

Crescimento microbiano em eletrodos uroginecológicos

Microbial growth in urogynecological electrodes

Fernando Peres Gonçalves

Graduando do curso de Fisioterapia (UNIPAM).

E-mail: fernandoperesg@hotmail.com

Deusa Helena Gonçalves Machado

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: deusa@unipam.edu.br

Resumo: O objetivo da pesquisa foi avaliar o crescimento microbiano dos eletrodos uroginecológicos desinfetados e após eletroestimulação. Tratou-se de um estudo observacional, descritivo e quantitativo. A coleta foi realizada através de amostras de swabs estéreis passadas nas superfícies dos 7 eletrodos desinfetados e de 2 eletrodos esterilizados. As amostras foram estriadas em placas contendo os meios Ágar Sangue, para isolamento e determinação de bactérias Gram positivas; em Agar MacConkey, para isolamento de bactérias Gram negativas, e Agar Micológico para contagem de fungos; o teste controle foi inoculado em placas com meio de cultivo, porém sem inoculação de amostras. 87,5% das amostras apresentaram crescimento fúngico e 25%, presença de bactérias Gram positivas, nas amostras que passaram por processo de desinfecção. E 100% dos eletrodos esterilizados apresentaram crescimento fúngico e 50% presença de bactérias Gram positivas. Conclui-se que o processo de desinfecção dos eletrodos foi ineficiente.

Palavras-chave: Micro-organismo. Eletrodo. Incontinência urinária. Microbiota.

Abstract: The objective of the research was to evaluate the microbial growth of disinfected urogynecological electrodes and after electrostimulation. It was an observational, descriptive and quantitative study. The collection was performed through samples of sterile swabs passed on the surfaces of the 7 disinfected electrodes and 2 sterile electrodes. The samples were streaked on plates containing the Blood Agar media, for isolation and determination of Gram positive bacteria; in MacConkey Agar, for isolation of Gram negative bacteria, and Mycological Agar for fungal counting; the control test was inoculated in plates with culture medium, but without inoculation of samples. 87.5% of the samples showed fungal growth and 25%, presence of Gram positive bacteria, in the samples that went through the disinfection process. And 100% of the sterilized electrodes showed fungal growth and 50% presence of Gram positive bacteria. It is concluded that the electrode disinfection process was inefficient.

Keywords: Microorganism. Electrode. Urinary incontinence. Microbiota.

1 INTRODUÇÃO

A microbiota humana é o aglomerado de micro-organismos que habitam o corpo humano, em uma relação de simbiose entre o organismo humano e os micro-organismos, em que ambos se beneficiam dessa associação. O organismo humano abriga um numeroso acervo de micro-organismos, chegando a existir numericamente dez vezes mais células microbianas que células humanas. Esses micro-organismos estão distribuídos por diversos locais do organismo como a pele, a vagina, a boca, as vias respiratórias e os intestinos, colonizando zonas superficiais ou profundas. A capacidade de multiplicação desses micro-organismos depende de diversos fatores, como umidade, acidez, temperatura e disponibilidade de nutrientes. (GONÇALVES, 2014).

Entre os locais de residência dos micro-organismos, destaca-se o sistema reprodutor feminino, formado anatomicamente por uma série de cavidades, as quais se relacionam com o meio externo por meio da abertura vulvar. Tal órgão possibilita a expulsão do fluxo menstrual e passagem do feto na concepção; de maneira oposta, propicia a relação sexual e contribui para o acesso de micro-organismos (LINHARES, 2010).

A microbiota vaginal residente é constituída majoritariamente por lactobacilos, denominados de bacilos de Döderlein, que protegem a região íntima da mulher. Esses bacilos degradam o glicogênio sob influência do hormônio estrogênio, produzido pelas células da vagina, convertendo-o em ácido lático. Com isso propicia a acidez correta do ambiente vaginal (pH em torno de 3,8 a 4,5), impedindo a propagação da maioria dos micro-organismos com características patógenas a este sítio anatômico (MOTA, 2012).

