêmicos
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , resistentes a carbapenêmicos
	<i>Enterobacterales</i> , resistente a carbapenêmicos, produtoras de ESBL (beta-lactamases de espectro estendido)
Prioridade 02: Alta	<i>Enterococcus faecium</i> , resistente à vancomicina
	<i>Staphylococcus aureus</i> , resistente à metilina, com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina
	<i>Helicobacter pylori</i> , resistente à claritromicina
	<i>Campylobacter</i> spp., resistente às fluoroquinolonas
	<i>Salmonella</i> , resistente às fluoroquinolonas
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , resistente à cefalosporina e às fluoroquinolonas
Prioridade 03: Média	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , sem sensibilidade à penicilina.
	<i>Haemophilus influenzae</i> , resistente à ampicilina
	<i>Shigella</i> spp., resistente às fluoroquinolonas

Adaptado de WHO, 2017.⁽¹⁰⁾

Quadro 2

Atalhos metodológicos

Atalho metodológico	Descrição	Limitação
Tempo de publicação	Trabalhos publicados nos últimos 5 anos	Exclusão de artigos relevantes publicados há mais de 5 anos.
Consulta de literatura cinzenta	Sim	Baixo rigor metodológico
Idiomas de publicação	Português e inglês	Exclusão de artigos relevantes que foram publicados em outros idiomas.
Quantidade de repositórios científicos utilizados na busca	Dois repositórios	Exclusão de artigos relevantes publicados em outros repositórios.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

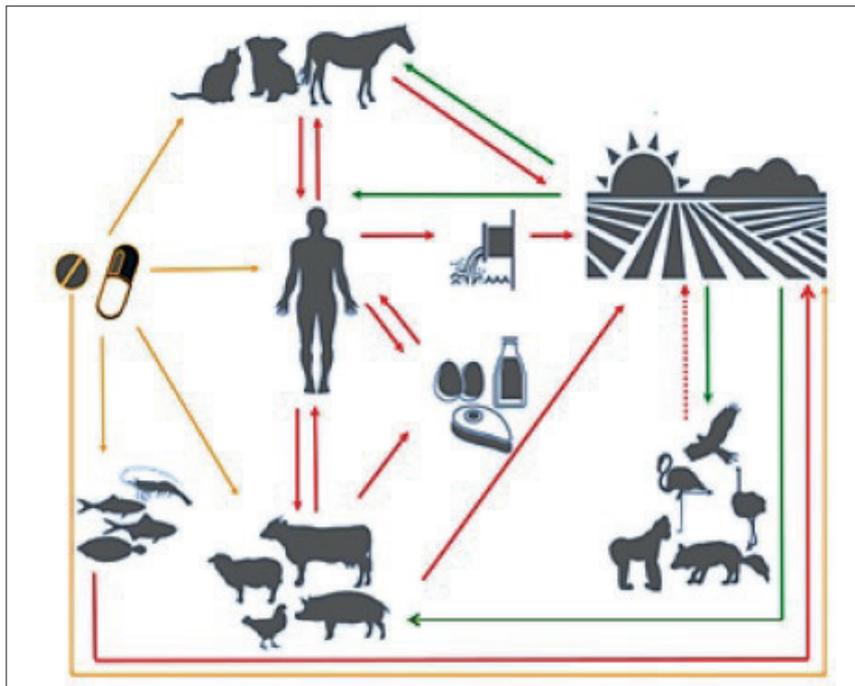


Figura 1

Vias de disseminação da resistência aos antimicrobianos

Fonte: Amaro; Correia; Clemente, 2020. (14)

Disseminação ambiental

Quando presentes no ambiente, os antimicrobianos mais persistentes, considerados estáveis, não são degradados pelos microrganismos presentes no solo, causando um desequilíbrio no ecossistema, e conseqüentemente contaminando o ambiente, fazendo com que tanto os ARG quanto as ARB sejam considerados poluentes emergentes.^(7,15)

Diante da problemática da resistência bacteriana no ambiente, diversos fatores podem propiciar a disseminação desses genes e microrganismos, como a pobreza, controle ineficiente de infecções, escoamento de resíduos, ausência de saneamento básico e o tratamento inadequado – ou inexistente – da água, onde o lançamento de efluentes, bem como o lixo comum, aliado ao descarte incorreto dos medicamentos, pode contaminar não só o solo, mas também as águas de rios, lagos, oceanos e lençóis freáticos.^(15,16)

As estações de tratamento de esgoto (ETE) recebem uma diversidade de resíduos, tendo em vista a composição das águas residuais, que podem ser oriundas do ambiente doméstico, clínico ou industrial, acumulando microrganismos e, conseqüentemente, seus genes de resistência.⁽¹⁷⁾ Contudo, os tratamentos convencionais não permitem a remoção destes poluentes, favorecendo, assim, a disseminação da resistência aos antimicrobianos.^(18,19)

Em consonância com essa informação, Abrantes e sua equipe (2022) realizaram um estudo em estações de tratamento de esgoto (ETE), onde detectaram bactérias tanto na entrada como na saída das estações, identificando 28 isolados de *Aeromonas*, incluindo as espécies *A. hydrophila* (16), *A. caviae* (9) e *A. sobria* (3), sendo resistentes a cefotaxima (100%), ciprofloxacino (75%), ceftriaxona (71%), ceftazidima (57%), cefoxitina (46%), cefepime (36%), piperacilina+tazobactam (28%) e gentamicina (11%).⁽²⁰⁾

Ainda considerando os corpos aquáticos como importantes veículos, Scaccia e colaboradores (2022) coletaram a água da comunidade de São Remo, em São Paulo, para avaliar a presença de bactérias resistentes e seus genes correlacionados. Dos 67 isolados, 33 cepas foram positivas para os genes *blaKPC* (18,8%) e *blaVIM* (24,6%), sendo relacionados aos gêneros *Aeromonas* sp., *Chryseobacterium* sp., *Elizabethkingia* sp., *Comamonas* sp., *Citrobacter* sp., *Escherichia* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Kluyvera* sp. e *Serratia* sp., apresentando resistência à cefotaxima (73%), amoxicilina (70%), aztreonam (54,5%) e ertapeném (51,5%).⁽²¹⁾

No estudo realizado pela equipe de Silva, em 2022, cepas de *E. coli* foram isoladas em diferentes pontos do Rio Carioca,

as quais apresentaram alterações no perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, principalmente em coletas posteriores à passagem do rio por unidades hospitalares. Neste trabalho, foram encontradas quatro cepas MDR, cuja resistência estava associada à ampicilina, ciprofloxacino, levofloxacino e sulfametoxazol-trimetoprim.⁽²²⁾

Por fim, ressalta-se a possibilidade de a disseminação ambiental estar atrelada, ainda que indiretamente, à disseminação animal, uma vez que o uso de esterco animal na agricultura pode favorecer a propagação da resistência aos antimicrobianos, incluindo os genes de resistência à colistina (*mcr-1*) e sulfonamidas (*sul1* e *sul2*).⁽²³⁾

Disseminação animal

Como sugerido no estudo de Oliveira (2019),⁽²³⁾ animais também podem ser associados à disseminação de microrganismos e genes de resistência. Dentre os principais patógenos multirresistentes (MDR, do inglês, *Multidrug resistant*) que podem ser disseminados por animais, a *Klebsiella pneumoniae* tem sido citada como microrganismo de grande importância. Sousa e sua equipe (2019) identificaram 67 cepas de *K. pneumoniae* em animais domésticos (58,2%) e silvestres (41,8%), em que todos os isolados foram considerados multirresistentes, reforçando a ideia de que os animais podem ser considerados reservatórios de ARB.⁽¹⁾

Todavia, outros microrganismos bacterianos também devem ser considerados de grande importância nesses estudos. Mariotini e Carvalho, em 2020, identificaram níveis elevados de resistência em isolados de cães, incluindo cepas de *Staphylococcus* spp. (44%), *Bacillus* spp. (8%), bactérias da ordem *Enterobacterales* (6%) e *Pseudomonas* spp. (3%). Além disso, os autores destacaram a presença de uma cepa de *S. aureus* resistente a todos os antibióticos testados, aumentando a preocupação quanto a disseminação destes microrganismos para o homem.⁽²⁴⁾

Em 2022, Oliveira isolou cepas de *E. coli* produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL, do inglês, *Extended Spectrum Beta-Lactamase*), oriundas de infecção do trato urinário em cães e gatos que foram atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco.⁽²⁵⁾

Calônico (2023), em sua revisão da literatura, discutiu a predominância de cepas de *Staphylococcus* sp. resistentes à meticilina, isolados de diferentes animais, como coelhos e lebres (64,52%), cães e gatos (30,62%), aves (22,41%), roedores (12,5%), suínos (5,55%), ruminantes (5%) e equinos (0,93%). Dentre as espécies isoladas, houve predominância de *S. intermedius/pseudointermedius*, *S. aureus* e *S. schleiferi*.⁽²⁶⁾

Por sua vez, no estudo realizado por Melo (2023), 32 isolados de bactérias Gram-negativas oriundos de cães, gatos e coelhos foram testados, incluindo cepas de *Escherichia coli* (65,6%), *Klebsiella pneumoniae* (9,3%), *Acinetobacter baumannii* (6,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (6,3%), *Stenotrophomonas maltophilia* (3,12%), *Pseudomonas putida* (3,12%), *Acinetobacter pittii* (3,12%) e *Enterobacter hormaechei* (3,12%), em que 62,5% foram ESBL positivos, além de serem resistentes a ceftriaxona (88%), ceftazidima (84%), cefepime (72%), ciprofloxacino (56%), tetraciclina (44%), cefoxitina (28%), amicacina (28%) e gentamicina (28%). Destes, 22 isolados foram considerados multirresistentes.⁽²⁷⁾

Conforme supracitado, a poluição ambiental também pode estar diretamente relacionada à contaminação animal, como mostra o estudo de Castro (2023), onde sururus e ostras isolados de um mangue estavam contaminados com bactérias resistentes aos antimicrobianos. Dos 12 isolados, 8 foram considerados ESBL positivos e 4 apresentaram resistência aos aminoglicosídeos.⁽²⁸⁾ Além disso, a fim de manter a saúde do trato gastrointestinal de animais, como frangos de corte e suínos, a indústria agropecuária lança mão da adição de antibióticos na composição de rações, fato relatado desde a década de 1940.^(29,30)

Muitos destes antimicrobianos, como a eritromicina, podem ser utilizados no tratamento humano, fazendo com que a resistência cruzada seja um perigo iminente. Bactérias resistentes, como *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, podem ser facilmente transmitidos aos humanos a partir do consumo de carne contaminada, como mostra o estudo de Dias e colaboradores (2020), onde amostras do intestino de frangos de corte e de suínos foram utilizadas para investigar a resistência à eritromicina das estirpes de *Campylobacter* sp. isoladas. Todas as estirpes de *C. coli* de suínos (n=14) foram identificadas como resistentes e três, das 18 estirpes de *C. jejuni* isoladas de frangos, foram classificadas com resistência intermediária.⁽³¹⁾

Mendonça e sua equipe, em 2020, avaliaram o perfil de resistência de 51 isolados de *Salmonella infantis*, oriundos de amostras de frangos de corte. Cerca de onze perfis de resistência foram identificados, destacando-se amoxicilina (35,3%) e sulfonamida (15,7%), ainda que nenhum tenha sido considerado multirresistente.⁽³²⁾

Por sua vez, Schmiedt (2021) caracterizou o perfil de resistência de isolados de *Escherichia coli* obtidos de amostras da cadeia produtiva de frangos de corte. Dos 701 isolados, 578 foram considerados MDR e apenas 15 (2,2%) foram ESBL positivo. Destes, foram detectadas taxas elevadas de

resistência à ciprofloxacina (94,1%), tetraciclina (56,3%), sulfametoxazol+trimetoprim (54,3%) e amoxicilina (48,1%).⁽³³⁾

Tais resultados são extremamente preocupantes, uma vez que tais antimicrobianos podem ser utilizados para tratamento de infecções em humanos, trazendo um alerta quanto ao perigo para infecções alimentares, visto que estes animais podem ser consumidos, originando uma nova via de disseminação da RAM.

Disseminação alimentar

Há uma preocupação constante com as doenças transmitidas por alimentos, uma vez que diversos agentes biológicos podem ser veiculados desta forma. Um dos maiores exemplos é a Salmonelose, comumente associada ao consumo de carne de frango, ovos e derivados.^(34,35) Por conseguinte, foram identificados 23 sorotipos de *Salmonella* resistentes aos antimicrobianos, incluindo o Florfenicol, um dos principais antibióticos utilizados na produção animal.⁽³⁶⁾

Embutidos cárneos, como salames e linguças coloniais, também podem ser grandes fontes de contaminação, como mostra o estudo de Henning (2019), onde embutidos cárneos fermentados produzidos em Francisco Beltrão, no Paraná, estavam contaminados por *E. coli* (39%), *Salmonella* spp. (61%) e *Staphylococcus coagulase positiva* (39%). Destes isolados, cerca de 16% não apresentaram resistência aos antimicrobianos testados, enquanto os demais (84%) apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos, incluindo cepas multirresistentes de *Salmonella* spp.⁽³⁷⁾

Sousa, em 2020, isolou e identificou o perfil de resistência de microrganismos provenientes de ovos de galinha caipira comercializados em feiras livres no semiárido brasileiro. Neste estudo, 31,3% dos ovos apresentaram crescimento bacteriano, com isolados de *Staphylococcus* spp. (27,5%), *Bacillus* spp. (15%), *Pseudomonas aeruginosa* (7,5%), *Klebsiella* spp. (7,5%), *Salmonella* spp. (7,5%), *Proteus mirabilis* (7,5%), *Citrobacter* spp. (7,5%), *Escherichia coli* (7,5%), *Providencia* spp. (5%), *Corynebacterium* spp. (2,5%), *Enterobacter* spp. (2,5%) e *Alcaligenes* spp. (2,5%).⁽³⁸⁾

Além disso, mais da metade das cepas Gram-negativas foram positivas para ESBL, em que genes de beta-lactamasas, como o CTX-M, foram detectados em quatro isolados, sendo um isolado de *Klebsiella* spp. apresentando o grupo *blaCTX-M2-like* e três cepas (*Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. e *Citrobacter* spp.) que apresentaram o gene *blaCTX-M8-like*.⁽³⁸⁾

Isolados de *Salmonella* spp. também foram identificados em amostras de filé de tilápia fresca comercializadas no Distrito Federal. Os genes de resistência *blaCTX* (64,9%), *tetB*

(54,4%), *floR* (50,9%) e *sul2* (49,1%) foram identificados, corroborando para com as taxas de resistência identificadas para amoxicilina/ácido clavulânico (87,7%), tetraciclina (82,5%), sulfonamidas (57,9%) e cloranfenicol (26,3%), em que 56,1% das cepas isoladas foram consideradas multirresistentes.⁽³⁹⁾

Contudo, tais microrganismos também podem ser encontrados como parte da microbiota intestinal dos animais, como mostra o estudo realizado por Sampaio e Motta (2021), onde 50 peixes da espécie *Oncorhynchus mykiss* foram coletados, assim como 9 amostras de água dos tanques ativos, obtendo 222 isolados bacterianos, incluindo espécies da Ordem Enterobacterales, famílias Aeromonaceae e Pseudomonadaceae; além de bactérias Gram positivas, como os gêneros *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Kocuria* spp. e *Gemella* spp.⁽⁴⁰⁾

Os autores relatam que o perfil de resistência a, pelo menos, um antimicrobiano foi observado em 65,3% (n=79) das bactérias Gram-negativas e 82,2% (n=83) das Gram-positivas, enquanto o perfil multirresistente foi observado em 7,4% (n=9) e 36,6% (n=37), respectivamente.⁽⁴⁰⁾

Por sua vez, no estudo realizado por Oliveira e sua equipe (2021), cepas de *Salmonella* sp. e de *E. coli* foram isoladas de água de coco comercializada no norte mato-grossense, em que todas as cepas de *E. coli* foram resistentes a cefalotina, norfloxacin e ciprofloxacina. Dessas, duas foram resistentes à amoxicilina e ao ácido clavulânico e uma à ampicilina, sendo consideradas multirresistentes. Em contrapartida, apenas uma cepa de *Salmonella* foi considerada MDR, apresentando resistência à ampicilina, cefalotina e amoxicilina + ácido clavulânico.⁽⁴¹⁾

Outro ponto que merece destaque é a possibilidade de contaminação cruzada, onde ocorre a transferência de microrganismos de um material ou alimento contaminado para outro, como é o caso das superfícies de cortes, utensílios amplamente utilizados no preparo e manipulação de alimentos crus ou prontos para o consumo.⁽⁴²⁾

Os achados de Teodoro (2021) corroboram para com a afirmação supracitada, uma vez que espécies de *A. hydrophila* (20,83%), *A. caviae* (26,39%) e *A. veronii* (44,44%) foram identificadas em amostras de temakis. Cerca de 90% dos isolados apresentaram resistência à amoxicilina-ácido clavulânico, 17% à tetraciclina, 10% ao imipeném e 3% ao aztreonam.⁽⁴³⁾

Por fim, ressalta-se que a utilização de antibióticos para fins profiláticos, terapêuticos e agropecuários avança em ritmo constante, e que muitos fármacos utilizados no âmbito veterinário ou agropecuário também podem ser empregados no tratamento de infecções em humanos, favorecendo ainda mais

a resistência cruzada e, conseqüentemente, a disseminação de microrganismos resistentes e seus genes relacionados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A disseminação de ARG e ARB se torna cada vez mais frequente em diferentes vias, estando intimamente relacionada à Saúde única, facilitando a troca de material genético entre bactérias ditas ambientais para com as patogênicas e, conseqüentemente, permitindo a disseminação desses genes de resistência. Dessa maneira, os resultados apresentados apontam o potencial risco de disseminação da RAM por diferentes fontes.

Com base em tudo que foi descrito no estudo, acredita-se que existe uma necessidade de aprimorar a vigilância ambiental, além de estabelecer um controle mais rigoroso quanto ao uso de antimicrobianos, a fim de tentar mitigar o avanço da resistência bacteriana, tendo em vista o risco elevado para a saúde pública mundial.

REFERÊNCIAS

1. Sousa ATHI, et al. Perfil de resistência antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de animais domésticos e silvestres. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 71, p. 584-593, 2019.
2. Brito GB, Trevisan M. O uso indevido de antibióticos e o eminente risco de resistência bacteriana. Revista Artigos. Com, v. 30, p. e7902-e7902, 2021.
3. Teixeira AR, et al. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. Saúde em Foco, n. 11, 2019.
4. Silva LOP. Aspectos gerais da COVID-19 e as possíveis consequências do uso indiscriminado de antimicrobianos durante a pandemia no Brasil. 116f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente), Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2023.
5. OMS. WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption. World Health Organization, 128p, 2018.
6. Portela G. Fiocruz no Ar – Uso de antibióticos e nutrição: evitando excessos e se cuidando. 2020. Disponível em:
11. Souza JBB, et al. Uso de antimicrobianos na pecuária e a resistência microbiana em humanos. In: Congresso Interdisciplinar. 2022.

12. Jadeja NB, Worrich A. From gut to mud: dissemination of antimicrobial resistance between animal and agricultural niches. *Environmental Microbiology*, v. 24, n. 8, p. 3290-3306, 2022.
13. OPAS/OMS. Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos. 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2022-relatorio-sinaliza-aumento-da-resistencia-antibioticos-em-infecoes-bacterianas>. Acesso em: 14 set. 2023.
14. Amaro A, Correia I, Clemente L. Resistência aos antibióticos em bactérias com origem em animais da cadeia alimentar. 2020. Disponível em: <https://www.veterinaria-actual.pt/destaques/resistencia-aos-antibioticos-em-bacterias-com-origem-em-animais-da-cadeia-alimentar/>. Acesso em: 14 set. 2023.
15. Silva LC, Cardoso A, Vieira JMBD. Dispersão da resistência a antimicrobianos no ambiente sob o conceito de Saúde Única. *Concilium*, v. 22, n. 6, p. 937-948, 2022.
16. Pinto GMF, et al. Estudo do descarte residencial de medicamentos vencidos na região de Paulínia (SP), Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 19, p. 219-224, 2014.
17. Joseph SM, et al. Longitudinal comparison of bacterial diversity and antibiotic resistance genes in New York City sewage. *Msystems*, v. 4, n. 4, 2019.
18. Silva TCB. Participação das estações de tratamento de esgoto na disseminação de genes de resistência. 57f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina), Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2020.
19. Silva LOP, Abrantes JÁ, Nogueira JMR. Monitoramento de efluentes hospitalares como ferramenta para a vigilância de patógenos multirresistentes. *Peer Review*, v. 5, n. 19, p. 1-11, 2023.
20. Abrantes JÁ, et al. Identificação e perfil de susceptibilidade de *Aeromonas* sp. isoladas de Estações de Tratamento de Esgoto utilizando meio cromogênico com antimicrobiano. *Brazilian Journal of Development*, v.8, n.5, p.38227-38240, 2022.
21. Scaccia N, et al. Disseminação ambiental de resistência a antibióticos através dos aglomerados subnormais. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 26, p. 102401, 2022.
22. Silva TSM, et al. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de águas superficiais do Rio Carioca-RJ, Brasil. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 27, p. 673-682, 2022.
23. Oliveira CC. Ocorrência de Genes de Resistência a Antimicrobianos em Solos de Áreas Agrícolas e de Reserva Legal em Nova Friburgo, RJ. 60p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2019.
24. Mariotini AB, Carvalho EV. Perfil de Resistência aos Antibióticos de bactérias isoladas de infecções de animais atendidos no UNIFAA. *Revista Saber Digital*, v. 13, n. 1, p. 176-187, 2020.
25. Oliveira LBS. Isolamento e detecção de bactérias produtoras de β-lactamases de espectro estendido (ESBL) oriundos de infecção do trato urinário em cães e gatos atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 43p. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Medicina Veterinária Preventiva), Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2022.
26. Calônico VS. Espécies de *Staphylococcus* resistentes à metilina isoladas de animais. 45p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, 2023.
27. Melo JG. Bactérias Gram-negativas colonizadoras do trato gastrointestinal de animais domésticos e seus fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos. 70p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, 2023.
28. Castro LH. Investigação de bactérias Gram-negativas multirresistentes de importância clínica em bivalves marinhos isolados de mangue, na cidade de Vitória, Espírito Santo. 36p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina), Instituto Federal do Espírito Santo, Vila Velha, 2023.
29. Reis TL, Vieites FM. Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras. *Ciência Animal*, v. 29, n. 3, p. 133-147, 2019.
30. Molinari PV, et al. Alternativas ao uso de antibióticos via ração na produção de suínos. Anais da Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar (MICTI)-e-ISSN 2316-7165, v. 1, n. 13, 2020.
31. Dias TS, et al. Phenotypic and molecular characterization of erythromycin resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated from swine and broiler chickens. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, p. 598-603, 2020.
32. Mendonça EP, et al. Characteristics of virulence, resistance and genetic diversity of strains of *Salmonella* Infantis isolated from broiler chicken in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, p. 29-38, 2020.
33. Schmiedt JA. Caracterização do perfil fenotípico e genotípico de resistência a antimicrobianos de isolados de *Escherichia coli* em uma cadeia produtiva de frango de corte. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Paraná, 2021.
34. Silva EM, Duarte A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. 4, p. 85-100, 2002.
35. Hoelzer K, Moreno Switt AI, Wiedmann M. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary research*, v. 42, n. 1, p. 1-28, 2011.
36. Ansiliero R, Gelinski JLN, Scheffmacher MGC. Identificação e avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos de sorotipos de salmonella sp. De uma cadeia produtiva de frangos de corte do Sul do Brasil. *Evidência*, v. 19, n. 1, p. 57-72, 2019.
37. Henning K. Embutidos cárneos fermentados produzidos em Francisco Beltrão, Paraná: avaliação físico-química, microbiológica e perfil de resistência bacteriana. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2019.
38. Sousa DLC. Perfil de resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de ovos de galinhas caipiras (*Gallus Gallus domesticus*) no Semiárido do Nordeste do Brasil e sua aplicação em saúde única. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Campina Grande, 2020.
39. Ferreira ACO. Ocorrência de *Salmonella* spp. em tilápia fresca comercializada no Distrito Federal e avaliação do perfil de resistência antimicrobiana das cepas isoladas. 89f. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologias em saúde), Universidade de Brasília, 2021.
40. Sampaio NB, Motta OV. Análise da microbiota intestinal de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*, WALBAUM) e seu ambiente aquático na Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro. In: Congresso Fluminense de Pós-Graduação – CONPG. 2021.
41. Oliveira SMP, et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli* e *Salmonella* isolados de água de coco “in natura” comercializadas no norte-mato-grossense. *Scientific Electronic Archives*, v. 14, n. 12, 2021.
42. Oliveira JP, Silva DC, Pereira JP. Contaminação cruzada: Uso de tábuas de corte na manipulação de alimentos no ambiente doméstico. *Pubvet*, v. 17, n. 04, p. e1380, 2023.
43. Teodoro JR. Potencial patogênico e susceptibilidade aos antimicrobianos de *Aeromonas* spp. em alimentos prontos para o consumo. 95p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, 2021.

