

# Isolamento de micobactérias provenientes de amostras clínicas da região de Rio Claro: análise da frequência

## Mycobacterial isolates from patients clinical samples from Rio Claro region: frequency analysis

RIALA6/1421

Ariane Christine Degasperi BERTOLETTI<sup>1</sup>, Kaizer José Ferreira ALVES<sup>1</sup>, Erica CHIMARA<sup>2\*</sup>, Dalva Cristina Girello AILY<sup>1</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>2</sup>Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, Av. Dr. Arnaldo, 351, 9º andar, Cerqueira Cesar, São Paulo/SP, CEP 01246-902. Fone: (11) 3068-2895. e-mail: echimara@ial.sp.gov.br

<sup>1</sup>Centro de Laboratório Regional de Rio Claro VII, Instituto Adolfo Lutz

Recebido: 03.06.2011 - Aceito para publicação: 22.12.2011

### RESUMO

Os agentes etiológicos da tuberculose pertencem ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MT), porém outras espécies do gênero e de importância médica, denominadas micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT), são frequentemente isoladas. A identificação correta e rápida das MNT é obrigatória para o diagnóstico, auxiliando o clínico na conduta terapêutica. A frequência da MT e MNT foi avaliada no período de 2003 a 2009, analisando-se 6.460 amostras clínicas, sendo 5.696 (88,2%) culturas negativas para micobactéria, 715 (11,1%) culturas positivas e 49 (0,7%) não avaliadas. Os isolados mais frequentes foram MT 78,6% (562). Dentre as MNT, a espécie mais isolada foi *M. gordonae* em 3,09% (22) das amostras, seguida por *M. fortuitum* em 2,39% (17), Complexo *M. avium* (MAC) em 2,25% (16), *M. kansasii* em 1,97% (14) e *M. abscessus* em 1,83% (13). Quando relacionado ao número de pacientes, o complexo MAC foi o mais isolado (19,4%). Foi observado um declínio na frequência de isolamento de MT no período estudado, enquanto a frequência de MNT teve um aumento de 22,8%. A alta frequência de MT nas amostras é uma constante preocupação para a saúde pública, mas o aumento de doentes com MNT salienta a importância da notificação e do monitoramento epidemiológico desses pacientes.

**Palavras-chave.** *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculose, micobactérias não causadoras de tuberculose, micobacterioses.

### ABSTRACT

The etiologic agents of tuberculosis belong to *Mycobacterium tuberculosis* Complex (MT), but other pathogenic species of the same genus known as Nontuberculous Mycobacteria (NTM) are often isolated. The rapid and accurate identification of these organisms is mandatory for diagnosing, and supporting the clinician for accurate treatment. Aiming to evaluate the frequency of MT and NTM, during 2003 to 2009, 6,460 samples were analyzed, being 5,696 (88.2%) negative for mycobacteria, 715 (11.1%) positive and 49 (0.7%) no identification was done. The MT isolates were most frequent, 78.6% (562). Among the NTM, the most isolated specie was the *M. gordonae* 3.09% (22), followed by *M. fortuitum* 2.39% (17), *M. avium* Complex (MAC) 2.25% (16), *M. kansasii* 1.97% (14) and *M. abscessus* 1.83% (13). However, the MAC was the mostly isolated (19.4%) when they were associated with the number of patients. A decline in the frequency of MT isolation was observed for the studied period, while the frequency of NTM has increased by 22.8%. The high frequency of MT isolation from clinical samples is a steady concern of public health, but the increase of the number of patients with MNT emphasizes the relevance of the notification and the epidemiological monitoring of these patients.

**Keywords.** *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis, nontuberculous mycobacteria, mycobacterium infections.

## INTRODUÇÃO

Apesar do crescimento e do investimento nos programas de saúde pública, o aumento de casos de tuberculose (TB) e, principalmente, de micobacterioses tem surpreendido pesquisadores e profissionais da área da saúde. Nas últimas décadas, a incidência da tuberculose nos países desenvolvidos e em desenvolvimento tem aumentado devido à deterioração dos serviços públicos de saúde, pobreza e migração. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>1</sup>, cerca de oito milhões de pessoas contraem a doença a cada ano e três milhões morrem em decorrência dela e 95% dos casos ocorrem nos países em desenvolvimento. No Brasil, em 2009, houve 71.640 casos novos notificados, sendo que o Estado de São Paulo foi responsável por cerca de 15.600 notificações naquele ano, o maior contingente de casos no Brasil em números absolutos. O Estado de São Paulo possui cerca de 18.000 casos novos de tuberculose por ano, com incidência de 30/100.000 casos/habitante no interior do estado, região onde se localizam os municípios que compõem a Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba<sup>2</sup>. No Brasil, a tuberculose é a quarta causa de mortalidade por doenças infecciosas e a primeira entre os pacientes com AIDS<sup>3</sup> e no Estado de São Paulo 75% dos casos de tuberculose pulmonar são de pacientes HIV positivos<sup>2</sup>. A doença é causada pelas espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis* – MT (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti* e *M. pinipedi*)<sup>4</sup>.