Assim, qualquer alteração da microbiota normal, caracterizada pela substituição ou minimização dos lactobacilos normalmente predominantes da microbiota vaginal, por outros micro-organismos provoca manifestações inflamatórias ocasionadas pelos agentes microbiológicos presente na vulva, vagina ou no epitélio escamoso do colo uterino, de sintomatologia clínica: odor desagradável, presença ou não de leucorreias, irritação, prurido ou ardência na vagina ou vulva, dor ou ardor ao urinar, entre outros (CAMARGO *et al.*, 2015).

Outro local no organismo em que reside um complexo de espécies de micro-organismos vivos, especialmente bactérias anaeróbias, é o trato intestinal, comumente denominado microbiota intestinal. A microbiota intestinal começa a ser constituída após o nascimento e é dividida em microbiota nativa e de transição temporária. Atua de maneira conjunta e recíproca com as células do hospedeiro através de um processo de simbiose, de modo que nenhum dos dois é afetado. Auxilia em vários processos, como a digestão de alimentos, extraindo todos os nutrientes, ajudando a manter o número de bactérias patogênicas sob controle para manter a integridade da mucosa intestinal (SAAD, 2006; GUARNER; MALAGELADA JR, 2003; BARBOSA, 2010).

Em face disso, a microbiota residente vaginal e anal é abundante e específica de cada indivíduo, pode sofrer múltiplas alterações, favorecendo crescimento de micro-organismos oportunistas e patógenos, quando sujeitas a procedimentos

realizados por eletroestimulação do assoalho. (PALMA, 2014).

A eletroestimulação do assoalho pélvico se caracteriza por estímulos elétricos transmitido em certa frequência de corrente para um eletrodo, objetivando o aumento da força de contração do músculo elevador do ânus e musculatura do assoalho pélvico, aumentando a percepção cortical do paciente e facilitando a capacidade de executar contrações voluntárias (OLIVEIRA; RODRIGUES; PAULA, 2007).

Sendo assim, os eletrodos uroginecológicos são desinfetados quando usados pelo paciente de uma seção diária de eletroestimulação para outra, e devem ser esterilizados quando transferidos de um paciente para outro.

Considera-se processo de desinfecção a aplicação de agentes físicos ou químicos, capazes de eliminar e de destruir micro-organismos patogênicos ou não, em sua forma vegetativa, que estejam presentes nos artigos e objetos inanimados, em um intervalo de tempo operacional de 10 a 30min (BARBOSA, 2010). E esterilização é denominada como processo de destruição de todas as formas de vida microbianas como vírus, bactérias, fungos e outros, por meio da utilização de agentes químicos ou físicos (ANVISA, 2012).

Assim, a RDC ANVISA nº15, de 15 de março de 2012, descreve o processamento de produtos para saúde através dos requisitos de boas práticas. Segunda a lei, a desinfecção de alto nível é processo que destrói a maioria dos micro-organismos de artigos semicríticos, inclusive microbactérias e fungos, exceto um número elevado de esporos bacterianos. Os produtos para saúde semicríticos são os produtos que entram em contato com pele não íntegra ou mucosas íntegras colonizadas (ANVISA, 2012).

O estudo objetivou analisar o crescimento microbiano em superfícies de eletrodos uroginecológicos desinfetados e após o procedimento de eletroestimulação realizado no paciente.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional, descritivo de cunho quantitativo, realizado em aparelhos individuais, escolhidos de forma aleatória. Foram realizadas análises microbiológicas nos eletrodos após o procedimento de eletroestimulação realizado no paciente, depois de serem desinfetados, e em eletrodos esterilizados.

Foram coletadas amostras de 10 eletrodos uroginecológicos, utilizados para tratamento de incontinência urinaria na Clínica de Fisioterapia do Centro Universitário de Patos de Minas, no período de 19 a 23 de março de 2018.

