



RASTREAMENTO DE STREPTOCOCCUS PYOGENES EM INDIVÍDUOS COM FARINGOAMIGDALITE E HÍGIDOS NO MUNICÍPIO DE CUITÉ, PARAÍBA, BRASIL

Adriana Emanuely da Silva Barros¹, Amanda Kelly Nóbrega Medeiros²,
Hallyson Santos Morais Lima², Bernadete Helena Cavalcanti dos Santos³,
Marcelo Moreno⁴, *Egberto Santos Carmo⁵

¹ Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, Brasil.

² Curso de Bacharelado em Farmácia, Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité-PB, Brasil.

³ Laboratório de Microbiologia Clínica, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

⁴ Professor de Microbiologia, Departamento de Fisiologia e Patologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

⁵ Professor da Unidade Acadêmica de Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB, Brasil.

* Email para correspondência: egbertosantos@ufcg.edu.br



Resumo

Existe uma constante preocupação médica devido às infecções causadas pelo *Streptococcus pyogenes*, uma bactéria β -hemolítica do grupo A de Lancefield (SBHGA), que é potencialmente capaz de causar complicações em órgãos vitais como coração e rins. Neste trabalho, realizou-se a cultura de secreção de orofaringe de pacientes do Hospital Nossa Senhora das Mercês e discentes da Escola Tancredo Neves, ambos no Município de Cuité-PB, no período de Julho de 2013 a Agosto de 2014, com o objetivo de investigar a presença de *S. pyogenes*. As amostras coletadas de oitenta voluntários foram inoculadas em placa de ágar sangue de carneiro (5%), Manitol e McConkey. Colônias com hemólise total seriam avaliadas quanto à coloração de Gram, produção de catalase e sensibilidade à bacitracina, neste último caso quando as cepas fossem catalase negativas. De um total de 80 (oitenta) voluntários atendidos, treze (17%) amostras apresentaram beta-hemólise, todas foram catalase positiva, o que evidenciou ausência de *S. pyogenes* nos voluntários. Tal fato pode ser justificado devido alguns fatores, como: a idade das pessoas submetidas à análise, a possível omissão sobre o uso de antibióticos, as condições climáticas da região e/ou a outros agentes causadores da patologia nos casos de faringoamigdalites.

Palavras-chave: Infecção, *Streptococcus pyogenes*, Faringoamigdalite.

Abstract

There is a constant medical concern due to infections caused by *Streptococcus pyogenes* a group A β -hemolytic bacteria Lancefield (GABHS), which is potentially capable of causing complications in vital organs such as the heart and kidneys. In this work, we carried out the patients of oropharyngeal secretion culture of Nossa Senhora das Mercês Hospital and students of the School Tancredo Neves, both in the city of Cuité-PB, from July 2013 to August 2014, with the objective of investigate the presence of *S. pyogenes*. Samples collected eighty volunteers were inoculated on sheep blood agar plate (5%), Mannitol and McConkey. Colonies with complete hemolysis would be evaluated for Gram stain, catalase production and sensitivity to bacitracin in the latter case when the strains were catalase negative. A total of eighty (80) met volunteers, thirteen (17%) samples showed beta-hemolysis, all were positive catalase, which showed no *S. pyogenes* in volunteers. This can be justified because factors such as the age of the people subjected to analysis, the possible failure on the use of antibiotics, the climatic conditions of the region and / or other causative agents of disease in cases of pharyngitis.

Keywords: Infection, *Streptococcus pyogenes*, Pharyngitis.



1 INTRODUÇÃO

A faringoamigdalite caracteriza-se pela colonização das tonsilas palatinas por uma gama de microrganismos que inclui bactérias, fungos e vírus. Porém, uma constante preocupação médica são as infecções causadas pelo *Streptococcus pyogenes*, uma bactéria β -hemolítica do grupo A de Lancefield (SBHGA), que pode ser responsável por complicações em órgãos vitais como coração e rins (VIEIRA et al., 2006; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008; GUILHERME; KÖHLER; KALIL, 2012).