Anemia associada a parasitoses na população residente do município de Tomé-Açu, Estado do Pará

Anemia associated with parasitosis in the resident population of the municipality of Tomé-Açu, State of Pará

João Estanislau Gonçalves Lobato¹, Lenilce de Jesus Veloso Barros¹, Tatiana Viana dos Santos¹, Carla de Castro Sant Anna²

¹ Farmacêutica(o)/Universidade da Amazônia. Belém, PA, Brasil.

² Universidade da Amazônia. Belém, PA, Brasil.

Resumo

Objetivo: Determinar o perfil de pacientes com anemia associada a parasitoses, além de aspectos sociodemográficos e laboratoriais, e identificar os parasitas mais encontrados na população do município de Tomé-Açu, estado do Pará. **Métodos:** Trata-se de um estudo baseado em abordagem quantitativa e qualitativa, em que foi feito um levantamento de prontuários de pacientes residentes do município de Tomé-Açu, que realizaram hemograma e exame parasitológico de fezes entre agosto de 2019 a julho de 2020. **Resultados:** Do quantitativo de 2.292 exames, constatou-se uma maior prevalência de anemia associada a infecção parasitária na faixa etária de 51 a 70 anos do sexo masculino (34,84%), e a menor prevalência sendo em pacientes de 51 a 70 anos do sexo feminino (12,61%). Dentre os parasitas, o de maior frequência foi a *Endolimax nana* com 25,96%, seguido pelo *Blastocystis hominis* com 22,65%, e não deixando de destacar a prevalência elevada do parasita *Entamoeba coli* com 14,29%, seguido do *Ascaris lumbricoides* com 12,37%. **Conclusão:** O estudo constatou uma alta prevalência de anemia associada a *Endolimax nana*, *Blastocystis hominis* e *Entamoeba coli* nos indivíduos residentes de Tomé-Açu.

Palavras-chave: Epidemiologia; Anemia; Doenças parasitárias.

Abstract

Objective: To determine the profile of patients with anemia associated with parasitic diseases, in addition to socio-demographic, laboratory aspects and identification of the parasites most found in the population of the municipality of Tomé-Açu, State of Pará. **Methods:** This is a study based on a quantitative and qualitative approach, in which a survey of 2,292 (two thousand two hundred and ninety-two) medical records of patients residing in the municipality of Tomé-Açu, in the interior of the State of Pará, was carried out in the laboratory, at the Hemoclin Clinic, between August 2019 and July 2020, aiming to assess the prevalence of anemia associated with parasites. **Results:** From the amount of 2,292 exams, a higher parasitic prevalence was found in the age group of 51 to 70 years old (34,84%) of the male gender, and the lowest prevalence being in patients in the age group of 51 to 70 years of age. female (12,61%). Among the parasites, the most frequent was *Endolimax nana* with 25.96%, followed by *Blastocystis hominis* with 22,65%, and the high prevalence of the parasite *Entamoeba coli* with 14,29%, followed by *Ascaris lumbricoides* with 12.37%. **Conclusion:** The study found a high prevalence of anemia associated with *Endolimax nana*, *Blastocystis hominis* and *Entamoeba coli* in individual's resident in Tomé-Açu.

Keywords: Epidemiology; Anemia; Parasitic Diseases.

Correspondência

Carla de Castro Sant Anna

E-mail: santannacarla@yahoo.com.br

Recebido em 03/03/2021 | Aprovado em 07/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202123

INTRODUÇÃO

A anemia é um problema de saúde pública considerado como fator de risco para uma série de doenças.⁽¹⁾ Segundo a Organização Mundial de Saúde,⁽²⁾ a anemia é um estado em que a concentração de hemoglobina do sangue é anormalmente baixa em consequência da carência de um ou mais nutrientes essenciais, qualquer que seja a origem dessa carência.⁽³⁾

Quando os níveis de hemoglobina (Hb) presentes no sangue periférico dos indivíduos encontram-se abaixo de 13g/dL para homens, 12g/dL para mulheres e 11g/dL em crianças ou gestantes, devem ser considerados fora do normal. Para o diagnóstico é necessário a confirmação feita por meio de exames laboratoriais, o qual definirá o nível de hemoglobina presente no sangue.⁽³⁾

A manifestação desta síndrome pode ser resultante de múltiplas causas, como a baixa ingestão de ferro, as condições de vida e o surgimento de doenças infecto-parasitárias, que podem ser consideradas como causas da anemia.⁽⁴⁾ Embora seja um problema de saúde pública preocupante, ainda não há dados que apontem a extensão deste problema no Brasil.⁽⁵⁾

Estudos indicam que o aspecto econômico está diretamente ligado a casos de anemia associada a parasitoses, ocorrendo principalmente em regiões cujo nível socioeconômico é baixo, ou seja, onde as condições de saneamento e infraestrutura são precárias e, neste caso, a população acaba por se tornar mais suscetível à exposição de agentes parasitários.⁽⁴⁾

No Brasil, a frequência do aparecimento de doenças parasitárias é comum em crianças, de modo que estudos demonstram uma correlação forte entre o surgimento de parasitoses as condições de saneamento básico em que se encontram.⁴ Sendo assim, podemos concluir que doenças parasitárias como, por exemplo, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Schistosoma mansoni* apresentam relação direta ao surgimento da anemia.^(1,5)

A anemia associada a parasitoses é um relevante problema de saúde com alto grau de seriedade no Brasil e no mundo. Dentre as principais consequências prejudiciais à saúde e bem-estar dos acometidos, podemos destacar fraqueza, atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e diminuição da capacidade intelectual dos indivíduos.^(6,7) Os casos de anemia relacionados a parasitoses intestinais têm sido considerados importantes objetos de estudos, entretanto ainda se faz necessário compreender as dimensões exatas deste problema em saúde pública.⁽⁸⁾

Saneamento básico envolve serviços de limpeza, infraestrutura e instalações urbanas que visam promover saúde à população, entretanto estudos afirmam que grande parte

da população mundial ainda vive em condições de extrema precariedade sanitária, e tal condição facilita a disseminação de infecções parasitárias que contribuem para o desenvolvimento da anemia. Dentre os principais agentes parasitários associados à anemia, Menezes et al.⁽⁴⁾ citam os ancilostomídeos (*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*), *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba histolytica* e, em menor grau, a *Ascaris lumbricoides* e *Giardia lamblia*.^(7,9)

A associação de anemia a parasitoses intestinais constitui um tema de crescente interesse no âmbito da saúde pública, principalmente em crianças em idade escolar. Nesta faixa etária, a presença de alguns parasitas costuma determinar o aparecimento de anemia.⁽¹⁰⁾ Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de anemia associada a parasitoses, além de identificar os parasitas mais comuns e o perfil sociodemográfico dos indivíduos acometidos no município de Tomé-Açu.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo baseado em abordagem quantitativa e qualitativa, em que foi feito um levantamento de prontuários de pacientes, os quais realizaram seus exames no laboratório da Clínica Hemoclin, localizada no município de Tomé-Açu, interior do estado do Pará.

A amostra da pesquisa foi construída por exames clínicos de hemograma e parasitológico de fezes, através de dados obtidos nos registros da Clínica Hemoclin, onde foram selecionados resultados dos exames de moradores e pacientes da clínica, de ambos os sexos e com faixa etária de 0 a 100 anos. O período de realização foi de agosto de 2019 a julho de 2020. Os dados obtidos foram armazenados em planilhas do programa Microsoft Excel 2016, sendo considerados percentuais do total de pacientes parasitados, protozoários, inclusive por espécie e por faixa etária.

Como critérios adotados para seleção dos pacientes foram considerados: ter realizado exame de hemograma e o parasitológico de fezes no período de agosto de 2019 a julho de 2020 no laboratório da Clínica Hemoclin, ter residência fixa em Tomé-Açu, idade compreendida entre 0 a 100 anos, podendo ser de ambos os sexos. Todos os indivíduos que estavam dentro dos critérios de inclusão fizeram parte da pesquisa.

Foram excluídos da pesquisa indivíduos que realizaram apenas um dos exames (hemograma ou parasitológico de fezes). Foi realizada a análise estatística de variância (ANOVA) através do *software Past 3.2* com intervalo de confiança de 95%, considerando o p-valor < 0,05.

Este trabalho seguiu as normas de pesquisa envolvendo seres humanos (RES. CNS 466/2012) do Conselho Nacional de Saúde, conforme os preceitos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade da Amazônia (UNAMA) (CAEE: 37634820.4.0000.5173).

RESULTADOS

Do total de 2.292 exames de pacientes que foram inclusos na pesquisa no período de agosto de 2019 a julho de 2020, 812 (35,43%) eram do sexo masculino, sendo 267 (11,65%) com a idade de 13 a 30 anos; já no sexo feminino foram 1.075 pacientes, desses 391 (17,06%) com a idade de 13 a 30 anos e 405 (17,67%) representam-se na faixa etária entre 0 (zero) e 12 anos (Tabela 1).

Do total de amostras, 574 (25,04%) apresentaram parasitoses intestinais e hemoglobina abaixo do valor de referência. Constatou-se uma maior prevalência parasitaria na faixa etária de 51 a 70 anos (34,84%) do sexo masculino, sendo a menor prevalência em pacientes na faixa etária de 51 a 70 anos sexo feminino (12,61%). Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 1.

A Tabela 2 mostra que o parasita com maior prevalência entre as 574 amostras com parasitoses intestinais analisadas foi a *Endolimax nana* com 25,96%, seguido pelo *Blastocystis hominis* com 22,65%, e não deixando de destacar a prevalência elevada do parasita *Entamoeba coli* com 14,29%, seguido do *Ascaris lumbricoides* com 12,37%. A *Endolimax nana* foi à parasitose mais prevalente na faixa etária acima de 71 anos do sexo feminino representando o percentual de 54,55% e a menor na faixa etária de 51 a 70 do sexo feminino com 17,56%.

Tabela 1

Valores absolutos e percentuais da presença ou ausência de parasitas intestinais de acordo com a faixa etária.

FAIXA ETÁRIA E SEXO	Nº DE AMOSTRA	PARASITADOS ANÊMICOS		NÃO PARASITADOS ANÊMICOS		PARASITADOS/ NÃO PARASITADOS COM HMG /NORMAL	
Criança 0 a 12	405	74	18,27%	17	4,20%	314	77,53%
Masc. 13 a 30	267	79	29,59%	30	11,24%	158	59,18%
Masc. 31 a 50	260	62	23,85%	12	4,73%	186	71,42%
Masc. 51 a 70	221	77	34,84%	26	11,81%	118	53,35%
Masc. > 71	64	20	31,25%	10	15,63%	34	53,13%
Fem. 13 a 30	391	115	29,41%	20	5,12%	256	65,47%
Fem. 31 a 50	392	97	24,74%	17	4,34%	278	70,92%
Fem. 51 a 70	222	28	12,61%	14	6,31%	180	81,08%
Fem. > 71	70	22	31,43%	11	15,71%	37	52,86%
TOTAL	2.292	574		157		1.561	

Tabela 2

Parasitas intestinais de acordo com a faixa etária

PARASITAS	Criança 0 a 12	Masc. 13 a 30	Masc. 31 a 50	Masc. 51 a 70	Masc. > 71	Fem. 13 a 30	Fem. 31 a 50	Fem. 51 a 70	Fem. > 71	TOTAL
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4,05%	10,13%	27,42%	12,99%	30,00%	7,83%	6,19%	35,71%	9,09%	12,37%
<i>Entamoeba histolytica</i>	10,81%	12,66%	1,61%	7,79%	10,00%	5,22%	16,49%	21,43%	4,55%	9,76%
<i>Endolimax nana</i>	31,08%	37,97%	27,42%	19,48%	20,00%	21,74%	18,56%	17,86%	54,55%	25,96%
<i>Entamoeba coli</i>	14,86%	12,66%	3,23%	14,29%	5,00%	15,65%	21,65%	10,71%	22,73%	14,29%
<i>Iodamoeba butschlii</i>	0,00%	10,13%	14,52%	3,90%	0,00%	7,83%	10,31%	0,00%	4,55%	6,97%
<i>Blastocystis hominis</i>	36,49%	5,06%	12,90%	32,47%	35,00%	30,43%	19,59%	14,29%	4,55%	22,65%
<i>Giardia lamblia</i>	2,70%	10,13%	12,90%	7,79%	0,00%	10,43%	5,15%	0,00%	0,00%	7,14%
<i>Ancilostomídeos</i>	0,00%	1,27%	0,00%	1,30%	0,00%	0,87%	2,06%	0,00%	0,00%	0,87%

Não houve diferença estatística significativa na Tabela 2 referente à não relação da faixa etária associada às infecções parasitárias (p-valor=0,1726).

A análise do Gráfico 1 permite avaliar os resultados em relação à prevalência de pacientes parasitados com anemia associada ou não a parasitoses intestinais. Foi observado que indivíduos do sexo masculino com a faixa etária de 51 a 70 foram os mais acometidos, representando um percentual de 34,84% entre os parasitados. Para os pacientes do sexo feminino, a faixa etária acima de 70 anos foi a que apresentou o índice mais alto de parasitados, quantificando um total de 31,43%. As crianças tiveram menor índice entre os pacientes parasitados.

Apesar de poucos estudos existentes sobre a prevalência de anemia parasitária no Brasil, este estudo teve como proposta analisar a prevalência dessa associação na região de Tomé-Açu/PA. No presente estudo a prevalência de parasitas foi relativamente alta, conforme exposto no Gráfico 1.

Dentre os 2.292 exames analisados, pode-se observar que o mês com maior prevalência de parasitas é agosto de 2019, representando o percentual de 4,36%, enquanto o mês de menor prevalência foi maio de 2020, com 0,17%. Uma das possíveis relações de declínio se deve ao aumento da pandemia Covid-19, que consequentemente causou uma diminuição da demanda dos exames analisados neste estudo (Gráfico 2).

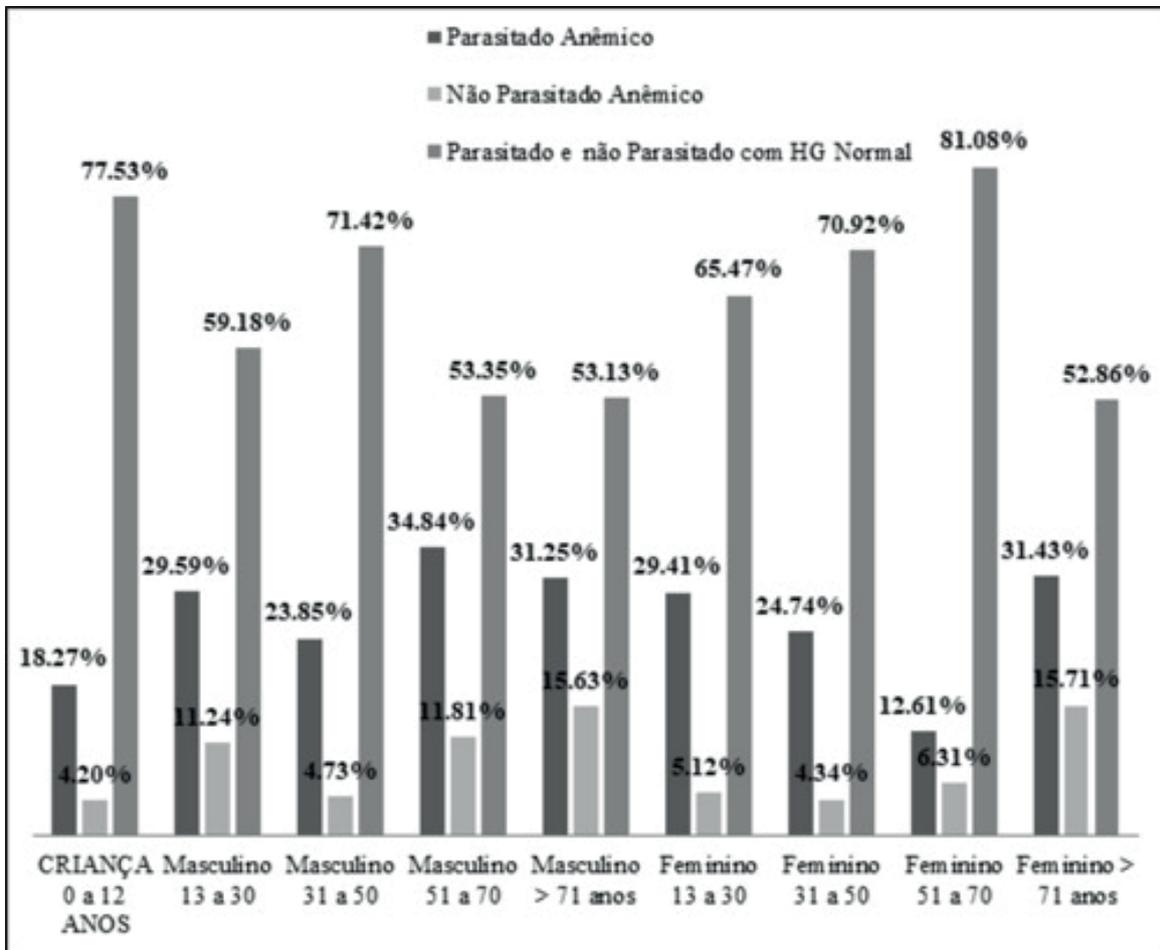


Gráfico 1

Distribuição de pacientes por faixa etária e classificação.

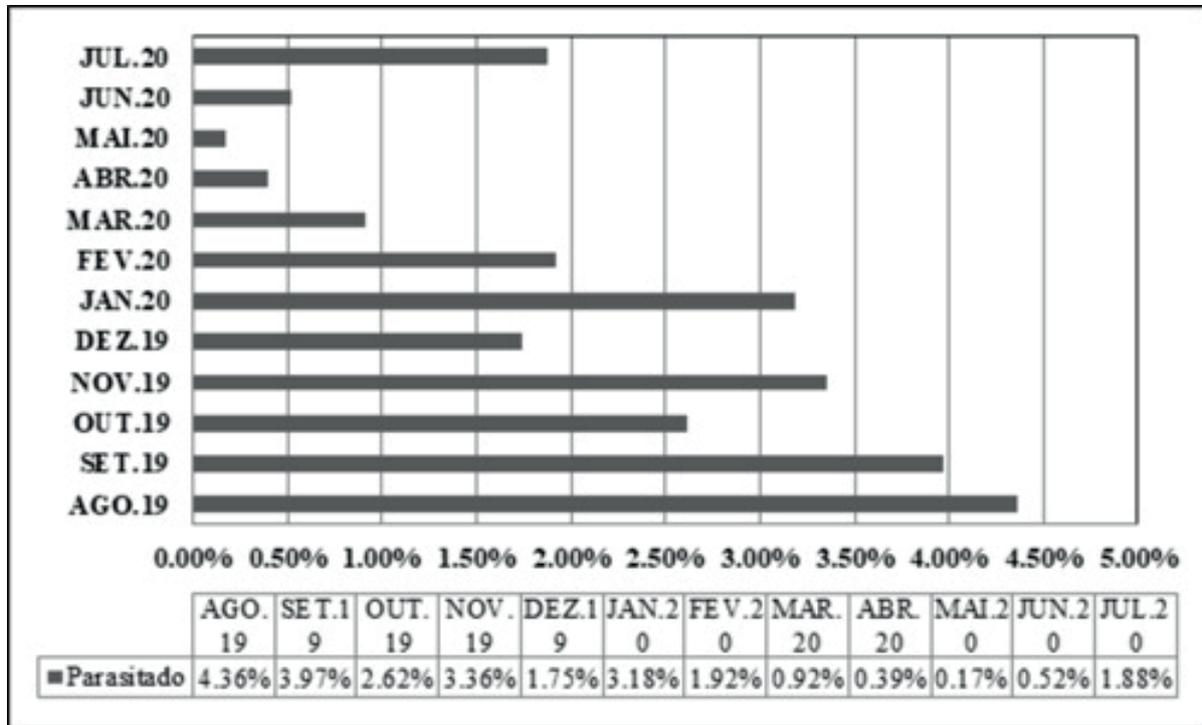


Gráfico 2

Percentuais dos exames de pacientes parasitados de acordo com o mês diagnósticos.

