

# 13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

## Interferência da contaminação por conídios de *Aspergillus* (seção Fumigati) no diagnóstico de aspergilose

BECKER, Sâmara da Costa, CABANA, Ângela Leitzke, KLAFKE, Gabriel Baracy, TELES, Alessandra Jacomelli, MENDES, Josiara Furtado, DIAS, Jenniffer Hauschildt, XAVIER, Melissa Orzechowski (orientador)  
samarabecker@yahoo.com.br

Evento: Congresso de Iniciação Científica  
Área do conhecimento: Ciências da saúde e biológicas

Palavras-chave: *Pour-plate*, Espectofotometria, Micologia

### 1 INTRODUÇÃO

Um dos testes atuais para diagnóstico de aspergilose invasiva se baseia na detecção de galactomanana a partir da técnica de ELISA sanduíche. Embora estes testes imunológicos apresentem alta sensibilidade podem sofrer inúmeras interferências (Pagano *et al*, 2007; Xavier *et al*, 2011). Assim, para conhecimento da quantidade mínima de propágulos fúngicos de *Aspergillus* (seção Fumigati), capaz de interferir como contaminante ambiental em um teste imunológico é necessário determinar a concentração de propágulos detectáveis pelo teste a fim de promover um correto diagnóstico sem a interferência ambiental.

### 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A aspergilose é uma doença de caráter oportunístico causada por fungos do gênero *Aspergillus* (seção Fumigati). Seu diagnóstico laboratorial é determinado a partir de amostras clínicas de fácil obtenção tais como soro sanguíneo, secreções e fragmentos de tecidos. No entanto, por se tratar de fungo de fácil disseminação, o diagnóstico pode ser comprometido pela contaminação ambiental da amostra. Com o auxílio de técnicas micológicas e ópticas de quantificação o estudo objetivou detectar a concentração de conídios capaz de interferir no diagnóstico (Menezes, 2008; Xavier *et al*, 2011).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

A padronização do inóculo de baixa concentração de *Aspergillus* (seção Fumigati) foi realizada a partir de três cepas oriundas da micoteca do Laboratório de Micologia-Faculdade de Medicina-FAMED-FURG (dois isolados clínicos e uma cepa padrão denominada AF 13703) que foram subcultivadas em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol (Sb+Cl) a 36°C/48h. Posteriormente, foram adicionadas as culturas 10 mL de solução salina estéril (0,85%) acrescida de 200µL de Tween 80 para obtenção dos propágulos fúngicos. Após repouso de 30 minutos para decantação, o sobrenadante foi alíquotado em tubos tipo Falcon.

O inóculo foi padronizado de acordo com a técnica espectofotométrica, após filtração em gaze dupla estéril, a partir da D.O<sub>530</sub> (82-84% de transmitância). Após foi realizada diluição 1:50 em solução salina estéril (CLSI, 2002), até uma concentração de  $0,8 \times 10^{-4}$  a  $1 \times 10^{-5}$  UFC/mL.

A quantidade de conídios foi determinada pela técnica de “*Pour Plate*”,

# 13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

utilizando quatro diluições seriadas ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ). Uma alíquota de 100uL foi semeada em duplicata por espalhamento, incubadas a 36°C/48h para se determinar as unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL) e confirmar padronização do inóculo. Foi realizado um ensaio imunológico comercial Platelia *Aspergillus* EIA® piloto a partir das diferentes concentrações fúngicas obtidas.

## 4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foi possível observar que a concentração mínima fúngica (CIM) capaz de ser detectada pelo ensaio imunológico comercial foi de 0,8 a 1 conídio/mL e a máxima de 1350 a 2400 conídios/mL. A contaminação ambiental pode ser um forte interferente já que apenas um conídio pode promover alteração do resultado gerando falsos positivos. As reações cruzadas com outras infecções fúngicas podem estar entre as causas de falso-positivos no Platelia® *Aspergillus* EIA, (Tanriover *et al*, 2005). Na mesma linha, a contaminação ambiental é frequentemente citada como fator importante de interferência nos resultados do teste e possível causa de falso-positivos (Xavier *et al*, 2011).

Em outros estudos semelhantes, a contaminação ambiental é relatada com extrema relevância, uma vez que o tempo entre coleta e processamento laboratorial da amostra clínica pode superar 24h. Devido a capacidade de *Aspergillus* (sessão Fumigati) apresentar uma alta velocidade de crescimento e taxa de germinação rápida (Araújo, Rodrigues, 2004), seus metabolitos polissacarídeos tornam-se detectáveis pelo teste imunológico, alterando os resultados do mesmo, conforme também observado em nosso estudo.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados evidenciam a necessidade de um rígido controle desde a coleta, transporte, armazenamento e processamento das amostras, evitando assim interferência nos resultados de testes imunológicos.

## 6 REFERÊNCIAS

ARAÚJO R, RODRIGUES AG. Variability of germinative potential among pathogenic species of *Aspergillus*. **J. Clin. Microbiol.** 42(9): 4535-4537, 2004

CLSI. Método de Referência para testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Fungos Filamentosos à Terapia Antifúngica: **Documento M38-A2**. 2ªed. 2002

MENEZES, A. 2008. Técnicas de contagem *pour plate* e *spread plate*. Rio de Janeiro. CEFET-RJ. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/relatorio-tecnicas-de-contagem-pour-plate-e-spread-plate-doc-doc-a7854.html>. Acesso em 15 Jul 2014.

PAGANO, L. *et al*. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study – Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. **Clin. Infect. Dis.** 45:1161-1170. 2007.

TANRIOVER MD, METAN G, ALTUN B, HASCELIK G, UZUN O. False positivity for *Aspergillus* antigenemia related to the administration or piperacillin/tazobactam. **Eur. J. Int. Med.** 16: 489-491, 2005.

XAVIER MO, AQUINO VR, SEVERO LC, PASQUALOTTO AC. Galactomanana no diagnóstico de aspergilose invasiva. **Rev. Bras. Oncol. Clín.** 7:41-50, 2011