Assim como as espécies de MT, outras micobactérias de importância médica estão sendo frequentemente isoladas, como as denominadas micobactérias não causadoras de tuberculose – MNT, agentes de micobacterioses<sup>5</sup>. Dentre as espécies de MNT clinicamente importantes estão as do Complexo *Mycobacterium avium* – MAC (*M. avium*, *M. avium* subespécie *paratuberculosis*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum*), *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae* e *Mycobacterium abscessus*<sup>6</sup>. No Brasil, nos últimos seis anos, muitos surtos causados por MNT de crescimento rápido foram descritos<sup>7</sup>. Estes organismos podem contaminar equipamentos médicos, causando infecções nosocomiais e surtos, os quais apontam como causas instrumentos cirúrgicos contaminados, soluções, próteses e instrumentos de limpeza<sup>8</sup>. Atualmente, existem mais de 160 espécies e subespécies de micobactérias oficialmente aceitas, que ocorrem naturalmente em diversos reservatórios ambientais<sup>9</sup>. Uma vez que o tratamento e a epidemiologia

das micobacterioses diferem significativamente da tuberculose, a identificação da espécie é importante para o estabelecimento da correlação clínico-laboratorial, que possibilitará o correto diagnóstico das micobacterioses, especialmente em populações com alta prevalência de tuberculose e co-infecção tuberculose e HIV<sup>10-12</sup>.

Critérios internacionais, como os recomendados pela *American Thoracic Society* (ATS), estabelecem o diagnóstico destas infecções, enfatizando o isolamento da mesma espécie de micobactéria em repetidas amostras biológicas, obtidas de sítios não estéreis, ou a obtenção de cultivo puro de amostras de sítios estéreis<sup>13</sup>. A diversidade de espécies de MNT isoladas mostra que o diagnóstico da doença por MNT exige muita cautela, pois o seu isolamento de espécimes clínicos não estéreis pode significar colonização transitória ou contaminação<sup>12</sup>.

A capacidade das MNT em produzir doença está claramente documentada na literatura e sua importância vem aumentando progressivamente. Até 1980, a maioria dos casos descritos sobre infecções causadas por MNT eram doenças pulmonares, principalmente por *M. kansasii* e MAC, e outras doenças cutâneas. Após 1980, houve um aumento nas taxas de isolamento das MNT, com grande contribuição da pandemia de AIDS<sup>14</sup>. Porém os dados sobre a frequência das espécies e a prevalência da doença não são conhecidos, uma vez que as micobacterioses não são de notificação compulsória<sup>15</sup>. A partir de 2009, apenas os casos de micobactérias de crescimento rápido começaram a ser notificados, por efeito da Resolução da ANVISA RDC nº 08, de 27 de fevereiro de 2009<sup>16</sup>. Mas estes dados são insuficientes para mostrar o panorama das micobacterioses no Brasil.

Desse modo, muitos estudos em diferentes países estão sendo realizados no intuito de mostrar que as micobacterioses estão se tornando um grave problema de saúde pública. Na Coreia do Sul, um estudo de 14 anos mostrou que houve um aumento das infecções pulmonares causadas por MNT, principalmente em pacientes imunocompetentes, sendo *M. avium* a espécie mais frequente<sup>17</sup>. Na Índia, foi realizada uma pesquisa de quatro anos em uma região endêmica de tuberculose caracterizando isolados tanto de espécimes pulmonares, quanto de extrapulmonares. De 133 isolados, 46% preencheram os critérios clínicos, radiológicos e microbiológicos para serem considerados casos de micobacterioses. Os demais isolados eram prováveis agentes de infecção ou somente colonização do material biológico<sup>18</sup>. Em Portugal, um levantamento de três

anos na cidade de Lisboa buscou identificar as espécies de MNT por meio de técnicas moleculares em cepas isoladas de 12 hospitais, evidenciando a importância do rápido diagnóstico destas micobactérias para a escolha da terapia adequada<sup>19</sup>. Arend e colaboradores<sup>20</sup> fizeram um levantamento de diversos estudos quanto ao diagnóstico e tratamento das micobacterioses pulmonares e destacaram que as infecções por MNT estão cada vez mais crescentes e que em alguns países podem superar os índices de prevalência da tuberculose.

A identificação da variabilidade de espécies de MNT, responsáveis por doenças pulmonares, está aumentando devido ao avanço no uso das técnicas moleculares<sup>20</sup>. Arend e colaboradores<sup>20</sup> apontam a importância destas técnicas para regiões como a África, que apesar da elevada incidência de tuberculose, possui grande frequência de isolamento de MNT. A baciloscopia é o principal método diagnóstico utilizado e, em países que não possuem técnicas adequadas de identificação, as micobacterioses podem ser confundidas com a tuberculose<sup>20</sup>. De acordo com Chung e colaboradores<sup>21</sup>, a história de tratamento prévio para tuberculose é mais frequente em pacientes com MNT ou tuberculose multidroga resistente, uma vez que a terapia é baseada na baciloscopia.

