

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

Tuberculose extrapulmonar em pacientes com AIDS na cidade do Rio Grande, Brasil. Diagnóstico laboratorial

Extrapulmonary tuberculosis in patients with AIDS in Rio Grande city, southern Brazil. Laboratory diagnosis

MARIA MARTA S. BOFFO¹, IVO G. MATTOS², MARTA O. RIBEIRO³, SUZANA V. JARDIM⁴

Laboratório de Micobactérias – Departamento de Patologia – FURG
Responsável: Professora Maria Marta S. Boffo

RESUMO

Foram analisadas 102 amostras clínicas de sítios extrapulmonares referentes a 74 pacientes com AIDS, entre Setembro de 1997 e Dezembro de 1999, do Serviço de AIDS do Hospital Universitário da Universidade Federal de Rio Grande, na cidade de Rio Grande, RS, Brasil. Este estudo teve como

ABSTRACT

One hundred two specimens of extrapulmonary material from 74 AIDS patients from the AIDS Service of University Hospital, FURG, Rio Grande, RS, Brazil, were examined at Mycobacteria Laboratory, between September 1997 and December 1999. This study had the aim to evaluate laboratory impor-

1 Professora Adjunta da Fundação Universidade Federal de Rio Grande (FURG)

2 Professor Titular da Fundação Universidade Federal de Rio Grande (FURG)

3 Bioquímica, Laboratório Central (LACEN) – Secretaria da Saúde e Meio Ambiente, RS

4 Bioquímica, Laboratório Central (LACEN) – Secretaria da Saúde e Meio Ambiente, RS

Recebido para publicação: 00.05.10

Aceite para publicação: 00.06.14

objetivo enfatizar a importância do diagnóstico laboratorial da tuberculose extrapulmonar nos pacientes com AIDS e com suspeita clínica dessa enfermidade. Foi realizada baciloscopia a partir de esfregaços corados pela técnica de Kinyoun e cultivo primário para isolamento em meio de Ogawa e Ogawa acrescido de ácido p-nitrobenzóico, de ácido tiofeno-2-carboxílico e de piruvato de sódio. Foi feita a determinação da produção de niacina para confirmação do isolamento de *Mycobacterium tuberculosis*. O diagnóstico de tuberculose extrapulmonar foi obtido em 12,74% das amostras provenientes de 17,56% dos pacientes. A distribuição das amostras com resultados positivos quanto ao sítio de obtenção, inclui: 8/13 biópsias ganglionares, 2/13 biópsias hepáticas, 2/13 líquido ascítico e 1/13 líquido pleural. A baciloscopia foi positiva em 7/13 amostras e a cultura em 10/13. Em 3/13 casos a baciloscopia foi a única responsável pelo diagnóstico de tuberculose extrapulmonar e a cultura em 6/13. Das amostras positivas à baciloscopia 6/7 eram biópsias ganglionares e 1/7, líquido ascítico. Os dois métodos utilizados na busca do diagnóstico da forma extrapulmonar de tuberculose, mostraram um rendimento que nos leva a incentivar cada vez mais a realização sistemática dos mesmos em nosso meio.

REV PORT PNEUMOL 2000; VI (4): 277-282

Palavras-chave: Tuberculose/diagnóstico laboratorial; Tuberculose extrapulmonar/AIDS.

tance in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in AIDS patients with clinical suggestive symptoms of tuberculosis. Acid-fast bacilli (AFB) stains were performed using the Kinyon Method (cold staining). Mycobacterial isolation was made in the Ogawa medium. The Ogawa medium added with p-nitrobenzoic acid, 2-thiophenocarboxylic acid hydrazide and pyruvic acid sodium salt was used to the identification of mycobacterial species. Confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* was done by the niacin test. The extrapulmonary tuberculosis diagnosis was done in 12,74% of specimens from 17,56% of the patients. Distribution of specimens with positive results in relation to the obtained sites were: 8/13 lymph node biopsies, 2/13 liver biopsies, 2/13 ascitic fluid and 1/13 pleural fluid. AFB were found on microscopic examination from 7/13 specimens and 10/13 in culture. The microscopic examination of AFB stain was the only method responsible for the extrapulmonary tuberculosis diagnostic in 3/13 cases and the culture in 6/13 cases. Among the positive specimens at microscopic examination of AFB stains, 6/7 were lymph node biopsies and 1/7 ascitic fluid. The used methods in the diagnosis of the extrapulmonary tuberculosis showed good results, by this way we strongly recommend the realization of both as routine in our place.