DISCUSSÃO

As infecções parasitárias intestinais estão associadas às condições sanitárias e representam um problema de saúde nos países subdesenvolvidos, e um dos principais motivos de alta prevalência se deve à poluição ambiental, que depende urgentemente de campanhas voltadas às condições básicas de educação e higiene.⁽¹¹⁾

Embora a *E. nana* e a *E. coli* não sejam consideradas patogênicas, sendo comensais no intestino humano, é importante atentar para os índices encontrados, pois este é um parâmetro para medir o grau de contaminação fecal aos quais os indivíduos estão expostos.⁽¹¹⁾ A Organização Mundial de Saúde defende que a deficiência de ferro deve ser combatida através de educação alimentar associada a medidas de aumento do consumo de minerais, controle das infecções parasitárias, suplementação medicamentosa e fortificação de alimentos com ferro.⁽¹²⁾

Ainda há controvérsias quanto à patogenicidade do *B. hominis*. Alguns autores constataam que esse parasita pode causar diarreia em pacientes, independentemente

de seu estado imunológico.⁽¹³⁻¹⁵⁾ Acrescente-se que a infecção por esse protozoário é bastante comum e em pacientes com comprometimento imunológico pode ser bastante grave.⁽¹⁶⁻¹⁸⁾

Nos últimos anos, algumas investigações foram conduzidas para determinar níveis mais precisos da ocorrência em humanos, sendo encontrados índices de grande importância nas regiões brasileiras estudadas.⁽¹⁹⁻²¹⁾ Pesquisas recentes mostram que este é o mais frequente protozoário encontrado nos exames parasitológicos de fezes humanas, com uma prevalência de 30% a 50% em países em desenvolvimento.⁽²²⁾

Parasitas intestinais podem causar danos aos seus portadores, incluindo obstrução intestinal, que pode estimular condições clínicas, essencialmente por uma obstrução (*Ascaris lumbricoides*), a anemia por deficiência de ferro (ancilostomídeos), a desnutrição (*Ascaris lumbricoides*, *Thichuris trichiura*), quadros de diarreia e má absorção (*Entamoeba histolytica* e *Giardia duodenalis*), no entanto a estimativa é de que cerca de 1 bilhão de pessoas estejam infectadas por *Ascaris lumbricoides*, e uma quantidade menor esteja infectada por *T. trichiura* e por ancilostomídeos.⁽²⁰⁾

As enteroparasitoses provocam alterações na quantidade dos leucócitos, com maior caracterização nos eosinófilos, por estarem relacionados à participação da resposta imune às parasitoses intestinais estimuladas pelas substâncias químicas produzidas pelos parasitas, as quais podem levar o indivíduo a uma anemia, visto que absorvem nutrientes essenciais para o organismo e sangue da mucosa intestinal, eventualmente diminuindo a taxa de hemoglobina.⁽²⁰⁾

Uma pesquisa feita em um laboratório de análises clínicas no município de Juazeiro do Norte constatou como resultado uma associação significativa entre anemia e as parasitoses intestinais. A pesquisa tomou como critério para a seleção pacientes cujos valores obtidos no exame de hemograma apresentem níveis de hemoglobina abaixo dos valores considerados normais para idade e sexo, que apresentem juntamente um quadro anêmico, em conjunto com o exame de patológico de fezes. O resultado obtido foi que 39,2% da amostra têm anemia associada com parasitose e destaca crianças, idosos e gestantes como principais grupos de risco.⁽⁸⁾

Segundo estudo realizado por Santos et al.,⁽⁵⁾ a preponderância de casos de enteroparasitoses em crianças ocorre principalmente devido ao alto contato com as formas infectantes dos parasitas. Devido à imunidade de crianças ainda ser deficiente para eliminação destes parasitos, elas se tornam mais suscetíveis a infecções. Nesta pesquisa, foi avaliada a prevalência de parasitas intestinais e a associação entre anemia e parasitose em crianças e idosos em Santo Ângelo, no estado do Rio Grande do Sul. Foram avaliados 2.470 pacientes, e, desses, 19,3% eram positivos para alguns parasitas intestinais, entretanto apenas 112 pacientes estavam com infecção por parasitos patogênicos, e entre estes últimos, 25,0% (28/112) apresentaram parasitose e anemia. Assim como no estudo de Miotto et al.,⁽²³⁾ os parasitos mais comuns foram os não patogênicos *E. nana* e *E. coli*, seguidos do parasito patogênico *G. lamblia*, o que reflete a via de contaminação fecal-oral. As crianças foram as mais afetadas, o que pode ser explicado pelas atividades recreativas em ambientes ao ar livre e por apresentarem o sistema imunológico em desenvolvimento. Ainda foi destacado o papel do *G. lamblia* no desenvolvimento de quadros anêmicos, visto que o parasita reduz a capacidade do organismo de absorver nutrientes.

Conforme Mahan e Stump,⁽²⁴⁾ a anemia pode ser considerada a manifestação final da deficiência de ferro crônica e de longa duração, refletindo na disfunção do sistema do corpo. A função muscular insuficiente se manifesta através da diminuição do desempenho no trabalho e resistência ao

exercício. O comprometimento neurológico é caracterizado por alterações comportamentais, como fadiga e anorexia. Um possível sinal da deficiência de ferro é a diminuição da imunidade e, sobretudo, em termos de deficiência imunológica celular e na atividade fagocitária dos neutrófilos, podem aumentar a infecção.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados analisados, os parasitos mais frequentemente encontrados foram: *Endolimax nana*, *Blastocystis hominis* e *Entamoeba coli*. Com isso, acentua-se o papel da educação no controle e prevenção deste problema em saúde. Dessa forma, destaca-se a importância da educação sanitária, educação em saúde, como também do debate sobre o acesso a bens e serviços da população afetada.

Portanto, devem ser priorizadas medidas de atenção integral à saúde da população, através da prática de uma medicina curativa e preventiva, visando acima de tudo o acesso universal e respeito à equidade dos indivíduos, visando obter avanços inerentes a melhoria da qualidade de vida da comunidade em Tomé-Açu/Pa.

REFERÊNCIAS

- Costa TS, Capeletti CP, Mello ML, Rizzi P, Parisi MM. Prevalência de anemias associadas às enteroparasitoses no Brasil. In: XXIII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão; 2018 out 23 – 25; [Acesso em: 16 de fev 2021]; Disponível em: <https://home.unicruz.edu.br/seminario/anais/anais-2018/XXIII%20SEMINARIO%20INTERINSTITUCIONAL/Ciencias%20Biologicas%20e%20da%20Saude/Mostra%20de%20Iniciacao%20Cientifica%20-%20TRABALHO%20COMPLETO/PREVAL%20C3%80S%20ENTEROPARASITOSE%20NO%20BRASIL.pdf>.
- Organização Mundial da Saúde. Lucha contra la anemia nutricional, especialmente contra la carência de hierro: Informe ADI/OIEA/OMS. Série de Informes Técnicos, 580. Genebra: OMS, 1975.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Anemia. Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. Brasília, 2004.
- Menezes SA, Lopes IA, Dutra YS, Nobre MNRN, Carvalho VFC. Anemia ferropriva associada a parasitoses. In: Mostra Científica em Biomedicina; [internet]; 2017; Ceara, Brasil. Disponível em: <http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/mostrabiomedicina/article/view/1561/0>.
- Santos PHS, Barros RCS, Gomes KVG, Nery AA, Casotti CA. Prevalência de parasitoses intestinais e fatores associados em idosos. Rev Brasileira de Geriatria e Gerontologia. 2017 Mar/Abr;20(2):244-254.
- Moraes LJR, Andrade LS, Farias CBP, Pinto LC, et al. Prevalência de Anemia Associada a Parasitoses Intestinais no Território Brasileiro: Uma Revisão Sistemática. Rev Pan-Amazônica de Saúde [online] 2019; Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v10/2176-6223-rpas-10-e201900098.pdf>.
- Nunes XPN, Almeida JRGS, Nunes XPN. Anemia ferropriva, enteroparasitoses e esgotamento sanitário. Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde 2014 Jan/Mar;16(1):118-124.

8. Júnior JGAS, Neto PAC, Cristo JS, Vandesmet VCS. Anemia associada às parasitoses intestinais de pacientes atendidos em um laboratório de análises clínicas no município de Juazeiro do Norte – CE. *Rev Interfaces Saúde, Humanas e Tecnologia* 2016;3(9):1-10.
9. BRASIL. Lei nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico: Altera as Leis: 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.036, de 11 de maio de 1990; 8.666, de 21 de junho de 1993; 8.987, de 13 de fevereiro de 1995. Revoga a Lei 6.528, de 11 de maio de 1978; e dá outras providências. *Diário Oficial {da} República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 de janeiro de 2007; seção 1.*
10. Rocha GKA, Cavalcante JAP, Santos PF, Rocha GJA, Medeiros TMD. Prevalência de anemias em crianças e adolescentes portadores de enteroparasitoses. *News Lab [online]* 2004. Disponível em: http://arquivos.info.ufrn.br/arquivos/20071810425aa20005110c63719eb903/Anemia_x_enteroparasitoses.pdf
11. Santos AS, Merlini LS. Prevalência de enteroparasitoses na população do município de Maria Helena – PR. *Rev Ciência e Saúde Coletiva*. 2010;15(3):899-905.
12. Braga JAP, Vitalle MSS. Deficiência de ferro na criança. *Rev Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. Mai 2010;32(2):38-44.
13. Qadri SMH, Ghadeer AAO, AL-Dayel. Clinical significance of *Blastocystis hominis*. *Journal of Clinical Microbiology* 1989 Oct 1989;27(11):2407-2409.
14. Devera R, Azacon B, Jimenez M. Infecção por *Blastocystishominis* em pacientes do Hospital Universitário “Ruíz Y. Páez” de cidade Bolívar, Venezuela. *Rev da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1998 Mar;53(3/4):56-62.
15. Suresh K, Smith H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004 Mar;23(1):509-511.
16. Brites C, Barberino MG, Bastos MA, Sá MS, Silva N. *Blastocystis hominis* as a potencial cause of diarrhea in AIDS patients: a report of six cases in Bahia, Brazil. *Braz J Infec Dis* 1997;1:91-94.
17. PrasadKN, NagVL, DholeTN, Ayyagari A. Identification of enteric pathogens in HIV-positive patients with diarrhea in northern India. *Journal of Health, Population and Nutrition* 2000/6;18(1):23-6.
18. Tasova Y, Sahin B, Koltas S, Paydas S. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with haematological malignancy. *Acta Medica Okayama* 2000;54(3):133-136.
19. Teixeira ATLS, Garlipp CR, Bottini PV, Souza R. *Blastocystis hominis*: prevalência e patogenicidade. *Rev Brasileira de Patologia Clínica* 1989; 25:1.
20. Martins LPA, Serapião AATB, Valenciano RF, Pires JEC, Castanho REP. Frequência de *Blastocystis hominis* e outras enteroparasitoses em amostras fecais analisadas no laboratório de parasitologia da faculdade de medicina de Marília – SP. *Rev de Patologia Tropical* 2007;36(1):47-53.
21. Matos CP, Amato Neto V, Braz LMA, Carignani FL, Villela MSH, Pinto THL, Fernandes AODP, Casadei CRDM. *Blastocystis hominis*: diagnóstico por exame direto e por coloração com tionina. *Rev da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1998; (Supl. 1):188.
22. Noël C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb VP, Viscogliosi PD, Ho LC, Singh M, Wintjens R, Sogin ML, Capron M, Pierce R, Zenner L, Viscogliosi E. Molecular phylogeny of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43(1):348-355.
23. Miotto JE, Caro DSA, Barros MF, Rego BEF, Santos FC, Macagnan R. Diagnóstico laboratorial de enteroparasitoses e anemia e sua possível associação com eosinofilia em crianças em idade escolar em Ubiratã - PR. *Rev Biosaúde* 2014;16(2):52-62.
24. Mahan LK, Stump SE. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 12º ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.

Prevalência de casos de vaginite e vaginose em mulheres atendidas pelo SUS residentes no município de Salvador-Bahia

Prevalence of vaginitis and vaginosis cases in women attended by SUS in the county of Salvador-Bahia

Tayanna Kelly Lourenço Amorim da Silva¹, Danilo Pontes de Oliveira Barros²

¹ Analista Biomédica – Laboratório Central de Pernambuco. Recife, PE, Brasil.

² Orientador, Especialista em Citologia Clínica, Docente do Centro Universitário Maurício de Nassau. Recife, PE, Brasil.

Resumo

Objetivo: Essa pesquisa objetiva verificar a prevalência de mulheres portadoras de processos inflamatórios benignos, como a vaginite e vaginose, atendidas via Sistema Único de Saúde (SUS) no município de Salvador – Bahia, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015. **Métodos:** Estudo epidemiológico com base populacional e de caráter seccional relatando casos de processos inflamatórios benignos, em mulheres do grupo etário dos 15 aos 59 anos, registradas no banco de dados do SISCOLO. **Resultados:** Em todos os casos positivos de agentes patogênicos houve a presença de dois grupos que prevaleceram nos resultados: as bactérias como os cocos e bacilos em geral com 2.182 casos, a *Gardnerella vaginalis* com 523 casos e o protozoário *Trichomonas vaginalis* com 30 casos. Observou-se em menor número a *Chlamydia trachomatis* com 1 único caso e *Herpes simplex* com 3 casos notificados, não sendo encontrado nenhum caso de *Actinomyces* sp. Casos de cocos e bacilos e *Gardnerella vaginalis* foram encontrados em sua maior parte em mulheres pertencentes ao grupo de 20 a 39 anos de idade, com 1.339 e 320 casos, respectivamente. Já o protozoário *Trichomonas vaginalis* apareceu em 13 casos tanto nas mulheres de 20 a 39 como nas de 40 a 59 anos de idade. **Conclusão:** É de extrema importância o conhecimento de como os processos inflamatórios benignos no trato vaginal se comportam na população feminina, sendo possível criar medidas específicas através do perfil epidemiológico de mulheres acometidas por essas patologias, tornando as ações mais eficazes para uma detecção precoce, tratamentos adequados e diagnósticos satisfatórios.

Palavras-chave: Vaginite; Vaginose Bacteriana; Teste de Papanicolaou.

Abstract

Objective: The objective of this study was to verify the prevalence of women with benign inflammatory processes, such as vaginitis and vaginosis, where they were treated through the Unified Health System (SUS) in the city of Salvador, Bahia, from January to September 2014 and 2015. **Methods:** Study is a population-based epidemiological study with a sectional character reporting of benign inflammatory processes in a women group and a group from 15 to 59 years old, in the municipality of Salvador-Bahia, registered in the SISCOLO database. **Results:** All positive cases of pathogens in the research, there were the presence of two groups that prevailed the results, bacterias such as Cocos and bacilli in general with 2182 cases, a *Gardnerella vaginalis* with 523 cases and protozoa *Trichomonas vaginalis* with 30 cases. Observing in least incidences the *Chlamydia trachomatis* with only 1 case and *Herpes simplex* with 3 reported cases, with no *Actinomyces* sp. cases reported. Cases of Cocos and Bacilli and *Gardnerella vaginalis* were found mostly in women belonging to the 20-39-year-old group with 1339 and 320 cases respectively, the protozoan *Trichomonas vaginalis* appeared in 13 cases in both women 20 to 39 and in those aged 40 to 59 years. **Conclusion:** Considered extremely important the knowledge of how benign inflammatory processes in the vaginal tract behave in the female population, and it is possible to create specific measures through the epidemiological profile of women affected by these pathologies, becoming the most effective actions for an early detection, appropriate treatments and satisfactory diagnoses.

Keywords: Vaginitis; Vaginosis Bacterial; Papanicolaou Test.

Correspondência

Tayanna Kelly Lourenço Amorim da Silva

E-mail: amorim.taykelly@gmail.com

Recebido em 14/06/2021 | Aprovado em 10/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202154

INTRODUÇÃO

A microbiota oferece proteção contra a aderência e o crescimento desordenado de patógenos através da produção de bacteriocinas. Das diversas microbiotas existentes no corpo, uma das mais estudadas é a microbiota vaginal (MV), composta predominantemente de *Lactobacillus* spp., que tem como função principal manter o pH ácido (3,5 a 4,5), o que impede o crescimento desordenado de microrganismos, formando uma barreira protetora na mucosa vaginal.⁽¹⁾

O equilíbrio entre a MV e o estado hormonal atua na produção da secreção vaginal, um processo fisiológico normal do organismo que dificulta o surgimento de infecções e se apresenta de cor clara ou esbranquiçada quando não está acompanhada de patógenos, variando no aspecto e na quantidade de acordo com o período do ciclo menstrual.⁽²⁾

Se ocorre infecção ou inflamação, as características da secreção vaginal modificam-se, ocasionando um corrimento abundante, de odor fétido, que pode estar associado a quadro de vaginite e cervicite. Aparece frequentemente em mulheres que iniciaram sua vida sexual antes dos 16 anos, utilizam anticoncepcionais orais sem o acompanhamento médico, usam o dispositivo intrauterino (DIU), possuem muitos parceiros sexuais, não têm uma boa prática de higiene local e fazem uso de duchas vaginais de modo incorreto.^(1,3)

Qualquer oscilação da microbiota favorece que microrganismos se infiltrem no meio, provocando quadros de vaginite, vaginose e cervicite. Entre os agentes causadores mais comuns têm-se as bactérias como cocos e bacilos, o *Actinomyces* sp., *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* e espécies de *Mobiluncus* e bacteroides.^(1,4)

Dentre as bactérias anaeróbias que provocam vaginose e levam a processos inflamatórios pélvicos estão cocos Gram-positivos como *Streptococcus agalactiae*, estreptococos do grupo A, *Staphylococcus* sp. e também algumas *Enterobacteriaceae*.⁽⁵⁾ Também destaca-se a presença da *Candida* spp. e *Trichomonas vaginalis*, respectivamente um agente fúngico e um parasita que podem causar quadros inflamatórios.⁽⁶⁾

A *Gardnerella vaginalis* é um dos principais agentes bacterianos responsáveis por infecção em mulheres em idade reprodutiva, seguida pela *Chlamydia trachomatis*. Quando infiltram na MV, elas produzem uma resposta inflamatória com a liberação de citocinas e aminas voláteis que, em ambientes mais alcalinos, causam um “odor de peixe”, ocorrendo com mais intensidade depois do ciclo menstrual e em relações sexuais pela presença do esperma de pH básico no ambiente vaginal.^(7,8)

Processos infecciosos na MV também podem ser desencadeados por agentes fúngicos, destacando-se entre eles a *Candida* spp. que tem como principal sintoma o prurido vulvovaginal, uma secreção branca, granulosa e indolor com aspecto caseoso, sendo uns dos principais agentes causadores das vulvovaginites,⁽⁶⁾ a qual pode ser causada também pela presença do *Trichomonas vaginalis*, um parasita de transmissão sexual.⁽⁹⁾

A vaginose, a candidíase e a tricomoníase, em conjunto, são responsáveis por 90% dos corrimentos vaginais.⁽¹⁰⁾ Quando diagnosticada, a mulher deve iniciar o tratamento para restauração da sua microbiota vaginal normal, com a redução do patógenos através da utilização de antibióticos da família dos imidazólicos e a reposição dos lactobacilos perdidos.⁽¹¹⁾ Se não tratadas e detectadas com antecedência, essas enfermidades aumentam o risco de complicações ginecológicas, como a doença inflamatória pélvica e a suscetibilidade de adquirir o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outras doenças sexualmente transmissíveis.⁽¹²⁻¹⁴⁾

O exame citológico de Papanicolaou é um dos principais exames mais utilizados para o diagnóstico de vaginite e vaginose, sendo empregado para pesquisa de lesões precursoras do câncer do colo do útero, podendo também ser aplicado para identificação de alteração na microbiota vaginal.⁽²⁾

A vaginite e a vaginose causam alterações na mucosa vaginal, aumentando o risco de promover complicações ginecológicas, podendo estar associadas à infertilidade e ao parto prematuro. Conhecer a prevalência dessas infecções pode se tornar uma ferramenta importante no auxílio da criação de programas de prevenção e estratégias de tratamento.

Diante do exposto, o presente trabalho objetiva verificar a prevalência de mulheres portadoras de processos inflamatórios benignos, como a vaginite e a vaginose, e que estas foram atendidas via Sistema Único de Saúde (SUS) no município de Salvador – Bahia, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

METODOLOGIA

Realizou-se um estudo epidemiológico do tipo seccional no município de Salvador, capital do estado da Bahia, que possui 2.675.656 habitantes, sendo 1.426.759 (53%) mulheres. Desse percentual de mulheres, 109.282 (7,66%) pertence à faixa etária de 15 a 19 anos de idade, 540.913 (38%) compete às mulheres de 20 a 39 e 351.154 (24,61%) às mulheres de 40 a 59 anos de idade, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), censo de 2010. Trata-se do

município mais populoso do Nordeste e o terceiro do Brasil.

Relatando todos os casos notificados no Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO) de mulheres residentes na referida capital, atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), com processos inflamatórios benignos do trato vaginal, como as vaginites e vaginose, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015. Serão incluídas no estudo apenas os casos em mulheres com idade de 15 aos 59 anos.

Os dados obtidos foram extraídos do SISCOLO, disponível no site do Departamento de Informática do SUS (www.datasus.saude.gov.br). Trata-se de um sistema informatizado desenvolvido em parceria com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estabelecido pelo Ministério da Saúde como uma ferramenta para o acompanhamento de ações de detecção precoce dos processos inflamatório benignos como também para o câncer no colo do útero, auxiliando na obtenção de informações destes casos na população em questão.

As variáveis utilizadas nesse trabalho foram: idade, adequabilidade do material (satisfatório) e os agentes patogênicos (cocos e bacilos, *Actinomyces sp.*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e *Herpes simplex*).

As informações coletadas no SISCOLO foram analisadas por meio dos programas TabNet e Excel® 2016, mediante os quais calculou-se a estatística descritiva (frequência e proporção) e coeficiente de prevalência (CP).

Essa pesquisa não infringe nenhuma lei ética, pois todos os dados estão disponíveis na internet.

RESULTADO E DISCUSSÃO

No município de Salvador, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015, foram realizados 13.121 exames citopatológico cérvico-vaginal. Destes, 10.652 foram diagnosticados em mulheres pertencentes ao grupo etário de 15 a 59 anos de idade. De janeiro a setembro de 2014 foram realizados 7.818 exames nessa mesma faixa etária, enquanto em 2015 apresentou o número de 2.834 exames, mostrando uma redução de 63,76% de 2014 para 2015.

Ainda há barreiras nas realizações do exame preventivo, tanto pela falta de informação da importância do exame, como por pudor, medo, falta de interesse, impedimento por parte do cônjuge, como também as dificuldades encontradas nos locais de realizações de coleta, que algumas vezes não conseguem cobrir a demanda do município.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾

Na análise das alterações proliferativas benignas como a vaginite e vaginose, destaca-se que no ano de 2014 obteve-se o resultado positivo de 1.456 (13,78%) casos, observando o maior índice no mês de janeiro, com 14,63% de casos. Já, em 2015, a quantidade de casos positivos foi de 1.283 (12,04%), enfatizando o maior valor no mês de março com 22,31% casos (Figura 1).

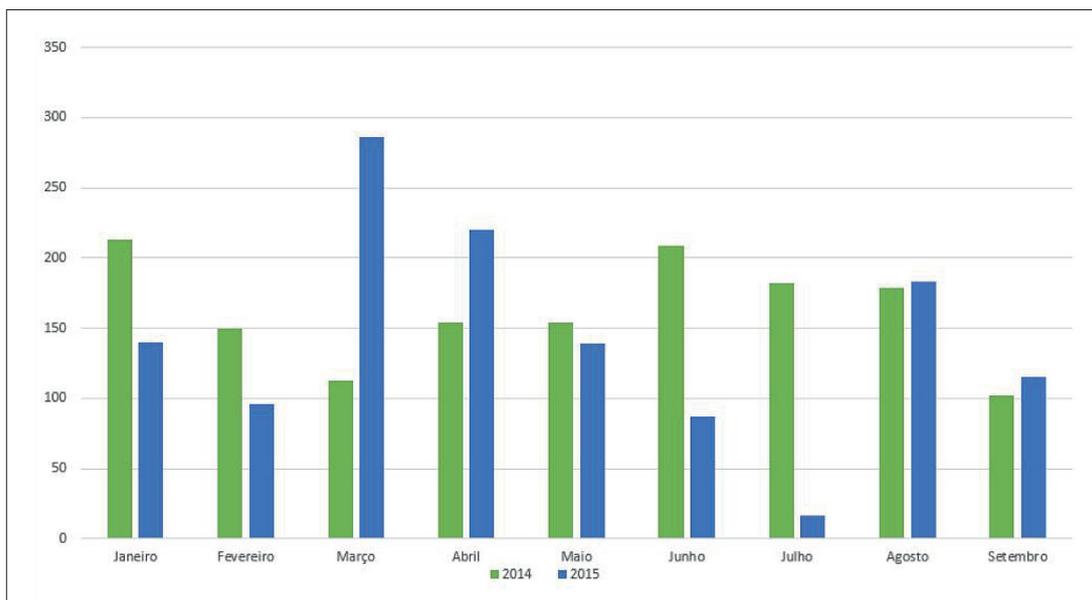


Figura 1

Quantitativo de exames citológicos do colo de útero positivos para alterações proliferativas benignas, realizados no município de Salvador – Bahia, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

O termo vaginite ou vulvovaginite é usado para descrever qualquer infecção ou inflamação na vagina, desencadeado quando há o desnivelamento entre o número de lactobacilos e os microrganismos existentes. Esse aumento dos agentes patogênicos, ou seja, a vaginose, causa um desconforto em mulheres portadoras, sendo apontado como um dos sintomas principais que levam as mulheres a procurar o serviço de saúde.⁽¹⁷⁾

Dependendo de qual inflamação proliferativa benigna seja, vaginite ou vaginose, existem diversos agentes patogênicos para cada forma da doença, e de acordo com os dados do SISCOLO os principais microrganismos causadores destas doenças são os cocos e bacilos, *Actinomyces sp.*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis* e *Herpes simplex*.

