
**Identificação de bactérias em feridas crônicas através da luz
ultravioleta: Aplicativo Violet Wound**

**Identification of bacteria in chronic responses using ultraviolet light: Violet
Wound Application**

Gisela Rodrigues Piloto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1400-4646>

Instituto Federal De Educação Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

E-mail: giselarodrigues623@gmail.com

Isabelle Matos Pinheiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5826-6272>

Instituto Federal De Educação Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

E-mail: isabellemp@gmail.com

Gustavo Miranda Pires dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8605-7435>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: gmpires.santos@gmail.com

Antônio Carlos dos Santos Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6593-3192>

Instituto Federal De Educação Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

E-mail: acsantossouza@gmail.com

Allan Edgard Silva Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2503-3100>

Instituto Federal De Educação Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

E-mail: allanedgard@gmail.com

Marcos de Souza Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0875-1797>

Centro Diagnóstico do GACC, Brasil

E-mail: marcossts78@gmail.com

Rosângela Maria Cruz Sá Menezes

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1395-1303>

Centro Diagnóstico do GACC, Brasil

E-mail: rosangelasamenezes@gmail.com

Tâmara Thais Rodrigues Peixinho Passos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-0157-1704>

Centro Diagnóstico do GACC, Brasil

E-mail: tamarapeixinho@gmail.com

RESUMO

O estudo objetivou verificar a eficiência, eficácia e a confiabilidade de uso do app Violet Wound na detecção de bactérias patogênicas em feridas de difícil cicatrização. Trata-se de um estudo clínico prospectivo realizado em uma sala de curativo de uma unidade básica de saúde. Foram determinados o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo da fluorescência ciano para a detecção da *Pseudomonas aeruginosa* em feridas de mais de seis semanas de duração, a sensibilidade, a acurácia e a razão de verossimilhança utilizando o teste diagnóstico de acurácia. Para o indicador de confiabilidade do App foi realizado o teste Kappa. Foi utilizado a comparação dos laudos gerados pelo App com os laudos laboratoriais emitidos através da leitura pela espectrometria de massa MALDI-TOF. Realizou-se 24 coletas de cultura utilizando a técnica de Levine com swabs estéril e destas, 21 amostras foram validadas para análise laboratorial. O aplicativo Violet Wound associado ao uso de luz de led negra revelou sinal de fluorescência ciano em 14 feridas crônicas e em 9 feridas a coloração vermelha. Como resultado, 12 das 14 feridas iluminadas com a cor ciano possuíam *Pseudomonas aeruginosa*, resultando em um valor preditivo positivo de 85,7% e um Coeficiente Kappa de 0,78. Diante do resultado encontrado, o laudo de apoio diagnóstico gerado pelo Violet Wound pode ser usado para prever, com segurança, a presença de PA em feridas crônicas, no local de atendimento e em tempo real.

Palavras-chave: Pseudomonas Aeruginosas; Luz negra; Ferida Crônica; Visão Computacional; Fluorescência.

ABSTRACT

The study aimed to verify the efficiency, effectiveness and reliability of using the Violet Wound app in detecting pathogenic bacteria in difficult-to-heal wounds. This is a prospective clinical study carried out in a dressing room of a basic health unit. The positive predictive value and negative predictive value of cyan fluorescence for the detection of *Pseudomonas aeruginosa* in wounds lasting more than six weeks, sensitivity, accuracy and likelihood ratio were determined using the diagnostic accuracy test. For the App's reliability indicator, the Kappa test was performed. The reports generated by the App were compared with the laboratory reports issued through reading by MALDI-TOF mass spectrometry. 24 culture collections were carried out using the Levine technique with sterile swabs and of these, 21 samples were validated for laboratory analysis. The Violet Wound application associated with the use of black LED light revealed a cyan fluorescence signal in 14 chronic wounds and a red color in 9 wounds. As a result, 12 of the 14 wounds illuminated with cyan color contained *Pseudomonas aeruginosa*, resulting in a positive predictive value of 85.7% and a Kappa Coefficient of 0.78. Given the results found, the diagnostic support report generated by Violet Wound can be used to safely predict the presence of AP in chronic wounds, at the point of care and in real time.

Keywords: Pseudomonas Aeruginosas; Black light; Chronic Wound; Computer vision; Fluorescence.

INTRODUÇÃO

A Pele humana caracteriza-se por perfazer uma barreira de proteção contra agentes químicos, biológicos e físicos. Quando acontece a ruptura deste órgão, desenvolve-se um processo de lesão que, necessariamente, precisará iniciar um outro processo denominado reparação tissular. Esta reparação, a depender do tempo de cicatrização, faz com que a ruptura seja classificada em aguda ou crônica.

As feridas crônicas são conceituadas como qualquer interrupção na continuidade do tecido corporal, em maior ou menor extensão, decorrente de traumas ou de afecções clínicas, que apresentam o processo de cicatrização lento e difícil, ultrapassando a duração de seis Semanas (Keast; Swanson, 2020). Os fatores que levam o seu surgimento vão desde comprometimento vascular, presença de doenças sistêmicas e crônicas como a diabetes e a hipertensão, cirurgias, queimaduras, traumas e também as infecções de difícil manejo clínico.

Essas lesões são consideradas um sério problema de saúde pública devido aos onerosos gastos despendidos em seus tratamentos. O custo total do tratamento de feridas pode ser dividido em 15-20% para materiais de curativo, 30 - 35% para serviços de enfermagem e >50% para custos hospitalares, na Europa (Posnett *et al.*, 2009). No Brasil, em um estudo realizado com o objetivo de analisar os custos da assistência prestada aos pacientes com feridas crônicas ambulatorial, hospitalar e domiciliar chegou-se aos seguintes valores: “assistência ambulatorial corresponderam a US\$4,25, hospitalar a US\$3,87 e domiciliar a US\$3,47” (Ruiz; Lima, 2022).

Outro estudo, publicado em 2019, avaliou o custo de curativos com o uso de coberturas convencionais e avançadas na atenção básica com 15 pacientes, e concluiu que o custo do tratamento com coberturas avançadas, as que possuem antibióticos em sua composição, foram sete vezes menores quando comparado aos curativos simples (Cortez *et al.*, 2019). Essa diferença significativa no custo pode ser atribuída à presença de biofilme em lesões crônicas e a capacidade de resolução da antibioticoterapia tópica no tratamento dessas lesões. Quando não devidamente identificado e tratado com os procedimentos e curativos adequados, o biofilme pode exercer um impacto negativo no processo de cicatrização da ferida.