As amostras foram coletadas em duas etapas distintas. A primeira foi realizada através de amostras coletadas com swabs estéreis que foram passados nas superfícies dos 8 eletrodos após serem utilizados nos pacientes para o tratamento de IU. Os swabs foram introduzidos individualmente em tubos de ensaio estéreis com Água Peptonada Tamponada a 1% (APT), identificados, acondicionados em recipientes isotérmicos e encaminhados ao Laboratório de Microbiologia do UNIPAM. A segunda etapa foi realizada utilizando-se os

mesmos procedimentos, porém com os 8 eletrodos desinfetados e 2 eletrodos esterilizados. A coleta das amostras, o acondicionamento e o transporte foram realizados conforme o protocolo manual de coleta, acondicionamento e transporte de material biológico para exames laboratórios (BRASIL 2000a; FUNED, 2018)

Para avaliar o crescimento microbiano, as amostras foram estriadas em placas de Petri estéreis contendo os meios Ágar Sangue, para isolamento e determinação de bactérias Gram positivas, incubadas a 35,5°C/48h em anaerobiose, em Agar MacConkey para isolamento de bactérias Gram negativas a 35,5°C/48h e em Agar Micológico para contagem de fungos, incubadas a 25°C por 3 a 5 dias, de acordo o que preconiza o manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para controle de infecção hospitalar (BRASILb, 2000)

Foi realizado o teste controle em placas com meios de cultura utilizados no processo analítico isento de inoculação para, assim, garantir a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos.

A análise de dados foi realizada em duas etapas: a primeira com a contagem de unidade formadora de colônias (UFC/cm) dos micro-organismos residentes no assoalho pélvico e persistentes após a desinfecção e esterilização; A segunda etapa com o percentual de micro-organismos encontrados nos eletrodos após o uso no paciente, depois de desinfecção e esterilização.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se as análises microbiológicas realizadas em amostras coletadas na superfície de eletrodos que foram usados na eletroestimulação, eletrodos desinfetados e em eletrodos estéreis, computando um total de dezoito amostras, apresentam-se os resultados a seguir.

Na tabela 1, encontram-se os resultados das análises microbiológicas realizadas em amostras coletadas das superfícies de eletrodos após o uso no paciente para tratamento de IU; na tabela 2, amostras coletadas em superfícies de eletrodos desinfetados, da Clínica Universitária de Fisioterapia (C.U.F) do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, e, na tabela 3, eletrodos esterilizados.

Tabela 1 - Contagem de bactérias Gram positivas, bactérias Gram negativas e fúngicas encontrados em superfícies de eletrodos uroginecológicos usados após a eletroestimulação de paciente da (C.U.F)

Amostras de eletrodos após a eletroestimulação	Bactérias Gram positivas UFC/cm	Bactérias Gram negativas UFC/cm	Fúngica UFC/cm
A1	$1,0 \times 10^{10}$ *	2×10^1	$1,0 \times 10^{10}$
B1	$1,0 \times 10^{10}$	68×10^1	$1,0 \times 10^{10}$
C1	55×10^1	59×10^1	85×10^1
D1	$1,0 \times 10^{10}$	1×10^1	$1,0 \times 10^{10}$
E1	$1,0 \times 10^{10}$	0×10^1	161×10^1
F1	55×10^1	0×10^1	37×10^1
G1	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$
H1	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$

* $\times 10^{10}$ = Imensurável

Os resultados obtidos em relação ao crescimento microbiano nas amostras coletadas em superfície de eletrodos uroginecológicos usados após a eletroestimulação apresentaram elevada contagem de bactérias Gram positivas e fúngicas nas amostras A1; B1 e D1, apresentando uma contagem imensurável desses micro-organismos, aferindo, assim, a alta incidência destes na microbiota residente dos pacientes da (C.U.F). Verificou-se, nas amostras G1 e H1, crescimento imensurável de todos os micro-organismos analisados. Na amostra E1, predomina a elevada contagem de bactérias Gram positiva, enquanto que as D1 e F1 apresentaram crescimento microbiano reduzido para todos os micro-organismos pesquisados.

Pode-se observar crescimento microbiano reduzido por bactérias Gram negativas em relação às bactérias Gram positivas, na maioria das amostras analisadas, conferindo, assim, a prevalência desses micro-organismos na microbiota residente dos pacientes da C.U.F.

As referências bibliográficas em relação ao tema abordado nesse estudo são escassas. Abordaremos pesquisas similares.

Comparada com a pesquisa de Ribeiro (2011, apud Chu *et al.*, 1998), realizada em colonoscópios, usados em via anal ao intestino, área do corpo que contém um grande número de micro-organismos, lavada antes da colonoscopia, esta pesquisa constatou que o número de micro-organismos recuperados imediatamente após o uso clínico e antes da limpeza não excede a 10^1 UFC/ml.

