



Desempenho da cultura líquida MGIT após implementação em uma rede de laboratórios públicos do estado de São Paulo

Performance of liquid culture MGIT after implementation in a network of public laboratories of Sao Paulo state

RIALA6/1727

Heloisa da Silveira Paro PEDRO¹, Andrea Gobetti Vieira COELHO², Susilene Maria Tonelli NARDI¹, Gleize VILELA³, Jaqueline Otero SILVA⁴, Ana Carolina Chiou NASCIMENTO², Leonilda Chiare GALLE⁵, Dalva Cristina Girello AILY⁶, Regina Ruivo FERRO E SILVA⁷, Maria de Lourdes Matsuura SHIKAMA⁸, Andréa Resende LEITE⁹, Mara Aparecida Garnica SUAIDEN¹⁰, Lucilaine FERRAZOLI^{11*}

*Endereço para correspondência: ¹¹Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Central, São Paulo, Avenida Dr. Arnaldo 351, São Paulo, SP, Brasil, CEP: 01246-000. Tel: 11 3068 2986. E-mail: lferrazoli@ial.sp.gov.br

Centro de Laboratórios Regionais - Instituto Adolfo Lutz: ¹São José do Rio Preto; ²Santos; ³Campinas; ⁴Ribeirão Preto; ⁵Presidente Prudente; ⁶Rio Claro; ⁷Santo André; ⁸Sorocaba; ⁹Taubaté; ¹⁰Bauru

Recebido: 09.05.2017 - Aceito para publicação: 18.10.2017

RESUMO

A OMS, em 2007, recomendou a implementação da cultura líquida para o diagnóstico da tuberculose (TB) e teste de sensibilidade para países de baixa e média renda. Neste estudo foi avaliado o desempenho da cultura líquida MGIT em condição de rotina após dois anos de implantação em uma rede de laboratórios públicos. Foi efetuada análise retrospectiva de dados da cultura líquida, realizadas em dez laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz, de janeiro a março de 2010. Foram incluídas amostras submetidas a baciloscopia, cultura líquida MGIT automatizada ou manual e identificação presuntiva do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB). Foram detectadas 1.159 culturas positivas. Destas, 113 (9,7%) contaminaram, e 1.046 foram analisadas, sendo 850 (81,3%) CMTB, 116 (11,1%) micobactérias não tuberculosas e 6 (0,6%) *Nocardia sp.* A taxa de contaminação foi de 2,2% e o acréscimo da cultura para o diagnóstico da TB foi de 29,9%. A média do tempo de detecção da cultura foi de 14,7 dias (DP+/- 11,7 dias). A acurácia da identificação presuntiva foi de 91,3%. A cultura líquida MGIT demonstrou ser excelente alternativa para efetuar diagnóstico da TB e das micobacterioses, em razão da rapidez possibilitando uma intervenção rápida e eficaz no tratamento.

Palavras-chave. tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, cultura líquida, MGIT, fator corda.

ABSTRACT

In 2007, WHO recommended the implementation of liquid culture for tuberculosis (TB) diagnosis and drug-susceptibility test in low and middle-income countries. This study evaluated the performance of MGIT culture in routine condition after two years of its implementation in a public laboratories network. This is a retrospective study, which analyzed the data on the liquid culture performed in ten regional laboratories of the Institute Adolfo Lutz, from January to March 2010. The data included clinical samples submitted to microscopy, automated or manual MGIT culture and presumptive *M. tuberculosis* complex (MTBC) identification by analyzing the cord formation. Culture was positive in 1,159 samples. Of these, 113 (9.7%) contaminated, and 1,046 were analyzed, of which 850 (81.3%) were identified as MTBC, 116 (11.1%) as non-tuberculous mycobacteria and 6 (0.6%) as *Nocardia sp.* Contamination rate was 2.2% and the contribution of culture to the TB diagnosis was 29.9%. The detection mean time was 14.7 days (SD+/-11.7 days). The accuracy of the presumptive identification of MTBC was 91.3%. MGIT liquid culture demonstrated to be an excellent alternative for diagnosing TB and mycobacterioses, because of the rapidity of diagnosis, thus allowing an immediate and effective treatment.