A faringoamigdalite estreptocócica é uma infecção aguda de orofaringe que pode apresentar manifestações sistêmicas, sendo transmitida comumente pelo contato com pessoas infectadas. Esta doença é de grande importância pelo fato de que além de causar complicações supurativas na fase aguda, pode causar também sequelas não supurativas mais tardiamente como febre reumática e glomerulonefrite aguda (PITREZ; PITREZ, 2003; SCALABRIN et al., 2003; PEIXOTO et al., 2011; DE AMICIS; SANTOS; GUILHERME; KÖHLER; KALIL, 2012).

Os fatores de virulência do *S. pyogenes* determinam a sua capacidade de aderir e invadir as células do hospedeiro, impedir a opsonização e fagocitose, bem como produzir enzimas e toxinas que serão responsáveis pelos efeitos patogênicos do SBHGA (MURRAY, 2006). Esses fatores de virulência são a cápsula antifagocitária, ácido lipoteicóico, proteína M, proteína F, exotoxinas pirogênicas, estreptolisina S, estreptolisina O, estreptoquinase, DNase e C5a peptidase (BRANDT et al., 2003; LINO, 2010).

Essa infecção ocorre mais frequentemente em crianças e adolescentes, na faixa etária de 5 a 15 anos, predominantemente nos meses mais frios do ano, especialmente em lugares onde há aglomerados de pessoas, como escolas e creches. A passagem de pessoa a pessoa pode favorecer a seleção de cepas bacterianas mais virulentas (SCALABRIN et al., 2003; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008; ALVIM; LASMAR, 2009).



No Brasil, ainda são poucas as informações sobre o comportamento de SBHGA, principalmente a descrição de diferentes sorogrupos (BRASIL, 2013). Em 2006, Vieira levantou dados sobre a prevalência de *Streptococcus pyogenes* em orofaringe de crianças que frequentam creches, comparando duas regiões do Brasil. Verificou-se que na região de São Paulo houve prevalência de 8%, semelhante a dados vistos nas literaturas internacionais. Contudo, na região Norte os valores acusaram uma prevalência maior, com 26% de culturas positivas entre as crianças.

O diagnóstico dessa doença é realizado através de dados clínicos, epidemiológicos e confirmação por meio de testes laboratoriais. O diagnóstico clínico baseia-se no conjunto de sinais e sintomas como dor ao deglutir, mal-estar, e às vezes náuseas e vômitos, especialmente em crianças, além de adenomegalia cervical, placas com exsudato purulento e petéquias no palato (PITREZ; PITREZ, 2003; SANTOS; BEREZIN, 2005).

O diagnóstico laboratorial consiste, geralmente, na análise da amostra biológica, como secreção de orofaringe, mediante realização da técnica de Gram associada à cultura em ágar sangue. Testes de sensibilidade à bacitracina e positividade ao PYR (L-pirrolidônio- β -nafiltilamida) são utilizados para confirmação de *S. pyogenes* a partir da cultura. A detecção de anticorpos contra estreptolisina "O" contribui para o diagnóstico de infecções pós-estreptocócicas, especialmente para febre reumática. Alternativamente, testes rápidos para detecção de antígeno "A", a partir do espécime clínico, são amplamente utilizados por seus resultados rápidos, alta especificidade, embora apresentem uma sensibilidade que pode contribuir para o aparecimento de resultado falso negativo (SCALABRIN et al., 2003; MORAIS et al., 2009; VAZ; TAKEI; BUENO, 2012).

