

AÇÃO "IN VITRO" DE DIFERENTES DROGAS, SOBRE O *MYCOBACTERIUM KANSASII**

Daisy Nakamura SATO**
Eny Aparecida Matheus da SILVA**
Lucilaine FERRAZOLI**
Moisés PALACI**

RIALA6/747

SATO, D.N.; SILVA, E.A.M. da; FERRAZOLI, L.; PALACI, M. – Ação "in vitro" de diferentes drogas, sobre o *Mycobacterium kansasii*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 53(1/2):55-58, 1993.

RESUMO: A infecção causada pelo *M. kansasii* pode ser tão facilmente tratada como a tuberculose. Desde que a rifampicina foi introduzida nos esquemas terapêuticos a conversão do escarro verifica-se em 100% dos casos. O objetivo deste estudo foi contribuir no tratamento da micobacteriose causada pelo *M. kansasii*. Através da determinação da CIM, CBM e testes de sensibilidade pelo método das proporções, os autores comparam os resultados obtidos com os relatos da literatura internacional. Foram estudadas 30 cepas de *M. kansasii* isoladas de pacientes com problemas pulmonares. Um perfil de sensibilidade das cepas frente à isoniazida, rifampicina, estreptomicina, etambutol, etionamida, kanamicina e ciprofloxacina foi realizado. A metodologia foi utilizada de acordo com as normas preconizadas para a bacteriologia das micobactérias. Os resultados obtidos mostraram sensibilidade do *M. kansasii* à rifampicina, etionamida, kanamicina e ciprofloxacina, enquanto que para as demais drogas houve algumas variações. Nossos dados mostram a importância da rifampicina nos esquemas terapêuticos, no tratamento inicial, e a utilidade dos testes de sensibilidade no retratamento.

DESCRITORES: *Mycobacterium kansasii*; testes de sensibilidade às drogas; resistência às drogas.

INTRODUÇÃO

As micobactérias estão amplamente distribuídas na natureza, podendo ser encontradas no solo e na água, fazendo parte da flora normal humana. Porém, sob certas condições, algumas espécies micobacterianas podem se tornar patogênicas causando processos infecciosos ao homem^{4, 14, 15}.

Algumas espécies, tais como o *M. kansasii*, têm sido freqüentemente documentadas como sendo o agente etiológico de doenças, e o seu isolamento a partir de amostras de origem pulmonar tem aumentado em nosso meio^{18, 19}.

Pacientes com infecções pulmonares causadas pelo *M. kansasii* em geral respondem bem às drogas utilizadas no tratamento da tuberculose, embora

existam casos de falência de tratamento, associados à resistência à rifampicina³.

Com o objetivo de conhecer as drogas antituberculosas os autores determinaram a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima de cada droga para cepas de pacientes com comprometimento pulmonar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 30 cepas de *M. kansasii* isoladas de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar, com bacteriologia positiva para *M. kansasii*, provenientes de diversas unidades de saúde do Estado de São Paulo.

* Trabalho realizado no Instituto Adolfo Lutz – Laboratório de Sorocaba e Laboratório Central.

** Pesquisadores Científicos dos Instituto Adolfo Lutz.

As cepas de *M. kansasii* foram isoladas a partir de amostras de escarro, descontaminadas pelo método de Petroff, semeadas em meio de Lowenstein-Jensen, incubadas a 37°C por 28 dias e identificadas segundo suas propriedades culturais e bioquímicas^{8, 13}.

O padrão de susceptibilidade das cepas à isoniazida (INH), rifampicina (RFP), estreptomina (SM), etambutol (EMB), etionamida (ETH) e kanamicina (KN) foi determinado através do método das proporções⁵. No caso da ciprofloxacina (CPF), apesar da ausência de padronização da concentração para este método, incorporou-se ao meio de cultura a quantidade de 0,2 µg/ml, previamente determinada em estudos anteriores, para o *M. tuberculosis*¹⁶.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)^{11, 20}: As cepas de *M. kansasii* foram semeadas em meio de Middlebrook 7H9 e mantidas em estufa a 37°C por 10 dias ou até obter uma turvação correspondente ao tubo número 1 da escala de McFarland. Para a determinação da CIM através do método de diluição em meio líquido, foram semeados 0,1 ml de cada inóculo no meio de Middlebrook 7H9 contendo as seguintes concentrações da droga:

INH e RFP (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 µg/ml)

SM, ETH, KN e CPF (2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 µg/ml)

EMB (1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 µg/ml)

Os tubos foram mantidos a 37°C e a leitura da CIM realizada após 10 dias de incubação. A CIM foi definida como a menor concentração da droga capaz de inibir macroscopicamente o crescimento das micobactérias. A CBM foi determinada pelo subcultivo dos tubos que não apresentaram crescimento visível, semeando-se a 0,1 ml em meio de Lowenstein-Jensen. Após a incubação a 37°C por 28 dias, foi realizada a leitura. A CBM foi definida como a menor concentração da droga capaz de inibir mais do que 99,9% da população bacteriana no meio de cultura.

RESULTADOS

O padrão de susceptibilidade das cepas de *M. kansasii* frente às diferentes drogas, através do método das proporções está demonstrado na figura 1.

Em relação à ciprofloxacina, na falta de uma padronização da metodologia, os resultados obtidos foram ausência de crescimento bacteriano em 12 cepas de *M. kansasii*.

Os valores das CIMs e CBMs das drogas antituberculosas utilizadas estão expressos na figura 2.

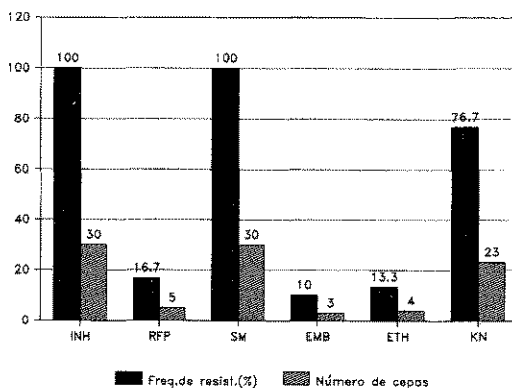


FIGURA 1
Frequência de resistência de 30 cepas de *Mycobacterium kansasii*, isoladas de escarro, de pacientes de diversas unidades de saúde do Estado de São Paulo, através do método das proporções.

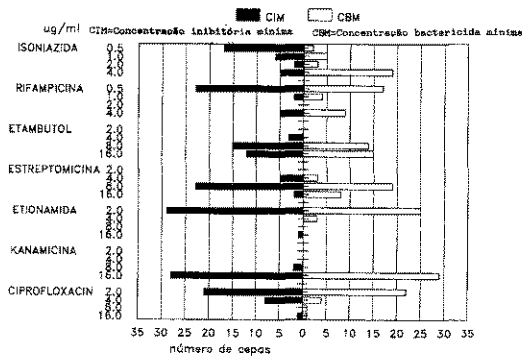


FIGURA 2
Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), "in vitro" de drogas antituberculosas, frente ao *Mycobacterium kansasii*.

DISCUSSÃO

A inexistência de uma metodologia para a determinação da resistência às drogas e a falta de esquemas definidos para o tratamento de micobactérias outras que não o *M. tuberculosis*, estabelece a necessidade de se traçar um perfil de sensibilidade para cada droga, visando o sucesso terapêutico.

Numerosos estudos^{2, 17} indicam que nos isolados de pacientes não tratados o *M. kansasii* é sensível a

1,0 µg/ml de rifampicina e 5,0 µg/ml de etambutol, é resistente a 1,0 µg/ml e sensível a 5,0 µg/ml de isoniazida, enquanto que à estreptomomicina apresenta sensibilidade variável a 2,0 µg/ml mas são sempre sensíveis a 10,0 µg/ml. Considerando o perfil de sensibilidade estabelecido para as cepas selvagens do *M. kansasii* e a eficácia dos esquemas terapêuticos contendo rifampicina¹⁷, o teste de sensibilidade rotineiro tem indicação principalmente em casos de recaídas e falências de tratamento.