Keywords. tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, liquid culture, MGIT, cord factor.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB), uma das enfermidades infecciosas mais antigas na história da humanidade, dispõe de terapêutica eficaz há mais de meio século e ainda permanece como um desafio à saúde pública em todo o mundo, destacando-se na agenda de prioridades dos países com alta carga da doença¹.

O Programa de Controle da Tuberculose (PCT) tem enfrentado desafios como o diagnóstico precoce da TB e das micobacterioses, principalmente pelos surtos ocasionados por cepas multirresistentes e aumento da incidência de infecções causadas por micobactérias não tuberculosas (MNT).

A confirmação bacteriológica da TB é feita pelos exames de baciloscopia, Xpert® MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) e cultura. A baciloscopia de escarro apresenta baixa sensibilidade (34-80%), principalmente em amostras com poucos bacilos, mas ainda é muito utilizada em razão de sua rapidez e baixo custo².

O teste Xpert® MTB/RIF implantado no Brasil em 2014, detecta simultaneamente a presença do *M. tuberculosis* e a resistência a rifampicina. É um método eficaz e mais sensível que a baciloscopia. No entanto, este teste não identifica a resistência aos demais fármacos de primeira linha (isoniazida, estreptomomicina e etambutol) utilizados no tratamento da TB³.

A cultura apresenta maior sensibilidade do que a baciloscopia e o teste Xpert® MTB/RIF, e propicia o isolamento do bacilo para posterior identificação da espécie e o teste de suscetibilidade aos fármacos (TS) utilizados no tratamento da TB. A especificidade da cultura é maior do que 99% e pode acrescentar até 30% ao diagnóstico bacteriológico da doença⁴⁻⁶. A cultura em meio sólido como o Löwestein-Jensen (LJ) ou Ogawa-Kudoh apresenta como grande desvantagem a detecção tardia da micobactéria, e uma taxa de isolamento inferior àquela obtida com a utilização de meios líquidos⁶⁻⁸.

No final da década de 90, o sistema de cultura líquida, MGIT960™ – Mycobacteria Growth Indicator Tube (Becton & Dickinson, Sparks, MD,

USA) passou a ser utilizado para o isolamento, para a detecção de resistência aos fármacos de primeira linha e, posteriormente, aos fármacos de segunda linha (amicacina, capreomicina, kanamicina e levofloxacina)⁹. Ambos os testes têm aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O sistema MGIT960™ é um método de fácil execução, com sensibilidade elevada na detecção da micobactéria diretamente do espécime clínico, em um período de até três semanas^{5,6,8}.

Em 2007, a OMS e o Grupo Técnico Consultivo em TB recomendaram a implementação da cultura líquida para o diagnóstico e TS aos fármacos utilizados no tratamento da TB para os países de baixa e média renda (OMS 2007)¹⁰.

Em 2008 os Centros de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz (CLR-IAL) passaram a utilizar a cultura líquida do sistema MGIT, de leitura tanto manual como automatizada para o diagnóstico da TB, TB resistente e micobacterioses. Desde sua implantação, a cultura líquida tem sido realizada especialmente para as populações como: prisional, indígena, em situação de rua, imigrantes, usuários de drogas ilícitas ou de bebidas alcoólicas, institucionalizados, portadores de HIV ou com outra condição imunossupressora, pacientes em retratamento, e com persistência de baciloscopia positiva no segundo mês de tratamento⁴.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho da cultura líquida MGIT em condição de rotina, após dois anos de sua implantação em uma rede de laboratórios públicos do estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODO

O estudo obedeceu aos princípios básicos de trabalho retrospectivo de análise de dados laboratoriais e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IAL sob o número 041/2011.

Profissionais responsáveis pelo laboratório de TB dos doze CLR-IAL foram convidados a participar da pesquisa, dos quais dez enviaram seus dados para inclusão neste estudo. Foram analisados os resultados dos exames realizados em amostras biológicas de pacientes com indicação de

cultura para micobactérias, processadas nos dez CLR-IAL, no período de janeiro a março de 2010. No período do estudo foram incluídas as amostras submetidas aos exames de baciloscopia, cultura em meio líquido GIT do sistema automatizado ou manual, identificação presuntiva do complexo *M. tuberculosis* e identificação da espécie isolada. A baciloscopia, a cultura e a identificação presuntiva do complexo *M. tuberculosis* foram realizadas pelos CLR-IAL, a determinação da espécie foi feita pelo IAL Central⁴.