REV PORT PNEUMOL 2000; VI (4): 277-282

Key-words: tuberculosis, / laboratory diagnosis. Extrapulmonary tuberculosis / AIDS.

INTRODUÇÃO

Conforme a Organização Mundial da Saúde (1998), cerca de 200 milhões das pessoas vivas no mundo poderão vir a desenvolver tuberculose (1). Considerando que a infecção pelo VIH tornou-se o maior fator de risco para a progressão de infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* à infecção ativa, é estimado para o ano 2000 uma incidência de 14% de casos de tuberculose ativa nos pacientes infectados pelo VIH a nível mundial. Hoje, a tuberculose é a infecção que mais sinaliza a AIDS neste grupo de pacientes (2).

A cidade portuária de Rio Grande, sul do Brasil, com 180.000 habitantes, está entre aquelas com maior número de casos de AIDS na região Sul (3) e pertence à área regional de alta prevalência de tuberculose segundo o Programa de Controle desta enfermidade no Estado (4).

A importância da associação AIDS/tuberculose é relevante a tal ponto, que em todo o paciente VIH positivo ou com AIDS deve ser investigada a tuberculose na forma pulmonar e extrapulmonar. A incidência da tuberculose extrapulmonar vem aumentando tanto nos países industrializados como nos em desenvolvimento. Um fator importante para este

fenômeno é o aparecimento da infecção pelo VIH. Os pacientes infectados pelo VIH são particularmente expostos à tuberculose extrapulmonar, a qual muitas vezes se apresenta com manifestações clínicas inespecíficas e insidiosas.

A gravidade da tuberculose extrapulmonar frequentemente é devida ao diagnóstico tardio, o qual é dado atualmente por procedimentos histológicos e microbiológicos (5).

No presente trabalho enfatizamos a importância, em nosso meio, do diagnóstico da forma extrapulmonar da tuberculose através de baciloscopia e de cultura de materiais extrapulmonares, naqueles pacientes VIH positivos ou com AIDS e com suspeita clínica de tuberculose. A confirmação laboratorial da suspeita de tuberculose extrapulmonar, nos leva à possibilidade de tratamento adequado do paciente e, na maior parte dos casos, à resolução da enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 102 amostras clínicas de sítios extrapulmonares (Tabela 1) provenientes de 74

TABELA 1
Distribuição das amostras clínicas analisadas

• Líquido pleural (13)
• Biópsia hepática (17)
• Biópsia ganglionar (25)
• Líquido ascítico (06)
• Aspirado medula óssea (04)
• Biópsia medula óssea (03)
• Biópsia de pele (01)
• Biópsia de nódulo membro inferior (01)
• Líquido abscesso anorretal (01)
• Macerado lesão de pele (01)
• Urina (01)
• Líquido sinovial (02)
Total de amostras: (102)
Total de pacientes: (74)

pacientes com AIDS, segundo critério do "Center for Disease Control" (CDC), EUA (6), atendidos no Serviço de AIDS do Hospital Universitário da Universidade Federal de Rio Grande, no período entre Setembro de 1997 e Dezembro de 1999. Os pacientes foram investigados em função de apresentarem manifestações clínicas sugestivas de tuberculose extrapulmonar.

A baciloscopia foi realizada a partir de esfregaços corados pela técnica de Kinyoun (coloração a frio) (7) e observados em microscópio de luz transmitida com aumento de 1000 vezes.

Os cultivos primários para isolamento e para identificação da espécie de micobactéria foram realizados, respectivamente, no meio de Ogawa (8) e em Ogawa acrescido de ácido p-nitrobenzóico, de ácido tiofeno-2-carboxílico e de piruvato de sódio. A semeadura das amostras no meio de Ogawa foi realizada impregnando a extremidade de um *swab* estéril com a amostra clínica, e, posteriormente, semeado no meio de cultivo, incubado à 37°C e observado diariamente, nos primeiros 7 dias, e semanalmente por um período de 4 semanas, e, se não houver crescimento, por um período adicional de 4 semanas, permanecendo negativo, serão descartados. Os materiais examinados não foram submetidos a processo de descontaminação antes de inoculados nos meios de cultura. O isolamento de *Mycobacterium tuberculosis* foi confirmado pela determinação da produção de niacina (9).