O tratamento farmacológico para esta enfermidade tem a penicilina G benzantina, como droga de primeira escolha, administrada por via intramuscular, penicilina V por via oral ou amoxicilina. A penicilina V oralmente é tão eficaz quanto os outros dois medicamentos, mas devido ao não cumprimento do tratamento pelo paciente por causa da posologia demorada e



ao sabor desagradável tem sido pouco prescrita. Alternativamente, para pacientes alérgicos a penicilina, a administração de azitromicina tem sido bem tolerada. O tratamento com antibiótico não é importante apenas para a cura da doença, mas também para a prevenção de complicações tardias citadas anteriormente (PITREZ; PITREZ, 2003; SCALABRIN et al., 2003; EJZENBERG, 2005; MATOS et al., 2007).

Diante do exposto, este trabalho objetivou identificar a prevalência de *S. pyogenes* em indivíduos com faringoamigdalite atendidos no Hospital Municipal Nossa Senhora das Mercês e em estudantes da Escola Municipal Tancredo Neves, ambos situados no município de Cuité, Paraíba, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Tipos de Pesquisa

Foi feita uma pesquisa do tipo exploratória, explicativa e descritiva, com abordagem quantitativa, onde os dados foram descritos e sintetizados, fazendo o uso de valores em porcentagem (POLIT; BECK; HUNGLER, 2004).

2.2 Locais da Pesquisa

A pesquisa foi dividida em duas etapas, uma realizada no hospital Municipal Nossa Senhora das Mercês, em Cuité-PB, onde poucos indivíduos de demanda espontânea compareceram e uma segunda na Escola Tancredo Neves, localizada no mesmo município. O intuito de buscar esta escola foi devido a grande quantidade de crianças com faixa etária enquadrada dentro da maior frequência para colonização por *S. pyogenes*.

As amostras foram processadas no laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande, campus Cuité/PB.

2.3 Amostra

A amostra foi composta por oitenta indivíduos, onde dez foram atendidos no Hospital acima referido e os demais eram discentes do 1º e 2º ano do ensino fundamental da escola citada.



2.4 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos todos os indivíduos, com faringoamigdalite que compareceram ao Hospital citado e aceitaram participar da pesquisa, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. Os menores de idade, da referida escola, tiveram consentimento dos responsáveis.

Foram excluídos da pesquisa aqueles que se recusaram a participar, não assinando o termo de consentimento livre e esclarecido, ou aqueles que estavam em tratamento com antibióticos.

2.5 Coleta das Amostras

As coletas de secreções de orofaringe foram realizadas no período de abril a julho de 2014 com auxílio de um “swab” estéril e abaixadores de língua.

2.6 Isolamento e Identificação do *Streptococcus pyogenes*

Visando a padronização do exame de rotina laboratorial para identificação do *S. pyogenes* do Grupo A foi adotado o fluxograma indicado por Koneman et al. (2008). Após a coleta de secreção de orofaringe utilizando swabs, este era transportado em solução salina (NaCl 0.9%) para o laboratório de microbiologia, onde as amostras eram inoculadas em uma placa de ágar sangue de carneiro (5%). As placas eram incubadas por 24h-48h em jarra Gaspak, numa atmosfera de anaerobiose, a 37°C. Paralelamente, a amostra era corada pela técnica de Gram para avaliação das características morfotintórias. As colônias sugestivas de *S. pyogenes*, por apresentarem-se β -hemolíticas no meio de cultura, eram analisadas quanto à produção da enzima catalase (negativa para *Streptococcus*).

O teste de susceptibilidade à bacitracina, assim como o teste de PYR (Pirrolidionil- β -Naftilamida) seriam utilizados para a confirmação do *S. pyogenes* (MORAIS et al., 2012). As figuras 01 e 02 ilustram o processamento das amostras.



Figura 01. Coleta de orofaringe, realizada com auxílio de swab estéril.

Fonte: Pesquisadores



Figura 02. Processamento da amostra, realização de inoculação da amostra no meio e realização de teste de Gram.