Neste estudo verificamos que entre as drogas utilizadas nos esquemas terapêuticos, o *M. kansasii* mostrou resistência à isoniazida e estreptomomicina pelo método das proporções, uma vez que o *M. kansasii* é resistente a estas drogas nas concentrações críticas utilizadas no método, 0,2 µg/ml para isoniazida e 2,0 µg/ml para estreptomomicina. Na determinação da CIM obtivemos para a isoniazida resultados mais baixos que os encontrados por outros autores^{1, 3}, enquanto que na CBM os valores encontrados foram mais altos. Essa diferença entre ação inibidora (CIM) e ação bactericida (CBM) pode, no caso da isoniazida, ser explicada pela existência de outros fatores de resistência¹⁰. As micobactérias adquirem a multidroga resistência pelo fenômeno da mutação e seleção; entretanto, em certos casos, a

resistência pode ser causada pela estrutura lipídica da camada externa que envolve a bactéria⁷.

Com relação à rifampicina, estreptomomicina, kanamicina e etionamida houve concordância entre a CIM, CBM e o método das proporções.

Para o etambutol os resultados das CIMs e CBMs foram altos, contrariando dados existentes de sua ação bacteriostática e mostrando a ausência de ação bactericida. Há citações indicando a influência do meio sintético diminuindo a ação do etambutol⁹, e a interferência do período de incubação da cultura atuando na ação da droga¹². Também alguns autores mostraram com seus dados que a aparente resistência "in vitro" do etambutol pode ser um artefato e que pode não ocorrer "in vitro"²¹.

A ciprofloxacina foi também estudada e os resultados confirmaram a ação bactericida desta droga para o *M. kansasii*^{6, 10}. Os resultados dos testes pelo método das proporções foram registrados como ausência de crescimento, uma vez que não há padronização deste método para a ciprofloxacina.

Este estudo preliminar mostrou a importância da rifampicina no tratamento do *M. kansasii*. A partir dos dados obtidos os autores pretendem estudar a sensibilidade do *M. kansasii* frente a combinações de drogas e com isso sugerir esquemas terapêuticos mais eficazes.

RIALA6/747

SATO, D.N.; SILVA, E.A.M. da; FERRAZOLI, L.; PALACI, M. - Ação "in vitro" de diferentes drogas, sobre o *Mycobacterium kansasii*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 53(1/2):55-58, 1993.

ABSTRACT: The treatment of *M. kansasii* infection have been conducted as a tuberculosis. Since rifampin was introduced in the drug regimens for disease due to *M. kansasii* the sputum conversion from positive to negative is confirmed in 100%. This study was made to contribute in the treatment of disease due to *M. kansasii*. Through of Minimal Inhibitory Concentration and Minimal Bactericidal Concentration determination and susceptibility tests by proportion method, the authors compared the results that was obtained with the results of international data. 30 *M. kansasii* strains isolated of patients with pulmonary disease were studied. A susceptibility testing using the conventional antituberculosis drugs isoniazid, rifampin, streptomycin, ethambutol, ethionamide, kanamycin and ciprofloxacin was made according to the standardized techniques. The results showed that *M. kansasii* was sensible to rifampin, ethionamide, kanamycin and ciprofloxacin, while to another drugs the results were varied. Our data showed that rifampin is essential in the drug regimen of *M. kansasii* infection and the usefulness of susceptibility tests in the retreatment.

DESCRIPTORS: *Mycobacterium kansasii*; drug susceptibility tests; drug resistance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHN, C.H.; LOWELL, J.R.; AHN, S.S; AHN, S. and HURST, G.A. Chemotherapy for pulmonary disease due to *Mycobacterium kansasii*: efficacies of some individual drugs. 1981. Rev. Inf. Dis. 3 (5):1028-34.
2. AHN, C.H.; LOWELL, J.R.; AHN, S.S; AHN, S. and HURST, G.A. Short-course chemotherapy for

pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii*. 1983. Am. Rev. Resp. Dis. 128:1048-50.

3. AHN, C.H.; WALLACE Jr, R.J.; STEELE, L.C. and MURPHY, D.T. Sulfonamide containing regimens for disease caused by rifampin-resistant *Mycobacterium kansasii*. 1987. Am. Rev. Resp. Dis. 135:10-16.