RESULTADOS

A partir do estudo de 102 amostras clínicas de sítios extrapulmonares referentes a 74 pacientes foi obtido o diagnóstico de tuberculose extrapulmonar em 13 (17,56%) pacientes pelo isolamento de micobactérias em 13 (12,74%) das amostras analisadas. As micobactérias isoladas foram identificadas como pertencentes a espécie *Mycobacterium tuberculosis*.

A distribuição das amostras positivas, quanto ao sítio de obtenção em pelo menos um dos procedimen-

tos microbiológicos utilizados para a detecção de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), inclui: biópsia ganglionar, 8/13; biópsia hepática, 2/13; líquido ascítico, 2/13 e líquido pleural, 1/13.

O rendimento individual dos procedimentos laboratoriais em relação às amostras pertencentes aos pacientes com o diagnóstico de tuberculose extrapulmonar, está representado na Tabela 2. A baciloscopia foi positiva em 7/13 amostras e a cultura em 10 / 13. A pesquisa direta de BAAR não foi realizada em três (03) das amostras que mostraram-se positivas à cultura.

TABELA 2

Resultados das técnicas laboratoriais no grupo de pacientes com diagnóstico de tuberculose extrapulmonar

	POSITIVO	NEGATIVO	CONT*	NR**
baciloscopia	07	03	0	03
cultura	10	01	02	0

* contaminação

** não realizada

Em duas (02) amostras com baciloscopia positiva, a cultura apresentou, nas primeiras 48 horas, crescimento de bactérias não álcool-ácido resistentes consideradas contaminantes, impossibilitando a detecção das micobactérias e conseqüente identificação da espécie. Outra amostra, também positiva à baciloscopia, não apresentou crescimento de micobactérias. Na Fig. 1 podemos observar o aspecto microscópico desse material.

No grupo em estudo, em três (4,05%) casos a pesquisa direta foi a única responsável pelo diagnóstico de tuberculose extrapulmonar e a cultura em outros seis (8,1%) casos. Os dois métodos foram concomitantemente positivos em quatro (5,4%) casos.

Das amostras positivas à baciloscopia 6/7 eram biópsias ganglionares e 1/7 líquido ascítico.

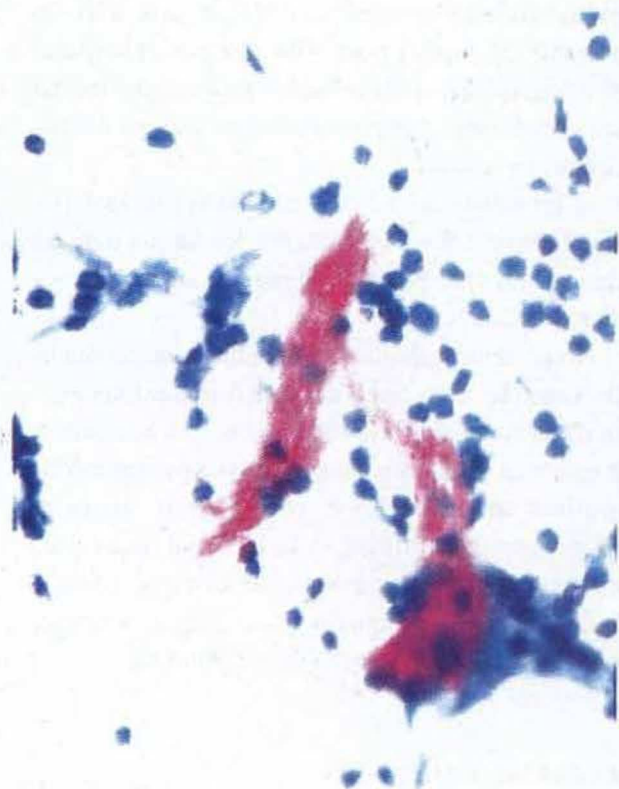


Fig. 1 – Aspecto microscópico com formação em cordões de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR).