Tabela 2 - Contagem de bactérias Gram positivas, bactérias Gram negativas e fungos encontrados em superfícies de uroginecológicos desinfetados

Eletrodo Desinfetado	Bactérias Gram positivas UFC/cm	Bactérias Gram negativas UFC/cm	Fúngica UFC/cm
A2	0×10^1	0×10^1	1×10^1
B2	0×10^1	0×10^1	2×10^1
C2	0×10^1	0×10^1	$10 \times 10^{10} ^*$
D2	1×10^1	0×10^1	0×10^1
E2	0×10^1	0×10^1	2×10^1
F2	0×10^1	1×10^1	0×10^1
G2	2×10^1	0×10^1	1×10^1
H2	0×10^1	0×10^1	1×10^1

* $\times 10^{10}$ = Imensurável

Em relação aos resultados do crescimento microbiano nas amostras coletadas em superfície de eletrodos uroginecológicos passados por processo de desinfecção, foi constatada a redução significativa em 7 (87,5%) das 8 amostras analisadas, porém, pôde-se observar que, em nenhuma amostra, o processo de desinfecção foi totalmente eficaz. Constatou-se crescimento de 01 a 02 UFC/cm² de bactérias e/ou fungos em 100% das amostras; na amostra C2, houve um crescimento imensurável de fungos.

Nesse cenário, verificou-se o crescimento microbiano em todas as amostras analisadas. Constatou-se que as boas práticas de higiene e desinfecção foram inadequadas.

Uma vez detectados micro-organismos após a desinfecção de alto nível, admite-se a possibilidade de transmissão cruzada desses contaminantes entre o eletrodo uroginecológico e pacientes.

Balsamo (2009) menciona que, em qualquer procedimento que viole uma barreira estéril ou adentre uma superfície mucosa, existe a chance da transmissão de micro-organismos patogênicos de um paciente para outro.

Machado, Fishman e Geocze (2005) avaliaram a eficiência microbicida da água eletrolítica ácida em gastroscópios descontaminados. Dezessete das 20 amostras coletadas após o uso do aparelho em pacientes revelaram a presença de bacilos gram-negativos, cocos gram-positivos e leveduras em taxas de 10^3 a 10^5 UFC/mL. Seus resultados constataram que, das 20 coletadas após a descontaminação, nenhuma apresentou contaminação microbiana, divergindo dos resultados desse estudo em eletrodos de eletroestimulação, em que se percebeu crescimento microbiano.

Ribeiro (2011) realizou um estudo em 37 serviços de saúde, a partir de análise microbiológica em gastroscópios e colonoscópios. A contaminação de pelo menos um endoscópio foi constatada em 91,6% dos 37 serviços monitorados, 84,6% (33/39) dos colonoscópios e 80,6% (50/62) dos gastroscópios, contaminados após o

reprocessamento.

Corroborando tais proposições, diversos estudos apontam a recuperação de micro-organismos após a desinfecção de alto nível (MACHADO *et al.*, 2006)

Tabela 3 - Contagem de bactérias Gram positivas, bactérias Gram negativas e fungos encontrados em superfícies de eletrodos uroginecológicos esterilizados

Eletrodo estéril	Bactérias Gram positivas UFC/cm	Bactérias Gram negativas UFC/cm	Fúngica UFC/cm
X1	1×10^1	0×10^1	2×10^1
X2	0×10^1	0×10^1	$10 \times 10^{10*}$

* 10^{10} = Imensurável

Observou-se crescimento de bactérias Gram positivas na amostra X1 do eletrodo esterilizado e crescimento fúngico imensurável para amostra X2. O processo de esterilização é utilizado para deixar um produto livre de micro-organismos viáveis.