Frente a este cenário, o objetivo deste estudo foi identificar a frequência de isolamento de MT e MNT, avaliando a variabilidade de espécies isoladas de amostras clínicas de pacientes atendidos pelo Centro de Laboratório Regional de Rio Claro VII do Instituto Adolfo Lutz (CLRRC VII), no período entre janeiro de 2003 a dezembro de 2009.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram obtidos por meio de um estudo retrospectivo dos registros dos resultados de exames laboratoriais de pacientes sintomáticos respiratórios ou com micobacteriose extrapulmonar. As amostras foram enviadas ao Centro de Laboratório Regional de Rio Claro VII (CLRRC VII) do Instituto Adolfo Lutz (IAL), no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2009, pelos municípios pertencentes à Divisão Regional de Saúde-X de Piracicaba (DRS-X) abrangendo 26 municípios, divididos em quatro colegiados gestores: Piracicaba; Rio Claro; Araras; e Limeira. Nos colegiados de Rio Claro e Piracicaba estão inclusos dados de duas Penitenciárias e um Centro de Ressocialização e um Centro de Detenção Provisório e um Centro de Ressocialização, respectivamente.

Os dados dos pacientes, assim como os resultados obtidos dos testes de identificação, foram transportados e armazenados no banco de dados do programa *Microsoft Access* e analisados pelo programa R<sup>22</sup> por análise estatística descritiva.

No estudo foram verificados: número de amostras analisadas; idade e sexo dos pacientes; sítio de isolamento; número de culturas positivas para MT e MNT e resultado da identificação das espécies. Foi considerado somente o resultado de diagnóstico do paciente. Para pacientes com mais de um isolado analisado num período de 12 meses, foi considerado para o presente estudo somente o resultado do primeiro isolado.

As amostras clínicas analisadas foram: escarro; lavado brônquico; aspirado de abscesso; hemocultura; líquidos cefalorraquidiano e pleural e urina.

Os testes laboratoriais foram realizados pelas técnicas padronizadas de acordo com o Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias<sup>15</sup>: cultura das amostras submetidas à descontaminação pelo método de Petroff com cultivo em meio de Löweinstein Jensen (LJ) e pelo método MGIT-BD Manual (Becton Dickinson).

As culturas positivas foram enviadas ao Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses do Instituto Adolfo Lutz Central (São Paulo) para identificação por meio de provas fenotípicas tradicionais e teste molecular pelo método *Polymerase Chain Reaction e Restriction Enzyme Analysis* (PRA-*hsp65*)<sup>23</sup>.

Em atenção aos aspectos éticos e legais da pesquisa envolvendo seres humanos, preconizados pela resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz/SP, segundo o protocolo nº LR 2810/2010-IAL.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número total de pacientes sintomáticos respiratórios, cujas amostras foram consideradas com diagnóstico e que foram analisadas no período estudado, foi 6.460. A Tabela 1 mostra o número de amostras obtidas nos anos de 2003 a 2009, das quais 5.696 (88,2%) apresentaram resultado negativo para micobactéria na cultura e 715 (11,1%) resultado positivo. As culturas positivas foram encaminhadas ao IAL Central para realizar o teste de identificação e de sensibilidade. Destas,

49 (0,7%) não foram identificadas, pois 39 estavam contaminadas e 10 não apresentaram crescimento após novo cultivo para o teste de identificação. A contaminação pode ocorrer pelas condições de transporte das amostras clínicas e pela presença de organismos da microbiota normal humana que não foram eliminados pelos métodos de descontaminação. A ausência de crescimento pode ser explicada pelo isolamento de micobactérias fastidiosas, que necessitam de condições especiais para o crescimento e o subcultivo em meios comuns não permite seu crescimento. Por isso, estas amostras não foram consideradas para os cálculos de frequência.

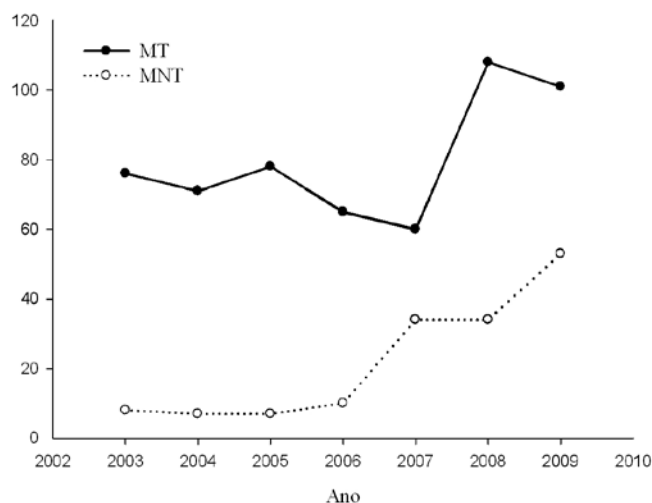
Das culturas positivas, 562 (78,6%) foram identificadas como pertencentes ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) e 153 (21,4%) identificadas como MNT. Na Figura 1 pode ser observado o aumento da frequência do isolamento de MNT, que em 2003 era de oito isolados (9,1%) chegando em 2009 a 53 isolados (31,9%), um aumento de 22,8% em seis anos. Já os isolados de MT em 2003 eram 76 (86,4%) e em 2009 foram para 101 (60,8%), com uma diminuição proporcional no período estudado. Usando métodos moleculares para a identificação de MNT em amostras clínicas, no período de 2005 a 2009, em Lisboa (Portugal), Couto e colaboradores<sup>19</sup> confirmaram o isolamento de 87,4% de MT e 12,6% de MNT, nas quais se obteve um aumento de 8,7% em 2005 para 15,2% em 2009, sendo o isolado mais frequente o *M. avium* (24,8%), seguido por *M. gordonae* (15,4%).