DISCUSSÃO

Em muitos países em desenvolvimento a baciloscopia é o único método disponível para estabelecer grande parte do diagnóstico de tuberculose e laboratórios aptos a realizar a cultura de micobactérias, localizam-se na sua maioria, em hospitais de grande porte e em instituições de pesquisa (10). No Brasil, apesar das normas do Ministério da Saúde (11) indicarem o uso do cultivo na suspeita de tuberculose extrapulmonar, em grande parte dos Municípios a solicitação de tais exames é desencorajada pela dificuldade em transportar adequadamente espécimes clínicos e pelas distâncias a serem percorridas. A cultura em meio à base de ovo, apesar da demora entre 4 a 6 semanas (12,13) representa um avanço diagnóstico quando comparada ao uso exclusivo da baciloscopia, considerando que não estão acessíveis

à rotina laboratorial métodos mais rápidos como os que utilizam métodos radiométricos e técnicas de biologia molecular.

Dentre os 74 pacientes com AIDS cujas amostras clínicas extrapulmonares foram analisadas em nosso laboratório, foi estabelecido o diagnóstico de doença micobacteriana em 13,51% deles pela realização da cultura, em 9,45% pela baciloscopia e em 5,4% por ambas. A pesquisa de BAAR ao microscópio, rotineiramente utilizada neste estudo por sua simplicidade, rapidez e alta especificidade (12), é útil no diagnóstico precoce da tuberculose extrapulmonar, combinada a achados clínicos e radiológicos sugestivos da doença. Em geral todo o BAAR detectado pela baciloscopia deve ser considerado como *M. tuberculosis* até que se prove o contrário, resultando no início imediato da terapia (14). Todavia, uma baciloscopia negativa não descarta a possibilidade de tuberculose extrapulmonar. Em nosso estudo observou-se que 3/10 das amostras positivas ao cultivo apresentaram baciloscopia negativa.

Por outro lado, resultados positivos à baciloscopia e negativos à cultura são relatados em espécimes clínicos de pacientes submetidos a tratamento para tuberculose (15). As três (03) amostras que foram positivas à baciloscopia e negativas à cultura pertenciam a pacientes não submetidos a tratamento com tuberculostáticos. Em duas das amostras houve crescimento de contaminantes dentro das primeiras 48 horas do cultivo. A terceira amostra apresentou à baciloscopia alinhamento paralelo de fileiras de bacilos (formação em cordões). Este tipo de formação tem sido descrito como uma característica das cepas virulentas de *M. tuberculosis* e relacionado com um lipídio da parede celular, o "fator corda" (6'6'-dimicolato de triose) (16).

Tem sido enfatizado o bom rendimento no cultivo de material hepático e ganglionar (5,17,18). Dos materiais analisados aquele que apresentou maior rendimento tanto à baciloscopia como à cultura foi a biópsia ganglionar, o que foi compatível com achados de outros grupos como referenciado acima. Neste estudo em 24% do gânglios suspeitos foram detecta-

dos BAAR ao exame direto e em 32% isolado cepas de *M. tuberculosis*. Em outros serviços, algumas séries mostraram que cerca de 90% dos gânglios suspeitos continham BAAR (2). Outros grupos encontraram uma rendabilidade de 70 a 90% ao exame bacteriológico direto e de 74 a 100% à cultura, em materiais de biópsias de gânglios suspeitos (5,19).

O rendimento da biópsia hepática e da biópsia de medula óssea na tuberculose disseminada (16 a 66%), é controversa, sendo nos pacientes imunodeprimidos mais contributivas (5). Em nosso estudo dentre os 13 pacientes com diagnóstico de tuberculose extrapulmonar, um (01) teve seu diagnóstico de tuberculose disseminada confirmado pelo isolamento de *M. tuberculosis* em material de biópsia hepática.

CONCLUSÃO

A prevalência de 17,56% de pacientes com diagnóstico de tuberculose extrapulmonar a partir da análise de amostras clínicas de sítios extrapulmonares, demonstrou a importância, em nosso serviço, da utilização da baciloscopia e da cultura na rotina diagnóstica.

A cultura foi o método de eleição para o diagnóstico da forma extrapulmonar de tuberculose e a contribuição da baciloscopia como método de diagnóstico precoce, foi de 9,4% quando considerado o total de pacientes cujas amostras clínicas foram analisadas.