Para efetuar a baciloscopia, os esfregaços em lâminas de vidro foram corados pelo método de Ziehl-Neelsen. No caso de lâminas positivas realizou-se a contagem bacilar semi-quantitativa conforme recomendado pelo Ministério da Saúde (MS)⁴.

Para a cultura, as amostras foram tratadas pelo método de Petroff modificado. Resumidamente, um volume aproximado de 2 ml da amostra foi tratado com igual volume de solução de NaOH 1N, contendo indicador vermelho de fenol (40 g de NaOH, 0,04 g de vermelho de fenol, 1.000 ml de água destilada estéril). Os tubos contendo as amostras foram homogeneizados e colocados em estufa bacteriológica a 36 °C +/- 1 °C por 15 min e, então, centrifugados a 3.000g durante 15 min. Ao sedimento acrescentou-se HCl 1N até viragem para a cor amarela. Em seguida, adicionou-se a solução neutralizante estéril (4 g de NaOH, 0,004 g de vermelho de fenol, 0,2 g de sulfato de alumínio e potássio, 1.000 ml de água destilada) até a viragem para cor rosa⁸. Após a descontaminação, uma alíquota de 0,5 ml foi semeada em meio líquido MGIT contendo 800 µl de solução de enriquecimento e antibióticos – PANTA (Becton & Dickinson, Sparks, MD, USA). Os tubos foram incubados no sistema automatizado BACTEC MGIT 960 TB system ou incubados a 37 °C em estufa bacteriológica por até 42 dias. As leituras das culturas foram frequentes, utilizando-se a luz ultravioleta, a partir do segundo dia de incubação. Registrou-se o tempo de obtenção dos resultados positivos e a presença de contaminação visível^{4,11}.

Três CLR-IAL utilizaram o sistema manual de incubação e de leitura no período estudado.

Sete CLR-IAL utilizaram o sistema automatizado, que consiste em uma estufa bacteriológica a 37 °C, com monitoramento a cada 60 min, por até 42 dias. As culturas positivas detectadas, tanto pelo sistema manual quanto automatizado, foram confirmadas quanto à presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), por meio de observação em esfregaços de amostras corados pelo método Ziehl-Neelsen^{4,11}.

A identificação presuntiva do complexo *M. tuberculosis* dos isolados foi realizada nos CLR-IAL pela análise microscópica de uma amostra da cultura, em que foram avaliadas: a pureza da cultura, a presença de BAAR e a formação de corda. A presença da formação de corda é o teste presuntivo utilizado para diferenciar as espécies do complexo *M. tuberculosis* e MNT^{12,13}. Em seguida, os isolados foram encaminhados ao IAL Central para efetuar a identificação da espécie pelo método PRA-hsp65 e testes fenotípicos^{4,14}.

Os dados laboratoriais foram coletados em planilha de Excel desenhada para o estudo, baseando-se nas anotações contidas no livro de registro dos CLR-IAL e no Sistema de Informação e Gestão Hospitalar (SIGH) - Laboratórios de Micobactérias dos CLR-IAL.

A análise dos dados foi realizada utilizando-se os softwares estatísticos Epi-Info 7.1.2.0 (Atlanta, Geórgia, EUA)¹⁵, sendo utilizado o teste do qui-quadrado de Pearson¹⁶ e o exato de Fisher para as análises comparativas e a distribuição de frequências¹⁷. Foi considerado o valor $p \leq 0,05$ como o limite para significância estatística.

RESULTADOS

No período avaliado foram detectadas 1.159 culturas positivas por meio de equipamento BACTEC 960 ou leitura manual utilizando-se lâmpada ultravioleta. Do total analisado, 948 (81,8%) amostras foram para fins diagnósticos e 211 (18,2%) para seguimento do tratamento da TB.

Das 1.159 culturas positivas, 113 (9,7%) apresentaram contaminação evidenciada nos esfregaços em lâminas de amostras da cultura corados pela técnica de Ziehl-Neelsen. Do total de

1.046 culturas que apresentaram crescimento, 973 (93,0%) foram identificadas, sendo 966 (99,3%) caracterizadas como pertencentes ao gênero *Mycobacterium* e 6 (0,6%) pertencentes ao gênero *Nocardia*. Uma cultura (0,1%) apresentou mistura de espécies de micobactérias (complexo *M. tuberculosis* e MNT). Das 966 culturas classificadas no gênero *Mycobacterium*, 850 (88,0%) foram identificadas como complexo *M. tuberculosis*, 116 (12,0%) como MNT (76 espécies de crescimento lento e 40 espécies de crescimento rápido).