A frequência de todas as espécies isoladas está demonstrada na Tabela 2, sendo que as culturas que apresentaram resultado de identificação para as espécies *M. avium*, *M. avium* subespécie *paratuberculosis*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum* foram agrupadas no Complexo *M. avium* (MAC) para fins de contagem<sup>24</sup>. De todas as culturas positivas com resultado de identificação, a cultura de MT foi a mais frequente (78,6%). Dentre as espécies de MNT, a mais isolada foi *M. gordonae* (3,09%). Esse resultado difere das espécies de MNT que mais comumente causam infecções<sup>6,25,26</sup> pois a *M. gordonae* é considerada saprófita e raramente patogênica, mas pode causar infecções pulmonares e cutâneas, principalmente em pacientes imunocomprometidos. O estudo realizado em um hospital pelo Departamento do Laboratório de Medicina, da Universidade Inje, na Coreia, destaca os crescentes casos de infecção nosocomial oportunistas por MNT. Um levantamento das espécies de MNT presentes na área hospitalar foi realizado e verificou-

**Tabela 1.** Resultados dos exames de cultura das amostras de pacientes sintomáticos respiratórios para diagnóstico de tuberculose e micobacteriose no período entre 2003 e 2009, Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba

Resultado da cultura	Ano							Total (%)
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Negativo	698	888	676	773	875	882	904	5696 (88,2)
Positivo	84	81	85	75	94	142	154	715 (11,1)
NR	4	2	3	6	12	10	12	49 (0,7)
<b>Total</b>	<b>786</b>	<b>971</b>	<b>764</b>	<b>854</b>	<b>981</b>	<b>1034</b>	<b>1070</b>	<b>6460 (100)</b>

NR= Culturas positivas em que não foi realizado teste de identificação



**Figura 1.** Frequência de isolados identificados como Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) e Micobactérias Não Tuberculosas (MNT) da Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba no período de 2003 a 2009

se que, dentre as espécies saprófitas, a mais isolada foi *M. gordonae* (73,3%) e a *M. mucogenicum* (16,7%), entre as potencialmente patogênicas<sup>27</sup>.

De acordo com Piersimoni e Scarparo<sup>28</sup> ainda não está claro se o aumento das MNT é devido a sua crescente prevalência no decorrer do tempo ou ao aprimoramento das técnicas de detecção e identificação. No IAL Rio Claro, a cultura líquida foi implantada a partir de 2007 e os dados obtidos na frequência de MNT mostram o aumento não somente na quantidade, como também na diversidade de espécies isoladas (Tabela 2). Nos anos de 2003 a 2006 a média de isolamento de MNT foi de 4,87%, chegando a 26,85% no período de 2007 a 2009. Isso mostra que, na região estudada, um dos motivos do aumento da frequência de MNT foi a implantação da cultura líquida no diagnóstico, uma vez que o método de identificação utilizado (PRA-*hsp65*) era o mesmo nos dois períodos estudados.

**Tabela 2.** Distribuição anual da frequência das espécies de micobactérias isoladas da Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba, período de 2003 a 2009

Espécie	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total	%
CLA	0	0	0	1	0	0	0	1	0,14
<i>M. arupense</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0,14
<i>M. chelonae</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0,14
<i>M. flavescens</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	0,14
<i>M. malmoense</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0,14
<i>M. mucogenicum</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	0,14
<i>M. rhodesiae</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	0,14
<i>M. shimoidi</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0,14
<i>M. smegmatis</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	0,14
<i>M. smegmatis</i> , <i>M. mageritense</i> , <i>M. goodii</i> **	0	0	0	0	0	1	0	1	0,14
<i>M. terrae</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0,14
<i>M. chitae</i> , <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. nonchromogenicum</i> **	0	0	0	0	0	1	1	2	0,28
<i>M. farcinogenes</i>	0	0	0	0	1	1	0	2	0,28
<i>M. gordonae</i> , <i>M. mageritense</i> , <i>M. smegmatis</i> **	0	0	0	0	0	0	2	2	0,28
<i>M. lentiflavum</i>	0	0	0	1	0	1	0	2	0,28
Presuntivo MNT	2	0	0	0	0	0	0	2	0,28
<i>M. intracellulare</i> , <i>M. chimaera</i> **	0	0	0	0	0	1	2	3	0,42
<i>M. szulgai</i>	1	0	0	0	1	1	0	3	0,42
<i>M. peregrinum</i>	0	1	0	0	2	0	1	4	0,56
Cultura mista*	0	2	0	0	0	2	2	6	0,84
<i>M. nonchromogenicum</i>	0	0	1	1	1	1	2	6	0,84
<i>M. abscessus</i> subsp. <i>bolletii</i>	0	0	0	0	0	2	5	7	0,98
<i>M. abscessus</i> subsp. <i>abscessus</i>	0	1	1	0	2	2	7	13	1,83
<i>M. kansasii</i>	3	1	0	0	3	4	3	14	1,97
MAC	2	1	1	1	5	1	5	16	2,25
CRA	0	0	0	0	5	2	10	17	2,39
<i>M. fortuitum</i>	0	1	1	1	5	4	5	17	2,39
<i>M. gordonae</i>	0	0	2	2	5	8	5	22	3,09
MT	76	71	78	65	60	111	101	562	78,51
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>78</b>	<b>85</b>	<b>72</b>	<b>94</b>	<b>142</b>	<b>153</b>	<b>708</b>	<b>100,0</b>