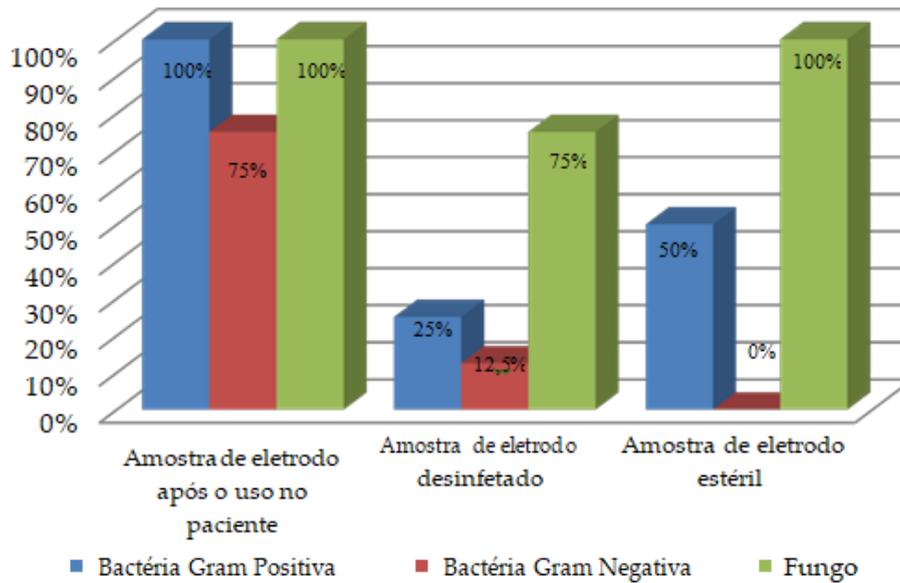
Pressupõe-se que o crescimento de 1 UFC/cm^2 de bactérias Gram positivas esteja relacionado com o processo de esterilização por acondicionamento e mãos dos profissionais, enquanto que o elevado crescimento fúngico pode estar relacionado com a armazenagem e a embalagem inadequadas dos eletrodos.

Uma das formas mais usadas para esterilização dos eletrodos é o óxido de etileno (ETO), indicado para os materiais termosensíveis, que são aqueles cujas características físicas sejam incompatíveis com os processos convencionais de esterilização por vapor e alta temperatura. De acordo com o Ministério da Saúde (2001), o método de esterilização por óxido tem prazo de validade de 6 meses a 2 anos. Na pesquisa, a esterilização dos eletrodos uroginecológicos se encontrava no prazo de validade.

Nesse método, se a população inicial de micro-organismos atingiu um SAL (nível de segurança aceitável definido pela Norma NBR ISO 17665-1) de 10^{-6} , haverá, no máximo, um micro-organismo viável em um milhão de amostragens. A determinação do prazo de validade não está associada ao tempo e sim ao evento relacionado à quebra da barreira bacteriana. Assim a perda da esterilidade está relacionada às condições de armazenagem e da embalagem (ABNT NBR ISO 17665-1, 2010; BRITO, 2002).

Os resultados apontam presença bacteriana reduzida (1 a 2 UFC/cm) e elevada contagem de fungos (Incontável), visto que o processo de esterilização permite que cresça 1/1.000.000 micro-organismos. Pode-se validar eficiência do processo de esterilização e contestar a garantia de se manter o produto estéril devido às condições de armazenamento e embalagem, conforme preconiza a RDC 15/2012/ANISA.

Gráfico 1 - Percentual de amostras coletadas em superfície de eletrodos uroginecológicos que apresentaram crescimento microbiano após a o uso de eletroestimulação, desinfetados e esterilizados



Verificaram-se falhas no processo de desinfecção com elevado percentual; 75% das amostras apresentaram crescimento fúngico; (25%) das amostras, bactérias Gram positivas. Observou-se também que as amostras de eletrodos esterilizados (100%) apresentaram crescimento fúngico e 50% dos eletrodos, bactérias Gram positivas.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o processo de esterilização dos eletrodos de eletroestimulação da C.U.F é ineficiente, podendo ocorrer contaminação cruzada entre futuros pacientes. O processo de desinfecção de eletrodo pode causar infecção recidiva no próprio paciente por reutilizá-lo, colocando-o em risco de doenças infectocontagiosas.

Ademais os eletrodos que passaram por processo de esterilização apresentaram contaminação bacteriana e uma elevada contagem de fungos, que podem ser relacionados ao processo propriamente dito, mas foram validados com garantia de qualidade. Questiona-se que as prováveis condições de armazenamento e embalagem foram inadequadas para assegurar e manter a inocuidade do produto estéril.