A taxa média de contaminação calculada para seis laboratórios foi de 2,2%. A menor taxa foi de 0,6% e a maior de 5,7%.

Das 948 amostras recebidas para efetuar o diagnóstico, 703 (74,2%) foram identificadas como complexo *M. tuberculosis*, 78 (8,2%) como MNT e 6 (0,6%) como *Nocardia sp.* As demais 161 (17,0%) amostras tiveram as culturas contaminadas ou não foram identificadas. O acréscimo da cultura líquida em relação à baciloscopia para realizar o diagnóstico da TB foi de 29,9%. Por outro lado, a cultura líquida proporcionou o acréscimo de 71,9% no isolamento de MNT em relação à baciloscopia.

Ao avaliar o tempo de detecção do crescimento na cultura, excluindo-se as que apresentaram contaminação, foi observado que 70,0% das amostras (733/1.046) foram detectadas em até 15 dias (média = 14,7 dias DP+/-11,7 dias), independentemente da metodologia utilizada, manual ou automatizada. Ao comparar os dois métodos, a mediana de tempo de detecção foi maior no procedimento manual, isto é 17 dias no manual e 10 dias no automatizado (**Tabela**). No método manual, 40,3% das culturas identificadas como complexo *M. tuberculosis* foram detectadas em 25 dias. No automatizado, somente 5,8% das culturas identificadas como complexo *M. tuberculosis* foram detectadas após este período (**Tabela**).

As MNT de crescimento rápido são assim definidas por crescerem em até sete dias em sub-cultivos. Contudo, no isolamento primário, seja pelo método manual, seja pelo automatizado, 26 (65,0%) isolados cresceram após sete dias (**Tabela**).

O tempo de positividade da cultura em relação às espécies de micobactérias isoladas (complexo *M. tuberculosis* e MNT) e a carga bacilar no exame de baciloscopia variaram nos dois métodos estudados. No método manual, a mediana do tempo de crescimento do complexo *M. tuberculosis* com resultado de baciloscopia negativa foi de 25 dias. Para as espécies de MNT de crescimento lento foi de 15,5 dias e para as MNT de crescimento rápido foi de 6,5 dias. Por outro lado, no método automatizado a mediana do tempo de crescimento do complexo *M. tuberculosis* com resultado de baciloscopia negativa foi 15 dias; para as espécies de MNT de crescimento lento foi de 14 dias e para as MNT de crescimento rápido foi de 11,5 dias. Como esperado, observa-se que a mediana de tempo de detecção é inversamente proporcional ao número de cruces detectado na baciloscopia, independentemente da espécie ser do complexo *M. tuberculosis* ou MNT, ou seja, quanto maior o número de cruces, menor é o tempo de detecção (**Tabela**).

A positividade da baciloscopia foi maior nas espécies do complexo *M. tuberculosis*, isto é, 512 (67,8%) em comparação ao das MNT que foi de 29 (26,9%) ($p < 0,0001$). A frequência de baciloscopias negativas foi maior entre as MNT de crescimento rápido [30 (81,0%)] do que entre as MNT de crescimento lento [49 (69,0%)], porém o resultado obtido não foi significativo ($p = 0,13$).

A identificação presuntiva do complexo *M. tuberculosis* pela análise microscópica da formação de corda foi realizada em 98,8% (1.033/1.046) das culturas positivas. Dos 1.033 isolados analisados, 964 (93,3%) foram identificados, dos quais 808 (83,8%), classificados como pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*, apresentaram formação de corda, correspondendo à sensibilidade de 95,2%. Dos 116 isolados identificados como MNT, 73 (62,9%) apresentaram resultado de formação de corda negativo, correspondendo à especificidade de 63,5%. A acurácia do teste de formação de corda foi de 91,3%.

