

ARTIGO ORIGINAL

Pesquisa de infecção micobacteriana em hemoculturas de doentes com SIDA, usando o sistema BACTEC 460 TB

EMÍLIA PRIETO (1), TERESA PACHECO (2), MIGUEL VIVEIROS (1), ROSÁRIO BETTENCOURT (1), LAURA BRUM (1), FILOMENA EXPOSTO (1)

RESUMO

Nos doentes em estadios terminais da infecção por VIH (Vírus da Imunodeficiência Humana) são comuns as infecções a micobactérias. O objectivo deste estudo foi avaliar a prevalência de disseminação micobacteriana nestes doentes, por hemocultura e/ou mielocultura, usando o meio BACTEC 13A® para o sistema radiométrico BACTEC 460TB, indicado para o isolamento directo de micobactérias a partir de amostras de sangue. Procedemos a hemoculturas e/ou mieloculturas em 811 doentes, obtendo-se 7,3% de isolamentos numa única amostra por doente. Determinou-se uma prevalência de 5% de *Mycobacterium tuberculosis* e 1,4% de *Mycobacterium avium-intracellulare* causadores de infecção com disseminação hematogénea. De entre os isolados de *Mycobacterium tuberculosis* 31,4% destes apresentam-se como estirpes multirresistentes.

Palavras-chave : Micobactérias; Hemocultura; Detecção-radiométrica; SIDA

- (1) Departamento de Microbiologia do Instituto de Higiene e Medicina Tropical/Universidade Nova de Lisboa
(Directora - Professora Doutora Wanda F. Canas Ferreira)
- (2) Serviço de Patologia Clínica do Hospital Egas Moniz

Recebido para publicação em 96.11.22

ABSTRACT

This study evaluates the prevalency of hematogenous dissemination of mycobacteria in 811 AIDS patients. One blood or bone marrow sample was collected for direct inoculation of the BACTEC 13A radiometric broth (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, USA). There were 7,3% positive cultures (59 patients) with 11 (1,4%) *Mycobacterium avium-intracellulare* isolates and 39 (5%) *Mycobacterium tuberculosis* isolates from which 11 (31,4%) were multidrug-resistant strains.

Key-words: Mycobacteria; Blood culture; Radiometric-detection; AIDS.

INTRODUÇÃO

As infecções a micobactérias têm sido reconhecidas como sendo infecções oportunistas comuns nos doentes em estadios terminais da infecção por VIH (Virus da Imunodeficiência Humana) (1,2). Contudo nas áreas com alta prevalência de tuberculose o *Mycobacterium tuberculosis* é a micobactéria mais frequentemente isolada nesse grupo de doentes, tratando-se na maioria dos casos de infecção com disseminação hematogénea (3).

Até à data, as hemoculturas dos doentes com tuberculose só raramente eram realizadas na rotina diagnóstica, mas dada a emergência da epidemia de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e a possibilidade dos doentes imunodeprimidos terem disseminação hematogénea do *M. tuberculosis*, passou a ser necessário diagnosticar esta e outras micobactérias em circulação.

As técnicas utilizadas para cultura de micobactérias em amostras de sangue incluem a lise por água destilada, saponina ou outro agente lisante de sangue periférico ou aspirado medular, seguido de concentração por centrifugação e inoculação em meios de cultura convencionais (Lowenstein-Jensen (LJ) e Middlebrook 7H10), bifásico (Septi-check) ou de detecção radiométrica (BACTEC 12B Medium - Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, USA) (4). O diagnóstico de rotina de micobacteriémias, num grande número de doentes, não permite a utilização de técnicas de lise-centrifugação pois são morosas e constituem uma potencial fonte de risco

para o operador. Por outro lado, há que ter em conta o potencial risco de contaminação da amostra durante a manipulação e a possível inibição do crescimento devido ao uso de concentrado do sistema Isolator (Wanpole Laboratories, Cranbury, USA) em meio BACTEC 12B (5).

O meio líquido radiométrico 13A para sistema BACTEC 460 TB foi criado especificamente para o isolamento directo de micobactérias a partir de amostras de sangue sem necessidade de lise e concentração da amostra (6), sendo por isso, o método indicado para estudo da disseminação hematogénea das infecções micobacterianas em doentes infectados pelo VIH.

O objectivo deste estudo foi avaliar a frequência de disseminação micobacteriana em doentes com SIDA, por hemocultura e/ou mielocultura, usando o meio BACTEC 13A para o sistema radiométrico BACTEC 460TB. Para esse efeito, procedemos a hemoculturas e/ou mieloculturas em 811 destes doentes, correspondendo os resultados apresentados à frequência de isolamentos numa única amostra por doente.