A *Gardnerella vaginalis* é indicada na literatura como um dos agentes patogênicos responsáveis pela maioria dos casos de vaginose encontrados nos laudos dos exames preventivos, acometendo mulheres na maioria das vezes nas idades de 21 a 30 anos e menos frequente naquelas

de 15 a 19 anos, tendo uma importância clínica por poder induzir à doença inflamatória pélvica.^(5,10,11,18,19)

Um estudo realizado no município de Vitória de Santo Antão – PE para verificar a prevalência e os fatores de risco da tricomoníase em mulheres obteve que a maioria dos casos foi diagnosticada em mulheres adultas de 26 a 59 anos de idade e que estavam associados a fatores socioculturais, como baixa escolaridade, múltiplos parceiros sexuais, falta de educação sexual e ocupação.⁽⁹⁾ Em outro estudo realizado em Goiânia – GO os dados obtidos diferem entre si, o grupo de idade mais acometida foi o de adolescente, pois há um aumento de número de adolescentes que estão iniciando sua vida sexual muito cedo e não utilizam nenhum método contraceptivo.⁽¹⁸⁾

De todos os casos positivos de agentes patogênicos nessa pesquisa, destacou-se a presença de dois grupos que prevaleceram nos resultados: as bactérias como os cocos e bacilos em geral, a *Gardnerella vaginalis* e o protozoário *Trichomonas vaginalis*. Verificou-se em menor número a presença do *Actinomyces sp.*, *Herpes simplex* e a *Chlamydia trachomatis* (Tabela 1).

Tabela 1

Números de casos, percentual e coeficiente de prevalência (CP) dos casos de processos inflamatórios benignos, de acordo com os agentes patogênicos e as idades estudadas, no município de Salvador – Bahia no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

	15 a 19			20 a 39			40 a 59		
2014									
Espécies Patogênicas	Nº de casos	%	CP	Nº de casos	%	CP	Nº de casos	%	CP
Cocos e bacilos	89	7,97	81,44	688	61,59	127	340	30,44	96,82
<i>Gardnerella vaginalis</i>	32	10,03	29,28	193	60,50	54,16	94	29,47	26,77
<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-	-	9	50,00	1,66	9	50,00	2,56
<i>Actinomyces sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Herpes simplex</i>	-	-	-	2	66,67	0,37	1	33,33	0,28
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2015									
Espécies Patogênicas	Nº de casos	%	CP	Nº de casos	%	CP	Nº de casos	%	CP
Cocos e bacilos	103	9,67	94,25	651	61,13	120	311	29,20	88,56
<i>Gardnerella vaginalis</i>	23	11,27	21,04	127	62,25	23,47	54	26,47	15,37
<i>Trichomonas vaginalis</i>	4	33,33	3,66	4	33,33	0,73	4	33,33	1,34
<i>Actinomyces sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Herpes simplex</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-	-	1	100,00	0,18	-	-	-

Dos casos envolvendo cocos e bacilos, tem-se que no período dos anos estudados foram realizados cerca de 2.182 diagnósticos, sendo que, destes, o maior valor de casos positivos foi de 1.339 (61,36%) encontrados em mulheres na faixa etária de 20 a 39 anos de idade e o menor valor foi de 192 (8,80%) em meninas de 15 a 19 anos de idade (Figura 2).

Dos bacilos sugestivos de *Gardnerella vaginalis*, o qual se torna o principal responsável pelos quadros de vaginose bacterianas, observou-se que no período em questão foram diagnosticados 523 casos, dentre eles 320 (61,19%) foram apenas em mulheres de 20 a 30 anos de idade (Figura 2).

O protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis* aparece em terceiro lugar entre os patógenos mais observados nos resultados de processo inflamatório nas mulheres de 15 a 59 anos de idade. Encontrado em 30 casos no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015, sendo deste 13 (43,33%) casos foram diagnosticados em mulheres pertencentes ao grupo de 20 a 39 anos e 13 (também 43,3%) em mulheres de 40 a 59 de idade (Figura 2).

As infecções por bactérias como cocos e bacilos, *Chlamydia trachomatis*, *Actinomyces* sp. ou pelo vírus *Herpes simplex* também são associadas a fatores socioculturais, como múltiplos parceiros sexuais. Duchas vaginais, uso do DIU, início da atividade sexual precocemente, como também o não uso de preservativos aumentam a incidência de números de casos dessas infecções, que podem agravar para quadros irreversíveis se não diagnosticados precocemente.^(2,3,8,20)

Compondo o grupo dos agentes patogênicos que menos apareceram nos resultados dessa pesquisa, temos *Chlamydia trachomatis* com apenas 1 caso, o *Herpes simplex* com 3 casos diagnosticados e o *Actinomyces* sp. que não teve nenhum caso notificado no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

Os resultados podem ser analisados com mais eficácia quando avaliados pelo coeficiente de prevalência, observando-se que ao passar dos períodos o número de mulheres dos grupos de 20 a 39 anos e 40 a 59 anos diagnosticadas com cocos e bacilos, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* diminuíram. As mulheres pertencentes ao grupo de 15 a 19 anos também tiveram uma redução no número de resultados positivos para *Gardnerella vaginalis*, observando um aumento no número de casos de cocos e bacilos com o aparecimento de caso de *Trichomonas vaginalis*.

Pelo coeficiente de prevalência, observou-se que as mulheres de 15 a 19 anos de idade representaram uma diminuição de casos do grupo de maiores contaminações apenas da *Gardnerella vaginalis* que de 29,28 passou a 21,04. No caso de cocos e bacilos houve um aumento de 81,44 para 94,25, e de *Trichomonas vaginalis*, que não teve nenhum caso, acusou aumento para 3,66. Para o grupo de menor risco de contaminação não houve casos de infecção por *Actinomyces* sp., *Chlamydia trachomatis* e *Herpes simplex* (Figura 3).

Casos de vaginite e vaginose vêm sendo observados cada vez mais entre adolescentes, podendo estar associados ao aumento do número de jovens que estão iniciando sua vida sexual precocemente.⁽¹³⁾ Em um estudo realizado em São Paulo para investigar o perfil epidemiológico de mulheres com vaginose, atendidas em um ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis, foi averiguado que 41,1% de casos de vaginose foram observados na faixa etária de 15 a 19 anos de idade, o que poderia também estar relacionado ao início precoce da vida sexual.⁽²¹⁾

Foi notado que as mulheres pertencentes à faixa etária de 20 a 39 anos obtiveram redução no número de casos dos grupos de maiores contaminações que foram os cocos e bacilos que tiveram uma queda de 127 para 120, a *Gardnerella vaginalis* que teve uma redução de 54,16 para 23,47, e *Trichomonas vaginalis* que passou de 1,66 para 0,73. Já para os de menor risco de contaminação, as mulheres tiveram uma queda de apenas um agente que foi o *Herpes simplex*, que de 0,37 foi reduzido para nenhum caso, porém surgiram casos de *Chlamydia trachomatis*. Para o *Actinomyces* sp., não houve nenhum caso notificado (Figura 4).

As mulheres do grupo etário de 20 a 39 anos são apontadas como as que mais realizam o exame citológico de Papanicolaou, daí ser esse grupo em que mais se encontram casos positivos para agentes infecciosos no trato genital.^(20,22,23) O agente patogênico e de importância clínica, mais prevalente nessa faixa etária, é a *Gardnerella vaginalis*, não caracterizado como uma DST, porém tendo conotação sexual por ser encontrada em grande número de mulheres que têm vários parceiros sexuais. A secreção abundante e comumente com odor fétido é um dos principais motivos que levam essas mulheres a realizar o exame citológico de Papanicolaou.^(4,24)

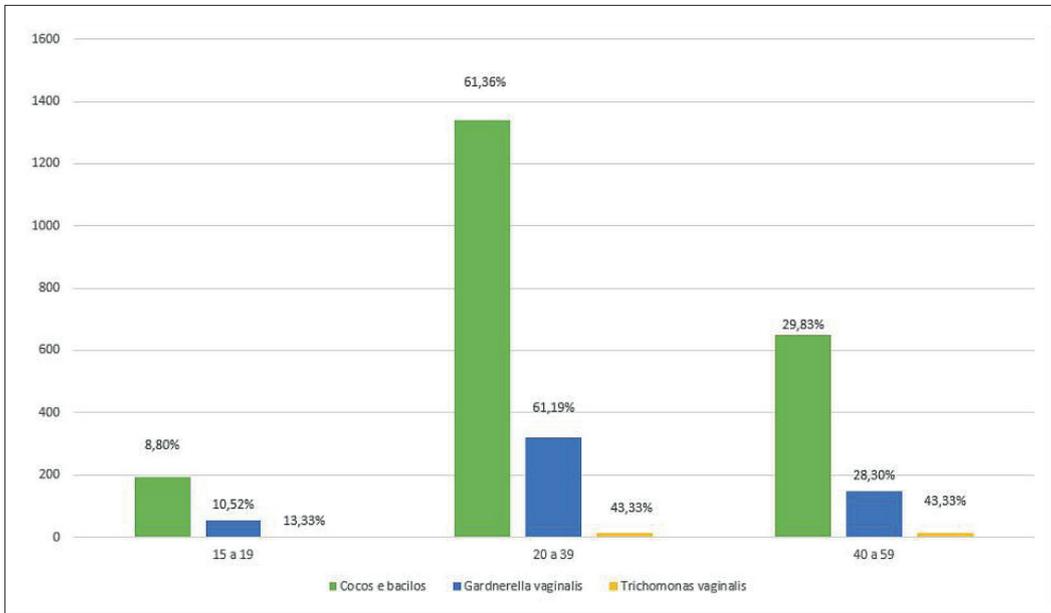


Figura 2

Quantitativo de exames citológicos positivos para os agentes patogênicos nas mulheres de 15 a 59 anos de idade, no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

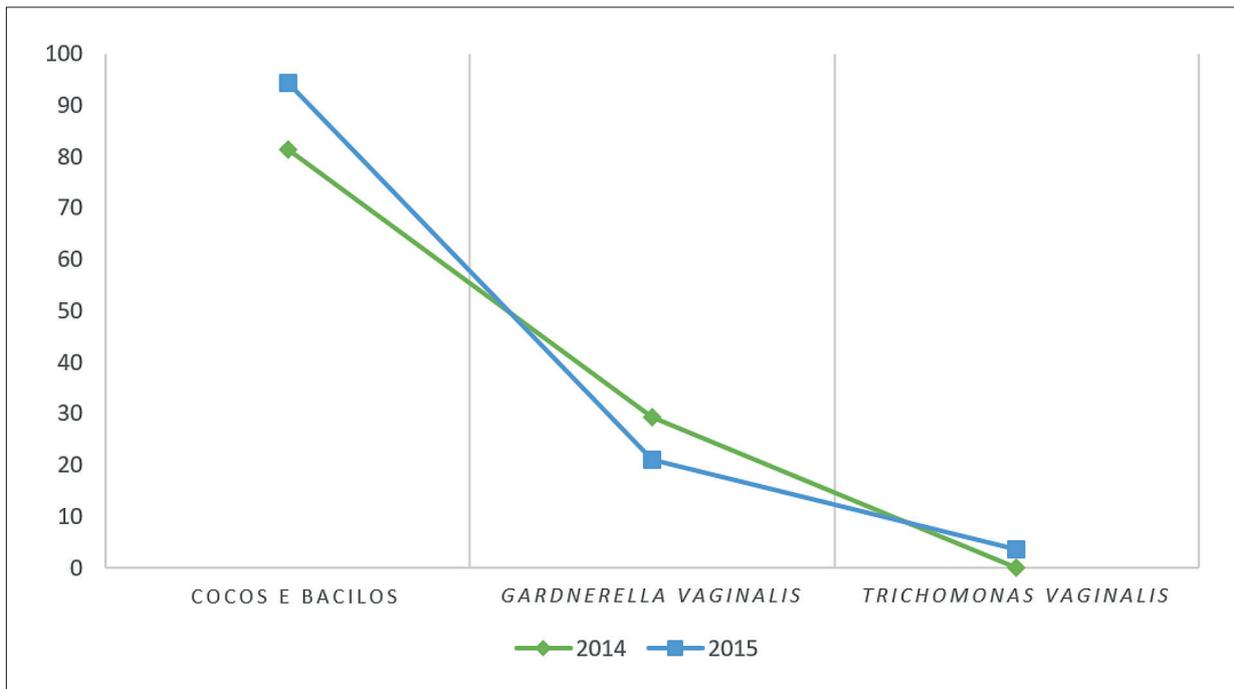


Figura 3

Coefficiente de prevalência de mulheres de 15 a 19 anos diagnosticadas com agentes patogênicos inflamatórios distribuída no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

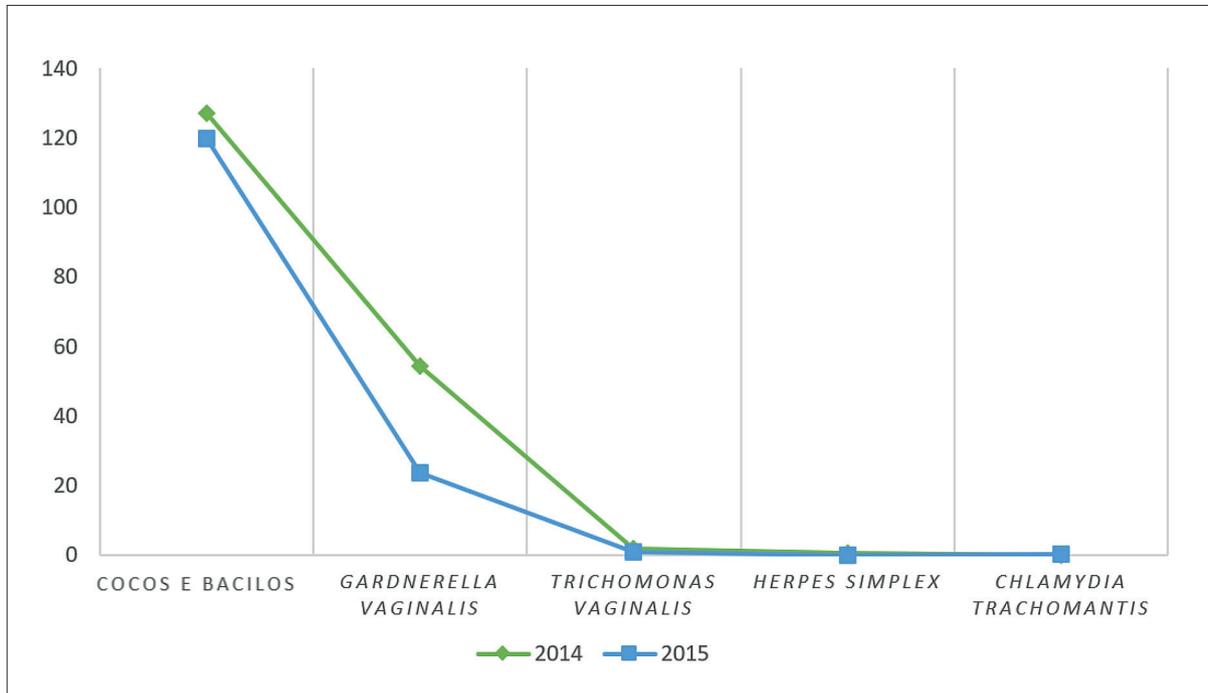


Figura 4

Coefficiente de prevalência de mulheres de 20 a 39 anos diagnosticadas com agentes patogênicos inflamatórios no município de Salvador – Bahia distribuída no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

As mulheres de 40 a 59 anos similarmente tiveram redução nos números de casos do grupo de maiores contaminações: o cocos e bacilos, de 96,82 teve uma queda para 88,56; *Gardnerella vaginalis*, de 26,77 caiu para 15,37; e o *Trichomonas vaginalis*, de 2,56 teve uma redução para 1,34. O mesmo aconteceu com o grupo de menores contaminações, que teve a redução do *Herpes simplex* de 0,28 para 0. Já para o *Actinomyces* sp. e a *Chlamydia trachomatis* não foi constatado nenhum caso notificado (Figura 5).

Infecções no trato genital em mulheres acima dos 40 anos podem ser explicadas pela redução no número de células epiteliais escamosas intermediárias ricas em glicogênio, polissacarídeo que é essencial na formação do ácido lático produzido pelos *Lactobacillus* spp. e que têm como função impedir o crescimento desordenado de microrganismos. Tal processo apresenta-se deficiente nesse grupo de mulheres, causando assim a suscetibilidade em apresentar quadros de infecções e inflamações na mucosa vaginal.^(1,24,25)

CONCLUSÃO

Considera-se de extrema importância o conhecimento de como os processos inflamatórios benignos no trato vaginal se comportam na população feminina, sendo possível criar medidas específicas através do perfil epidemiológico de mulheres acometidas por essas patologias, tornando as ações mais eficazes para uma detecção precoce, tratamentos adequados e diagnósticos satisfatórios.

O estudo observou a particularidade de cada microrganismo precursor de processos inflamatórios vaginais de acordo com três grupos divididos por faixas etárias, justificando a inclusão de mulheres de 15 a 59 anos de idade no programa de rastreio, a fim de diminuir a prevalência de casos de vaginite e vaginose através do diagnóstico precoce, notando-se que o índice de prevalência dessas doenças está aumentando.

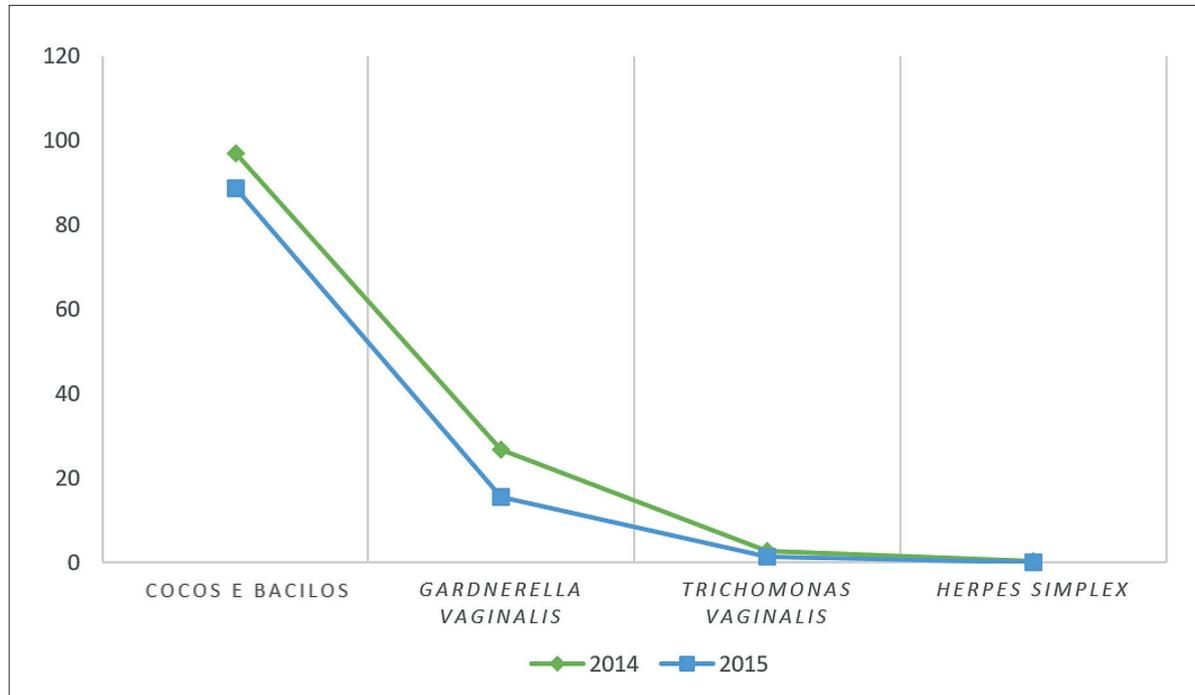


Figura 5

Coefficiente de prevalência de mulheres de 40 a 59 anos diagnosticadas com agentes patogênicos inflamatórios no município de Salvador – Bahia distribuída no período de janeiro a setembro dos anos de 2014 e 2015.

REFERÊNCIAS

- Lima MG, Pereira CAS, Nowak LD. Espécies de *Lactobacillus* e seu papel na vaginose bacteriana. *Cadernos UniFOA*, Volta Redonda, n. 28, p. 83-90, ago. 2015.
- Camargo KC de, Alves RRF, Baylão LA, Ribeiro AA, Araujo NLA de S, Tavares SB do N, et al. Secreção vaginal anormal: Sensibilidade, especificidade e concordância entre o diagnóstico clínico e citológico. *Rev Bras Ginecol e Obs*. 2015;37(5):222-8.
- Martínez MW. Actualización sobre vaginosis bacteriana. *Rev Cuba Obstet y Ginecol*. 2013;39(4):427-41.
- do Amaral AD. Incidência de *Gardnerella vaginalis* nas Amostras de Secreção Vaginal em Mulheres Atendidas pelo Laboratório Municipal de Fraiburgo. *Rev Ciências Farm Básica e Apl*. 2012;33(3):455-8.
- Romanelli RM de C, Lima SSS, Viotti LV, Clemente WT, Aguiar RALP de, Silva Filho AL. Current approaches to pelvic inflammatory disease. *Rev Médica Minas Gerais*. 2013;23(3):347-55.
- Júnior AG, Grigoletto ARL, Fregonizi PAG. Candidíase Vaginal: uma questão de educação em saúde. *Brazilian J Heal*. 2011;2(2):89-96.
- Paganoti C de F, Bittar RE, Francisco RPV, Zugaib M. As infecções genitais podem alterar os resultados dos testes preditivos do parto prematuro? *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. 37 (1). Jan 2015.
- Mota DA, Monteiro CDA, Monteiro SG. Prevalência de vaginose bacteriana em pacientes que realizaram bacterioscopia de secreção vaginal em laboratório de saúde pública. 2012;10(1):15-8.
- Lima MCL de, Albuquerque TV, Neto ACB, Rehn VNC. Prevalência e fatores de risco independentes à tricomoníase em mulheres assistidas na atenção básica. *Acta Paul Enferm*. 2013;26(4):331-7.
- Ray K, Muralidhar S, Bala M, Kumari M, Salhan S, Gupta SM, et al. Comparative study of syndromic and etiological diagnosis of reproductive tract infections/sexually transmitted infections in women in Delhi. *Int J Infect Dis*. 2009;13(6):352-9.
- Bonfanti G, Gonçalves T de L. Prevalência de *Gardnerella vaginalis*, *Candida* spp. e *Trichomonas vaginalis* em exames citopatológicos de gestantes atendidas no Hospital Universitário de Santa Maria – RS. *Rev da Saúde*. 2010;36(1):37-46.
- Gergova RT, Strateva TV, Mitov IG. *Gardnerella vaginalis* – associated bacterial vaginosis in Bulgarian women. *Brazilian J Infect Dis*. 2013;17(3):313-8.
- Sá MI, Silva MT, Almeida D, Vieira B, Lima T, Oliveira T. Infecções sexualmente transmissíveis e fatores de risco nas adolescentes e jovens: Dados de um Centro de Atendimento a Jovens. *Nascer e Crescer*. 2015;XXIV(2):64-9.
- Amaral RL, Gonçalves AK, Rodrigues HM, Lima PH. Bacterial Vaginosis, Sexually Transmitted. *Sex Transm Infect*. 2013;25(4):183-9.
- Andrade MS, Almeida MMG de, Araújo TM de, Santos KOB. Fatores associados a não adesão ao Papanicolaou entre mulheres atendidas pela Estratégia Saúde da Família em Feira de Santana, Bahia, 2010. *Epidemiol e Serviços Saúde*. 2014;23(1):111-20.
- Duavy LM, Batista FLR, Jorge MSB, Santos JBF dos. A percepção da mulher sobre o exame preventivo do câncer cérvico-uterino: estudo de caso. *Cien Saúde Colet*. 2007;12(3):733-42.
- Aguilar RP, Soares DA. Barreiras à realização do exame Papanicolaou: perspectivas de usuárias e profissionais da Estratégia de Saúde da Família da cidade de Vitória da Conquista –BA. *Physis Rev Saúde Coletiva*. 2015;25(2):359-79.