A presente pesquisa ressalta a seriedade e a responsabilidade de Instituição de Ensino Superior (IES), mantenedora da CUF, quanto ao monitoramento e controle da qualidade nos processos de trabalho referentes a desinfecção e esterilização dos eletrodos uroginecológicos.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 17665**: esterilização de produtos para saúde: vapor parte 1: requisitos para o desenvolvimento, validação e controle de rotina nos processos de esterilização de produtos para saúde, Rio de Janeiro, 2010.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n. 15, de 15 de março de 2012**. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0015_15_03_2012.html. Acesso em: 15 mar. 2018.

BALSAMO, Ana Cristina. **Avaliação da eficácia da limpeza e desinfecção de alto nível na remoção do biofilme em canais de endoscópios**. f 147. Tese (Doutorado em Enfermagem na Saúde do Adulto) - Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BARBOSA, Jackeline Maciel. **As interfaces do reprocessamento de endoscópios pelo uso de glutaraldeído em serviços de endoscopia de Goiânia**. f 174. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. **Manual de procedimentos básicos em microbiologia clínica para controle de infecção hospitalar**. Brasília, DF, 2000a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. **Orientações gerais para Central de Esterilização**. Brasília, DF, 2000.

BRITO, Maria de Fátima Paiva *et al.* Validação do processo de esterilização de artigos médico-hospitalares segundo diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 55, n. 4, p. 414-419, 2002.

CAMARGO, Kélvia Cristina de *et al.* Secreção vaginal anormal: sensibilidade, especificidade e concordância entre o diagnóstico clínico e citológico. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v. 37, n. 5, p. 222-228, 2015.

KALIL, Erika Meirelles; COSTA, Aldo José Fernando da. Desinfecção e esterilização. **Acta Ortop Bras**, v. 2, n. 4, p. 1, 1994.

BARBOSA, Flávio Henrique Ferreira *et al.* Microbiota indígena do trato gastrointestinal. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 10, n. 1, 2010.

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS. Manual de coleta, acondicionamento e transporte

de material biológico para exames laboratoriais. **Divisão de Epidemiologia e Controle das Doenças**, Belo Horizonte, MG, 2018.

GONÇALVES, Mara Andreia Pereira. **Microbiota - implicações na imunidade e no metabolismo**. 53 f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 2014.

GUARNER, Francisco; MALAGELADA JUNIOR, Ruan. Gut flora in health and disease. **Lancet**, London, v. 8, n. 361, p. 512- 519 2003.

LINHARES, Iara Moreno; GIRALDO, Paulo Cesar; BARACAT, Edmund Chada. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.56, n.3, São Paulo, 2010.

MACHADO, Alexandre Paulo; FISCHMAN, Olga; GEOCZE, Stephan. Análise microbiológica de gastroscópios descontaminados em aparelho Cleantop WM-1 por uso de água eletrolítica ácida. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 60-62, mar. 2005.

MACHADO, Alexandre.Paulo *et al.* Microbiologic profile of flexible endoscope disinfection in two Brazilian hospitals. **Arq. Gastroenterol**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 255-258, out./dez. 2006.

MOTA, Danyelly Araujo *et al.* Prevalência de vaginose bacteriana em pacientes que realizaram bacterioscopia de secreção vaginal em laboratório de saúde pública. **Rev. Bras. Clin. Med.** São Paulo, v. 10, n. 1, p. 15-18, jan./fev. 2012.

OLIVEIRA, Kátia Adriana Cardoso; RODRIGUES, Ana Beatriz Cezar; PAULA, AB de. Técnicas fisioterapêuticas no tratamento e prevenção da incontinência urinária de esforço na mulher. **Revista Eletrônica F@pciência**, v. 1, n. 1, p. 31-40, 2007.

PALMA, Paulo Cesar Rodrigues. **Urofisioterapia: aplicações clínicas das técnicas fisioterapêuticas nas disfunções miccionais e do assoalho pélvico**. 2 ed. São Paulo: Reproset, p.574. 2014.

RIBEIRO, Maira Marques. **Avaliação da efetividade do reprocessamento do endoscópio gastrointestinal flexível**. 148 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SAAD, Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Tocantins, v. 42, n. 1, p. 1-16, jan./mar. 2006.