Em um encontro realizado pelo conselho consultivo de especialistas ("expert advisory board"), em 2019, houve a concordância de que quando uma ferida é de difícil

cicatrização, a interrupção do processo de cicatrização está amplamente associada à presença de biofilme resistente (uma comunidade de microrganismos de múltiplas espécies). Embora outros fatores subjacentes ao hospedeiro possam também apresentar obstáculos à cicatrização, reconhece-se cada vez mais que a maioria das feridas que não cicatrizam, se não todas, contém biofilme, que é um obstáculo fundamental para a cicatrização (Murphy *et al.*, 2020).

Mediante isto, está bem caracterizado que a disseminação de bactéria em lesões de difícil cicatrização ocasiona a infecção e retarda a cicatrização. Ao identificar os tipos específicos de bactérias e compreender como elas interagem para formar o biofilme, os profissionais de saúde podem selecionar terapias antimicrobianas direcionadas a essas bactérias específicas, tornando mais eficaz o controle e a erradicação do biofilme bacteriano. Essa abordagem personalizada com base no perfil microbiológico pode ser crucial para interromper o ciclo de infecção e alcançar a cicatrização de forma mais rápida.

Com relação ao perfil microbiológico das infecções em feridas, um estudo realizado sobre a identificação de microrganismos para controle de infecção em feridas crônicas, encontraram o resultado de 13,3% feridas infectadas com bactérias gram positiva e 86,7% feridas infectadas com gram negativas. Destacaram também que, na análise microbiológica das bactérias encontradas, a Gram positiva identificada com maior frequência foi a *Staphylococcus aureus* (n=05) produtora de beta-lactamase, e entre as Gram negativas, as mais comuns foram *Pseudomonas Aeruginosas* (n=25), *Providencia Stuartii* (n= 06) e *Proteus Mirabilis* (n= 04) (Garcia *et al.*, 2021).

Na unidade de saúde onde foi realizado este estudo, é prática padrão realizar uma coleta de cultura por swab utilizando a técnica de Levine das lesões crônicas de pacientes admitidos para cuidados com feridas. Além disso, essa prática é contínua aos pacientes que apresentam feridas que levam mais de seis meses para cicatrizar. Nas coletas realizadas em Fevereiro de 2022, foram encontrados resultados semelhantes ao estudo acima, a partir da análise de laudos laboratoriais: 90% das feridas cresceram bactérias gram negativas e 10% bactérias gram positivas e mais especificamente a *Staphylococcus Aureus* que é facilmente encontrada na microbiota da pele e fossa nasais humanas podendo desencadear processos infecciosos quando rompem a barreira da epiderme. Com relação a classificação das bactérias gram negativas, 44% foram *Pseudomonas*

aeruginosas, 19% *Acinetobacter baumannii*, 11% *Morganella morganii*, 08% *Proteus penneri* e 08% *Proteus mirabilis*.

Baseando-se nestes dois estudos microbiológicos nota-se que entre as espécies bacterianas mais frequentes em feridas crônicas estão o patógeno oportunista gram-negativo *Pseudomonas Aeruginosa* e o gram-positivo *Staphylococcus Aureus*. Essas bactérias são conhecidas por desempenhar papéis prejudiciais em infecções de feridas e podem representar desafios no tratamento devido à sua capacidade de formação de biofilmes e resistência antimicrobiana.

Os biofilmes são conceituados como estruturas microscópicas que não são visíveis a olho nu e para detectá-los requer microscópios de alta potência (Leite *et al.*, 2018). Somando a isto, são necessárias a implementação de outras técnicas como a biópsia de tecido, técnica padrão ouro para a identificação de qual cadeia bacteriana está constituindo o polímero, porém com a problemática de que as pequenas amostras de tecidos e a distribuição desigual de biofilmes no leito da ferida fazem com que as amostras coletadas se percam facilmente (Ferreira *et al.*, 2013).

A biópsia da ferida realizada por meio de cultura é essencial para identificar os microrganismos presentes e orientar o tratamento adequado. No entanto, o tempo de espera pelo resultado da cultura pode variar significativamente, levando de 3 a 7 dias em unidades de saúde particulares e cerca de 15 dias no Sistema Único de Saúde (SUS). Esse atraso no diagnóstico microbiológico pode impactar diretamente no processo de cicatrização, levando os profissionais de saúde a adotarem abordagens de tratamento mais empíricas e subjetivas. Isso, por sua vez, pode resultar em resistência bacteriana aos antibióticos e atrasos no tratamento, prejudicando a conclusão eficaz do processo de cicatrização da ferida. Reduzir o tempo de espera por resultados de cultura pode ser crucial para uma intervenção rápida e direcionada, evitando complicações e promovendo melhores desfechos para os pacientes.

Além disso, a análise laboratorial dessas amostras depende de equipamento de ponta e que sejam capazes de garantir resultados eficazes. Atualmente a análise pela técnica de espectrometria de massa (MALDI-TOF) é a mais indicada para detecção de tipagem de bactéria, tanto pelo tempo de identificação do resultado que varia entre 30 minutos após inserção do material biológico no equipamento, quanto pela eficiência do mesmo na assertividade utilizando pequenas amostras.

Entretanto, para seu funcionamento são necessários investimentos financeiros altos devido a necessidade de estrutura física adequada para acondicionamento do equipamento e também de recursos humanos especializados para manuseios. Além disso, esse equipamento necessita de um extenso banco de dados (databases), caso contrário não entrega resultados eficientes (Costa, 2021). Assim, embora essa técnica seja altamente eficaz, é importante considerar não apenas os custos do equipamento e da infraestrutura, mas também a necessidade de investimento contínuo na atualização e expansão dos bancos de dados para garantir resultados precisos e confiáveis. O custo de cada análise de diagnóstico de micobactéria no laboratório de microbiologia do HCFMRP em 2018, somando material e pessoal foi de R\$46,38 (Costa, 2021). Diante disto, conclui-se que é praticamente inviável a instalação desta tecnologia em cada sala de curativo que atua no cuidado de pacientes portadores de feridas. Os altos custos associados à implementação e manutenção dessa tecnologia de diagnóstico tornariam sua adoção generalizada impraticável, considerando as restrições orçamentárias e a demanda logística associada ao seu funcionamento.

A solução foi delinear técnicas que favoreçam o diagnóstico precoce de infecções, pois é a forma de prevenir e minimizar consequências resultantes do processo infeccioso, otimizando o processo de cicatrização. Diante disto foi desenvolvido um software com o propósito de identificar qual bactéria está colonizando a ferida crônica através de fotografia gerada por smartphone, utilizando a colorimetria no espectro da RGB, e gerando um laudo de apoio diagnóstico ao profissional que está assistindo o cuidado com o paciente. Vale destacar que essa tecnologia permite identificar a bactéria PA e a classificar a carga bacteriana de bactérias fluorescentes que colonizam a lesão crônica no local de atendimento e em tempo real, seguindo as orientações do manual do usuário.