18. Ana Paula Weinfurter Lima; Camila de Oliveira Ross. Ocorrência de vaginose bacteriana no exame citológico de pacientes de um hospital de Curitiba em 1955 por Gardner e Dukes, que descreveram um quadro clínico de secreção. *Rev Saúde e Desenvol.* 2005;7:167-78.
19. Lourdes M de, Siqueira B, Carolina A, Cintra F, Paulo J, Santos DC, et al. Resultados citopatológicos de mulheres que realizaram exame do colo do útero em um laboratório escola da Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO: estudo de prevalência. 2008;201-5.
20. Lima-Silva J, Tavares S, Vieira-Baptista P, Beires J. Vaginite inflamatória descamativa. 2016;10(4):317-25.
21. Soreano R, Fagundes LJ, Moraes FRB, Arnone M. Perfil epidemiológico de mulheres com vaginose bacteriana, atendidas em um ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis, em São Paulo. 2007;82(1):41-6.
22. Dias-da-Costa JS, Olinto MTA, Gigante DP, Menezes AMB, Macedo S, Borba AT de, et al. Cobertura do exame citopatológico na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2003;19(1):191-7.
23. Albuquerque KM de, Frias PG, Andrade CLT de, Aquino EML, Menezes G, Szwarcwald CL. Cobertura do teste de Papanicolaou e fatores associados à não-realização: um olhar sobre o Programa de Prevenção do Câncer do Colo do Útero em Pernambuco, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2009;25:s301-9.
24. Sérgio C, Silva DA, Pavani R, de Ângelo A, Adad SJ, Hazarabedian AM, Souza DE, Fernando E, & Murta C. (2003). Frequência e distribuição etária de infecção vaginal por *Gardnerella vaginalis*, *Candida sp.* e *Trichomonas vaginalis* em exame de Papanicolau. In *Rev Med Minas Gerais* (Vol. 13, Issue 2).
25. Wanderley MDS, Miranda CRDR, Freitas MJC de, Pessoa ARS, Lauand A, Lima RM. Vaginose Bacteriana em Mulheres com Infertilidade e em Menopausadas. *Rev Bras Ginecol e Obs.* 2001;23(10):641-6.

Haematological and biochemical parameters associated with *Candida* spp. infections in patients with severe Covid-19

Parâmetros hematológicos e bioquímicos associados com infecção por *Candida* spp. em pacientes com Covid-19 severa

Kledoaldo Lima^{1,3}, Áchelles Monise Batista Silva¹, Isabelle Thais da Silva Santos¹, Gustavo Henrique dos Santos Soares¹, Renato Bruno Gouveia de Araújo¹, Gabriela Rodrigues de Aguiar Leal², Victória Regina Silva², Wagner Roberto Cirilo Silva², Alexsandro Pedro Silva³, Madi Veiga Diniz³, Jailton Lobo da Costa Lima⁴

¹ Faculdade Pernambucana de Saúde, Curso de Medicina. Recife, PE, Brasil.

² Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biotecnologias. Recife, PE, Brasil.

³ Universidade Federal de Pernambuco, Hospital das Clínicas. Recife, PE, Brasil.

⁴ Universidade Federal Fluminense, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Niterói, RJ, Brasil.

Abstract

Background: Healthcare-associated infections increase the risk of colonisation by multidrug-resistant microorganisms (MDR). Fungal infections are more prevalent in immunocompromised patients and carriers of underlying diseases. Covid-19 infection increased hospitalisation in intensive care units (ICU), which contributed to the increase in fungal co-infections and aggravated the morbidity and mortality of patients. **Objectives:** This study aimed to describe the occurrence of *Candida* spp. in patients with severe Covid-19 and to measure the association of risk factors for these co-infections. **Methods:** This article presents a retrospective cohort study conducted at a reference hospital in the state of Pernambuco. The medical records of 102 patients admitted to the ICU from June to August 2020, diagnosed with severe Covid-19 upon confirmation of the result by RT-PCR, were evaluated. The relationship between patients with fungal infections and the control group was observed by analysing the laboratory parameters. **Results:** Of the 102 patients evaluated, eight developed co-infections with *Candida* spp.. Among the eight cases, there were three deaths. Compared with a control group, patients co-infected with *Candida* spp. and Covid-19 had a higher number of total leukocytes, neutrophilia and higher plasma urea. **Conclusion:** Some biochemical and hematological changes were associated with the *Candida* spp. Infection. We did not detect resistance to the use of antifungal agents such as Fluconazole, Voriconazole, Caspofungin, Micafungin, Amphotericin B, and Flucytosine. Relationship among *Acinetobacter baumannii* with two of the three deaths of individuals diagnosed with fungal infection, suggests an important morbidity of polymicrobial infections in patients with severe Covid-19. **Keywords:** Covid-19. SARS-CoV-2. *Candida*. Infections.

Resumo

Introdução: As infecções relacionadas à assistência à saúde aumentam o risco de colonização por microrganismos multirresistentes (MDR). As infecções fúngicas são mais prevalentes em pacientes imunocomprometidos e portadores de doenças de base. A infecção por Covid-19 aumentou as internações em unidades de terapia intensiva (UTI), o que contribuiu para o aumento das coinfeções fúngicas e agravou a morbimortalidade dos pacientes. **Objetivos:** Este estudo teve como objetivo descrever a ocorrência de *Candida* spp. em pacientes com Covid-19 grave e medir a associação de fatores de risco para essas coinfeções. **Métodos:** Este artigo apresenta um estudo de coorte retrospectivo realizado em um hospital de referência no estado de Pernambuco. Foram avaliados os prontuários de 102 pacientes internados na UTI no período de junho a agosto de 2020, com diagnóstico de Covid-19 grave. A relação entre pacientes com infecções fúngicas e o grupo controle foi observada pela análise dos parâmetros laboratoriais. **Resultados:** Dos 102 pacientes avaliados, oito desenvolveram coinfeções por *Candida* spp.. Entre os oito casos, ocorreram três óbitos. Comparados com um grupo controle, os pacientes coinfectados com *Candida* spp. e a Covid-19 apresentou maior número de leucócitos totais, neutrofilia e maior uréia plasmática. **Conclusão:** Algumas alterações bioquímicas e hematológicas foram associadas à infecção por *Candida* spp.. Não detectamos resistência ao uso de antifúngicos como Fluconazol, Voriconazol, Caspofungina, Micafungina, Anfotericina B e Fluocitosina. A relação entre *Acinetobacter baumannii* com duas das três mortes de indivíduos diagnosticados com infecção fúngica sugere uma importante morbidade de infecções polimicrobianas em pacientes com Covid-19 grave. **Palavras-chave:** Covid-19. SARS-CoV-2. *Candida*. Infecção Hospitalar.

Correspondência

Kledoaldo Lima

E-mail: kledoaldo@gmail.com

Recebido em 27/08/2023 | Aprovado em 08/01/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400143

INTRODUCTION

Healthcare-associated infections (HAIs) are responsible for prolonging patients' hospital stay, increasing antimicrobial consumption, and consequently, colonisation and/or infection by multidrug-resistant microorganisms. Systemic fungal infections mainly affect immunocompromised patients and those with underlying diseases who require intensive care. Among the main risk factors for the occurrence of these infections is the performance of invasive procedures, such as surgery, mechanical ventilation, implantation of a central venous catheter, and haemodialysis, in addition to corticosteroid and prolonged antibiotic therapy. In recent years, there has been an increase in infections by *Candida auris*, a yeast that has gained prominence because of its antimicrobial resistance, and an increase in cases of non-albicans *Candida*.⁽¹⁻³⁾

During the Covid-19 pandemic, triggered by SARS-CoV-2, healthcare professionals faced new challenges. Many patients with Covid-19 require hospitalisation, and in the most severe cases, many developed severe acute respiratory syndrome (SARS), requiring transfer to the Intensive Care Unit (ICU). They received corticosteroid therapy to reduce the inflammatory process and broad-spectrum antimicrobials to prevent bacterial co-infections, favouring the occurrence of fungal co-infections and increasing the risk of morbidity and mortality.^(1,4-7)

Several studies have demonstrated the occurrence of invasive fungal co-infections in patients with severe Covid-19⁽⁴⁻⁶⁾ and *Candida* spp. was the most frequently isolated fungus in 24.1% of 253 critically ill Covid-19 patients.⁽⁸⁾ It has also been reported that patients hospitalized for Covid-19 are at risk for healthcare-associated infections (HAI), including candidemia.⁽⁹⁾ In Brazil, Riche, Cassol and Pasqualotto⁽¹⁰⁾ demonstrated an increase in frequency of candidemia in hospitalized patients with Covid-19 receiving corticosteroids with a high mortality rate. Additionally, it has been showed that patients with Covid-19 who are immunosuppressed or have other pre-existing comorbidities are at a significantly higher risk of acquiring invasive fungal infections.⁽¹¹⁾

It must be emphasised that few studies have demonstrated the main risk factors that justify the increase in the incidence of systemic infections by *Candida* spp. in patients with Covid-19. Therefore, the objective of this study was to describe the occurrence of infections by *Candida* spp. in patients with severe Covid-19 and the associated risk factors for these co-infections.

METHODS

Population and place of study

This is a retrospective cohort study carried out at the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco (HC-UFPE), located in the State of Pernambuco, Brazil. The medical records of 102 patients admitted to the ICU for Covid-19 (ICU-Covid) from June to August 2020 diagnosed with severe Covid-19 confirmed by RT-PCR for SARS-CoV-2 were analyzed. Patients were evaluated from admission to the ICU-Covid until discharge from this unit to the hospital ward or death. ICU admitted patients diagnosed with candidaemia or infection by *Candida* spp. in other biological materials (n = 08) had their clinical and laboratory data compared to the control group, characterized by patients also diagnosed with severe covid-19 and admitted to the same ICU, however, without infection by *Candida* spp. (n = 94). Thus, the study corresponded to a cohort of patients admitted to the ICU diagnosed with severe Covid-19. The results of the laboratory tests were collected daily or at the discretion of the ICU team, depending on the type of test and its applicability for the therapeutic management of the patient. Both individuals diagnosed with co-infection (fungal infection and SARS-CoV-2), and those who were not co-infected, had their exams collected following the same criteria of therapeutic care and diagnosis as the ICU team. Thus, the medians of each patient and the total number of patients were compared for each assay (between individuals with and without fungal infection). The following laboratory data were evaluated: antifungigram, haemoglobin concentration, total leukocytes, neutrophil count, lymphocyte count, platelets, D-dimer, lactate dehydrogenase (DHL), C-reactive protein (CRP), urea, and creatinine.

Laboratory diagnosis of infection by *Candida* spp.

Microbial growth of candidaemia was detected in blood culture samples using BACTEC FX (Becton Dickinson, New Jersey, USA), followed by microbial identification and resistance tests (antifungigram) using the VITEK 2 System (BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France). The identification and antifungal activity of *Candida* spp. of other biological samples (tracheal secretion and urine) were performed directly using the VITEK 2 System. The antifungal agents tested were fluconazole, voriconazole, caspofungin, micafungin, amphotericin B, and flucytosine. Nosocomial infections associated with invasive devices by *Candida* spp. were defined as the laboratory detection of the microorganism after at least

48 hours of using devices such as mechanical ventilation, central catheters, or indwelling urinary catheters.⁽¹²⁾

Ethical Considerations

This research is in line with the ethical principles accepted by national (Resolution CNS 466/2012) and international (Declaration of Helsinki / World Medical Association) regulations. This study was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital das Clínicas of (HC-UFPE) with an opinion number 4,579,183.

Statistical analyses

Clinical and laboratory data are presented using descriptive statistics, with continuous variables as means and interquartile ranges, and categorical variables as frequencies and percentages. We used the Mann-Whitney test to compare the differences between patients with *Candida* spp. and controls. Statistical significance was set at $P < 0.05$. Statistical analyses were performed using the STATA software (StataCorp LLC, Texas, USA).

RESULTS

Eight patients (7.8%) diagnosed with severe Covid-19 in the ICU developed fungal infections caused by *Candida* spp.. The median age of these co-infected patients was 58.5 years (49.3–70.8). The incidence of *Candida* spp. in men and women was the same; however, deaths occurred in female patients. Most patients received antibiotic therapy (n = 8; 100%), corticosteroid therapy (n = 6, 85.7%), and antifungal therapy (n = 6; 85.7%). Regarding the analysed comorbidities, only diabetes (n = 2; 25%) and renal failure (n = 2; 25%) were included in the patient history, affecting different individuals. No individuals had infections caused by Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B, Hepatitis C, or malignant neoplasms. Regarding the three deaths, *Candida* spp. was diagnosed based on candidemia (n = 2; 25%) and tracheal secretions (n = 1; 12.5%). In addition, two of these individuals had co-infections with *Acinetobacter baumannii*. Additionally, most individuals with *Candida* spp. and Covid-19 had associated bacterial infections (n = 05; 62.5%). Clinical data and therapies used were not available for one patient (Table 1).

The main identified species of the genus *Candida* were *C. albicans* (n = 3; 37.5%), *C. tropicalis* (n = 3; 37.5%), and *C. parapsilosis* (n = 2; 25%). All species were sensitive to Fluconazole, Voriconazole, Caspofungin, Micafungin, Amphotericin B, and Flucytosine. Additionally,

haematological parameters, renal function, D-dimer, CRP, and LDH levels were compared among patients diagnosed with Covid-19, with and without *Candida* spp. (8 and 94 patients, respectively). Among the analytes evaluated, individuals with severe Covid-19 who developed *Candida* spp. infections had higher leukocyte and neutrophil counts and higher urea levels than those who did not develop the fungal infection (Table 2).

Table 1

Clinical and laboratory aspects addressed in individuals diagnosed with severe Covid-19 and co-infected with *Candida* spp.

Variables	Coinfected patients (N = 8)	%
Mean time to diagnose candidiasis (days) (mean ± SD)	14.4 ± 6.45	—
Genre (n = 8)		
Male	4	50
Female	4	50
Deaths (n = 8)	3	37.5
Deaths in females	3	37.5
Deaths in males	-	-
Comorbidities (n = 8)	4	50
Diabetes	2	25
Renal insufficiency	2	25
Drug treatment (n = 7)	7	100
Corticosteroid Therapy	6	85.7
Antibiotic Therapy	7	100
Antifungal Therapy	6	85.7
Candida infection isolation site (n = 8)		
Blood	4	50
Urine	2	25
Tracheal secretion	2	25
Candida spp.		
<i>Candida albicans</i>	3	37.5
<i>Candida parapsilosis</i>	2	25
<i>Candida tropicalis</i>	3	37.5
Bacterial coinfection*		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	02	25
<i>Enterococcus faecalis</i>	01	12.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01	12.5
<i>Klebsiella pneumonia</i>	01	12.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	01	12.5

*Some individuals had polymicrobial infections, while others did not have bacterial infections associated with *Candida* spp. co-infections and Covid-19.

Table 2

Comparison between laboratory parameters of patients admitted to the Intensive Care Unit (ICU) Covid-19 co-infected with *Candida* spp. vs. controls with Covid-19 without co-infection with *Candida* spp.

Variable*	<i>Candida</i> spp. coinfection (n = 8)	Controls (n = 94)	P-value**
Haemoglobin (g/dL)	11.30 (9.00; 14.13)	11.30 (9.03; 13.48)	0.995
Total leukocytes (cells/mm ³)	15945 (10485; 19928)	9970 (6060; 14170)	0.015
Neutrophils (cells/mm ³)	11785 (7475; 14400)	7120 (4000; 10860)	0.036
Lymphocytes (cells/mm ³)	1200 (686; 1450)	850 (600; 1500)	0.500
Platelets (mm ³)	258000 (171250; 328000)	231000 (151000; 323000)	0.763
D-dimer (ng/mL)	2150.0 (1762.5; 3415.0)	1798.4 (1420.0; 3850.0)	0.667
DHL (UI/L)	858.95 (500.90; 1522.48)	743.35 (524.13; 1103.63)	0.721
PCR (mg/dL)	9.00 (5.00; 28.60)	14.35 (6.03; 24.75)	0.710
Urea (mg/dL)	107.55 (82.48; 152.33)	47.45 (32.05; 93.73)	0.010
Creatinine (mg/dL)	2.9 (0.9; 5.5)	1.2 (0.7; 2.2)	0.095

*Results are presented as a median (Q1; Q3) **Mann-Whitney test for independent samples

DISCUSSION

Coinfection with *Candida* spp. and SARS-CoV-2 affected eight individuals (7.8%). Among those co-infected, there were three deaths (37.5%). A higher white blood cell count, neutrophilia, and higher plasma urea concentration were associated with infection by *Candida* spp. in patients with severe Covid-19 compared with a control group of patients diagnosed with severe Covid-19 without *Candida* spp. infection.

Opportunistic fungal infections are recurrent in ICUs, especially in immunocompromised systems, through superficial site infections, such as mucous membranes and invasive devices.^(1,2) Several pathologies, such as Covid-19, can compromise the immune system, making it favourable for systemic fungal infections. In addition, extended hospital stays are associated with infections.⁽¹³⁻¹⁵⁾ With the Covid-19 pandemic, an increased frequency of *Candida* spp. has become evident in intensive care units, especially in critically ill patients, owing to the immunocompromise caused by the viral infection.^(1,5-14) The first case of invasive candidaemia and co-infection with Covid-19 was described at the beginning of the SARS-CoV-2 pandemic, in 2020 in Wuhan, China.⁽¹⁶⁾ In Brazil, co-infections with *Candida* spp. and Covid-19 have gained notoriety due to the increase in cases of candidaemia in ICUs and the dissemination of the multidrug-resistant species *C. auris*, which has affected the prognosis of patients infected with SARS-CoV 2.⁽¹⁷⁾

In the present study, among the isolated species, the non-albicans *Candida* group represented five positive cultures (62.5%), with *C. tropicalis* and *C. parapsilosis*, while *C. albicans* represented three cases (37.5%). Other studies have revealed a higher frequency of *C. albicans* in co-infections with Covid-19.⁽¹⁸⁻²⁰⁾ Despite the increasing frequency of *C. auris* in Brazil and co-infections with Covid-19,^(13,21) infections by this species were not found in the group of patients analysed. Some Brazilian studies have shown a decreased sensitivity of *Candida* spp. to azole antifungals.^(22,23) However, the species found in this study were analysed using antifungograms, which did not detect resistance to the use of antifungal agents such as Fluconazole, Voriconazole, Caspofungin, Micafungin, Amphotericin B, and Fluocytosine.

As previously mentioned, patients co-infected with *Candida* spp. and Covid-19 exhibited leukocytosis, neutrophilia, and higher urea levels than the control group (without fungal infection), confirming the findings of Kayaaslan et al. (2021).⁽²⁴⁾ This study showed neutrophilia and increased serum CRP and urea concentrations in patients with candidaemia and Covid-19 compared with the data from patients before the emergence of the SARS-CoV-2 pandemic. However, when evaluating all the patients in our research, with and without co-infection by *Candida* spp., both groups showed a decrease in haemoglobin concentration, lymphopenia, and an increase in serum concentrations of D-dimer, CRP, and DHL.

These data are pertinent since Abolfotouh et al. (2022)⁽²⁵⁾ demonstrated higher mortality in hospitalised patients with Covid-19 associated with lymphopenia, neutrophilia, and elevated CRP. Although four patients had comorbidities, such as diabetes (n = 2) and renal failure (n = 2), Omrani et al. (2021)⁽²⁶⁾ did not show a correlation between these variables and *Candida* spp. co-infection. A significant increase in urea was reported in *Candida* spp. and Covid-19 co-infected patients, although there was no significant difference between creatinine values. Brookes & Power (2022)⁽²⁷⁾ discussed that increases in plasma urea concentration may be associated, among other factors, with cardiovascular system failure, hypovolaemia, and catabolism, in addition to reflecting a critical health condition.

This study identified that the co-infected patients had undergone drug treatment with corticosteroids, antibiotics, and antifungals, which corroborates the possibility of the risk of infection by *Candida* spp. Additionally, some studies have revealed that infections with other pathogenic agents increase the treatment period and mortality.⁽¹⁶⁾ We observed that in two of the three identified deaths, there was an associated infection with *Acinetobacter baumannii*, a common bacterium in HAIs.

The number of *Candida* spp. infections has increased in hospitalised patients since the Covid-19 pandemic.^(4,23) There is a relationship between invasive medical procedures, corticosteroid therapy, and immunocompromised patients as risk factors for fungal co-infections.⁽²⁸⁾ Thus, biomarkers related to a worse prognosis for patients admitted with severe Covid-19 are essential for the early identification of possible clinical worsening and the adoption of adequate medical care. The findings are based on a single-center retrospective cohort study with a relatively small sample size, which may not fully represent the broader population. Additionally, while the study identified risk factors for fungal co-infections, causation cannot be definitively established. Further research with larger and more diverse cohorts is needed to confirm these findings and explore additional factors contributing to fungal co-infections in Covid-19 patients.

CONCLUSIONS

Higher white blood cell count, neutrophilia, and higher plasma urea concentration were associated with infection by *Candida* spp. in patients with severe Covid-19. We did not detect resistance to the use of antifungal agents such as Fluconazole, Voriconazole, Caspofungin, Micafungin,

Amphotericin B, and Flucytosine. Two of the three identified deaths, there was an associated infection with *Acinetobacter baumannii*, a common bacterium in Healthcare-associated infections (HAI).

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks to the Hospital das Clínicas - Federal University of Pernambuco for the permission to access data from the medical records of the research patients.