Fonte: Pesquisadores



2.7 Aspectos Éticos

O estudo foi desenvolvido após aprovação do Comitê de Ética em pesquisa com seres humanos, protocolo CAEE: 02100912.9.0000.5182, conforme Diretrizes e Normas regulamentares de pesquisa envolvendo seres humanos, da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A pesquisa de *S. pyogenes* foi realizada em amostras de orofaringe colhidas de 80 indivíduos. Deste total, houve o predomínio do sexo feminino (56%), com faixa etária predominante abaixo de 15 anos (Tabela 01)

Tabela 01. Distribuição etária e a variação morfológica observada nas amostras dos indivíduos após coloração de Gram.

Faixa Etária	Pacientes		Morfologia da Amostra (Coloração de Gram)	
	n	%	Tipo	n
4 – 15	70	87,5	Bacilos	08
			Cocos	62
> 15	10	12,5	Bacilos	03
			Cocos	07
TOTAL	80	100		

Fonte: Dados da pesquisa

As lâminas coradas por Gram foram observadas sob microscopia óptica, com aumento de 100x, sendo constatadas estruturas como cocos dispostos em dupla, cadeia ou cachos, além de bacilos, ambos, positivos ou negativos para Gram. Quanto à sintomatologia características de faringoamigdalites, 14 pacientes (18%) apresentaram sinais e sintomas característicos de infecção, como dor de garganta, edema, febre ou dor ao deglutir.

Apesar de alguns voluntários apresentarem sintomas característicos de infecção de orofaringe, constatou-se que nenhum estava colonizado ou



infectado por *S. pyogenes* como pode ser verificado na tabela 02. Além disso, dentre as amostras que apresentaram beta-hemólise e que foram catalase positivas, 76% (10 indivíduos) apresentaram colônias arredondas amareladas quando cultivadas em manitol, características que sugerem colonização por *Staphylococcus aureus*.

Tabela 02. Características das bactérias analisadas quanto à hemólise, produção de catalase e crescimento em Ágar Manitol Salgado.

AMOSTRA	HEMÓLISE	PRODUÇÃO DE CATALASE	CRESCIMENTO EM ÁGAR MANITOL SALGADO
01	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
02	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
03	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
04	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
05	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
06	Total	Positiva	Ausência de Crescimento
07	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
08	Total	Positiva	Ausência de Crescimento
09	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
10	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
11	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas
12	Total	Positiva	Ausência de Crescimento
13	Total	Positiva	Colônias arredondadas-amareladas

Fonte: Dados da pesquisa



As faringoamigdalites causadas por *S. pyogenes* são mais comuns na infância, prevalecendo à forma assintomática da infecção, devido à menor maturidade do sistema imunológico. Com o avançar da idade e desenvolvimento do sistema imunológico, observa-se a redução do número das faringoamigdalites (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2009; MANSANO; RAMOS, 2010).

A presença de estreptococos na microbiota orofaríngea é comum em escolares, independe do gênero, sendo referida como uma “doença ocupacional assintomática” nesta população (MURRAY, 2006). Tal cenário pode ser representado a partir de estudos de prevalência de *S. pyogenes* na secreção de crianças em idades escolares. Segundo Sha et al. (2010), a prevalência de portadores assintomáticos com idade escolar foi de 3,7-21,4% na China. Em Las Palmas, Espanha, foi observada uma prevalência de 6,0% e nos Estados Unidos 7,0%. Em Recife-PE, foi verificada uma pequena taxa de prevalência (0,8% ou 6 pacientes de uma amostra de 753 voluntários) quando comparada a outros estudos como na Índia e no Iran, onde foram encontradas taxas mais elevadas, 18,8% e 22,0%, respectivamente (MACIEL, 2003; PAVLOVIC; GREGO; SIPETIC-GRUJICIC, 2010).