O nome dado ao aplicativo criado foi Violet Wound em referência a coloração violeta que as feridas adquirem após iluminação com a luz negra. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a precisão e a facilidade de uso do Violet Wound na detecção de bactérias patogênicas em feridas crônicas, avaliando sua eficácia como uma ferramenta de apoio diagnóstico para profissionais de saúde em suas práticas clínicas. A investigação buscou determinar quão confiável e conveniente é o Violet Wound como recurso auxiliar na identificação de bactérias prejudiciais presentes em feridas crônicas, oferecendo suporte e orientação para os profissionais no tratamento, otimizando, desta forma, os cuidados clínicos e a evolução da cicatrização da lesão de pele.

METODOLOGIA

Delineamento do estudo

Um estudo prospectivo clínico foi realizado em uma sala de curativo de uma unidade básica de saúde com o objetivo de desenvolver o APP Violet Wound. A primeira etapa do estudo envolveu a revisão da literatura sobre o tema e, paralelamente, o desenvolvimento da solução computacional.

Na etapa subsequente do estudo iniciou o registro fotográfico, a coleta de amostras laboratoriais e a implementação da parte tecnológica do projeto. Essa fase do estudo envolveu a execução prática das atividades planejadas, incluindo a documentação visual das feridas, a coleta de amostras para análise laboratorial e a integração da tecnologia do aplicativo Violet Wound.

Na terceira etapa do estudo, ocorreu a análise dos dados coletados e a validação da eficácia do aplicativo. A metodologia empregada nesta etapa envolveu a combinação do teste de acurácia e do teste Kappa, o que foi essencial para avaliar a eficácia do aplicativo na detecção de patógenos e identificação de bactérias patogênicas em feridas. Essa abordagem conjunta permitiu uma avaliação detalhada e abrangente da precisão e confiabilidade dos resultados fornecidos pelo aplicativo no diagnóstico de infecções em feridas na prática clínica

Padrão de atendimento aos participantes

Os participantes da pesquisa já utilizavam a sala de curativo para a assistência à saúde e os cuidados com os mesmos seguiram, rigorosamente, os protocolos operacionais padrões estabelecidos na instituição. Além disso, os curativos prescritos e a assistência multidisciplinar foram continuados.

No momento da coleta das imagens, ocorrida nos meses de julho, agosto e setembro de 2023, os curativos foram removidos e as feridas foram avaliadas clinicamente sendo observados sinais e sintomas de infecção, incluindo dor, sensibilidade, calor, inchaço, eritema, exsudato purulento e mau cheiro.

A amostra populacional foi composta por dezesseis indivíduos adultos portadores de feridas crônicas com no mínimo seis semanas de tratamento. Como critérios de exclusão, os menores de 18 anos de idade não puderam fazer parte da pesquisa.

Eles foram entrevistados pela pesquisadora e foi solicitado o consentimento voluntário para participação da pesquisa através do registro fotográfico da ferida crônica, com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias, entregando uma das vias ao participante, e assinatura do termo de uso das imagens da lesão. Não houve discriminação na seleção dos indivíduos nem a exposição a riscos desnecessários.

O estudo respeitou as diretrizes e critérios estabelecidos nas Resoluções 466/12 e 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), os preceitos éticos estabelecidos, zelando pela legitimidade do estudo, privacidade e sigilo das informações,

Obtenção da imagem

Para a obtenção das imagens fotográficas das feridas, primeiramente foi realizado o protocolo de retirada e descarte do curativo e posterior higienização com Soro Fisiológico 0,9%.

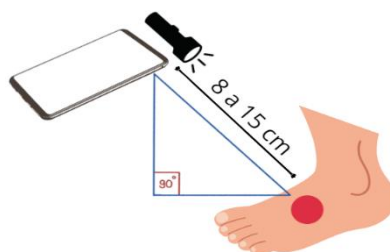
O primeiro passo consistiu em fotografar a ferida com a luz branca do ambiente da sala de curativo e em seguida com a luz negra. Nesta segunda etapa o ambiente ficou sem a influência da luz branca.

Após gerar a imagem com a luz negra, a fotografia foi analisada pelo app Violet Wound que sinalizou os possíveis locais com a presença de biofilme gerado pela *Pseudomonas Aeruginosa*. Nestes locais foram coletadas amostras de materiais biológicos com a swabs através da técnica de levine e encaminhado para análise no laboratório do Grupo de Apoio à Criança com Câncer da Bahia – GACC, através do método de espectrofotometria de massa MALDI TOF.

O smartphone utilizado para obtenção das imagens deste estudo foi o Samsung Galaxy S20FE, pois ele atende as especificações mínimas para garantir o bom funcionamento do app. Essas especificações são: zoom ótico de 3 x, capacidade de autofoco e a presença de lente teleobjetiva. A fonte de luz negra utilizada foi uma lanterna de luz negra de led com emissão de fonte de luz de 365 a 395 nm.

“Como requisito para garantir a qualidade, eficiência e eficácia do laudo gerado, o profissional foi orientado a manter o aparelho na distância de 8 a 10 cm da lesão do paciente e com um ângulo de 90 graus” (Benite; Machado; Machado, 2002). A figura 1 demonstra o posicionamento da luz negra e do smartphone para análise da ferida.

Figura 1 - Posicionamento do smartphone para fotografar a ferida



Fonte: Autoria própria, 2024.

Validação da amostra

Para realizar a validação da eficácia do Violet Wound em identificar pseudomonas na ferida crônica, foi realizado uma abordagem diagnóstica comparando as imagens fotográficas sob a luz negra e os laudos laboratoriais. O teste de acurácia de foi utilizado para definir os valores preditivos positivo e negativo do aplicativo.

Além da VPP e da VPN, também foi estabelecido a Sensibilidade (S) e a Especificidade (E). O primeiro refere à capacidade do App Violet Wound de detectar a Pseudomonas na ferida crônica e confirmar positivamente a infecção pela bactéria apresentando um resultado positivo. O segundo refere-se a capacidade do aplicativo em emitir laudo com ausência de Pseudomonas e realmente a lesão não possuir a referida bactéria

Somando a isto, o teste Kappa foi realizado para fornecer insights sobre a confiabilidade dos resultados obtidos, comparando os resultados obtidos pelo Violet Wound quando comparado à técnica padrão ouro que é a MALDI-TOF.

Vale destacar que em alguns pacientes, por possuírem mais de uma lesão não comunicante, foram realizados mais de uma coleta laboratorial.

No total, dos 16 indivíduos participantes da pesquisa, foram realizadas 24 amostras de coleta laboratorial, pois alguns pacientes possuíam mais de uma lesão não comunicante. Deste total, três não foram enviadas para o laboratório, pois não apresentava exsudato suficiente para amostragem em swab com eficácia e diante disto foram descartadas.