REFERENCES

1. Arastehfar A, Carvalho A, Nguyen MH, Hedayati MT, Netea MG, Perlin DS, et al. Covid-19-Associated Candidiasis (CAC): An Underestimated Complication in the Absence of Immunological Predispositions. *J Fungi* (Basel). 2020;6(4):211. doi: 10.3390/jof6040211.
2. Magnasco L, Mikulska M, Giacobbe DR, Taramasso L, Vena A, Dentone C, et al. Spread of Carbapenem-Resistant Gram-Negatives and *Candida auris* during the Covid-19 Pandemic in Critically Ill Patients: One Step Back in Antimicrobial Stewardship. *Microorganisms*. 2021;9(1):95. doi: 10.3390/microorganisms9010095.
3. Moin S, Farooqi J, Rattani S, Nasir N, Zaka S, Jabeen K. C. *auris* and non-C. *auris* candidemia in hospitalized adult and pediatric Covid-19 patients; single center data from Pakistan. *Med Mycol*. 2021;59(12):1238–1242. doi: 10.1093/mmy/myab057.
4. Nucci M, Barreiros G, Guimarães LF, Deriquehem VAS, Castiñeiras AC, Nouér SA. Increased incidence of candidemia in a tertiary care hospital with the Covid-19 pandemic. *Mycoses*. 2021;64(2):152–156. doi: 10.1111/myc.13225. Epub 2020 Dec 10.
5. Riche CVW, Cassol R, Pasqualotto AC. Is the Frequency of Candidemia Increasing in Covid-19 Patients Receiving Corticosteroids? *J Fungi* (Basel). 2020;6(4):286. doi: 10.3390/jof6040286.
6. Yang S, Hua M, Liu X, Du C, Pu L, Xiang P, et al. Bacterial and fungal co-infections among Covid-19 patients in intensive care unit. *Microbes Infect*. 2021;23(4-5):104806. doi: 10.1016/j.micinf.2021.104806.
7. Thomaz DY, Del Negro GMB, Ribeiro LB, da Silva M, Carvalho GOMH, Camargo CH, et al. A Brazilian Inter-Hospital Candidemia Outbreak Caused by Fluconazole-Resistant *Candida parapsilosis* in the Covid-19 Era. *J Fungi* (Basel). 2022;8(2):100. doi: 10.3390/jof8020100.
8. Negm, EM, Mohamed, MS, Rabie, RA. et al. Fungal infection profile in critically ill Covid-19 patients: a prospective study at a large teaching hospital in a middle-income country. *BMC Infect Dis* 23, 246 (2023). <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08226-8>.
9. Song G, Liang G, Liu W. Fungal Co-infections Associated with Global Covid-19 Pandemic: A Clinical and Diagnostic Perspective from China. *Mycopathologia*. 2020 Aug;185(4):599–606. doi: 10.1007/s11046-020-00462-9.
10. Riche CVW, Cassol R, Pasqualotto AC. Is the Frequency of Candidemia Increasing in Covid-19 Patients Receiving Corticosteroids? *Journal of Fungi*. 2020; 6(4):286. <https://doi.org/10.3390/jof6040286>
11. Oh K-H, Lee S-H. Covid-19 and Fungal Diseases. *Antibiotics*. 2022; 11(6):803. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060803>
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Nota técnica no 02/2021 GVIMS/GGTES/ANVISA - REVISADA - Critérios Diagnósticos de IRAS [Internet]. Brasília: Anvisa; 2021 [updated 2022 sep 30; cited 2023 jun 19]. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/notas-tecnicas/2021/nt-022021-revisada-criterios-diagnosticos-de-iras-050521.pdf/view>.

13. Hoenigl M, Seidel D, Sprute R, Cunha C, Oliverio M, Goldman GH, et al. Covid-19-associated fungal infections. *Nat Microbiol.* 2022;7(8):1127–1140. doi: 14.1038/s41564-022-01172-2.
15. Leoncio, JM, de Almeida VF, Ferrari RAP, Capobiango JD, Kerbauy G, Tacla MT. Impacto das infecções relacionadas à assistência à saúde nos custos da hospitalização de crianças. *Revista da Escola de Enfermagem da USP.* 2019;53: e03486. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1980-220X2018016303486>.
16. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
17. de Almeida JN Jr, Francisco EC, Hagen F, Brandão IB, Pereira FM, Presta Dias PH, et al. Emergence of *Candida auris* in Brazil in a Covid-19 Intensive Care Unit. *J Fungi (Basel).* 2021;7(3):220. doi: 10.3390/jof7030220.
18. Pemán J, Ruiz-Gaitán A, García-Vidal C, Salavert M, Ramírez P, Puchades F, et al. Fungal co-infection in Covid-19 patients: Should we be concerned? *Rev Iberoam Micol.* 2020;37(2):41–46. doi: 10.1016/j.riam.2020.07.001
19. Seagle EE, Jackson BR, Lockhart SR, Georgacopoulos O, Nunnally NS, Roland J, et al. The Landscape of Candidemia During the Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) Pandemic. *Clin Infect Dis.* 2022;74(5):802-811. doi: 10.1093/cid/ciab562.
20. Seyedjavadi SS, Bagheri P, Nasiri MJ, Razzaghi-Abyaneh M, Goudarzi M. Fungal Infection in Co-infected Patients With Covid-19: An Overview of Case Reports/Case Series and Systematic Review. *Front Microbiol.* 2022;13:e888452. doi: 10.3389/fmicb.2022.888452.
21. Segrelles-Calvo G, de S Araújo GR, Llopis-Pastor E, Carrillo J, Hernández-Hernández M, Rey L, et al. *Candida* spp. co-infection in Covid-19 patients with severe pneumonia: Prevalence study and associated risk factors. *Respir Med.* 2021;188:106619. doi: 10.1016/j.rmed.2021.106619.
22. Pinto ACC, Rocha DAS, Moraes DC, Junqueira ML, Ferreira-Pereira A. *Candida albicans* Clinical Isolates from a Southwest Brazilian Tertiary Hospital Exhibit MFS-mediated Azole Resistance Profile. *An Acad Bras Cienc.* 2019;91(3):e20180654. doi.org/10.1590/0001-3765201920180654
23. Botelho TK, Danielli LJ, Seide M, Borges PP, Cruz AB. Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from clinical samples in southern Brazil. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 2022;58:e20727. doi: 10.1590/s1413-86702005000500009
24. Kayaaslan B, Eser F, Kaya Kalem A, Bilgic Z, Asilturk D, Hasanoglu I, et al. Characteristics of candidemia in Covid-19 patients; increased incidence, earlier occurrence and higher mortality rates compared to non-Covid-19 patients. *Mycoses.* 2021;64(9):1083–1091. doi: 10.1111/myc.13332.
25. Abolfotouh MA, Musattat A, Alanazi M, Alghnam S, Bosaeed M. Clinical characteristics and outcome of Covid-19 illness and predictors of in-hospital mortality in Saudi Arabia. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):950. doi: 10.1186/s12879-022-07945-8.
26. Omrani AS, Koleri J, Ben Abid F, Daghfel J, Odaippurath T, Peediyakkal MZ, et al. Clinical characteristics and risk factors for Covid-19-associated Candidemia. *Med Mycol.* 2021;59(12):1262–1266. doi: 10.1093/mmy/myab071.
27. Brookes EM, Power DA. Elevated serum urea-to-creatinine ratio is associated with adverse inpatient clinical outcomes in non-end stage chronic kidney disease. *Sci Rep.* 2022;12(1):20827. doi: 10.1038/s41598-022-25254-7.
28. Macauley P, Epelbaum O. Epidemiology and Mycology of Candidaemia in non-oncological medical intensive care unit patients in a tertiary center in the United States: Overall analysis and comparison between non-Covid-19 and Covid-19 cases. *Mycoses.* 2021;64(6):634–640. doi: 10.1111/myc.13258.

Estudo preliminar de um modelo em Excel para auxiliar na identificação de *Enterobacterales* para usuários de provas bioquímicas manuais

Preliminary study of an Excel model to assist in the identification of Enterobacterales for users of manual biochemical tests

Alessandra Fagundes Bonetti¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Especialização em Microbiologia Clínica. Porto Alegre, RS – Brasil.

Resumo

Laboratórios de pequeno e médio portes que não possuem métodos automatizados identificam *Enterobacterales* através de testes bioquímicos manuais. Desenvolvemos e avaliamos uma planilha Excel para auxiliar os usuários desta metodologia na realização da identificação bacteriana. A planilha também foi organizada para fornecer as identificações em ordem de probabilidade e sua validação foi realizada comparando os resultados obtidos com o método de referência e o MALDI-TOF MS. Em resumo, quando preenchida com os resultados esperados pela literatura, a planilha Excel correspondeu ao microrganismo correto, o que demonstrou que eventuais limitações decorrem de fatores externos a ela. Ao comparar os resultados da planilha Excel com os resultados indicados pelo MALDI-TOF MS, apenas quatro isolados da mesma espécie apresentaram divergência, identificados como *Klebsiella oxytoca* pelo método clássico e como *Klebsiella varicola* pelo MALDI-TOF MS, microrganismo recentemente identificado apenas por métodos genômicos, proteômicos ou moleculares.

Palavras-chaves: *Enterobacterales*; Testes bioquímicos; Excel; MALDI-TOF MS.

Abstract

Small and medium-sized laboratories that do not have automated methods identify *Enterobacterales* through manual biochemical testing. We developed and evaluated an Excel spreadsheet to assist users of this methodology in carrying out bacterial identification. The spreadsheet was also organized to provide the identifications in order of probability and its validation was performed by comparing the results obtained with the reference and MALDI-TOF MS methods. In summary, when filled with the results expected from the literature, the Excel spreadsheet corresponded to the correct microorganism, which demonstrated that any limitations arise from factors external to it. When comparing the results of the Excel spreadsheet with the results indicated by MALDI-TOF MS, only four isolates of the same species showed divergence, identified as *Klebsiella oxytoca* by the classical method and as *Klebsiella varicola* by MALDI-TOF MS, a microorganism recently identified only by genomic, proteomic or molecular methods.

Keywords: *Enterobacterales*. Spectrometry, Mass, Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization. Biochemical Reactions.

Correspondência

Alessandra Fagundes Bonetti

E-mail: alessandrafbonetti@gmail.com

Recebido em 09/10/2023 | Aprovado em 03/12/2023 | DOI: 10.21877/2448-3877.202300151

INTRODUÇÃO

Os bacilos Gram-negativos pertencentes à ordem *Enterobacteriales* são os isolados mais frequentemente encontrados em espécimes clínicos analisados no setor de microbiologia de um laboratório de análises clínicas. Para sua identificação são utilizados métodos convencionais (manuais), automatizados e, mais atualmente, a espectrometria de massa por ionização/dessorção a laser auxiliada por matriz (MALDI-TOF MS). Os métodos automatizados oferecem muitas vantagens como, por exemplo, a reprodutibilidade e a disponibilidade de fornecer resultados dentro de 24 horas. Além disso, esses métodos apresentam um sistema de interfaceamento que facilita ao médico obter resultados parciais ou integrais do exame de seu paciente.⁽¹⁾ As desvantagens, porém, são o custo elevado e a dependência de um sistema fechado, que exige manutenção e renovação de seus softwares.⁽²⁾

A tecnologia proteômica, com a utilização da metodologia de MALDI-TOF MS, deu início a uma nova era, de modo que novos gêneros foram validados e muitas novas espécies foram descritas.⁽³⁾ No entanto, os custos da implementação da tecnologia de espectrofotometria de massas ainda estão além das possibilidades financeiras de muitos laboratórios.

Os laboratórios de pequeno e médio portes que não contam com métodos automatizados fazem a identificação de *Enterobacteriales* através de testes bioquímicos manuais, nos quais características metabólicas específicas são detectadas nos microrganismos. Após a leitura dos testes, os resultados são interpretados através de consulta em tabelas. Tais tabelas são fornecidas pelas principais literaturas de referência em microbiologia e possuem a caracterização bioquímica dos principais microrganismos, o que permite a identificação da bactéria a partir da coincidência do resultado com o perfil fornecido para espécie/gênero. Com este método, é possível realizar a identificação dos principais gêneros bacterianos de interesse clínico⁽⁴⁾ a um custo mais acessível para os laboratórios com menos recursos, embora tal rotina seja problemática em razão da falta de praticidade, principalmente para os profissionais com menor experiência, pois é necessário o manuseio físico de tabelas extensas, demandando demasiado tempo.

É relevante observar que os métodos fenotípicos de identificação microbiana, como os testes bioquímicos manuais, ainda são os métodos de primeira escolha para a realização do diagnóstico microbiológico na maioria dos laboratórios dos países em desenvolvimento.⁽⁵⁾ Dados do PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade da Sociedade Brasileira de

Análises Clínicas, referentes ao ano de 2022, apontam para a mesma realidade: aproximadamente 87% das identificações encaminhadas para o Programa utilizaram métodos manuais, ou seja, foram 23.037 cepas identificadas pelo método manual versus 3.405 pelo método automatizado.⁽⁶⁾

OBJETIVO

Elaborar um modelo informatizado em planilha Excel, como alternativa dinâmica de identificação bacteriana para uso em laboratórios de pequeno e médio portes que utilizam os testes bioquímicos Citrato, Ureia, Ornitina, Lisina, TSI, SIM, para identificação de *Enterobacteriales* de forma manual.

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente, foi desenvolvida uma planilha no modelo Excel 2016 em que os testes bioquímicos (Citrato, Ureia, Ornitina, Motilidade, H₂S, Lisina, Lactose, Indol, Gás) foram organizados em colunas. Para cada teste foram atribuídas possibilidades de resultado positivo ou negativo usando a função SE do Excel como condicionante (SE(teste_lógico;[valor_se_verdadeiro]; [valor_se_falso])).⁽⁷⁾

Um banco de dados com 512 possibilidades de perfis para as diferentes famílias e gêneros bacterianos de maior probabilidade de isolamento em laboratórios de menor porte foi inserido conforme literatura especializada.^(4,8) A planilha foi desenvolvida também com a capacidade de calcular a probabilidade conforme frequência de ocorrência nos testes de identificação dos microrganismos. Para este cálculo foi necessário, além da tabela de resultado dos perfis para cada família e gênero bacteriano, fornecer ao modelo em Excel, a tabela com os perfis de positividade para cada teste bioquímico.^(4,8)

A identificação de uma bactéria desconhecida foi baseada, então, no cálculo da probabilidade entre o perfil desconhecido e o perfil de cada espécie de microrganismo armazenada no banco de dados da planilha Excel 2016.⁽⁸⁾ Os cálculos seguiram o modelo exemplificado por Koneman et al, 2001,⁽⁸⁾ em que somente a probabilidade de reação positiva da prova listada na base de dados é utilizada para cálculo. A probabilidade da reação negativa é 1 menos a probabilidade da reação positiva. A frequência de ocorrência é calculada por multiplicação conjunta de todas as frequências de ocorrência das reações. Por fim, para obtenção da porcentagem de identificação, cada frequência é dividida pela soma de todas as frequências, e o resultado é multiplicado por 100.

As identificações que atingiram uma probabilidade de 90% ou mais foram consideradas excelentes identificações, enquanto aquelas que se aproximaram de 90% foram consideradas satisfatórias, porém com a recomendação de que fossem submetidas a melhor identificação por meios de provas adicionais ou liberação da identificação somente em nível de gênero. Por fim, foram desconsideradas aquelas com probabilidade muito baixa.⁽⁸⁾

Após concluída a etapa do desenvolvimento da planilha, esta foi validada comparando os resultados encontrados com aqueles obtidos pelo método referência de interpretação. Neste método, os testes são lidos e comparados visualmente com os resultados constantes em uma tabela de reações bioquímicas conhecidas para cada família e/ou gênero.

As amostras utilizadas para validação da planilha foram de isolados clínicos (urinas) e isolados provenientes do Controle Externo de Qualidade (PNCQ). Os resultados obtidos com a rotina clássica e com o modelo Excel foram também comparados com resultados obtidos por MALDI-TOF MS.

Os testes bioquímicos manuais e as placas com meio de cultivo primário utilizados para cultura e identificação de *Enterobacteriales* foram aqueles utilizados na rotina do Laboratório Núcleo Análises Clínicas/Gravataí e adquiridos da marca Laborclin®. São eles: Citrato de Simmons, Triple Sugar Iron (TSI), Lisina Descarboxilase (LIA), Ornitina Descarboxilase (MIO), Ágar Ureia, SIM, Ágar Mueller Hinton, assim como placa de Ágar MacConkey.

As respostas bioquímicas proporcionadas pelo conjunto de meios identificatórios foram:⁽⁹⁾

- Citrato de Simmons: utilização do citrato de sódio como única fonte de carbono;
- Meio SIM: produção de H₂S, produção de indol (após adição de reativo de Kovacs), motilidade;
- Meio de MIO: descarboxilação da ornitina, produção de indol (após adição de reativo de Kovacs) e motilidade;
- Meio de LIA: descarboxilação da lisina, desaminação da lisina, produção de H₂S;
- Meio de TSI: fermentação da glicose, fermentação da lactose, produção de H₂S e gás (quanto a esta prova, em especial, deve ser registrado o fato de que o TSI detecta lactose e sacarose, de forma que poderá ocorrer positividade na superfície do meio de organismos fermentadores da sacarose e não fermentadores da lactose, sendo que se faz necessária a confirmação da fermentação ou não da lactose através de meios seletivos como o Mac Conkey

ou, ainda, a utilização da Prova de Kliger Iron Agar, em que o diferencial para o Triple Sugar Iron Agar - TSI é a ausência da sacarose).

- Urease (Meio de Christensen): produção de urease (nesta prova, deve ser destacada a importância de se usar o Meio de Christensen, em vez da Ureia em caldo, visto que esta última só detecta microrganismos fortes produtores de urease, como o gênero *Proteus* sp., por exemplo, e não consegue detectar fracos produtores, como, por exemplo, o gênero *Klebsiella* sp.).

A semeadura, temperatura e tempo de incubação, anteriores à leitura dos resultados, seguiram a orientação presente na bula do fornecedor e também presente no Procedimento Operacional Padrão do Laboratório (POP).

Cabe ressaltar que boas práticas em laboratório de microbiologia são importantes e foram seguidas, como por exemplo: não foram usadas colônias isoladas em um período superior a 24 horas, pois, a partir deste período, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros pode consequentemente ficar prejudicada ou até mesmo não ocorrer; assim como não foram usadas colônias muito recentes (inferior ao período de 18 horas), pois não se encontram com o metabolismo bem definido e algumas provas podem ter seus resultados alterados; a leitura das provas foi realizada dentro de um período de 18 a 24 horas; aguardou-se que os meios de cultura de identificação bacteriana estivessem em temperatura ambiente para então se realizar os testes; assim como não foi usado sobrecarga de inóculo.^(9,10)

As identificações bacterianas obtidas através da metodologia de MALDI-TOF MS foram realizadas de acordo com instruções do fabricante, no Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS-HCPA). O software utilizado para a identificação foi o MBT Compass 4.1 (Bruker).

As cepas foram acondicionadas em eppendorf com caldo TSB (Laborclin®) com 16% de glicerol e armazenadas em *freezer* no período de março de 2023 até junho do mesmo ano.

RESULTADOS

As funções implementadas na planilha conseguiram associar, após a introdução dos resultados encontrados no bioquímico bacteriano, a identificação automatizada de microrganismo nos isolados testados (Figura 1).

fx =SE(C6>="Sim","Positivo","Negativo")

B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
	<u>Gás</u>	<u>H2S</u>	<u>URE</u>	<u>IND</u>	<u>MOT</u>	<u>ORN</u>	<u>CIT</u>	<u>LIA</u>	<u>LACTOSE</u>
Resultados	sim	não	não	sim	sim	não	não	sim	não
Interpretação	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
Regras para Todos os Testes									
	<u>Gás</u>	<u>H2S</u>	<u>URE</u>	<u>IND</u>	<u>MOT</u>	<u>ORN</u>	<u>CIT</u>	<u>LIA</u>	<u>LACTOSE</u>
Positivo									
Positivo	Sim								
Negativo									
Negativo	Não								

Figura 1

Tabela Excel – Exemplo de atribuição de resultados positivos ou negativos aos testes bioquímicos e função SE.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Com a implementação do banco de dados com as tabelas com todos os perfis de resultados para os testes bioquímicos da ordem *Enterobacterales*, além da tabela com o perfil de

positividade frente aos testes e os cálculos de probabilidade, a planilha conseguiu identificar o microrganismo e fazê-lo em ordem de probabilidade (Figuras 2, 3, 4).

Teste Laboratorial											<u>Identificação bacteriana e probabilidades</u>	
	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	1	2	
	<u>Gás</u>	<u>H2S</u>	<u>URE</u>	<u>IND</u>	<u>MOT</u>	<u>ORN</u>	<u>CIT</u>	<u>LIA</u>	<u>LACTOSE</u>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	
205	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	100,00%	0,00%	

Figura 2

Tabela Excel- Exemplo de identificação bacteriana e probabilidade.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

BANCO DE DADOS									
	Gás	H2S	URE	IND	MOT	ORN	CIT	LIA	LACTOSE
1	Positivo								
2	Positivo	Negativo							
3	Positivo	Negativo	Positivo						
4	Positivo	Negativo	Negativo						
5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
7	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
8	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
9	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
11	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
12	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
13	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
14	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
15	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
16	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
17	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
18	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
19	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
20	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
21	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
22	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
23	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
24	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
25	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
26	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
27	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
28	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
29	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
30	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
31	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
32	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
33	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
34	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo

Figura 3

Banco de Dados – Exemplo de tabela de perfil de positividade frente aos testes bioquímicos dos gêneros e espécies bacterianas.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

<i>Escherichia Coli</i>											
	Gás	H2S	URE	IND	MOT	ORN	CIT	LIA	LACTOSE	Probabilidade	Resultado
rob. Positiva ==>	95%	1%	1%	98%	95%	65%	1%	90%	95%		
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	1%	90%	95%	0,00%	1
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	1%	90%	5%	0,00%	2
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	1%	10%	95%	0,00%	3
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	1%	10%	5%	0,00%	4
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	99%	90%	95%	0,00%	5
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	99%	90%	5%	0,00%	6
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	99%	10%	95%	0,00%	7
	95%	1%	1%	98%	95%	65%	99%	10%	5%	0,00%	8
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	1%	90%	95%	0,00%	9
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	1%	90%	5%	0,00%	10
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	1%	10%	95%	0,00%	11
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	1%	10%	5%	0,00%	12
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	99%	90%	95%	0,00%	13
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	99%	90%	5%	0,00%	14
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	99%	10%	95%	0,00%	15
	95%	1%	1%	98%	95%	35%	99%	10%	5%	0,00%	16
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	1%	90%	95%	0,00%	17
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	1%	90%	5%	0,00%	18
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	1%	10%	95%	0,00%	19
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	1%	10%	5%	0,00%	20
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	99%	90%	95%	0,00%	21
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	99%	90%	5%	0,00%	22
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	99%	10%	95%	0,00%	23
	95%	1%	1%	98%	5%	65%	99%	10%	5%	0,00%	24
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	1%	90%	95%	0,00%	25
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	1%	90%	5%	0,00%	26
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	1%	10%	95%	0,00%	27
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	1%	10%	5%	0,00%	28
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	99%	90%	95%	0,00%	29
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	99%	90%	5%	0,00%	30
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	99%	10%	95%	0,00%	31
	95%	1%	1%	98%	5%	35%	99%	10%	5%	0,00%	32
	95%	1%	1%	2%	95%	65%	1%	90%	95%	0,00%	33
	95%	1%	1%	2%	95%	65%	1%	90%	5%	0,00%	34
	95%	1%	1%	2%	95%	65%	1%	10%	95%	0,00%	35

Figura 4

Banco de dados – Exemplo de tabela de frequência de positividade perante os testes bioquímicos de cada gênero e espécie bacteriana.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A validação da planilha Excel foi feita mediante comparação com os resultados obtidos através do método referência de interpretação, bem como, igualmente, com os resultados obtidos por MALDI-TOF MS, utilizando isolados de amostras clínicas de urina e cepas provenientes do Controle Externo de Qualidade (PNCQ).

Foram 32 amostras que apresentaram identidade com alto índice de probabilidade (superior a 90%). Duas amostras (21 e 22) de *Escherichia coli* não apresentaram resultado esperado para sua espécie, ou seja, não foram capazes de utilizar o carboidrato lactose presente no meio, como característico, sendo desta forma somente possível a identificação com o uso da tabela Excel ou pelo MALDI-TOF MS.

De outra parte, quando testadas as 6 bactérias provenientes do Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), 2 destes microrganismos (*Escherichia coli* Tem-1 e *Klebsiella pneumoniae*) foram identificados conforme o método referência, sendo que tais identificações atingiram um bom índice de probabilidade (superior a 90%). As outras 3 bactérias (*Salmonella enteritidis*; *Serratia marcescens* e *Serratia liquefaciens*) foram identificadas com mais de uma possibilidade de identificação bacteriana, o que também se verificou tanto no método clássico como no método de leitura em planilha Excel, porém a identificação mediante leitura na tabela Excel possibilitou concluir pela necessidade de execução de mais provas bioquímicas para determinação

da bactéria (dada a baixa probabilidade) ou liberação do resultado apenas pelo gênero bacteriano.