MATERIAL E MÉTODOS

A população alvo do estudo foi constituída por indivíduos com SIDA provenientes de hospitais da zona da Grande Lisboa. Para as hemoculturas os frascos de meio 13A® (BACTEC 13A Medium - Becton Dickinson - meio Middlebrook 7H13 com ácido palmítico marcado com carbono radioactivo) suplementado com 0,1 ml de PANTA® (mistura de

antibióticos - Polimixina B, Anfotericina B, Acido Nalidixico, Trimetoprim e Azlocilina) e com 0,5 ml de enriquecimento específico para meio 13A, foram inoculados com 5 ml de sangue venoso, colhido após antisepsia da pele. No caso das micoculturas o mesmo meio enriquecido e suplementado foi inoculado com aspirado medular colhido por punção esternal. Uma vez efectuada a colheita, os frascos foram imediatamente enviados ao Laboratório de Micobactérias do Instituto de Higiene e Medicina Tropical e mantidos em estufa a 37 °C durante um máximo de seis semanas.

A leitura do GI (Índice de Crescimento) (7) foi efectuada duas vezes por semana, passando a ser feita diariamente quando o GI era superior a 10. Atingido um GI de 100, e excluída a possibilidade de contaminação, foi feita a identificação do Complexo Tuberculosis pelo teste do NAP (7) seguida de teste de sensibilidade em BACTEC à Isoniazida (INH), Rifampicina (RIF), Etambutol (EMB) e Estreptomina (STM). O critério de multirresistência utilizado neste trabalho foi, resistência a dois ou mais antibióticos utilizados no tratamento da tuberculose, incluído obrigatoriamente a isoniazida e rifampicina (8). As micobactérias não tuberculosas foram identificadas pelos métodos convencionais.

RESULTADOS

De Julho de 1994 a Setembro de 1996 foram

processados em sistema BACTEC 1189 hemoculturas e mieloculturas (1073 hemoculturas e 116 mieloculturas), provenientes do Hospital Egas Moniz (729), Hospital Garcia de Orta (142), Hospital Santa Maria (113), Hospital Distrital de Cascais (106), Hospital Prisional de Caxias (43) e outros (56).

Dos 1189 exames efectuados, correspondendo a 811 doentes, 1087 (91,4%) foram negativos, 82 (6,9%) positivos e 20 (1,7%) contaminações. Para as 82 culturas positivas, correspondendo a 59 doentes, o tempo médio de detecção foi de 23,5 dias (mínimo 3 e máximo 52 dias) constando os resultados da Tabela I.

A prevalência de infecção micobacteriana disseminada neste grupo de doentes foi de 7,3% dos quais cerca de 5% devido a infecções por *Mycobacterium tuberculosis* e 1,4 % a infecções por *Mycobacterium avium-intracellulare*.

Relativamente aos 39 *M. tuberculosis* isolados, foi possível fazer o teste de sensibilidade aos antibióticos a 35 dessas estirpes obtendo-se os seguintes resultados: 18 estirpes (51,4%) foram sensíveis aos 4 antibióticos de primeira linha do tratamento da tuberculose - isoniazida, rifampicina, etambutol e estreptomina. Nas restantes 17 estirpes (48,6%) encontraram-se uma ou mais resistências aos 4 antibióticos de primeira linha cuja distribuição se encontra descrita na Tabela II, salientando-se o isolamento de 11 estirpes multirresistentes (resistência a dois ou mais antibióticos incluído obrigatoriamente a isoniazida e rifampicina pelo menos) correspondendo a 31,4% de *M. tuberculosis* multirresistentes.

TABELA I

Número e frequência de micobactérias isoladas nos 59 doentes com culturas positivas

	NÚMERO DE CASOS	FREQUÊNCIA (%)
<i>M. tuberculosis</i>	39	66,1
<i>M. avium-intracellulare</i>	11	18,6
Outras micobactérias	9	15,3
Total de micobactérias	59	100,0

TABELA II

Distribuição percentual de resistências das 17 estirpes de *M. tuberculosis* com uma ou mais resistências aos 4 antibióticos: isoniazida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (EMB) e estreptomicina (STM)

TIPOS DE RESISTÊNCIAS	NÚMERO	FREQUÊNCIA (%)
INH	5	29,4
RIF	0	0
EMB	0	0
STM	0	0
INH + RIF	1	5,9
INH + STM	1	5,9
INH + RIF + STM	8	47,0
INH + RIF + EMB	1	5,9
INH + RIF + EMB + STM	1	5,9
TOTAL DE RESISTÊNCIAS	17	100,0

DISCUSSÃO

A hemocultura em sistema BACTEC, utilizando os frascos de 13 A sem preparação prévia da amostra, parece ser uma técnica fácil e de boa rentabilidade na recuperação das micobactérias existentes em circulação. Observámos uma baixa taxa de contaminação devida à utilização sistemática da mistura de antibióticos. Assim, revelou-se uma técnica de fácil execução, em tudo semelhante à técnica de hemocultura para outros microrganismos.

As culturas de 811 doentes com SIDA mostram que a prevalência de infecção micobacteriana disseminada foi de 7,3%.