Demografia dos pacientes

Para realizar este estudo foram selecionados dezesseis pacientes portadores de feridas crônicas com mais de 6 semanas, sendo três pertencentes ao sexo feminino e treze

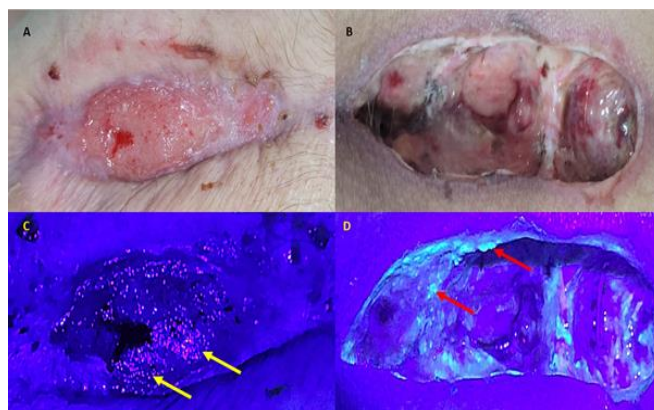
ao sexo masculino. As idades dos pacientes variaram entre 27 anos e 79 anos, perfazendo a idade média de 62 anos. Em relação a tipologia das lesões, foram encontradas úlceras venosas (n=15), úlceras arteriais (n=2), úlceras diabéticas (n=6) e úlcera falcêmica (n=1). As feridas avaliadas estavam situadas nos membros inferiores direito (MID) (n=11) ou esquerdo (MIE) (n=13). Os artigos devem conter no máximo 10 mil palavras em folha tamanho A4. As margens laterais devem estar em 3cm e as margens superior e inferior, 2,5cm.

RESULTADOS

Análise estatística da pesquisa

Os pesquisadores por trás do desenvolvimento do aplicativo Violet Wound realizaram uma análise dos padrões de fluorescência emitidos pelo tecido afetado por lesões crônicas, com o objetivo de distinguir os padrões de fluorescência característicos das bactérias. Essa fluorescência está diretamente relacionada à presença de cromóforos específicos encontrados tanto em organismos quanto em bactérias. Exemplos desses cromóforos incluem a porfirina, a pioverdina e a piocianina, substâncias que a inteligência artificial utiliza como marcadores moleculares para identificar a presença de bactérias e auxiliar no diagnóstico preciso das infecções.

Figura 2 - A e B fotografias de feridas observadas sobre luz natural. C e D fotografias de feridas observadas sobre luz negra. Setas amarelas apontam presença de porfirina. Setas vermelhas apontam presença de piocianina.

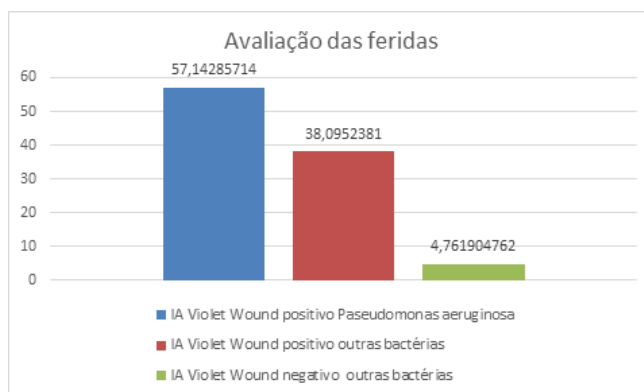


Fonte: Autoria própria, 2024.

Durante a avaliação da inteligência artificial Violet Wound, foi constatado que 95,2% das feridas analisadas estavam infectadas. Entre essas infecções, observou-se que

as feridas contaminadas com *Pseudomonas aeruginosa* estavam presentes em 57,14% dos casos, representando 1,5 vezes mais do que as infectadas por outras bactérias. Apenas uma pequena proporção de casos, menos de 5%, foram identificados como negativos para infecção.

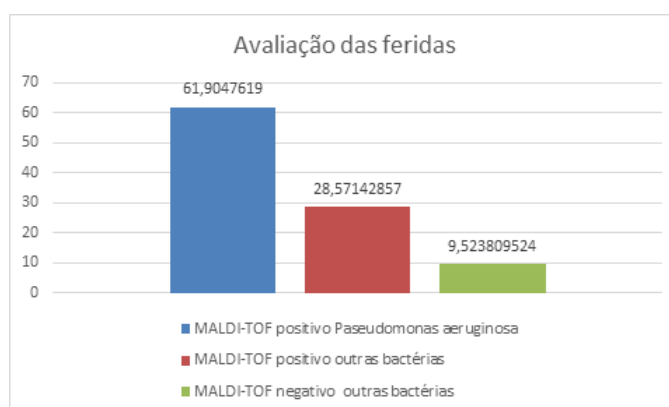
Figura 3 - Avaliação da ferida pelo Violet Wound.



Fonte: Autoria propria, 2024.

O MALDI-TOF revelou que cerca de 90% das feridas analisadas estavam infectadas, o que confirma os achados da IA Violet Wound. Dentro desse grupo, 63,9% das infecções foram causadas pela presença de *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto outras bactérias foram responsáveis por infectar 28,57% das feridas. Por outro lado, os casos negativos para infecção totalizaram 9,52% do conjunto de amostras examinadas.

Figura 4 - Avaliação da ferida pelo MALDI-TOF.



Fonte: Autoria propria, 2024.

A análise combinada dessas informações aponta para uma coerência significativa nos resultados obtidos pelas duas abordagens de avaliação de feridas, evidenciando a

eficácia dessas tecnologias na identificação de infecção causada por bactérias catalisadoras de sideróforos imunofluorescentes.

Validando a eficácia do estudo através de teste diagnóstico de acurácia

O teste de acurácia que é conceituado como um método que indica a presença de uma doença, utilizando como controle (padrão de referência) um teste ideal (padrão-ouro) já conhecido e consolidado no ambiente científico (Brasil, 2014), foi utilizado para definir os valores preditivos positivo e negativo do aplicativo, a sensibilidade e a especificidade.

Para encontrar o resultado de eficiência proposta pelo teste diagnóstico de acurácia as amostras foram divididas da seguinte forma:

- A = Amostras corretamente identificadas como positivas para *Pseudomonas* pelo aplicativo e confirmadas pelo laboratório, (n=12).
- B = Amostras incorretamente identificadas como positivas para *Pseudomonas* pelo aplicativo, mas não confirmadas pelo laboratório, (n=2).
- C = Amostras incorretamente identificadas como negativas para *Pseudomonas* pelo aplicativo, mas confirmadas pelo laboratório como positivas, (n=1).
- D = Amostras corretamente identificadas como negativas para *Pseudomonas* pelo aplicativo e confirmadas pelo laboratório, (n=6).