A amostra fornecida pelo Controle Externo de Qualidade (PNCQ) lote 03512020/ATCC 13047 de *Enterobacter cloacae* não apresentou resultado esperado para sua espécie, ou seja, não foi capaz de hidrolisar a ureia presente no meio através da enzima urease, como característico, sendo, assim, somente possível a identificação pelo MALDI-TOF MS. Com o uso da tabela Excel, o *Enterobacter cloacae* foi identificado com um percentual de 27,87%, enquanto o *Enterobacter sakasakii* obteve 70,12%.

Registra-se, como premissa, o fato de que a tabela, quando preenchida com os resultados esperados pela literatura, guardou correspondência com o microrganismo correto, o que evidencia que as eventuais limitações decorrem de fatores que lhe são externos.

Por fim, quando comparados os resultados obtidos na identificação pelo método clássico com os resultados da planilha Excel e com os resultados obtidos no MALDI-TOF MS, verificou-se que somente 4 amostras (11, 12, 25 e 26) de *Klebsiella variicola* foram identificadas equivocadamente como *Klebsiella oxytoca*, tanto pelo método referência como pela leitura com a planilha Excel. O microrganismo em questão faz parte do Complexo *Klebsiella pneumoniae*, o qual teve sua taxonomia expandida recentemente e que somente pode ser identificado com o auxílio dos métodos moleculares, genômicos, proteômicos ou pela atualização dos protocolos desenvolvidos para aumentar a precisão na identificação de novas espécies de tal Complexo.

Nas Tabelas 1 e 2, seguem os resultados encontrados para as amostras isoladas e identificadas de urinas da rotina do laboratório e de cepas do Controle Externo de Qualidade (PNCQ).

DISCUSSÃO

Segundo o Programa Nacional de Controle de Qualidade da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas,⁽⁶⁾ a maioria dos laboratórios que participam do controle externo utiliza métodos manuais de identificação para *Enterobacterales*. O objetivo deste trabalho foi proporcionar, aos microbiologistas que utilizam tais métodos, uma alternativa mais dinâmica para realizar a identificação bacteriana a partir dos resultados obtidos nos testes, mediante simples lançamento dos mesmos em planilha Excel que fará a identificação, inclusive com os percentuais correspondentes, reduzindo o tempo necessário para realização da tarefa.

O objetivo do trabalho foi alcançado, embora seja necessário registrar que o método proposto não afasta a influência

de fatores externos e independentes da planilha Excel, que ocorreriam igualmente sem a sua utilização, bem como, ainda, que os resultados encontrados foram de um número relativamente pequeno de isolados, quando a família *Enterobacterales* possui inúmeros gêneros e espécies, algumas humanas e muitas ambientais, sendo a tabela proposta somente de utilização em isolados clínicos.

Dentre tais fatores externos, podemos mencionar os meios identificatórios para bacilos Gram-negativos pertencentes à família das *Enterobacterales*, que possuem limitações inerentes ao método, como, por exemplo, o fato de que a positividade de 90% de algumas bactérias a determinado teste exige uma incubação em até 48 horas, que nem sempre é cumprida. É o caso do meio citrato, por exemplo, no qual os produtos metabólicos decorrentes da reação provocam alcalinização do meio de cultura, que é detectado pelo indicador de pH incluído na formulação em até 48 horas.⁽⁹⁾

Na execução deste trabalho, em caso de reação negativa nas primeiras 24 horas, principalmente em identificações indeterminadas, os tubos foram mantidos em incubação por 24 horas adicionais, tendo sido considerado positivo quando o meio citrato mudou de cor para azul (originalmente verde) ou foi observado crescimento na linha de semeadura, demonstrando que a bactéria foi capaz de utilizar o citrato como única fonte de carbono.⁽⁹⁾

A dificuldade de observação da resposta frente à motilidade bacteriana é outro complicador que pode ser melhorado com o entendimento sobre o movimento bacteriano, que é demonstrado através da turvação dos meios semissólidos SIM ou MIO a partir da localização do inóculo (Figura 5).



Figura 5

Motilidade bacteriana negativa e positiva no meio de SIM.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 1

Resultados comparativos das identificações em isolados urinários feitas por metodologia referência, planilha Excel (objeto do trabalho) e MALDI-TOF MS.

Nº DA AMOSTRA	ID MÉTODO REFERÊNCIA	RESULTADOS DOS TESTES BIOQUÍMICOS									ID TABELA EXCEL	ID PROBABILIDADE (%)	ID MALDI-TOF MS
		LAC	CIT	ORN	GÁS	UREIA	LIA	H ₂ S	INDOL	MOT			
1	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
2	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
3	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
4	<i>K.aerogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>K.aerogenes</i>	95,96	<i>K.aerogenes</i>
5	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
6	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
7	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
8	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
9	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
10	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
11	<i>K.oxytoca</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>K.oxytoca</i>	100	<i>K.variicola</i>
12	<i>K.oxytoca</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>K.oxytoca</i>	100	<i>K.variicola</i>
13	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
14	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
15	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
16	<i>M.morganii</i>	-	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>M.morganii</i>	95,53	<i>M.morganii</i>
17	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
18	<i>M.morganii</i>	-	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>M.morganii</i>	95,53	<i>M.morganii</i>
19	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
20	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
21	Não identificada	-	-	+	+	-	+	-	+	+	<i>E.coli lactose-</i>	98,62	<i>E.coli</i>
22	Não identificada	-	-	+	+	-	+	-	+	+	<i>E.coli lactose-</i>	98,62	<i>E.coli</i>
23	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
24	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
25	<i>K.oxytoca</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>K.oxytoca</i>	100	<i>K.variicola</i>
26	<i>K.oxytoca</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>K.oxytoca</i>	100	<i>K.variicola</i>
27	<i>K.aerogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>K.aerogenes</i>	95,96	<i>K.aerogenes</i>
28	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K.pneumoniae</i>	98,81	<i>K.pneumoniae</i>
29	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
30	<i>P.mirabilis</i>	-	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>P.mirabilis</i>	99,94	<i>P.mirabilis</i>
31	<i>M.morganii</i>	-	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>M.morganii</i>	95,53	<i>M.morganii</i>
32	<i>K.aerogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>K.aerogenes</i>	95,96	<i>K.aerogenes</i>

Tabela 2

Resultados comparativos das identificações em cepas CEQ-PNCQ feitas por metodologia referência, planilha Excel (objeto do trabalho) e MALDI-TOF MS.

Nº LOTE/ANO ID CEQ AMOSTRA	ID MÉTODO REFERÊNCIA	RESULTADOS BIOQUIMISMO BACTERIANO									ID TABELA EXCEL	TABELA EXCEL (%)	ID MALDI-TOF MS
		LAC	CIT	ORN	GÁS	UREIA	LIA	H ₂ S	INDOL	MOT			
462/23 <i>S. enteritidis</i>	<i>S. enteritidis</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>S. enteritidis</i>	50,25	<i>Salmonella</i> sp.
	<i>S. thiphimurium</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>S. thiphimurium</i>	49,75	
463/23 <i>E. coli</i> TEM-1	<i>E. coli</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+	<i>E. coli</i>	100,00	<i>E. coli</i>
464/23 <i>S. marcescens</i>	<i>S. liquefaciens</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>S. liquefaciens</i>	43,91	<i>S. marcescens</i>
	<i>S. marcescens</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>S. marcescens</i>	36,72	
465/23 <i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	<i>K. pneumoniae</i>	98,31	<i>K. pneumoniae</i>
03512020 ATCC13047 <i>E. cloacae</i>	<i>E. sakasaki</i>										<i>E. sakasaki</i>		
	<i>E. cloacae</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<i>E. cloacae</i>	70,12	<i>E. cloacae</i>
		+	+	+	+	-	-	-	-	+		27,87	
467/23 <i>S. liquefaciens</i>	<i>S. liquefaciens</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>S. liquefaciens</i>	43,91	<i>S. liquefaciens</i>
	<i>S. marcescens</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	+	<i>S. marcescens</i>	36,72	

Igualmente, o meio de identificação urease, que é um importante diferenciador entre a família dos *Proteus* e dos demais gêneros de *Enterobacteriales*, também é um fator complicador, pois algumas *Enterobacteriales* podem apresentar lenta atividade de urease, ou seja, são positivos tardios.⁽⁹⁾

É relevante salientar, acerca da validação realizada, que o Manual de Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Hospitalar da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (2002) registra que qualquer sistema de testes existentes no comércio, com leitura manual ou automatizada, apresenta limitações no número de provas e na discriminação dos diferentes gêneros e espécies de enterobactérias, de modo que a maioria dos esquemas trabalha com um máximo de 80% de acerto. É importante destacar que mesmo os sistemas semiautomatizados e automatizados não oferecem 100% de acerto para a caracterização das espécies de enterobactérias, mas representam o principal comportamento descrito na literatura.⁽¹⁰⁾

O mesmo Manual também registra que para as espécies dos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia* os testes mais utilizados apresentam baixo poder de discriminação, sendo a identificação feita pelo maior percentual de probabilidade.⁽¹⁰⁾

CONCLUSÃO

As funções implementadas na planilha conseguiram associar, após a introdução dos resultados encontrados no bioquimismo bacteriano, a identificação automatizada de microrganismo nos isolados testados.

Com a implementação do banco de dados com as tabelas com todos os perfis de resultados para os testes bioquímicos da ordem *Enterobacteriales*, além da tabela com o perfil de positividade frente aos testes e os cálculos de probabilidade, a planilha conseguiu identificar o microrganismo e fazê-lo em ordem de probabilidade.

A validação levada a termo na execução do presente trabalho permite a conclusão de que a planilha em Excel desenvolvida apresenta índices de conformidade com o método clássico, sobressaindo-se pela maior dinâmica e facilidade de acesso aos resultados, com inegável ganho em termos de otimização das rotinas de trabalho.

Quando comparada com o método MALDI-TOF MS, a identificação pela tabela Excel apresentou discriminação inferior. Porém, a superioridade do método proteômico em termos de agilidade e acurácia, como alternativa para os laboratórios que possuem maior capacidade orçamentária, nunca foi alvo de questionamento no presente trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Núcleo Análises Clínicas, por disponibilizar os resultados de identificações de amostras de cepas bacterianas que foram de grande utilidade para a elaboração deste trabalho.

À biomédica responsável pelo Controle de Qualidade no Laboratório Núcleo, Fernanda Carpeggiani, pelas informações e estatísticas obtidas junto ao Programa Nacional de Controle de Qualidade- PNCQ.

Ao Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana (LABRESIS-HCPA) pela oportunidade de acesso às facilidades e recursos que muito enriqueceram este estudo.

REFERÊNCIAS

1. Donay JL, Mathieu D, Fernandes P, Prégermain C, Bruel P, Wargnier A et al (2004). Evaluation of the automated phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 42(4):1542-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1542-1546.2004>
2. Leo S, Cherkaoui A, Renzi G, Schrenzel J (2020). Mini Review: clinical routine Microbiology in the era of automation and digital health. *Front Cell Infect Microbiol* 10:582028. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.582028>
3. Greub G (2010). MALDI-TOF mass spectrometry: the quantum leap. *Clin Microbiol Infect* 16(11):1603. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03380.x>
4. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Scheffer MC (2020). *Procedimentos básicos em Microbiologia Clínica*. 4. ed. Sarvier, São Paulo.
5. García Blancas Pablo, Mendoza Medellín Aurelio (2014). Pruebas bioquímicas tradicionales y de alta resolución para identificación manual de enterobacterias. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam* 48(2):249-254. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000200011. Acesso em: 10 Mar 2023.
6. PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade (2023). <https://pncq.org.br>. Acesso em: 17 Mar 2023.
7. Tostes PR (2016). *Fórmulas, funções e matrizes no Excel 2016*. 1. ed. Alta Books, Rio de Janeiro.
8. Koneman EW, Allen D. Stephen, Janda M. William, Schreckenberger C. Paul, Winn Washington C Jr. (2001). *Diagnóstico Microbiológico*. 5. ed. Medsi, Rio de Janeiro.
9. Antunes GS (1995). *Manual de Diagnóstico Bacteriológico*. 2. ed. Editora da UFRGS, Porto Alegre.
10. Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2020). *Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica*. https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_mod5.pdf. Acesso em: 23 Jun 2023.

Sinergismo de ceftazidima/avibactam e aztreonam, associado à polimixina, para tratamento de dupla infecção por bactérias pan-resistentes

Synergism of ceftazidime/avibactam and aztreonam, associated with polymixin, for the treatment of dual infections by pan-resistant bacteria

José Felipe Pinheiro Vieira^{1,2,3}, Thallyta Tavares Antunes^{1,2,4}, Dilbert Silva Velôso^{1,2}, Tairo Cesar Oliveira^{1,2,5}, Ilara Ferreira Ribeiro^{1,2,5}, Igor Denizarde Bacelar Marques^{1,5}, Jeamile Lima Bezerra^{1,3}, Laisa Fontinele Sá^{1,3}, Telma Lima Vieira^{1,2,4}, Jessica Sousa Vaz^{1,3}, Daniel Matos Costa⁶

¹ Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí - HU-UFPI. Teresina, PI, Brasil.

² Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares - Ebserh, Grupo de Trabalho em Uso Racional de Antimicrobianos. Teresina, PI, Brasil.

³ Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares - Ebserh, Unidade de Farmácia Clínica e Dispensação. Teresina, PI, Brasil.

⁴ Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares - Ebserh, Unidade de Vigilância em Saúde. Teresina, PI, Brasil.

⁵ Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares - Ebserh, Unidade de Terapia Intensiva - Teresina, Piauí - Brasil

⁶ Universidade Federal do Piauí - UFPI, Departamento de Farmácia. Teresina, PI, Brasil.

Resumo

Após o fim de 2022, a pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 chegou à marca de 36 milhões de casos, e com mais de 600 mil óbitos no Brasil. Os casos mais graves requerem manejo em UTI com intubação orotraqueal e possível evolução para pneumonia associada à ventilação (PAV), resultando no vasto uso de antimicrobianos, incrementando o número de bactérias multirresistentes no cenário pós-pandemia. O presente estudo relata o caso de sucesso farmacoterapêutico da associação de ceftazidima/avibactam com aztreonam e polimixina no tratamento de coinfeção por bactérias pan-resistentes, com fenótipo NDM e KPC, em um paciente com múltiplas comorbidades, admitido no HU-UFPI para tratamento de Covid-19. Corroboram-se a importância da elucidação microbiológica e fenotípica para direcionamento terapêutico, a padronização de antibióticos de reserva para o tratamento de infecções por microrganismos multirresistentes e pan-resistentes e o gerenciamento de programas como *antimicrobial stewardship* de antimicrobianos envolvendo equipe multiprofissional para um efetivo sucesso terapêutico.

Palavras-chave: Covid-19, Unidade de Terapia Intensiva, Infecções bacterianas, antibacterianos.

Abstract

At the end of 2022, the pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus reached the mark of 36 million cases, and with more than 600 thousand deaths in Brazil. The most severe cases require ICU management with orotracheal intubation and possible evolution to Ventilation Associated Pneumonia (VAP), resulting in the extensive use of antimicrobials, increasing the number of multidrug-resistant bacteria in the post pandemic scenario. The present study reports a case of pharmacotherapeutic success in the association of ceftazidime/avibactam with aztreonam and polymyxin in the treatment of co-infection by pan-resistant bacteria, with NDM and KPC phenotype, in a patient with multiple comorbidities, admitted to the HU-UFPI for the treatment of Covid-19. The importance of microbiological and phenotypic elucidation for therapeutic guidance, the standardization of reserve antibiotics for the treatment of infections by multidrug-resistant and pan-resistant microorganisms and the management of programs such as *antimicrobial stewardship* involving a multidisciplinary team for an effective therapeutic success are corroborated.

Keywords: Covid-19, Intensive Care Unit, Bacterial infections, antibacterials.

Correspondência

José Felipe Pinheiro Vieira

E-mail: felipepinheirofarmaceutico@gmail.com

Recebido em 18/08/2023 | Aprovado em 08/01/2024 | DOI: 10.21877/2448-3877.202400140

INTRODUÇÃO

Em março de 2020, a OMS declarou a pandemia de Covid-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, chegando aos 36.331.281 casos confirmados no Brasil, com 413.535 casos e 8.027 óbitos em 2022 no Piauí.^(1,2) Enquanto a maioria dos casos requerem apenas tratamento sintomático, os quadros mais graves, sobretudo de pacientes com comorbidades, requerem manejo em UTI com intubação orotraqueal (IOT), com risco de evolução para pneumonia associada a ventilador. A internação em UTI com IOT apresentou alta taxa de mortalidade no Brasil, oscilando na faixa de 80% durante o pico da pandemia, e esteve associada a muitos casos de coinfeções por bactérias multirresistentes no mundo todo.⁽³⁻⁵⁾ Somado à antibioticoterapia empírica pelos pacientes intubados pela infecção do novo coronavírus, cerca de 33% das pessoas diagnosticadas com Covid fizeram uso de algum antibiótico por automedicação antes de procurar o serviço hospitalar, fatos que contribuíram para o crescente número de bactérias multirresistentes durante a pandemia.^(6,7) Dentre as bactérias isoladas em pacientes internados por SARS-CoV-2, a *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii* estão entre as mais recorrentes.⁽⁸⁾ O presente trabalho objetiva relatar o caso de um paciente internado no Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí (HU-UFPI), em Teresina – Piauí,

para tratamento de Covid-19, que evoluía com coinfeção por *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase e da metalo-beta-lactamase de Nova Deli (fenótipo KPC e NDM) e *Acinetobacter baumannii*, também produtora de carbapenemase.

RELATO DE CASO

Paciente admitido no HU-UFPI em 27/08/2020, portador de hipertensão e obesidade grau III, com Covid-19, apresentando síndrome respiratória aguda grave (SRAG), choque séptico e febre, com leucócitos de $16,28 \times 10^3/\text{mm}^3$, PCR de 146,5mg/L e dímero D de 634,8ng/mL, ocasião em que os parâmetros clínicos e laboratoriais convergiram para prontamente ser submetido à intubação e sedação. Ainda na admissão, foram prescritos empiricamente meropeném endovenoso (EV) 2000mg, 3 vezes ao dia, e vancomicina EV 1000mg, 2 vezes ao dia, e ambos antimicrobianos foram prescritos por 16 dias.

No terceiro dia de internação, o paciente teve o *clearance* de creatinina (ClCr) mais baixo registrado, de 18,8ml/min/1,73 m², com melhora progressiva sem hemodiálise, voltando a apresentar queda constante do ClCr a partir de D17, iniciando hemodiálise em D25. Além disso, o paciente evoluía com dímero D permanentemente elevado, com pico de 3.839,4ng/dL. A Figura 1 apresenta um resumo da evolução.

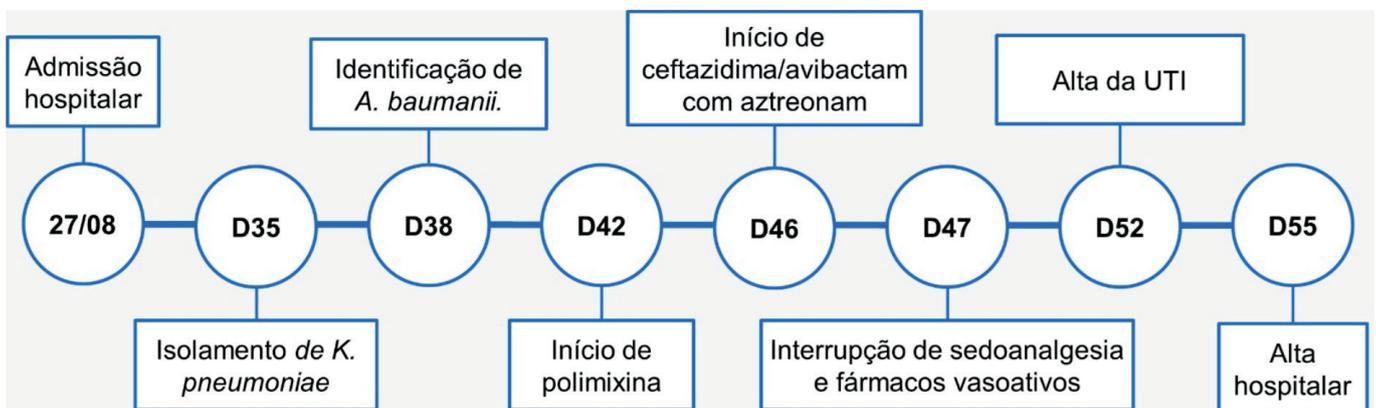


Figura 1

Evolução cronológica da internação.

No 35º dia, em cateter de nasofaringe, isolou-se *Klebsiella pneumoniae* fenótipo KPC (do inglês *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) e com gene de resistência NDM (metaló β-lactamase de Nova Deli) ambos identificados em teste NG-carba 5 (Laborclin®). Em D38, identificou-se *Acinetobacter baumannii* em hemocultura, produtora de carbapenemase, pan-resistente, sensível somente à colistina, que fora testada posteriormente. As espécies foram identificadas via Vitek-MS (BioMérieux Brasil), e os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados de acordo com o preconizado Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCast). A padronização de antimicrobianos (ATM) do HU-UFPI segue a classificação AWaRe (do inglês *Access, Watch, Reserve*), proposta pela OMS. Diante disso, as bactérias supracitadas eram resistentes a todos os ATM padronizados no Hospital. O perfil de sensibilidade das bactérias está descrito na Tabela 1.

O programa de stewardship de antimicrobianos (PSA) do HU-UFPI é composto por farmacêutico clínico, médico infectologista, microbiologista clínico e enfermeiro. Diante dos resultados dos antibiogramas e da comprovação fenotípica das bactérias pan-resistentes, o referido PSA, por meio

de uma pesquisa bibliográfica, buscou por evidências de suscetibilidade das bactérias supracitadas a outros ATM. A busca foi realizada nas plataformas PubMed, SciELO e ScienceDirect, utilizando os descritores Gram-negativo, NDM e KPC, buscando revisões bibliográficas, revisões sistemáticas e relatos de casos publicados no período de 2015 a 2020.

Portanto, foram encontradas evidências que embasaram os testes *in vitro*. Neste sentido, testou-se, em ensaio *in vitro* por semeio de cultura com *K. pneumoniae*, a associação de ceftazidima/avibactam com aztreonam, que apresentou halo de inibição (Figura 2) e possível alternativa para o tratamento.

Dessa forma, a antibioticoterapia incluiu polimixina B, iniciada em D42, e em D46 a associação ceftazidima/avibactam com aztreonam, administrados em “Y” na tentativa de reproduzir o mais próximo do observado *in vitro*. A partir de então, houve redução dos parâmetros de infecção como febre, além PCR e leucócitos (Figura 3), com melhora clínica progressiva, interrompendo a administração de fármacos vasoativos e sedoanalgesia em D47, melhora da função renal em D51, com alta da UTI em D52 e alta hospitalar em D55.

Tabela 1

Antibiograma das bactérias isoladas.