Apesar de sua maior incidência em crianças, as infecções estreptocócicas podem ocorrer em qualquer faixa etária. Entretanto, no presente estudo, não foi constatada a presença de *S. pyogenes* na orofaringe dos voluntários, apesar de alguns indivíduos apresentarem sintomas característicos ou fazerem parte do grupo de risco. Dentre as possíveis justificativas para o resultado encontrado, a idade dos indivíduos submetidos à pesquisa, neste caso representado por maiores de quinze anos atendidos no hospital, some-se a isso as próprias condições climáticas da região, visto que é comum as pessoas serem acometidas por SBHGA em épocas frias e chuvosas, porém Cuité e demais localidades situadas na região Nordeste do Brasil, vem enfrentando a maior seca dos últimos 40 anos (MACIEL, 2003; SOUSA et al. et al., 2012).

Além disso, dentre as infecções de orofaringe ocasionadas por bactérias, às causadas por *S. pyogenes* sejam as mais prevalentes, porém a maioria dos casos de faringite é causada por vírus (90%). A faringite normalmente é tratada



como sendo de etiologia bacteriana, mas o diagnóstico correto do agente causador, na maioria das vezes, não é feito. Contudo, é extremamente importante que essas infecções sejam corretamente diagnosticadas e tratadas (MATOS et al., 2007; MATEO et al., 2010).

Faringoamigdalites virais apresentam um prognóstico benigno, pois não há riscos de complicações ou sequelas imunológicas, além de não possuir um tratamento específico. Por outro lado, faringoamigdalites estreptocócicas podem evoluir causando complicações supurativas, como abscesso periamigdaliano, linfadenite cervical, mastoidite, sinusite e otite média, ou complicações não supurativas, como febre reumática e a doença reumática cardíaca (CARVALHO et al., 2006). Estas complicações podem ser prevenidas através de antibioticoterapia adequada para o tratamento da faringite estreptocócica (SOUSA et al., 2012).

Embora não tenha sido verificada a presença de *S. pyogenes* na faringe dos voluntários da presente pesquisa, as crianças da escola encontram-se em ambiente potencialmente contaminante devido o aglomerado de pessoas, que mostra que estes estudantes apresentam risco potencial de adquirir *S. pyogenes*, caso alguma criança seja infectada.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstraram ausência de *S. pyogenes* na secreção de orofaringe dos indivíduos expostos a pesquisa. Fato justificado por alguns fatores, tais como idade das pessoas submetidas à amostra, a possível omissão sobre o uso de antibióticos, as condições climáticas da região e/ou a outros agentes causadores da patologia (os vírus, por exemplo).

A partir da problemática é gerado um questionamento sobre quais agentes estão causando infecção nos voluntários com faringoamigdalites, que não foram pesquisadas no momento, tornando-se esta a limitação deste trabalho.



A maior contribuição deste estudo reside na não detecção de *S. pyogenes*, que era reportada através de laudo microbiológico para os responsáveis e escola, demonstrando que as crianças do estudo, embora estejam num local de fácil disseminação, não estão convivendo com crianças colonizadas.

5 REFERÊNCIAS

ALVIM, Cristina Gonçalves; LASMAR, Laura Maria de Lima Belizário Facury. **Saúde da criança e do adolescente: doenças respiratórias.** - Belo Horizonte: Coopmed, 2009.

BRANDT, Cláudia et al. drs (Distantly related *sic*) Gene polymorphisms among *emm12*-type *Streptococcus pyogenes* isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n 4, p. 1794-1797, 2003.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Principais Síndromes Infecciosas/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** – Brasília: ANVISA, 2013.

DE AMICIS, Karine Marafigo; SANTOS, Nathália Moreira; GUILHERME, Luiza. Febre reumática – patogênese e vacina. **Revista médica**, v. 91, n. 4, p. 253-260, 2012.

CARVALHO, Cristina Maria Nascimento; MARQUES, Heloisa Helena Souza. Recomendação do departamento de infectologia da sociedade brasileira de pediatria para conduta de crianças e adolescentes com faringoamigdalite agudas. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n 1, p. 79-82, 2006.

EJZENBERG, Bernardo. A conduta frente ao paciente com faringite aguda. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n 1, p. 1-2, 2005.