Este estudo vem confirmar a grande frequência com que a infecção disseminada por *M. tuberculosis* (5%) ocorre nos doentes infectados pelo VIH, superior à de infecções por outras micobactérias incluindo o complexo *M. avium-intracellulare* (1,4%) sempre apontado como o mais prevalente nas casuísticas de outros países (9,10). Estes resultados vêm reafirmar que no nosso país a tuberculose é a infecção micobacteriana com maior incidência neste grupo de doentes

e por isso deve ser motivo da nossa vigilância e preocupação.

A prevalência observada de disseminação de *M. tuberculosis* (5%), no grupo estudado, representa um valor cerca de 100 vezes superior ao da incidência de novos casos de tuberculose no país (cerca de 51,1 casos/100 000 habitantes em 1994 (11)). Este resultado foi estabelecido a partir de uma única hemocultura por doente, pelo que pesquisas sequenciais certamente indicariam uma ainda maior prevalência.

É de assinalar, nesta amostra, a grande percentagem (31,4%) de estirpes de *M. tuberculosis* multirresistentes, as quais estão actualmente sob estudo epidemiológico.

CONCLUSÃO

Tratando-se do primeiro estudo de hemoculturas para micobactérias realizado no país, estas observações revelam a necessidade de prossecução das pesquisas destinadas a um melhor entendimento da extensão do problema da tuberculose que existe entre

nós. No imediato, podemos afirmar que o método de cultura utilizado é adequado para a recuperação de micobactérias existentes em circulação em doentes infectados pelo VIH, apresentando-se como um instrumento poderoso para um diagnóstico laboratorial precoce das formas disseminadas de tuberculose.

Tendo como base o valor de 5% de prevalência de tuberculose disseminada em doentes com SIDA, avaliada a partir de uma hemo/mielocultura, este trabalho indicia que a tuberculose neste grupo de doentes, atinge hoje valores que são motivo de preocupação exigindo uma atenta vigilância pela consequente repercussão na Saúde Pública.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Directora deste Departamento, Profª Drª Wanda F. Canas Ferreira e ao Prof. Hugo Ayres Lopes David todo o empenho na coordenação científica deste trabalho. Ao Dr. João Pina de Almeida do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Egas Moniz, assim como a todos os colegas dos Serviços de Patologia Clínica dos Hospitais que colaboraram neste estudo, todo o apoio prestado.

Este trabalho foi financiado pela Comissão Nacional de Luta Contra a SIDA (Projecto N.º 9-1.10.6./94) com a colaboração financeira da Fundação Calouste Gulbenkian na aquisição de equipamento.

BIBLIOGRAFIA

1. CENTERS OF DISEASE CONTROL - Tuberculosis and human immunodeficiency virus infection: recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis (ACET). MMWR 1989; 38:236-38.
2. CENTERS OF DISEASE CONTROL - Tuberculosis and AIDS- Connecticut. MMWR 1987; 36:133-42.
3. SHAFER R., GOLDBERG R., SIERRA M., GLATT A. - Frequency of *Mycobacterium tuberculosis* bacteremia in patients in an area endemic for AIDS. Am. Rev. Resp. Dis. 1989; 140:1611-1613.
4. YOUNG L., INDERLIED C., BERLIN O., GOTTLIEB M. - Mycobacterial infections in AIDS patients, with emphasis on the *Mycobacterium avium* complex. Rev. Inf. Dis. 1986; 8:1024-1033.
5. WASILAUSKAS B., MORRELL JR. R. - Inhibitory effect of the Isolator blood culture system on growth of *Mycobacterium avium-intracellulare*. J. Clin. Microbiol. 1994; 32:654-657.
6. STRAND C., EPSTEIN C., VERZOSA S., EFFATT E., HORMOZI P., SIDDIQI S. - Evaluation of a new blood culture medium for mycobacteria. Am. J. Clin. Path. 1989; 91:316-318.
7. SIDDIQI S. - BACTEC TB System - Product and procedure manual. Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, U.S.A.
8. CENTERS OF DISEASE CONTROL - Initial therapy for Tuberculosis in the era of multidrug resistance: recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis (ACET). MMWR 1993; 42:1-8.
9. VON REYEN C., ARBEIT R., TOSTESON A., RISTOLA M., BARBER T., WADDELLR., SOX C., BRINDLE R., GILKS C., RANKI A., BARTHOLOMEW C., EDWARDS J., FALKINHAM III J., O'CONNOR G. - The international epidemiology of disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in AIDS. AIDS 1996; 10:1025-1032.
10. NIGHTINGALE S., BYRD L., SOUTHERN P., JOKUSCH J., CAL S., WYNNE B. - Incidence of *Mycobacterium avium-intracellulare* complex bacteremia in human immunodeficiency virus-positive patients. J. Inf. Dis. 1992; 165:1082-1085.
11. DIRECÇÃO GERAL DE SAÚDE - Tuberculose em Portugal. 1994.