ATB TESTADO	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A.baumannii</i>
AMICACINA	R	R
AMPICILINA	R	R
AMPICILINA-SULBACTAM	R	R
CEFEPIMA	R	R
CEFOXITINA	R	R
CEFTAZIDIMA	R	R
CEFTRIAXONA	R	R
CEFUROXIMA	R	Não testado
CIPROFLOXACINA	R	R
ERTAPENÉM	R	Não testado
GENTAMICINA	R	R
IMIPENÉM	R	R
MERPENÉM	R	R
PIPERACILINA-TAZOBACTAM	R	R
TIGECICLINA	R	R

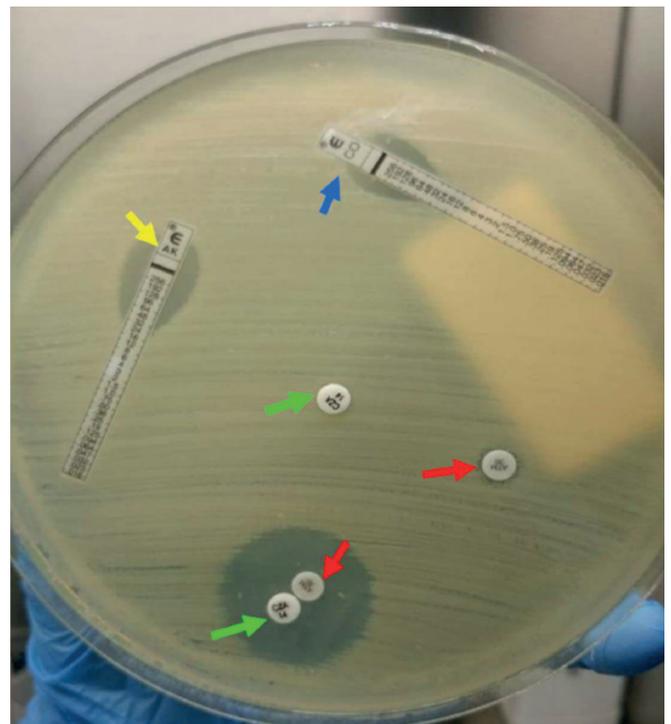


Figura 2

Cultura para *K. pneumoniae*. Notar halo de inibição por amicacina (seta amarela), colistina (seta azul) e pela associação ceftazidima/avibactam (seta verde) com aztreonam (seta vermelha).

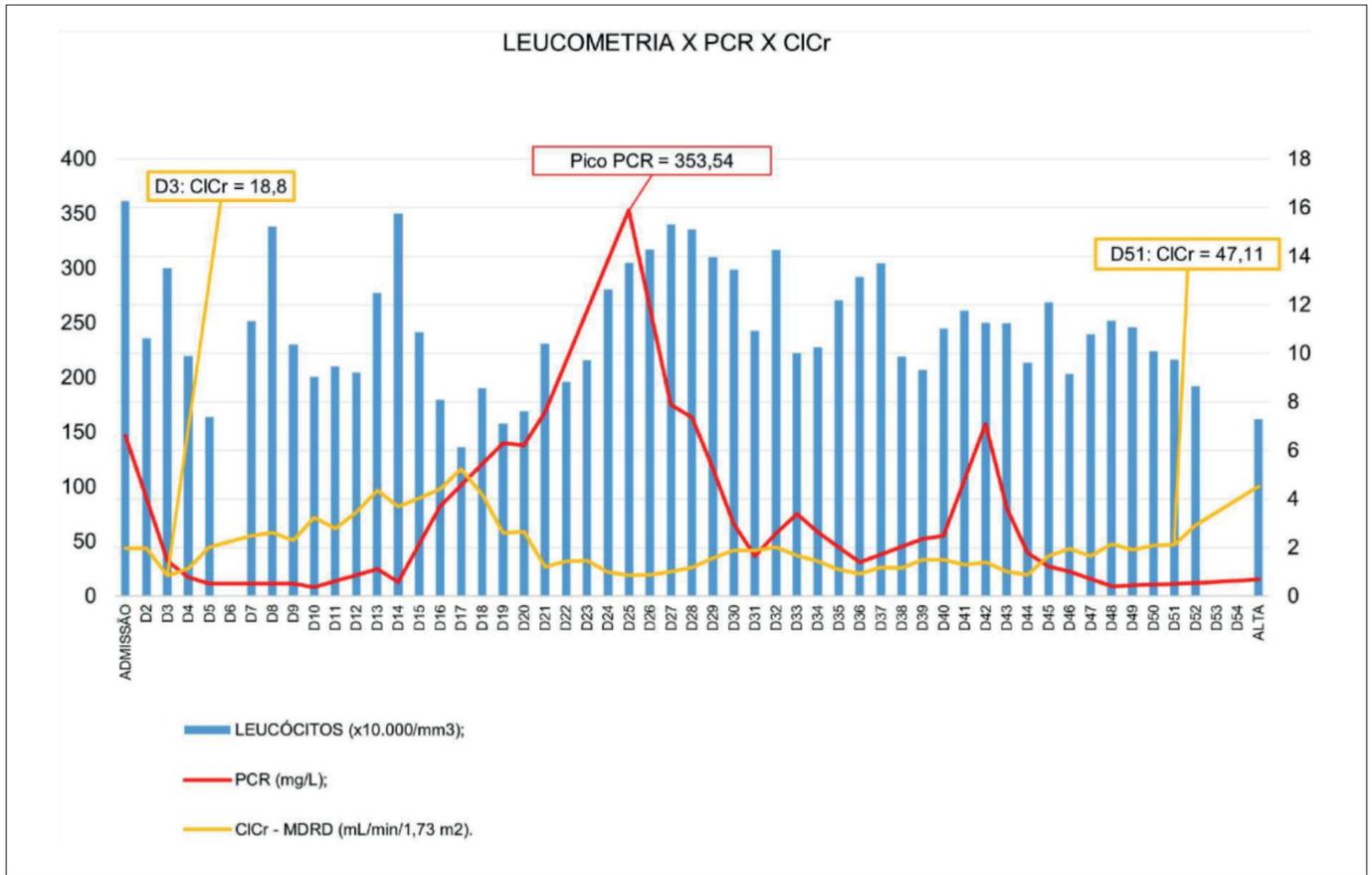


Figura 3

Evolução dos parâmetros laboratoriais.

Ao longo da internação outras infecções bacterianas foram diagnosticadas (Tabela 2), que não foram discutidas no trabalho por apresentarem sensibilidade aos antibióticos padronizados pelo hospital.

Os dados aqui mencionados foram retirados do

prontuário eletrônico do paciente, com informações coletadas em conformidade com a Resolução nº 466/12, do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), e com a Declaração de Helsinki/World Medical Association, sob o CAE nº 70407623.8.0000.8050.

Tabela 2

Demonstrativo das culturas positivas.

Dia da coleta	Tipo de exame	Resultado	Observações
D5	Hemocultura de cateter	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Multirresistente, sensível à vancomicina
D23	Lavado broncoalveolar	<i>K. pneumoniae</i>	Resistência intermediária à amicacina (MIC 32µg/mL)
D35	Ponta de cateter - nasofaringe	<i>K. pneumoniae</i>	Pan-resistente. Fenótipo KPC e NDM
D35	Hemocultura periférica	<i>S. haemolyticus</i>	Sensível à vancomicina
D38	Ponta de cateter endovenoso	<i>K. pneumoniae</i>	Resistência intermediária à amicacina (MIC 32µg/mL)
D38	Hemocultura de cateter	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Fenótipo KPC

DISCUSSÃO

Zeng et al.⁽⁹⁾ (2020) relata uma correlação positiva dos valores de PCR com a gravidade da Covid-19. Não obstante, Zhan et al.⁽¹⁰⁾ (2021) ressaltam que a gravidade da Covid-19 também está relacionada aos eventos cardiovasculares inerentes à infecção viral, sobretudo o alto risco de trombose venosa (TV), e portanto os biomarcadores de coagulação, principalmente dímero D, se mostram como marcadores de gravidade da Covid. Somado a isso, o SARS-CoV-2 provoca lesão renal aguda (LRA) de forma direta e indireta, sobretudo em pacientes crônicos, tendo a LRA como indicador de prognóstico ruim da doença, que somado ao uso de antimicrobianos nefrotóxicos levou o paciente à terapia substitutiva renal⁽¹¹⁾. Diante dessa perspectiva, dados os parâmetros laboratoriais expressos na Figura 3 nota-se que o paciente foi admitido em estado grave, evoluindo com piora ao longo da internação.

As bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemase estão entre as bactérias multirresistentes mais recorrentes em casos de coinfeção hospitalar associada à Covid.⁽¹²⁾ Segundo Dias et al.⁽¹³⁾ (2021), durante a pandemia houve um importante aumento de *K. pneumoniae* e *A. baumannii* multirresistentes, fato corroborado por um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, no qual Gaspar et al.⁽¹⁴⁾ (2021) relatam que a ocorrência de *K. pneumoniae* KPC aumentou em 62,1% durante a pandemia, e que *A. baumannii* resistente a carbapenemase aumentou em 78,6% no mesmo período.

A respeito do tratamento das bactérias isoladas, Baravo et al.⁽¹⁵⁾ (2022) elencam uma série de relatos de casos que mostram a combinação ceftazidima/avibactam como opção de tratamento viável contra *K. pneumoniae* KPC, bem como a necessidade de outras combinações para tratar o fenótipo NDM. Outros estudos sugerem a combinação de ceftazidima/avibactam com aztreonam, ou até mesmo a associação de aztreonam com meropeném/vaborbactam, como opções eficazes contra *K. pneumoniae* KPC e NDM.⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ Quanto ao *A. baumannii* KPC, um estudo multicêntrico conduzido por Boral et al.⁽¹⁹⁾ (2019) mostrou alta suscetibilidade à polimixina E em infecções de trato urinário.

Portanto, uma abordagem terapêutica baseada em culturas microbiológicas evita a administração desnecessária de medicamentos ineficazes,⁽²⁰⁾ o que corrobora a importância do programa de Stewardship de antimicrobianos (PSA) do

HU-UFPI, já que os testes *in vitro*, bem como a decisão das prescrições foram baseados em evidências. Diante disso, é notório o impacto da atuação do PSA sobre o desfecho do paciente, pois é fato que as intervenções, alterações, sugestões e decisões baseadas em evidências são peças-chave para eficácia terapêutica, evitar reações adversas e o desenvolvimento de resistência antimicrobiana.⁽²¹⁾

Ademais, o estudo mostrou a importância da padronização de antimicrobianos de reserva. A combinação ceftazidima/avibactam, comercialmente denominada Torgena® (Pfizer), e o aztreonam foram prescritas como “medicamento próprio do paciente”. Durante o presente relato, a padronização de antibacterianos de reserva AWaRe não incluía os antimicrobianos supracitados. O aztreonam, outrora padronizado, foi novamente incluído na padronização em outubro de 2020, e a combinação ceftazidima/avibactam incluída em junho de 2021.⁽²²⁾

CONCLUSÃO

A combinação de ceftazidima/avibactam e aztreonam deve ser considerada uma opção de tratamento viável para pacientes com infecções por *K. pneumoniae* produtoras de carbapenemase do tipo NDM. Por isso, nota-se a importância da elucidação microbiológica e dos mecanismos de resistência, assim como a interação do time de Stewardship, com médico infectologista, farmacêutico clínico e microbiologista, e a padronização de antibióticos de reserva terapêutica, para o tratamento de infecções por microrganismos multirresistentes e pan-resistentes.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Boletins Epidemiológicos Covid-19. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/covid-19>. Acesso em: 05 mar. 2023.
2. Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and Covid-19. *J Med Virol.* 2020 Jun;93(1): 250-256. doi: 10.1002/jmv.26232. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7361342/>. Acesso em: 5 de mar 2023.
3. Parasher A. Covid-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgrad Med J.* 2021 May;97(1147):312-320. doi: 10.1136/postgradmedj-2020-138577. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10017004/>. Acesso em: 5 de mar 2023
4. Chang R, Elhusseiny KM, Yeh YC, Sun WZ. Covid-19 ICU and mechanical ventilation patient characteristics and outcomes-A systematic review and meta-analysis. 2021 Feb;16(2). doi: 10.1371/journal.pone.0246318. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7877631/>. Acesso em: 5 de mar 2023.

5. Orellana JDY, Marrero L, Horta BL. Letalidade hospitalar por Covid-19 em quatro capitais brasileiras e sua possível relação temporal com a variante gama, 2020-2021. *Epidemiologia serv. saúde*. 2021 dez;30(4). doi: 10.1590/S1679-49742021000400024. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742021000400316. Acesso em: 5 de mar 2023.
6. Russo A, Gavaruzzi F, Ceccarelli G, Borrazzo C, Oliva A, Alessandri F, et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in Covid-19 patients hospitalized in intensive care unit. *Infection*. 2022 Feb;50(1):83-92. doi: 10.1007/s15010-021-01643-4. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8236000/>. Acesso em: 9 de mar 2023.
7. Ghosh S, Bornman C, Zafer MM. Antimicrobial Resistance Threats in the emerging Covid-19 pandemic: Where do we stand? *J Infect Public Health*. 2021 May;14(5):555-560. doi: 10.1016/j.jiph.2021.02.011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7934675/>. Acesso em: 9 de mar 2023.
8. Santos AP, Gonçalves LC, Oliveira ACC, Queiroz PHP, Ito CRM, Santos MO, Carneiro LC. Bacterial co-infection in patients with Covid-19 hospitalized (ICU and not ICU): Review and meta-analysis. *Antibiotics*. 2022 Jul 4;11(7):894. doi: 10.3390/antibiotics11070894. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35884147/>. Acesso em: 15 set 2023.
9. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, et al. Association of inflammatory markers with the severity of Covid-19: A meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020 Jul; 96:467-474. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.055. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7233226/>. Acesso em: 4 jun 2023.
10. Zhan H, Chen H, Liu C, Cheng L, Yan S, Li H, et al. Diagnostic Value of D-Dimer in Covid-19: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2021 Jan-Dec;27:1-10. doi: 10.1177/10760296211010976. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8114749/>. Acesso em: 4 de jun 2023.
11. Hilton J, Boyer N, Nadim MK, Forni LG, Kellum JA. Covid-19 and Acute Kidney Injury. *Crit Care Clin*. 2022 Jul;38(3):473-489. doi: 10.1016/j.ccc.2022.01.002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8743571/>. Acesso em: 26 de jun 2023.
12. Wu HY, Chang PH, Chen KY, Lin IF, Hsih WH, Tsai WL, et al. Coronavirus disease 2019 (Covid-19) associated bacterial coinfection: Incidence, diagnosis and treatment. *J Microbiol Immunol Infect*. 2022 Dec;55(6):985-992. doi: 10.1016/j.jmii.2022.09.006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9536868/>. Acesso em: 4 de jun 2023.
13. Dias VMCH, Tuon F, Capelo PJ, Telles JP, Fortaleza CMCB, Baena CP. Trend analysis of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria and antimicrobial consumption in the post-Covid-19 era: an extra challenge for healthcare institutions. *J Hosp Infect*. 2022 Feb;120:43-47. doi: 10.1016/j.jhin.2021.11.011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8603865/>. Acesso em: 4 de jun 2023.
14. Gaspar GG, Ferreira LR, Feliciano CS, Campos Júnior CP, Molina FMR, Vendruscolo ACS, et al. Pre- and post-Covid-19 evaluation of antimicrobial susceptibility for healthcare-associated infections in the intensive care unit of a tertiary hospital. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021 Jul 23;54. doi: 10.1590/0037-8682-0090-2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8313097/>. Acesso em: 4 de jun 2023.
15. Bavaro DF, Belati A, Diella L, Poli MA, Calamo A, De Candia G, et al. Prompt and Appropriate Antimicrobial Therapy Improves Outcomes of NDM-Producing and KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections in Patients Hospitalized for Covid-19: A Comparative Retrospective Case-Series. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Oct 31;11(11):1519. doi: 10.3390/antibiotics11111519. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9686740/>. Acesso em: 19 de jun 2023.
16. Falcone M, Daikos GL, Tiseo G, Bassoulis D, Giordano C, Galfo V, et al. Efficacy of Ceftazidime-avibactam Plus Aztreonam in Patients With Bloodstream Infections Caused by Metallo- β -lactamase-Producing Enterobacterales. *Clin Infect Dis*. 2021 Jun 1;72(11):1871-1878. doi: 10.1093/cid/ciaa586. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/72/11/1871/5840534?login=false>. Acesso em: 19 de jun 2023.
17. Belati A, Bavaro DF, Diella L, De Gennaro N, Di Gennaro F, Saracino A. Meropenem/Vaborbactam Plus Aztreonam as a Possible Treatment Strategy for Bloodstream Infections Caused by Ceftazidime/Avibactam-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: A Retrospective Case Series and Literature Review. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Mar 10;11(3):373. doi: 10.3390/antibiotics11030373. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8944480/>. Acesso em: 19 de jun 2023.
18. Behzadi P, García-Perdomo HA, Karpiński TM, Issakhanian L. Metallo- β -lactamases: a review. *Mol Biol Rep*. 2020 Aug;47(8):6281-6294. doi: 10.1007/s11033-020-05651-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32654052/>. Acesso em: 19 de jun 2023.
19. Boral B, Unaldi Ö, Ergin A, Durmaz R, Eser ÖK. A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2019 Jul 2;18(1):19. doi: 10.1186/s12941-019-0319-8. Disponível em: <https://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12941-019-0319-8>. Acesso em: 19 de jun 2023.
20. Wu CT, Chen CL, Lee HY, Chang CJ, Liu PY, Li CY, et al. Decreased antimicrobial resistance and defined daily doses after implementation of a clinical culture-guided antimicrobial stewardship program in a local hospital. *J Microbiol Immunol Infect*. 2017 Dec;50(6):846-856. doi: 10.1016/j.jmii.2015.10.006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118215009019?via%3Dihub>. Acesso em: 19 de jun 2023.
21. Majumder MAA, Rahman S, Cohall D, Bharatha A, Singh K, Haque M, et al. Antimicrobial Stewardship: Fighting Antimicrobial Resistance and Protecting Global Public Health. *Infect Drug Resist*. 2020 Dec 29; 13:4713-4738. doi: 10.2147/IDR.S290835. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33402841/>. Acesso em: 15 set 2023.
22. Silva LK, Medeiros AF, Figueiró-Souza AF, Martins MA, Bertollo CM. Impacto potencial da Covid-19 no perfil de consumo de antibacterianos de reserva – AWaRe em unidade de terapia intensiva de um hospital público. *Rec Bras Farm Hosp Serv Saúde*. 2023 Mai; 14(2):0896. DOI: 10.30968/. Disponível em: <https://www.hrtn.fundep.ufmg.br/wp-content/uploads/2023/06/Impacto-potencial-da-Covid-19-no-perfil-de-consumo-de-antibacterianos-de-reserva---AWaRe-em-unidade-de-terapia-intensiva-de-um-hospital-publico.pdf>. Acesso em: 16 Set 2023



Instruções aos autores/Instructions for authors

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em “.pdf”. As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em “.pdf” da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em “.pdf” da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A Revista Brasileira de Análises Clínicas apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde [OMS], do International Committee of Medical Journal Editor [ICMJE] e do Workshop ICTRP. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínico-laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: Australian New Zealand Clinical Trials Registry [ANZCTR], International Standard Randomised Controlled Trial Number [SRCTN], Netherlands Trial Register [NTR], UMIN Clinical Trials Registry [UMIN-CTR], WHO International Clinical Trials Registry Platform [ICTRP]. No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>) do Ministério da Saúde [DECIT/MS], Organização Panamericana de Saúde [OPAS] e Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz] é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por pareceristas/ revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados pelos pareceristas/ revisores serão informados imediatamente aos autores.

A Revista Brasileira de Análises Clínicas está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: trabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não

usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/ validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/abstract.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg", ".tif" ou ".png" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na Revista Brasileira de Análises Clínicas ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da Revista Brasileira de Análises Clínicas. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A Revista Brasileira de Análises Clínicas avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e de preferência, familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title <i>Incluir versão em Português</i>
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title <i>Incluir versão em Português</i>
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Abstract <i>Incluir versão em Português</i>
Palavras-chave <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords <i>Incluir versão em Português</i>
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (excetuando-se, quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.

AUTORES: Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [Medical Subject Headings], elaborado pelo NLM [National Library of Medicine]. Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

CONCLUSÕES: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas

também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg", ".tif" ou ".png" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excel em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excel, caso não seja possível converter para formato ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals [Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédica] pelo International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE] (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.scielo.br/pdf/rcbc/v35n6/v35n6a14.pdf (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em List of Journals Indexed in Index Medicus [National Library For Medicine] (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chamada Numérico. Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

- Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula "e" entre os sobrenomes;
- Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";
- Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;
- Nomes contendo mais de um sobrenome deverá ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";
- Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;
- Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.

Alguns exemplos de citações:

- **Um/duos autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.
- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.
- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome

exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁹⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.
- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.
- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informações complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilize: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

- **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidiodomycosis. Clin Dermatol. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. Singapore Med J. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. Intern Med. 2012;51(20):2967-71.
- **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Nov;56(11):5898-906.

- **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.
- **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.
- **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.
- **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.
- **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.
- **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.
- **Carta ao editor:** Dettenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.
- **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.
- **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

- **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.
- **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. Bases da parasitologia médica. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
- **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Penteado MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.
- **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. Ética em pesquisa: temas globais. Brasília: Editora UNB; 2008.
- **Teses, Dissertações e Monografias:**
- **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. Análise da expressão gênica no dermatófito *Trichophyton rubrum* mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes. São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

- **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.
- **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szecs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. Espécies de *Candida* isoladas de pacientes leucêmicos. In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

- **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002.
- **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Relatório de atividades: 2006. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

- **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.
- **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.
- **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expedite diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.
- **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

- **Periódicos:** Mondelli AL, Niéro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform).* *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* [periódicos na internet]. 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.
- **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgpr/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.
- **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brígido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. In: 4o. Congresso Virtual de Micologia de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **GNPapers**, no endereço: www.gnpapers.com.br/rbac/. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

- A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo GNPapers, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;
- Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de login e senha;
- A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;
- O GNPapers atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;
- Pedidos de fast-track poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de fast-track deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da Revista Brasileira de Análises Clínicas - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/____/____.

PRO-IN

Programa de Controle Interno da Qualidade do PNCQ



Em diversos volumes e vários níveis!
A maioria é liofilizada, aumentando a sua estabilidade!

Acesse o site e faça seu pedido:
pncq.org.br/grupo_produto/pro-in



Confira algumas das amostras disponíveis:

Anti-HBc, HBsAg e HBV biologia molecular	Anti-HCV	Anti-HIV 1/2, Anti-HTLV	ASO	BHCG
Bioquímica	Chagas	Coagulograma	Coombs direto e indireto	COVID-19 anticorpos (IgG/IgM), antígeno (Ag) e biologia molecular
D-dímero	Dengue - IgG/IgM	Fator reumatóide	Fatores da coagulação	Gasometria
Grupo sanguíneo e Fator RH	Hematologia	Hemoglobina glicada e Hemoglobina HEMOCUE	Hormônios	Leptospirose
Marcadores cardíacos	Microalbuminúria	Procalcitonina	Proteína C Reativa (PCR)	Rotavírus
Sangue oculto	Sífilis VDRL	Toxicologia - voláteis em urina e metais em sangue total, soro e urina	Toxoplasmose IgG/IgM	Urinalise tira reagente, análise bioquímica e automação
		Vitamina D		Zika vírus - IgG

Pro-IN em Tempo Real: Ferramenta **GRATUITA** para os **laboratórios** que adquirem amostras do **PRO-IN** e auxilia na elaboração e na avaliação de seu controle interno, com:

- Gráfico de Levey Jennings automático;
- Comparação com laboratórios que utilizam mesma metodologia;
- Composição de Valores próprios, com Média, DP e CV;
- Regras de Westgard personalizadas.



Acesse pelo **QR Code**, na etiqueta dos frascos, as instruções de reconstituição, armazenamento, estabilidade, valores médios e desvio padrão.



PNCQ[®]

Programa Nacional de Controle de Qualidade

Patrocinado pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas



(21) 3172-7100 | 2569-6867



pncq@pncq.org.br



Rua Vicente Licínio, 193
Tijuca - Rio de Janeiro/RJ
CEP: 20270-340



@PNCQoficial



@pncqoficial



/pncq-oficial



www.pncq.org.br