GUILHERME, Luiza; KÖHLER, Karen F.; KALIL, Jorge. Rheumatic Heart Disease: Genes, Inflammation and Autoimmunity. **Rheumatology Current Research**, v. 04, p. 01-05, 2012.

KONEMAN Elmer et al. **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido.** 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.1565.



LINO, Lara Marques. **Factores de virulência em *Streptococcus pyogenes***. 34 p. 2010. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia). Universidade de Lisboa.

MACIEL, Amelia. Portadores assintomáticos de infecções por *Streptococcus pyogenes* em duas escolas públicas na cidade do Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira Saúde Materno Infantil**, v.3, p 175-180, 2003.

MATEO, Gemma Flores et al. Diagnóstico precoce de faringite estreptocócica em pediatria: validación de uma técnica antigénica rápida. **Atencion Primária**, v. 42, n 7, p 356-63, 2010.

MANSANO, Elaine Sciuniti Benites; RAMOS, Edivan Rodrigo de Paula. Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em secreção de orofaringe de acadêmicos da área da saúde. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 03, p. 161-166, 2010.

MATOS, Fabio S. Uso de Antibióticos na Faringoamigdalite Estreptocócica. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 76, Sup. 3, p. 23-27, 2007.

MOLINARO, Etelcia; CAPUTO, Luzia; AMENDOEIRA, Regina. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 1. Rio de Janeiro: 2009.

MORAIS, Sofia Morais et al. AMIGDALITE ESTREPTOCÓCICA Presunção Clínica versus Diagnóstico. **Acta Médica Portuguesa**, vol. 22, n 6, p. 773-778, 2009.

MORAIS, Viviane Martha Santos et al. Prevalence of β -hemolytic *Streptococcus* in children with special health care needs. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 78, n. 5, p. 110-115, 2012.

MURRAY, Patrick. **Microbiologia Médica**. 5ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

PAVLOVIC, Ljiljana; GREGO, Edita; SIPETIC-GRUJICIC, Sandra. Prevalence of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* collected in Serbia. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 63, n 4, p 275-276, 2010.

PEIXOTO, Annelise et al. Febre reumática: revisão sistemática. **Revista Brasileira Clínica Médica**, v. 9, n. 3, p. 234-238, 2011.

PITREZ, Paulo; PITREZ, José. Infecções agudas das vias aéreas superiores - diagnóstico e tratamento ambulatorial. **Jornal da Pediatria**, v.79, Sup. 1, 2003.



POLIT, Denise; BECK, Cheryl; HUNGLER, Bernadette. **Análise dos dados de pesquisa. In: Fundamentos de pesquisa em enfermagem: métodos, avaliação e utilização**, 5 edição, Porto Alegre: Artmed, 2004.

SCALABRIN, Rozana et al. Isolamento de *Streptococcus pyogenes* em indivíduos com faringoamigdalite e teste de susceptibilidade a antimicrobianos, **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 69, n. 6, p. 814-818, 2003.

SANTOS, Ana Gabriela; BEREZIN, Eitan. Comparação entre métodos clínicos e laboratoriais no diagnóstico das faringotonsilites estreptocócicas. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n 1, p 23-8, 2005.

SHA, Kan et al. Prevalence of upper respiratory tract group A *Streptococcus* carriage in school-age children from Tulufan City and Buerjin County of Xinjiang Province. **Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi**, v. 12, n. 8, p 616-618, 2010.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flávio. **Microbiologia**. 5ª edição. São Paulo: Atheneu, 2008.

VAZ, Adelaide José; TAKEI, Kioko; BUENO, Edineia Casagrande. **Ciências Farmacêuticas - Imunoensaios: fundamentos e aplicações** – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

VIEIRA, Fernando Mirage Jardim et al. Prevalência de *Streptococcus pyogenes* em orofaringe de crianças que frequentam creches: estudo comparativo entre diferentes regiões do país. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 5, p. 587-591, 2006.