

Diagnóstico laboratorial da tuberculose e infecções causadas por micobactérias não tuberculosas (2018-2019)

Área Temática: Saúde

Jacqueline Busatta¹, Larissa F. Rufino dos Santos², Katiany R. Caleffi-Ferracioli³, Regiane Bertin L. Scodro³, Daniela Ferrari Micheletti⁴, Vera Lúcia Dias Siqueira³, Rosilene F. Cardoso³

¹Aluna do curso de Biomedicina, bolsista PIBEX/FA-UEM, contato: jacqueline.busatta@gmail.com

²Aluna do curso de Farmácia, contato: larissarufino@gmail.com

³Professora no Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina – DAB/UEM, contato: rfressatticardoso@gmail.com; katianyrcf@gmail.com; regianebertin@gmail.com; vldsiqueira@uem.br

⁴Bioquímica no Laboratório de Bacteriologia Médica – LEPAC/UEM, contato: dfmicheletti2@uem.br

Resumo. A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa endêmica em vários países. O diagnóstico é realizado principalmente pela baciloscopia, porém tem baixa sensibilidade. A cultura é padrão-ouro, mas o resultado é demorado. O Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC-UEM), recebeu do Ministério da Saúde o equipamento GeneXpert^R e esta metodologia molecular foi adotada para diagnóstico. O objetivo do projeto foi realizar cultura de amostras de pacientes sintomáticos para TB, que apresentaram teste GeneXpert^R negativo, para diagnosticar possíveis portadores da doença. No período de 01/10/2018 à 15/07/2019, realizou-se 289 culturas. Destas, 4 (1,4 %) foram positivas para BAAR, 265 (91,7 %) negativas e 20 (6,9 %) contaminaram com outros microrganismos. Dentre os 96 GeneXpert^R positivo para *M. tuberculosis*, uma amostra apresentou resistência a RIF. Os dados obtidos reforçam a utilidade da cultura, principalmente nos casos de resistência que GeneXpert^R não é capaz de detectar.

Palavras-chave: Tuberculose – diagnóstico – cultura

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecto contagiosa endêmica em diversos países, sendo uma das 10 principais causas de morte, sendo que em 2017, 10,0 milhões de pessoas desenvolveram a doença e foram estimadas 1,3 milhão de mortes decorrentes da infecção pelo bacilo (WHO, 2018). Em 2018, no Brasil, foram diagnosticados 72.788 novos casos de TB e cerca de 4,5 mil mortes (BRASIL, 2019). A distribuição geográfica se concentra nos grandes centros urbanos, capitais e regiões metropolitanas, locais pobres, com baixo nível de escolaridade e serviços de saúde escassos. Os indivíduos mais acometidos estão na população economicamente ativa, de 15 a 54 anos de idade e do sexo masculino, duas vezes mais em relação às mulheres (OLIVEIRA JUNIOR; MENDES; ALMEIDA, 2015).

A TB é causada principalmente pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, um bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR). É transmitida geralmente por via aérea e a infecção ocorre a partir da inalação de aerossóis contendo bacilos expelidos pela tosse, fala ou espirro (BRASIL, 2019). Os principais sinais e sintomas são o emagrecimento,

febre, astenia, anorexia, cefaleia e sudorese. Já entre os sinais e sintomas respiratórios mais comuns estão a dispneia, expectoração, dor, tosse seca, hemoptise e cianose (BETHLEM, 1985).

O diagnóstico rápido e preciso da TB bem como o início precoce do tratamento são fatores de grande importância para redução do risco de contaminação. Sendo assim, as principais metodologias utilizadas no Brasil para o diagnóstico da TB são a baciloscopia, a cultura e o Teste Rápido Molecular para TB (TRM-TB), sendo essa última a ferramenta mais recente para diagnóstico da TB implantada em 2014 no Brasil pelo Ministério da Saúde (OLIVEIRA et al., 2016). O TRM-TB utiliza a metodologia *GeneXpert*^R que amplifica de ácidos nucleicos dos bacilos pertencentes ao complexo *M. tuberculosis* e realiza a triagem de cepas resistentes à rifampicina (RIF) pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (BRASIL, 2019).