Com base nos indicadores mencionados e nos cálculos realizados, os resultados encontrados neste estudo foram:

- Sensibilidade: 92%
- Especificidade: 75%
- Valor Preditivo Positivo (VPP): 85.7%
- Valor Preditivo Negativo (VPN): 85.7%

Esses resultados indicam que o teste diagnóstico teve uma alta sensibilidade (92%), ou seja, o aplicativo Violet Wound tem a capacidade de identificar corretamente os casos positivos confirmados pela técnica padrão ouro laboratorial. A especificidade do teste foi de 75%, o que representa a capacidade de identificar corretamente os casos negativos confirmados pelo laboratório. O Valor Preditivo Positivo (VPP) e o Valor Preditivo Negativo (VPN) foram ambos de 85.7%, indicando o percentual de casos classificados corretamente como positivos e negativos pelo teste, respectivamente.

Esses resultados sugerem que o teste apresentou boa capacidade de identificar tanto os verdadeiros positivos quanto os verdadeiros negativos.

Ainda, baseado nos achados apresentados, no estudo foi encontrada uma acurácia de 85%. Isso indica a capacidade geral do teste em classificar corretamente os casos do estudo como positivos ou negativos para a presença da bactéria *Pseudomonas Aeruginosa*, resultando em uma taxa de acerto de 85%.

Além disso, a razão de verossimilhança para o teste positivo de 3,70 sugere o quão mais provável é o resultado obtido quando o teste é positivo em comparação a um resultado negativo. No caso específico deste estudo, uma razão de verossimilhança para teste positivo de 3,70 indica que indivíduos com teste positivo têm cerca de 3,70 vezes mais chances de terem a bactéria do que aqueles com teste negativo.

Esses dados fornecem informações cruciais na validação da eficácia do app Violet Wound quando utilizado o teste diagnóstico proposto no estudo, demonstrando sua capacidade de identificar com precisão a presença da bactéria em foco.

Validando a confiabilidade do aplicativo Violet Wound através do coeficiente Kappa

O Coeficiente Kappa é conceituado como uma medida estatística que testa o grau e quantifica a concordância e a precisão entre dois avaliadores ou método de avaliação sob amostras dependentes (Kotz; Johnson, 1983).

Para a avaliação estatística foi aplicado o Teste de Concordância Kappa 2. Devido à natureza qualitativa dos dados e considerando o aspecto dependente da variável. Para tanto foi utilizado o GraphPad Prism, disponível em <https://www.graphpad.com/quickcalcs/kappa2/>

A interpretação do valor de Kappa seguiu a escala abaixo:

Quadro 1 – Escala para interpretação do valor de Kappa.

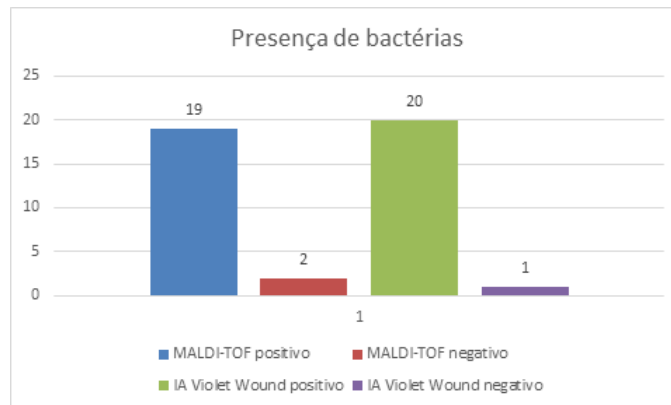
Valor de Kappa	Interpretação
Kappa < 0	Discordante
Kappa entre 0,00 – 0,2	Concordância muito baixa
Kappa entre 0,21 – 0,4	Concordância baixa
Kappa entre 0,41 – 0,6	Concordância moderada
Kappa entre 0,61 – 0,8	Concordância substancial
Kappa entre 0,81 – 1,00	Concordância quase perfeita

Fonte: Autoria própria, 2024.

Neste estudo, a comparação foi feita entre o resultado laboratorial obtido pela técnica MALDI-TOF e o laudo de apoio diagnóstico fornecido pelo aplicativo Violet Wound em relação à identificação da bactéria *Pseudomonas Aeruginosa*. O cálculo se baseia em avaliar quantas vezes concordam e discordam dos resultados da mesma amostra, utilizando o coeficiente Kappa como medida estatística para testar a concordância e precisão entre esses métodos de avaliação.

Ao analisar os resultados obtidos pelos dois métodos de diagnóstico, realizamos uma avaliação estatística para determinar a concordância entre eles. Nesta avaliação considerou-se a presença de infecção geral, o teste revelou um Kappa de 0,65, implicando em “concordância substancial” entre os métodos de diagnóstico. Este resultado demonstra a possibilidade de uso do Violet Wound como ferramenta de determinação de infecção microbiana em feridas.

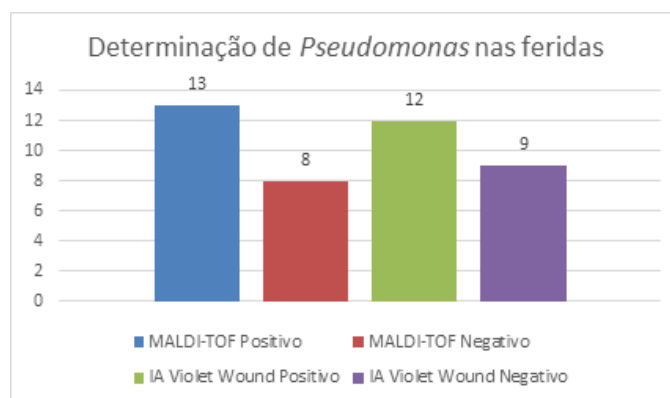
Figura 5 – Avaliação da presença de bactérias Segundo MALDI-TOF e Violet Wound.



Fonte: Autoria própria, 2024.

Considerando apenas o diagnóstico de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* a concordância entre os métodos foi reavaliada. Assim, observou-se que o MALDI-TOF apresentou 13 casos de infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto a IA Violet Wound apresentou 12 casos de infecção por *Pseudomonas aeruginosa*. Este cenário mais específico alterou o valor de Kappa para 0,704.

Figura 6 – Determinação da presença de *Pseudomonas* nas feridas.



Fonte: Autoria própria, 2024.

A análise dos resultados dos dois métodos de diagnóstico e o cálculo do coeficiente de Kappa permitiram avaliar a eficácia do Violet Wound tanto na detecção geral de infecções bacterianas imunofluorescentes quanto no diagnóstico específico de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. A obtenção de concordância substancial em ambos os casos sugere que os métodos estão produzindo resultados consistentes, evidenciando uma equivalência entre o Violet Wound e o MALDI-TOF. Essa

consistência reforça a confiabilidade e eficiência do Violet Wound como uma ferramenta de apoio diagnóstico na identificação de bactérias imunofluorescentes em lesões de difícil cicatrização.