CLA= micobactéria de crescimento lento acromógena; CRA= micobactéria de crescimento rápido acromógena; CLE= micobactéria de crescimento lento escotocromógena; MT= Complexo *Mycobacterium tuberculosis*; MAC= Complexo *Mycobacterium avium*; MNT= micobactéria não causadora de tuberculose.

\*Cultura mista com duas ou mais espécies de micobactéria.

\*\*O método molecular chegou a um perfil comum a várias espécies.

Dentre as espécies mais frequentes estão a *M. fortuitum* (2,39%), o Complexo *M. avium* (2,25%), a *M. kansasii* (1,97%) e a *M. abscessus* (1,83%); todas classificadas como potencialmente patogênicas, de acordo com a literatura<sup>15</sup>. Porém, quando analisada a frequência de isolados relacionados ao número de casos<sup>13</sup>, obteve-se o total de 31 casos de micobacterioses: 6 (19,4%) MAC; 4 (12,9%) *M. kansasii*; 3 (9,7%) *M. fortuitum*; 3 (9,7%) *M. abscessus*; 2 (6,5%) *M. peregrinum*;

1 (3,2%) *M. nonchromogenicum*; 5 (16,1%) Micobactérias de Crescimento Rápido Acromógena (MCR); e 7 (22,6%) *M. abscessus* subsp. *bolletii*.

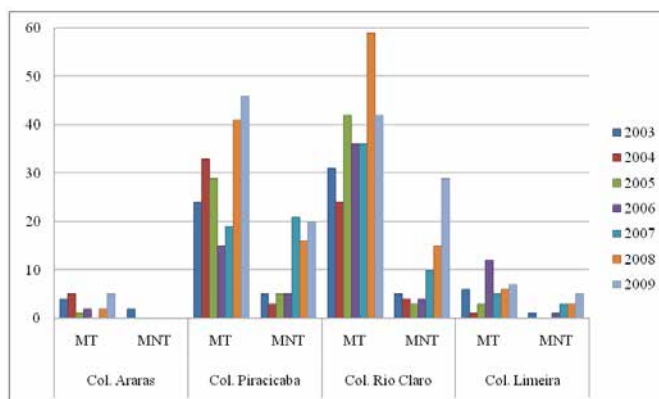
Pedro e colaboradores<sup>12</sup> fizeram um estudo das espécies de MNT isoladas da região de São José do Rio Preto no período de 1996 a 2005 e verificaram que as espécies mais frequentes foram as do Complexo *M. avium* (57,4%), seguidas por *M. gordonae* (10,4%) e *M. fortuitum* (7,9%). Na região da Baixada Santista, no período de 2000 a

2005, Zamarioli e colaboradores<sup>11</sup> identificaram com maior frequência 65 (33,6%) cepas de *M. kansasii*, 33 (17%) do Complexo *M. avium* e 26 (13,4%) de *M. fortuitum*. No levantamento da diversidade de MNT no Estado de São Paulo, as três espécies mais significativas identificadas foram as do Complexo *M. avium* (64,9%), *M. kansasii* (12,2%) e *M. gordonae* (10,2%)<sup>14</sup>. No estudo do Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul, Moraes e colaboradores<sup>29</sup> analisaram, nos anos 2003 e 2004, 15 MNT que foram identificadas como *M. avium* (8) e *M. fortuitum* (3), utilizando o método molecular PRA-*hsp65*. Todos estes estudos mostram que as espécies mais frequentes nos isolados foram *M. avium* e *M. kansasii*. Considerando a frequência das espécies de todos os isolados obtidos neste estudo (Tabela 2), o resultado dos estudos anteriores<sup>11,12,14,29</sup> não foi observado no presente estudo, que detectou *M. gordonae* e *M. fortuitum* como as mais frequentes, padrão também observado em outros países.

Em um estudo realizado em uma região endêmica de tuberculose em Mumbai (Índia), Shenai e colaboradores<sup>18</sup> analisaram 133 amostras, onde 127 foram confirmadas como MNT, sendo 81% de amostras pulmonares e 19% de amostras extrapulmonares. Entre as MNT de crescimento rápido, *M. fortuitum* (41%) e *M. abscessus* (59%) foram predominantes e entre as de crescimento lento, *M. intracellulare* (40%), *M. simiae* (35%), *M. kansasii* (6%), *M. gordonae* (4%), *M. szulgai* (2%) e *M. avium* (1%).