A TB é curável em praticamente todos os casos, em pessoas com bacilos sensíveis aos medicamentos anti-TB, desde que obedecidos os princípios básicos e que haja adequada adesão ao tratamento. A monoterapia, prescrição imprópria ou falta de colaboração do paciente no tratamento permitiu o surgimento de linhagens de *M. tuberculosis* resistentes a um ou mais fármacos (ROSSETTI et al., 2002). Em 2016, a OMS estimou que 490.000 pessoas desenvolveram TB resistente a RIF e INH (do inglês multidrogaresistente, MDR), e mais 110.000 pessoas com TB resistente a RIF também foram recentemente elegíveis para o tratamento de MDR-TB (WHO, 2018). Por esse motivo, este estudo teve como objetivo inicial realizar a cultura pela metodologia automatizada Mycobacteria Growth Indicator Tube System (BD BACTEC MGIT) (BD Difco™ BBL™, USA) de amostras de pacientes sintomáticos para TB, que apresentaram o teste *GeneXpert*^R negativo, a fim de diagnosticar possíveis portadores de BAAR não previamente detectados.

Metodologia

Para a realização do projeto, foram utilizadas amostras de escarro de pacientes atendidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) para diagnóstico laboratorial da TB. Realizou-se durante o período de 01 de outubro de 2018 à 15 de julho de 2019, culturas das 1ª amostras de escarros, de indivíduos com diagnóstico negativo de TB pelo *GeneXpert*^R.

As amostras foram previamente tratadas pela metodologia NALC (Mycoprep), semeadas e incubadas em BD BACTEC MGIT de acordo com as instruções do fabricante. Quando houve crescimento bacteriano, iniciou-se identificação através de baciloscopia (Método Zieh-Neelsen) da cultura. Se positiva para BAAR procedeu-se a identificação do bacilo por MPT-64 (Standard Diagnostics Inc, Republic of Korea) de acordo com as instruções do fabricante.

Os pacientes que apresentaram positividade da cultura para *M. tuberculosis*, foram submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos INH, RIF, EMB e estreptomicina (SM) utilizando BD BACTEC MGIT.

Resultado e Discussão

Foram realizados 393 teste de *GeneXpert*^R de amostras clínicas para diagnóstico de TB.

Destes, 96 apresentaram reação positiva para *M. tuberculosis* Complex e 297 amostras foram negativas. Culturas foram realizadas de 289 amostras que apresentaram *GeneXpert*^R negativos e 8 não tinham material suficiente para realização da cultura. As culturas realizadas pelo projeto de extensão foram feitas a partir da 1ª amostra de escarro e de outros materiais clínicos. Das 289 culturas realizadas, 4 (1,4 %) foram positivas para BAAR, 265 (91,7 %) negativas e 20 (6,9 %) estavam contaminadas com fungos ou outras bactérias. Dentre os 96 *GeneXpert*^R positiva para *M. tuberculosis* uma amostra apresentou reação positiva para resistência a RIF que será confirmada pelo teste de susceptibilidade antimicrobiana realizada pelo método BD BACTEC MGIT.

Das quatro culturas positivas para BARR, três eram de escarros e uma de líquido. O BAAR isolado da amostra de líquido foi identificado como *M. tuberculosis*. Esta discrepância com o resultado negativo obtido com *GeneXpert*^R pode ser explicada, provavelmente, pela alta carga bacilar na amostra que inviabilizou a reação em cadeia da polimerase (PCR), levando ao resultado negativo por *GeneXpert*^R. Esse dado deixa claro que a cultura ainda é considerada o padrão ouro para confirmação diagnóstica de TB (OLIVEIRA et al., 2016). A cultura para BAAR é mais sensível e específica quando comparada à microscopia. Com a implantação do *GeneXpert*^R, a sensibilidade de detecção direta do bacilo aumentou muito a sensibilidade do diagnóstico rápido da TB relacionada à baciloscopia, entretanto a cultura é necessária em alguns casos.