DISCUSSÃO

A obtenção de dados epidemiológicos precisos sobre a prevalência de feridas de difícil cicatrização em escala global é desafiadora. No entanto, estima-se atualmente que uma média de 4% da população mundial possua algum tipo de lesão crônica na pele (Jarbrink *et al.*, 2017). Com o envelhecimento da população, a tendência é que esse número aumente exponencialmente a cada ano devido a fatores fisiológicos e patológicos. Adicionalmente, existe um consenso mundial que a presença de processos infecciosos nas lesões está fortemente associada à demora no processo de cicatrização. Diante dessas informações, torna-se urgente a busca por novas tecnologias que possam minimizar os efeitos prejudiciais causados a essa população alvo.

Através dos resultados encontrados na realização deste estudo, o Violet Wound se consolida como uma tecnologia de ponta e uma ferramenta inovadora de apoio diagnóstico aos profissionais de saúde que assistem pacientes portadores de lesão de difícil cicatrização.

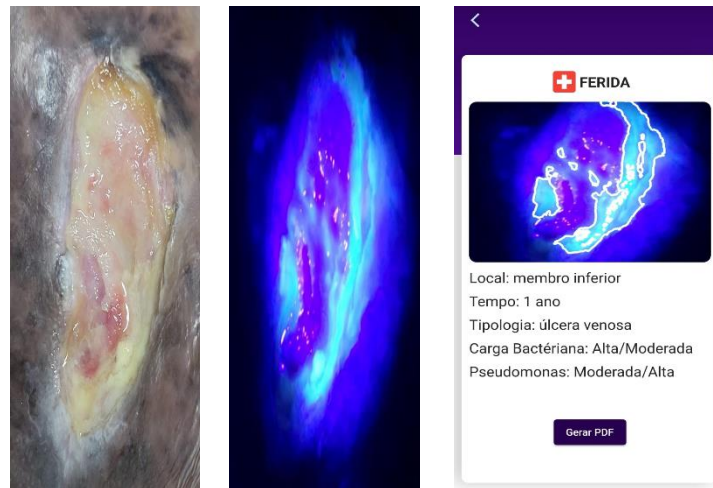
O Violet Wound mostrou ser um aplicativo altamente eficaz e eficiente na identificação de *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, ele obteve resultados semelhantes também em casos em que a bactéria colonizadora não era a *Pseudomonas aeruginosa*. Outro ponto positivo é a sua confiabilidade, semelhante à de um laudo analisado por meio da técnica de MALDI-TOF utilizada nos laboratórios.

Violet Wound e a identificação dos sideróforos

O Violet Wound é um software de aplicativo mobile com ferramentas que se utilizam de tecnologia para levar agilidade, confiabilidade, segurança e qualidade de atendimento aos profissionais que necessitam manusear a carga bacteriana dos pacientes em tratamento da lesão crônica. Este programa associa imagens fotográficas obtidas por smartphone a um banco de dados baseado em colorimetria, utilizando “o OpenCV, Matplotlib, entre outras bibliotecas, além do Framework flutter para construção das telas do app” (Rodrigues *et al.*, 2023).

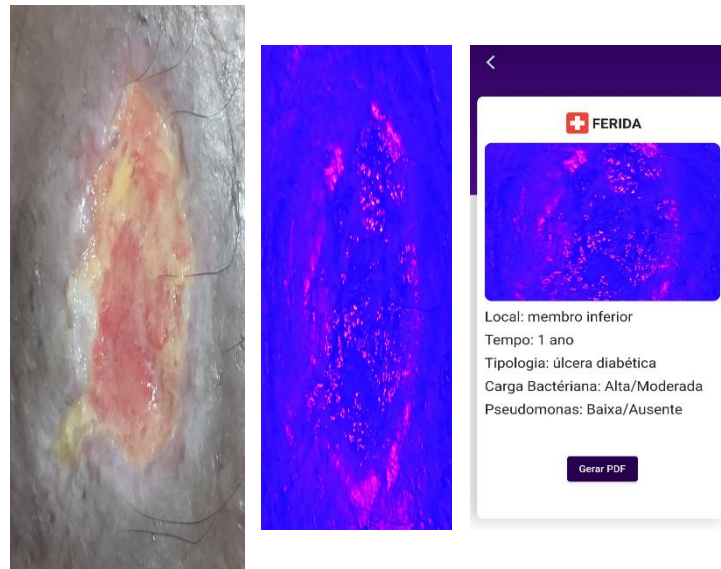
O funcionamento deste aplicativo é possível pois algumas bactérias emitem sideróforos fluorescentes, que são agentes sequestradores de íons férricos em meios de cultura, como nas feridas crônicas (Rodrigues *et al.*, 2023). Alguns exemplos de sideróforos são a pioverdina e porfirina, sendo a primeira produzida pela linhagem de PAs fluorescentes (Pereira, 2018) e a segunda por bactérias capazes de sintetizar a hemoglobina Heme (Carvalho *et al.*, 2007). Estas, iluminadas com a luz negra, são identificadas pelo aplicativo Violet Wound, onde a pioverdina se destaca em coloração ciano (Figura 7) e a porfirina de cor vermelha (Figura 8).

Figura 7 – 1. Lesão de pele visualizada com a luz branca; 2. Pioverdina da bactéria destacada pela luz negra na coloração ciano visualizada com o apoio do app; 3. Tela do app Violet Wound identificando a bactéria e a carga bacteriana. Lesão crônica de membro inferior - úlcera venosa.



Fonte: Autoria propria, 2024.

Figura 8 - 1 -Lesão de pele visualizada com a luz branca; 2 - Porfirina da bactéria destacada pela luz negra na coloração ciano visualizada com o apoio do app; 3 - Tela do app Violet Wound identificando a bactéria e a carga bacteriana. Lesão crônica de membro inferior - úlcera diabética.



Fonte: Autoria própria, 2024.

Reforçando os resultados da pesquisa para o desenvolvimento do Violet Wound, um estudo destacou que “as pioverdinas existem como subprodutos bacterianos na carga biológica e fluorescem em ciano sob iluminação de luz negra” (Meyer; Abdallah, 1978; Smith *et al.*, 2012). Uma outra pesquisa destaca que existem bactérias que refletem a coloração vermelha quando estão sob excitação da luz UV devido a biossíntese do Heme (Barnard *et al.*, 2020; Nitzan *et al.*, 2004; Turano *et al.*, 2020).