Salicio e colaboradores<sup>30</sup> isolaram 116 cepas de MNT e, seguindo os padrões internacionais para definição de micobacterioses, obtiveram repetidamente 46 episódios de isolamento de 42 pacientes. Diferente do que comumente é isolado, o agente mais frequente foi *M. xenopi* (16 casos), seguido por *M. avium* (12), *M. kansasii* (7), *M. fortuitum* (5), *M. malmoense* (2) e outras espécies com apenas um caso cada. Esses dados mostram que, além da grande variabilidade de espécies que são identificadas, existe uma predominância de espécies dependendo da região geográfica. Desse modo, no presente estudo, levantamos a hipótese de que a região possui um habitat mais favorável para as espécies de *M. gordonae* e *M. fortuitum*.

A frequência das amostras enviadas pelos municípios da DRSX ao CLRRCCVII, durante todo período de estudo, foi analisada e, para melhor interpretação, foram agrupados nos respectivos Colegiados Gestores e distribuídos anualmente. A Figura 2 representa a distribuição anual dos resultados de cultura, quantificando



**Figura 2.** Frequência de isolados identificados como Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) e Micobactérias Não Tuberculosas (MNT) nos respectivos Colegiados Gestores da Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba no período de 2003 a 2009

**Tabela 3.** Número de casos positivos de MT e MNT de detentos dos Centros de Ressocialização de Rio Claro e Piracicaba, Centro de Detenção Provisória de Piracicaba e Penitenciárias I e II de Itirapina, da Divisão Regional de Saúde X de Piracicaba, no período de 2003 a 2009

Município	Ano							Total
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Piracicaba	1	8	2	4	7	11	21	54
Itirapina	19	10	16	17	15	28	30	135
Rio Claro	0	1	2	2	0	0	0	5
<b>Total</b>	20	19	20	23	22	39	51	194

MT= *Mycobacterium tuberculosis*; MNT= micobactéria não causadora de tuberculose

as amostras que foram positivas para MT e positivas para MNT provenientes de cada um dos Colegiados Gestores da DRS X. Além dos municípios desta região, foram consideradas oito análises provenientes do município de Tietê (SP), que estavam nos registros avaliados do CLRRCC VII, todas positivas para MT. Também foram consideradas mais oito amostras positivas para MT, cujo município não foi informado. Apesar do Colegiado de Piracicaba possuir o maior número de cidades da região (11 cidades), o Colegiado de Rio Claro (seis cidades) apresentou a maior frequência de isolamentos, representando 47,7% do total.

Na Tabela 3 estão apresentadas as amostras positivas para MT e MNT isoladas de pacientes sintomáticos respiratórios que vivem em confinamento. As amostras vieram dos Centros de Ressocialização de Rio Claro e Piracicaba, do Centro de Detenção Provisória de Piracicaba e das Penitenciárias I e II de Itirapina. A condição de vida desta população eleva o risco de infecção, devido à presença de pacientes

bacilíferos, como já demonstrado em literatura<sup>31,32</sup>, por isso ocorre alta frequência de MT e/ou MNT neste grupo, considerando-se que o total de amostras positivas para tuberculose e micobacterioses foi de 715 e este grupo representa 27,13% das amostras positivas.

O sítio com maior frequência de isolamento foi o pulmonar, com 706 espécimes, sendo o escarro o material de maior isolamento com 501 (70,9%) MT e 126 (20,2%) MNT, totalizando 627 isolados, 87,7% do total. O outro material pulmonar foi o lavado brônquico, com 54 (68,4%) isolados de MT e 25 (31,6%) de MNT, totalizando 79 (11,0%) isolados. Os demais materiais analisados eram extrapulmonares (líquido pleural, líquido cefalorraquidiano, sangue, urina e aspirado de abscesso) correspondendo a 1,3% do total das amostras. Ueki e colaboradores<sup>14</sup> e Pedro e colaboradores<sup>12</sup> também observaram que a maioria dos isolamentos foi de origem pulmonar.

Quanto à idade e gênero dos pacientes acometidos por tuberculose e micobacterioses, foram consideradas somente as amostras que apresentaram positividade para MT e/ou MNT, ou seja, 715 registros. A faixa etária mais frequente foi de 21 a 30 anos (26,1%), mas considerando também a faixa etária dos 31 aos 40 anos, os isolados totalizaram 47,6%. Estes grupos correspondem aos indivíduos que se encontram em sua fase economicamente mais produtiva, concorrendo para o incremento do ônus que a doença representa para os cofres públicos e para a sociedade<sup>33,34</sup>. A idade máxima foi de 88 anos e mínima de 13 anos. Porém, a idade ou data de nascimento não informado nos registros de 87 pacientes, representou 12,2% do total de casos estudados. Esses dados poderiam mudar a faixa etária mais frequente se fossem contabilizadas as outras idades. Esse achado reforça a importância da informação correta de todos os dados do paciente para um levantamento epidemiológico mais preciso. Quanto ao gênero, 195 (27,3%) pertenciam ao gênero feminino e 520 (72,7%) ao gênero masculino. Analisando o gênero com relação ao grupo identificado, 60,0% dos pacientes masculinos tiveram isolamento de MT e 12,7% MNT. Dentre os pacientes femininos, 18,6% tiveram isolamento de MT e 8,7% MNT. Nogueira e colaboradores<sup>32</sup> em João Pessoa (PB) e Zocche e Silva<sup>33</sup> no município de Tubarão (SC) também observaram dados semelhantes aos obtidos neste estudo. Vale ressaltar que dentre essas amostras estão agrupadas também as dos detentos, na grande maioria homens, o que pode gerar uma tendência para uma maior frequência do gênero masculino. Este fato pode explicar a maior frequência de homens com

MNT, dado que difere da literatura, que mostra uma maior frequência de mulheres com micobacterioses<sup>35,36</sup>. Na Coréia do Sul, a idade média de pacientes acometidos por micobacterioses foi de 63 anos, sendo que dentre esses pacientes 43,8% eram homens e 56,2% mulheres<sup>17</sup>. Na Índia, dos 127 isolados estudados, 47% pertenciam ao gênero feminino e 53% ao masculino e 64% dos pacientes estudados apresentaram idade superior a 40 anos<sup>18</sup>.