As três outras culturas (escarros) que foram positivas para BAAR, foram identificadas como micobactérias não tuberculosas (MNT). A cultura é capaz de permitir o crescimento de outras micobactérias, que não somente o Complexo *M. tuberculosis*, como no presente estudo de MNT. As MNT, atualmente vêm sendo detectadas com maior frequência causando doenças com sintomas semelhantes a TB. O isolamento destes BAAR leva à identificação correta da espécie e um tratamento correto, uma vez que a maioria das MNT são resistentes aos fármacos anti-TB.

A cultura permitiu também, o isolamento de *M. tuberculosis* e realização de testes de sensibilidade à INH, RIF, EMB e SM, pelo método BD BACTEC MGIT, fundamental para orientar a terapia antibiótica e monitoramento do tratamento (FERREIRA et al., 2005). Diante disso, foi solicitado pelo médico teste de susceptibilidade antimicrobiana de 76 isolados de *M. tuberculosis* nas culturas das amostras testadas. Destes *M. tuberculosis* isolados, 15 apresentaram resistência à INH e sensibilidade à RIF, EMB e SM. Os isolados de *M. tuberculosis* restantes apresentaram sensibilidade à INH, RIF, EMB e SM. O conhecimento prévio de resistência bacteriana, pode evitar um tratamento incorreto e a seleção de linhagens resistentes do bacilo.

Conclusão

O projeto vem reforçar a utilidade da realização da cultura, em certas circunstâncias, de amostras clínicas com objetivo de pesquisar BAAR, principalmente em casos de resistência em que o *GeneXpert*^R não é capaz de detectar como resistência a INH, EMB e SM, além de ser eficiente para o diagnóstico de doenças causadas por MNT.

Referências

BETHLEM, Newton. 4 -Tuberculose. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 11, n. 4, p. 214-218, 1985.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Dados Epidemiológicos da Tuberculose no Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde Brasília, 2019. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/24/APRES-PADRAO-MAI-19.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Indicadores básicos para a saúde no Brasil: conceitos e aplicações. 2 ed. Ministério da Saúde Brasília, 2008. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/livroidb/2ed/indicadores.pdf>>. Acesso em: 10 jul. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. 2 ed. Ministério da Saúde Brasília, 2019. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/marco/28/manual-recomendacoes.pdf>>. Acesso em: 10 jul. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/tuberculose>>. Acesso em: 10 de jul. de 2019.

CONDE, Marcus Barreto et al. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. J. bras. pneumol., São Paulo, v. 35, n. 10, p. 1018-1048, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009001000011>>. Acesso em: 14 de jul. de 2019.

FERREIRA, Aurigena Antunes de Araújo et al. Os fatores associados à tuberculose pulmonar e a baciloscopia: uma contribuição ao diagnóstico nos serviços de saúde pública. Rev. bras. epidemiol, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 142-149, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2005000200006>>. Acesso em: 14 de jul. de 2019.

OLIVEIRA, Gabriel da Silva et al. Identificação laboratorial de micobactérias em amostras respiratórias de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar no Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN-DF). Journal of Health & Biological Sciences, v.4, n.3, p.187-192, 2016. Disponível em: <<https://periodicos.unichristus.edu.br/jhbs/article/view/712>>. Acesso em: 10 de jul. de 2019.

OLIVEIRA JUNIOR, Hamilton dos Santos; MENDES, Dayanna Hartmann Cambuzzi; ALMEIDA, Rodrigo Batista de. Prevalência de Casos de Tuberculose Durante os Anos de 2002 a 2012, no Município de Palmas-Paraná, Brasil. Revista de Saúde Pública de Santa Catarina, v. 8, n. 1, p. 43-57, 2015. Disponível em: <<http://revista.saude.sc.gov.br/index.php/inicio/article/view/292>>. Acesso em: 10 de jul. de 2019.

PALOMINO, Juan-Carlos et al. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 46(8):2720-2722, 2002.

ROSSETTI, Maria Lúcia Rosa; VALIM, Andréia Rosane de Moura; SILVA, Márcia Susana Nunes; RODRIGUES, Vívian Sumnienski, 2002. Tuberculose resistente: revisão molecular. Revista Saúde Pública, 36(4):525-532. Disponível em: <<https://www.scielo.org/article/rsp/2002.v36n4/525-532/>>. Acesso em: 18 de jul. de 2019.

WHO. Global tuberculosis report 2018. Switzerland: World Health Organization; 2018.