Pseudomonas Aeruginosas e a patogenicidade na lesão de pele

A *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) é um patógeno oportunista, pois vive rotineiramente no organismo humano em forma de compensação, comensal e ambiental, não prejudicando o hospedeiro. Entretanto, ela adquire patogenicidade quando encontra um meio de cultura favorável, com presença de ferro, fazendo com que a sua população se torne maior que a de células de defesa do organismo humano, desencadeando infecções difíceis de tratar (Meyer; Abdallah, 1978; Pires *et al.*, 2009; Turano *et al.*, 2020; Smith *et al.*, 2012).

É uma bactéria gram negativa comumente encontrada nas feridas crônicas, geralmente na sua forma patogênica, com grande capacidade de produzir biofilmes (Pires

et al., 2009). Esses são extremamente resistentes, pois a PA produz uma toxina chamada piocianina, a qual é capaz de matar outras bactérias (Turano *et al.*, 2020; Wollenberg *et al.*, 2014) e manter o predomínio na lesão que estão colonizando, resultando em um prognóstico ruim para a cicatrização das feridas.

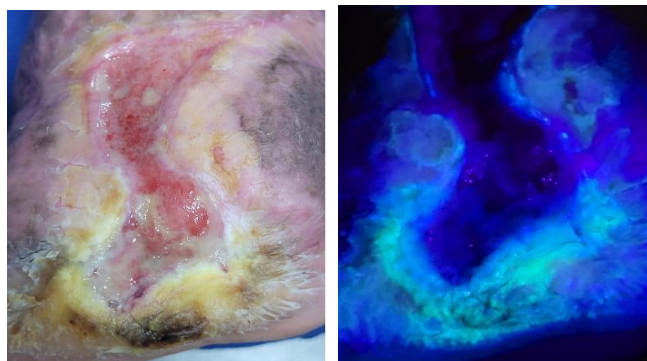
Outrossim, ela também produz também a pioverdina, a qual envolve a membrana celular e aumenta sua capacidade de virulência e de resistência antimicrobiana, que tem crescido significativamente nos últimos anos (Pires *et al.*, 2009; Turano *et al.*, 2020). Diante disto, a detecção precoce da PA é fundamental para a mitigação de resultados de feridas mais graves (Posnett *et al.*, 2009; Pereira, 2018).

Neste estudo, durante a coleta das imagens fotográficas para o desenvolvimento do Violet Wound, evidenciou-se relação entre o aparecimento da coloração da pioverdina, ciano dentro da classificação RGB, e a piocianina, cor azul, com a presença da *Pseudomonas Aeruginosa* (Figura 8).

A pioverdina é responsável por regular os outros subprodutos que interferem no fator de virulência bacteriana. Dentre estes, citamos a piocianina que é uma toxina que tem capacidade bactericida, que impede o crescimento de outras bactérias, além de causar lesões nos tecidos oxigenados devido a danos celulares oxidativos e, conseqüentemente, interferindo em toda cadeia de defesa das células humanas (Benite; Machado; Machado, 2002; Pereira, 2018; Wollenberg *et al.*, 2014). Essa combinação favorece a formação do biofilme bacteriano e o atraso na cicatrização da ferida.

Os resultados da pesquisa, explicitados pela figura 9, demonstram a ação bactericida da piocianina. Este fato é comprovado pelo laudo da coleta da ferida em que foi constatado a presença de *Pseudomonas Aeruginosa* e também pela ausência da coloração vermelha, indicando que não há bactérias produtoras de porfirina, como a *Staphylococcus Aureus* e a *Escherichia Coli*.

Figura 9 - Pioverdina e Piocianina da bactéria da bactéria *Pseudomonas Aeruginosa* destacada pela luz negra na coloração ciano e azul, respectivamente. Lesão crônica de coto de amputação de pé



Fonte: Autoria própria, 2024.

Benefícios do uso do aplicativo Violet Wound sob a luz ultravioleta

A presença das bactérias na ferida crônica associada a umidade e a presença de nutrientes, especialmente o ferro, potencializa a chance de patogenicidade bacteriana e consequentemente interfere em todas as fases da cicatrização. Por este motivo é essencial determinar qual a bactéria está no leito da ferida em um menor tempo possível e controlar o seu crescimento através do controle de sua carga microbiológica.

A identificação da colonização por PA na lesão de pele a olho nu e sob luz branca é muito subjetiva. No intuito de facilitar tal reconhecimento, favorecer a avaliação e tomada de decisão pelos profissionais e evolução do curativo em feridas crônicas propõe-se, devido à presença dos pigmentos, o uso do aplicativo Violet Wound associado a luz violeta de 365 a 395 nm. Esta é uma proposta inovadora, simples, fácil de manusear e acessível economicamente.

Em poucos minutos, quando associado à clínica do paciente, o software permite aos profissionais de saúde realizarem decisões assertivas e mudanças de conduta no tratamento de forma segura, pois o monitoramento do quadro infeccioso da ferida pode ser realizado diariamente, pois seu diagnóstico é preciso. Somado a isto, existe a facilidade de uso do app que requer apenas um smartphone e uma lanterna de luz ultravioleta, tornando-o acessível e de fácil utilização em diferentes ambientes de saúde

Outra vantagem do uso do Violet Wound é com relação a uma excelente perspectiva de redução de custo para o sistema de saúde no que tange à gastos com curativos à base de antibióticos e também ao uso de antibióticos orais e venosos.

Associado a isto, conseqüentemente, sua implantação nos serviços de saúde interferirá na diminuição da taxa de hospitalização e para os pacientes internados, poderá intervir na taxa de rotatividade de leitos com menor tempo de permanência nas instituições hospitalares.

Ainda relacionado à redução de custos, o uso do aplicativo oferece confiabilidade comparável à técnica MALDI-TOF, porém sem os gastos associados a estruturas físicas, recursos humanos especializados, logística de transporte, materiais e insumos laboratoriais. Isso resulta em economias significativas para o sistema de saúde, tornando-o um modelo financeiramente mais viável.

É relevante destacar o impacto positivo no meio ambiente decorrente da diminuição de resíduos biológicos provenientes dos materiais, insumos e técnicas utilizados em laboratórios, promovendo práticas mais sustentáveis para o ambiente.

Em se tratando de garantia de acesso a tecnologia a toda população mundial de forma equitativa, o Violet Wound também tem condições de ser disponibilizado para áreas com pouca infraestrutura e vulnerabilidade social, pois necessita apenas de um smartphone e uma lanterna para operar. Isso significa que mesmo em áreas com recursos limitados, a tecnologia do Violet Wound pode ser acessada, trazendo benefícios de diagnóstico e tratamento para um número maior de pacientes portadores de lesão de difícil cicatrização.

A combinação das propriedades únicas oferecidas pelo Violet Wound, juntamente com a alta sensibilidade e um bom valor preditivo positivo na identificação de *Pseudomonas aeruginosa*, evidencia a eficácia deste aplicativo como um suporte diagnóstico valioso para profissionais de saúde, contribuindo para a melhoria da prática clínica. Os valores obtidos nos testes diagnósticos e no coeficiente de Kappa, conforme a metodologia deste estudo, demonstram o potencial benefício do software de imagem ao correlacionar os resultados dos testes microbiológicos com a imagem de autofluorescência.