## CONCLUSÃO

A frequência de espécies do Complexo *M. tuberculosis* ainda é mais alta na região estudada do que a MNT. Porém, com o crescente número de indivíduos suscetíveis às infecções por micobactérias, como os indivíduos em tratamento de neoplasias, AIDS, transplantados e outros imunossuprimidos, a frequência dos casos de micobacterioses também aumenta ano a ano na região. O estudo observou um declínio na frequência de isolamento de MT no período estudado, enquanto a frequência de MNT teve um aumento de 22,8%. Neste estudo o sítio com maior frequência de isolamento foi o pulmonar, sendo o escarro o material de maior isolamento.

O presente estudo também demonstrou a predominância da tuberculose e micobacteriose em homens na faixa etária entre 21 e 40 anos, fase economicamente produtiva, que leva a um custo para a região, por perder mão de obra e gerar gastos com tratamento. Os dados também mostraram elevada frequência de MT e MNT isoladas de pacientes sintomáticos respiratórios que vivem em confinamento, pois só este grupo representou 27,13% de positividade.

Quanto à frequência das espécies de micobactérias, o maior número de isolados foi de *M. gordonae*, raramente patogênica ao homem. Apesar da indicação, por parte do presente estudo, de que a região analisada possui um habitat mais favorável para as espécies *M. gordonae* e *M. fortuitum*, ainda são necessários outros estudos para verificar esta hipótese. Ao verificar o número de casos em relação aos isolados obteve-se maior frequência das espécies do Complexo *M. avium*. Assim, com a dificuldade de se estabelecer o critério de doença para os isolados únicos de uma infecção respiratória por MNT, é necessário estar atento aos critérios internacionais, como os recomendados pela *American Thoracic Society* (ATS) para a classificação de uma micobacteriose pulmonar, indicando o tratamento específico aos pacientes, além da importância da notificação e monitoramento epidemiológico desses casos.

## REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde - OMS. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva; 2006. [acesso 2010 Out 21]. Disponível em: [http://www.who.int/tb/publications/global\_report/en/index.html].
2. Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo - CVE. TB em números. Tuberculose em São Paulo. [acesso 2011 Set 26]. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/cve\_tb.html].
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Série histórica da Taxa de Incidência de Tuberculose. Brasil, Regiões e Unidades Federadas de residência por ano de diagnóstico (1990-2009). [acesso 2010 Set 3]. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/incidencia\_tabela2.pdf].
4. Almeida, EA. Sensibilidade de bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* as drogas antituberculosas avaliadas por duas metodologias em centro terciário de referência ambulatorial [tese de doutorado]. São Paulo (SP): Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2009.
5. Campos, HS. Manejo da doença micobacteriana não tuberculosa. *Bolet Pneumo Sanit*. 2000;8(2):07-14.
6. Seiscento M, Bombarda S, Castro A, Campos JRM, Teixeira L. Derrame pleural por micobactéria não tuberculosa. *J Bras Pneumol*. 2005;31(5):459-63.
7. Leão SC, Viana-Niero C, Matsumoto CK, Lima KV, Lopes ML, Palaci M, et al. Epidemic of surgical-site infections by a single clone of rapidly growing mycobacteria in Brazil. *Future Microbiol*. 2010;5(6):971-80.
8. Blossom DB, Alelis KA, Chang DC, Flores AH, Gill J, Beall D, et al. Pseudo-outbreak of *Mycobacterium abscessus* Infection Caused by Laboratory Contamination. *Infect Control Hosp Epidemio*. 2008;29(1): 57-62.
9. Euzéby JP. List of prokaryotic names with standing in nomenclature - LPSN. Formerly List of Bacterial names with Standing in Nomenclature. [acesso 2011 Set 9]. Disponível em: [http://www.bacterio.cict.fr/m/mycobacterium.html].
10. Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Nascimento ACC, Rodrigues JS. Estudo comparativo entre um sistema de sonda genética e métodos clássicos na identificação das micobactérias. *J Bras Pneumol*. 2008;34(11):922-6.
11. Zamarioli LA, Coelho AGV, Pereira CM, Nascimento ACC, Ueki SYM, Chimara E. Estudo descritivo da frequência de micobactérias não causadoras de tuberculosas na Baixada Santista (SP). *J Bras Pneumol*. 2008;34(8):590-4.
12. Pedro HSP, Pereira MIF, Goloni MRA, Ueki SYM, Chimara E. Isolamento de micobactérias não tuberculosas em São José do Rio Preto entre 1996 e 2005. *J Bras Pneumol*. 2008;34(11):950-5.
13. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. Mycobacterial Diseases Subcommittee; American Thoracic Society (ATS); Infectious Disease Society of America. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:367-416.
14. Ueki SYM, Martins MC, Telles MAS, Virgilio MC, Giampaglia, CMS, Chimara E, et al. Micobactérias não tuberculosas: diversidade das espécies no estado de São Paulo. *J Bras Patol Med Lab*. 2005;41(1):1-8.
15. Ministério da Saúde (Brasília - Brasil). Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias. Brasília (DF): MS; 2008.
16. RESOLUÇÃO ANVISA - RDC nº 8, de 27 de fevereiro de 2009. LEGISLAÇÃO ANVISA - MS D.O.U. - Poder Executivo, de 02 de março de 2009.
17. Ryoo SW, Shin S, Shim M-S, Park Y-S, Lew WJ, Park S-N, et al. Spread of Nontuberculous Mycobacteria From 1993 to 2006 in Koreans. *J Clin Lab Anal*. 2008;22:415-20.
18. Shenai S, Rodrigues C, Mehta A. Time to identify and define non-tuberculous mycobacteria in a tuberculosis-endemic region. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;14(8):1001-8.
19. Couto I, Machado D, Viveiros M, Rodrigues L, Amaral L. Identification of nontuberculous mycobacteria in clinical samples using molecular methods: a 3-year study. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(8):1161-1164.
20. Arend SM, Soolingen D, Ottenhoff THM. Diagnosis and treatment of lung infection with nontuberculous mycobacteria. *Infect Dis*. 2009;15:201-8.
21. Chung MJ, Lee KS, Koh WJ, Kim TS, Kang EY, Kim SM, et al. Drug-sensitive tuberculosis, multidrug-resistant tuberculosis, and nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in nonAIDS adults: comparisons of thin-section CT findings. *Eur Radiol*. 2006;16:1934-41.
22. R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. [acesso 2011 Set 3] Disponível em: [http://www.R-project.org].
23. Chimara E, Ferrazoli L, Ueki SY, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, et al. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-hsp65 in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-hsp65 patterns. *BMC Microbiol*. 2008;20:8:48.
24. Scheinfeld NS, Tomar S, Kress DW, Restauri N, Allan JM. *Mycobacterium Avium*-Intracellulare Infection. 2010. Medscape Reference: Drugs, Diseases e Procedures. [acesso 2010 Nov 02]. Disponível em: [http://emedicine.medscape.com/article/1105447-overview].
25. Ferrazoli L, Silva EAM, Martins MC, Ichikawa T, Palaci M. Micobactérias outras que não o *Mycobacterium tuberculosis*. Análise da ocorrência e de aspectos relevantes ao diagnóstico da infecção. *Hansen Int*. 1992;17(1/2):15-20.
26. Barreto AMW, Campos CED. Micobactérias "não tuberculosas" no Brasil. *Bol Pneumo Sanit*. 2000;8(1):23-32.
27. Shin JH, Lee EJ, Lee HR, Ryu SM, Kim HR, Chang CL, et al. Prevalence of non-tuberculous mycobacteria in a hospital environment. *J Hosp Inf*. 2007;65:143-8.
28. Piersimoni C, Scarparo C. Pulmonary infections associated with non-tuberculous mycobacteria in immunocompetent patients. *Lancet*. 2008;8:323-34.
29. Moraes PRS, Chimara E, Telles MAS, Ueki SYM, Cunha EAT, Honer MR, et al. Identification of non-tuberculous mycobacteria from the central public health laboratory from Mato Grosso do Sul and analysis of clinical relevance. *Braz J Microbiol*. 2008;39:268-72.



30. Salicio Y, Álvaro AI, Bermejo AI, Navascués A, Ojer M, Ruz A, et al. Relevancia clínica de los aislamientos de micobacterias no tuberculosas. *An Sist Sanit Navar*. 2008;31(1):33-42.
31. Nogueira PA, Abrahão RMCM, Malucelli MIC. Análise dos resultados de exames de escarro, provenientes de unidade de saúde, hospitais e presídios do município de São Paulo, para o diagnóstico da tuberculose. *Informe Epidem SUS*. 2000;9(4):263-71.
32. Ministério da Saúde (Rio de Janeiro – Brasil). Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço. 5a ed. Rio de Janeiro (RJ): Fundação Nacional de Saúde; 2002.
33. Nogueira JA, Marques RRC, Silva TR, França UM, Villa TCS, Palha PF. Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes com diagnóstico de tuberculose resistente às drogas em João Pessoa, PB. *Rev Eletr Enf*. 2008;10(4):979-89.
34. Zocche TL, Silva RM. Tuberculose no município de Tubarão nos anos 2000-2006. *Pulmão*. 2009;18(2):70-6.
35. Billinger ME, Olivier KN, Viboud C, Montes de Oca R, Steiner C, Holland SM, et al. Nontuberculous mycobacteria associated lung disease in hospitalized persons, United States, 1998-2005. *Emerg Infect Dis* 2009;15(10):1562-9.
36. Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, Jackson LA, Raebel MA, Blosky MA, et al. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182(7):970-6.