4. BECK, A. and STANFORD, J.L. *Mycobacterium xenopi*: a study of sixteen strains. 1968. *Tubercle*. 49:226-34.
5. CANETTI, G.; FOX, W.; KHOMENKO, A.; MAHLER, H.T.; MENON, N.K.; MITCHISON, D.A.; RIST, N. et SMELEV, N.A. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity tests in tuberculosis programmes. 1969. *Bull. WHO* 41:21-43.
6. COLLINS, C.H. and UTTLEY, H.C. In vitro susceptibility of mycobacteria to ciprofloxacin. 1985. *J. Antim. Chemoth.* 16:575-80.
7. DAVID, H.L. Basis for lack of drug susceptibility of atypical mycobacteria. 1981. *Rev. Inf. Dis.* 3(5):878-84.
8. DAVID, H.L.; LEVY-FREBAULT, V. et PAPA, F. Méthodes de Laboratoire Pour Mycobacteriologie Clinique (Supplément à "Mycobacteriologie Clinique et de Santé Publique" - Manuel de la S.E.M.). 1986. Unité de la Tuberculose et des Mycobactéries. Institut Pasteur. Paris.
9. GANGADHARAM, P.R. and GONZALES, E.R. Influence of medium on the "in vitro" susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to ethambutol. 1970. *Am. Rev. Resp. Dis.* 102:653-55.
10. GAY, J.D.; YOUNG, D.R. and ROBERTS, G.D. In vitro activities of norfloxacin and ciprofloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium kansasii*. 1984. *Antim. Ag. Chemoth.* 26(1):94-96.
11. HAWKINS, J.E.; WALLACE Jr, R. J. and BROWN, B.A. Antibacterial susceptibility test: Mycobacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 1991. Albert Balows (ed.) 5th Ed. Washington D. C. p. 1138-1152.
12. HEIFETS, L. Qualitative and quantitative drug-susceptibility test in Mycobacteriology. 1988. *Am. Rev. Resp. Dis.* 137:1217-22.
13. KANTOR, I.N. Bacteriología de la tuberculosis humana y animal. 1988. Centro Panamericano de Zoonosis. OPS/OMS. Monografía n. 11/rev. I.
14. KUBIN, M.; SVANDOVA, E.; MEDEK, B.; CHOBOT, S. and OLISOVSKY, Z. *Mycobacterium kansasii* infection in an endemic area of Czechoslovakia. 1980. *Tubercle*. 61:207-12.
15. MANIAR, C.A. and VANBUCKENHOUT, L.R. *Mycobacterium kansasii* from an environmental source. 1976. *Can. J. of Public Health*. 67:59-60.
16. NAKAMURA SATO, D.; SILVA, E.A.M.; PALACI, M.; UEKI, S.Y.M.; TELLES, M.A.S.; MARTINS, M.C. e LEITE, O.H.M. Susceptibilidade "in vitro" de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* à ciprofloxacin. 1990. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 32:249-53.
17. PEZZIA, W.; RALEICH, J.W.; BAILEY, M.C.; TOTH, E.A. and SILVERBLATT, J. Treatment of pulmonary disease due to *Mycobacterium kansasii*: recent experience with rifampin. 1981. *Rev. Inf. Dis.* 3(5): 1035-39.
18. SILVA, E.A.M.; MIRANDA, J.B.N.; FERRAZOLI, L.; ALGE, M.E.; SILVA, R.R.F.; FUZIHARA, T.O. e PALACI, M. Ocorrência de infecções pulmonares devidas ao *Mycobacterium kansasii*, em São Paulo, Brasil. 1987. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 47(1/2):11-17.
19. The Mycobacterioses Research Group of Japanese National Chest Hospitals. Rapid increase of the incidence of lung disease due to *Mycobacterium kansasii* in Japan. 1983. *Chest*. 83(6):890-92.
20. THRUPP, M.D. Susceptibility testing of antibiotics in liquid media. In: *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 1986. Victor Lorian (ed.) 2nd Ed. Baltimore M.D. Williams & Wilkins. p. 93-150.
21. TSANG, A.Y.; BENTZ, R.R.; SCHORK, A. and SODEMAM, T.M. Combined vs. single-drug studies of streptomycin and ethambutol. 1976. *Am. J. Clin. Pathol.* 70:816-20.

Recebido para publicação em 04 de dezembro de 1992.