Além de identificar a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a carga bacteriana em lesões crônicas, o dispositivo reduz significativamente o tempo de espera dos resultados. É de fácil utilização, rápido e não requer a realização de procedimentos invasivos e dolorosos no paciente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A humanização da assistência de saúde destinada às pessoas com feridas de difícil cicatrização desempenha um papel crucial na melhoria da qualidade de vida desses pacientes. Os pesquisadores que se dedicam a esse campo desempenham um papel fundamental ao buscar formas inovadoras de cuidar e apoiar esses indivíduos, contribuindo significativamente para o bem-estar e recuperação garantindo mais qualidade de vida aos pacientes.

O aplicativo Violet Wound foi idealizado com este objetivo. Através dos resultados encontrados nesta pesquisa, concluímos que encontramos uma solução tecnológica inovadora para o manejo da infecção bacteriana e o tratamento de lesões crônicas, contribuindo para tornar o cuidado de saúde mais eficaz, personalizado e centrado na necessidade do paciente. Além disso, trata-se de uma tecnologia acessível em qualquer parte do mundo, uma vez que para utilizá-la é necessário apenas um smartphone e uma lanterna de luz ultravioleta.

Isso é possível devido à alta confiabilidade do aplicativo em diagnosticar a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a carga bacteriana clinicamente relevante em feridas crônicas. Essa precisão impede a utilização aleatória de antimicrobianos, apoiando a tomada de decisões fundamentadas em evidências no local de atendimento.

O aplicativo Violet Wound, mediante investimento em pesquisa, está preparado para expandir suas funcionalidades, de modo a monitorar eficazmente a taxa e o tempo de cicatrização das lesões, através da mensuração contínua e ágil e auxiliar na diminuição da rejeição de enxertia de pele por meio da monitorização bacteriana em tempo real. Além disso, sua capacidade se estende para incluir a detecção de outras lesões dermatológicas da pele, fungos cutâneos e câncer de pele nas fases iniciais.

REFERÊNCIAS

- BARNARD, E. *et al.* Porphyrin Production and Regulation in Cutaneous Propionibacteria. **ASM Journals: mSphere**, v. 5, n. 1, e00793-19, 2020.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. DE P.; MACHADO, B. DA C. Sideróforos: uma resposta dos microorganismos. **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1155–1164, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos de acurácia diagnóstica**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014.

- CARVALHO, C. M. B. *et al.* Photoinactivation of Bacteria in Wastewater by Porphyrins: Bacterial beta-Galactosidase Activity and Leucine-Uptake as Methods to Monitor the Process. **J Photochem Photobiol B**, v. 88, n. 2-3, p. 112-118, 2007.
- CHIBANTE, C. L. DE P. *et al.* Saberes e práticas no cuidado centrado na pessoa com feridas. **Escola Anna Nery**, v. 21, n. 2, p. e20170036, 2017.
- CORTEZ, D. N. *et al.* Costs of treating skin lesions in Primary Health Care. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 17, e2419, 2020.
- COSTAP, S. B. **Análise de custos do MALDI-TOF (espectrometria de massas) em comparação com a tecnologia Vitek 2 Compact em hospital de referência terciária.** 2021. 52f. Dissertação (Mestrado em Gestão de Organizações de Saúde) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Université de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.
- GARCIA, T. DE F. *et al.* Microbiological profile of leg ulcer infections: review study. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 74, n. 3, p. e20190763, 2021.
- JÄRBRINK, K. *et al.* A carga humanística e econômica de feridas crônicas: um protocolo para uma revisão sistemática. **Revisões sistemáticas**, v. 6, n. 15, 2017.
- KEAST, D.; SWANSON, T. A practical summary for the management of wound infections and biofilms. **Coloplast**, 2020. Disponível em: https://www.coloplastprofessional.co.uk/globalassets/hcp/pdf-file/v2/uk/wsc/cpWSC_wound-infections-biofilm_whitepaper_a4_final.pdf. Acesso em: 25 jun. 2024.
- KOTZ, S.; JOHNSON, N. L. **Encyclopedia of statistical sciences**. New York: John Wiley & Sons, 1983.
- LEITE, T. N. *et al.* Biofilmes em feridas crônicas: uma revisão de literature. **Revista Interfaces da Saúde**, v. 5, n. 1, p. 46-58, 2018.
- MEYER, J. A.; ABDALLAH, M. A. O pigmento fluorescente de *Pseudomonas fluorescens*: biossíntese, purificação e propriedades físico-químicas. **Microbiologia**, v. 107, p. 9, 1978;
- MURPHY, C. *et al.* Defying hard-to-heal wounds with an early antibiofilm intervention strategy: wound hygiene. **J Wound Care**, v. 29, n. Sup3b, p. S1-S26, 2020.
- NITZAN, Y. *et al.* ALA induced photodynamic effects on gram positive and negative bacteria. **Photochem Photobiol Sci.**, v. 3, n. 5, p. 30-35, 2004.
- PEREIRA, T. O. **Regulação da expressão de pioverdina dependente de contato em *Pseudomonas aeruginosa*.** 2018. 125f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.
- PIRES, E. J. V. C. *et al.* Análise epidemiológica de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de hospital universitário. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 21, n. 4, p. 384–390, out. 2009.
- POSNETT, J. *et al.* The resource impact of wounds on health-care providers in Europe. **J Wound Care**, v. 18, n. 4, p. 154-61, 2009.

RODRIGUES, M. A. *et al.* Violet Wound - um software de reconhecimento de biofilme em feridas crônicas aplicando técnicas de super resolução e imunofluorescência utilizando dispositivos móveis. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 4, p. 18011–18046, 2023.

RUIZ, P. B. DE O.; LIMA, A. F. C. Average direct costs of outpatient, hospital, and home care provided to patients with chronic wounds. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 56, p. e20220295, 2022.

SMITH, S. *et al.* Antimicrobial resistance and molecular typing of pseudomonas aeruginosa isolated from surgical wounds in Lagos, Nigeria. **Acta Med Iran**, v. 50, n. 6, p. 433-38, 2012.

TURANO, H. G. *et al.* Molecular structure and functional analysis of pyocin S8 from Pseudomonas aeruginosa reveals the essential requirement of a glutamate residue in the H-N-H motif for DNase activity. **J Bacteriology**, v. 202, n. 21, p. e00346-20, 2020.

WOLLENBERG, M. S. *et al.* Propionibacterium-Produced Coproporphyrin III Induces Staphylococcus aureus Aggregation and Biofilm Formation. **ASM Journals: mBio**, v. 5, n. 4, 2014.