Os resultados obtidos em relação ao rendimento dos dois métodos utilizados, nos leva a recomendar o uso sistemático de ambos para o diagnóstico de tuberculose extrapulmonar em todos os pacientes com sintomas clínicos e/ou radiológicos compatíveis com esta enfermidade.

Endereço para correspondência:

Professora Maria Marta S. Boffo
Rua Marechal Deodoro, 278
96211480 - Rio Grande, RS - Brasil
Tel. (053) 2326270

BIBLIOGRAFIA

1. GRANGE JM, ZUMLA. Paradox of the global emergency of tuberculosis. *Lancet* 1999; 353: 996.
2. SHAFER RW, EDLIN BR. Tuberculosis in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus: Perspective on the Past Decade. *Clinical Infectious Diseases*. 1999; 22: 683-704.
3. Boletim Epidemiológico do Serviço de Doenças Transmissíveis e SIDA /AIDS. 1994.
4. PAULOTT W, GUTIERREZ RS. Vigilância epidemiológica do Programa. In: Picon PD, Rizzon CF, Ott WP. Tuberculose, Epidemiologia, Diagnóstico e Tratamento em Clínica e Saúde Pública. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 1993; 159-224.
5. STELIANIDES S, BELMATOUG N, FANTIN B. Manifestations et diagnostic de la tuberculose extrapulmonaire. *Rev Maladies Respiratoires*. 1997;14: 5S72-5S87.
6. CASTRO KG, WARD JW, SLUTSKER L, BUEHLER JW, JAFFE HW, BERKELMAN RL, CURRAN JW. 1993 Revised classification system for VIH infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Clinical Infectious Diseases*. 1993; 17(4): 802-810.
7. DELOST MD. Introduction to Diagnostic Microbiology: a text and workbook. Mosby. 1997; 310.
8. Ministério da Saúde-Programa Nacional de Controle das DST e AIDS - Instituto Adolfo Lutz. Manual - Bacteriologia da Tuberculose e de outras micobacterioses, isolamento de Micobactérias. 1993: 20.
9. Manual de Bacteriologia da Tuberculose. Ministério da Saúde - FNS / CENEPI / Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. 2 ed. Rio de Janeiro. 1994.
10. RAVIGLIONE MC, NARAIN JP, Kochi * VIH associated tuberculosis in developing countries: clinical features, diagnosis, and treatment. *Bulletin of the World Health Organization*. 1992; 70: 515-526.
11. Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde. Manual de normas para o controle da tuberculose. 3 ed. Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde. 1989.
12. ROBERTS GD, KONEMAN EW, KIM YK. *Mycobacterium*. In: Balows A, Hausler WJ Jr, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology. 1991; 304-339.
13. SOMMERS HM, McCLATCHY JK, MORELLO JÁ. Cumitech 16, Laboratory Diagnosis of micobacteriosis. Washington, DC: American Society for Microbiology. 1993.
14. HOPEWELL PC. Impact in the epidemiology, clinical features, management, and control of tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1992; 15(3): 540-547.
15. KIM TC, BLACKMEN RS, HEATWOLE KM, KIM T, ROCHESTER DF. Acid-Fast Bacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberculosis. *American Review of Respiratory Diseases*. 1984; 129: 264-268.
16. MURRAY PR, ROSENTHAL KS, KOBAYASHI GS, PFALLER MA. Microbiologia Médica. 3 ed. Guanabara Koogan. Cap 40, p 266.
17. CASTILLA J, GUTIERREZ A, GUERRA L, PAZ JP, NOGUES I, RUIZ C, BELZA MJ, CAÑÓN J. Pulmonary and extrapulmonary tuberculosis at AIDS diagnosis in Spain: epidemiological differences and implications for control. *AIDS* 1997, 11: 1583-1588.
18. BEKEDAM HJ, BOEREE M, KAMENYA A, LIOMBA G, NGWIRA B, SUBRAMANYAM VR, HARRIES AD. Tuberculosis lymphadenites, a diagnostic problem in areas of high prevalence of HIV and tuberculosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1997, 91: 294-297.
19. VALENTE MS, CHIEIRA L. Tuberculose extrapulmonar. Revisão Teórica. *Rev Port Pneumol* 1999; V(1): 75-89.