Tabela. Tempo de detecção e relação com a baciloscopia e identificação presuntiva dos isolamentos obtidos pelos métodos, manual e automatizado em dez Centros de Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz. SP

	N (%) Total (n= 1.046)	N (%) complexo <i>M. tuberculosis</i> (n= 850)	N (%) MNT Crescimento lento (n= 76)	N (%) MNT Crescimento rápido (n= 40)
Método Manual*	213 (20,4)	176 (20,7)	12 (15,8)	8 (20,0)
Tempo de detecção/dias				
1-6	27 (12,7)	17 (9,7)	3 (25,0)	4 (50,0)
7-15	67 (31,4)	55 (31,3)	4 (33,3)	3 (37,5)
16-24	37 (17,4)	33 (18,7)	3 (25,0)	-
≥25	82 (38,5)	71 (40,3)	2 (16,7)	1 (12,5)
Mediana de tempo de detecção/dias **	17	20	14	6,5
Baciloscopia negativa	23	25	15,5	6,5
Baciloscopia positiva 1-9 bacilos	4	-	-	4
Baciloscopia positiva +	18,5	21	3	8
Baciloscopia positiva ++	17	17	-	-
Baciloscopia positiva +++	9	9	-	-
Método Automatizado***	833 (79,6)	674 (79,3)	64 (84,2)	32 (80,0)
Tempo de detecção/dias				
1-6	155 (18,6)	115 (17,1)	13 (20,3)	10 (31,2)
7-15	484 (58,1)	408 (60,5)	32 (50,0)	13 (40,6)
16-24	143 (17,2)	112 (16,6)	14 (21,9)	6 (18,8)
≥25	51 (6,1)	39 (5,8)	5 (7,8)	3 (9,4)
Mediana de tempo de detecção/dias ****	10	10	11	11
Baciloscopia negativa	15	15	14	11,5
Baciloscopia positiva 1-9 bacilos	11	12	7,5	5
Baciloscopia positiva +	10	10	10	-
Baciloscopia positiva ++	9	9	8	4
Baciloscopia positiva +++	7	7	5	-
Manual + automatizado				
Baciloscopia negativa	360 (34,4)	243 (28,6)	49(64,5)	30 (75,0)
Baciloscopia positiva	577 (55,2)	512 (60,2)	22 (28,9)	7 (17,5)
Baciloscopia não realizada	109 (10,4)	95 (11,2)	5 (6,6)	3 (7,5)
Identificação presuntiva				
Formação de corda positiva	897 (85,8)	808 (95,1)	27 (35,5)	14 (35,0)
Formação de corda negativa	136 (13,0)	42 (4,9)	47 (61,9)	26 (65,0)
Não realizada	13 (1,2)	-	2 (2,6)	-

*17 isolados não foram identificados; ** 48 amostras não tiveram baciloscopia realizada; *** 56 isolados não foram identificados, seis isolados foram identificados como *Nocardia sp*, uma cultura apresentou crescimento misto de duas espécies; **** 69 amostras não tiveram a baciloscopia realizada

DISCUSSÃO

Neste estudo foi descrito o desempenho da cultura líquida MGIT em condição de rotina após dois anos de sua implantação em dez laboratórios públicos do estado de São Paulo. Embora os dados deste estudo tenham sido coletados no ano de 2010, a cultura líquida MGIT continua sendo utilizada nas mesmas condições de sua implantação. Inicialmente, a cultura automatizada foi implantada em sete CLR-IAL e no terceiro ano foi estendida para os três CLR-IAL que utilizavam a técnica manual.

Na implantação, optou-se por manter o método Petroff modificado para realizar a descontaminação das amostras, uma vez que esta técnica tem sido utilizada há mais de 30 anos pelos CLR-IAL, para efetuar o tratamento de amostras clínicas de origem pulmonar e extrapulmonar⁸. No presente estudo, foi observada a taxa de contaminação das culturas de 2,2%, sendo a menor de 0,6% e a maior de 5,7%. Esta taxa está de acordo com aquela aceitável de 6,0% para cultura líquida⁴. Aily et al¹⁸, em 2003, observaram a taxa de contaminação de 27,3% em meio LJ e de 24% em culturas líquidas do sistema MB/BactTM. Nesse estudo os autores utilizaram a técnica de descontaminação N-acetil-L-cisteína NaOH, considerada menos drástica do que a de Petroff, porém ocasiona taxas de contaminação mais elevadas. A opção em manter o método de Petroff no presente trabalho foi pelo fato dos CLR-IAL receberem material clínico de outros municípios da região, muitas vezes em dia subsequente ao da coleta, o que pode aumentar a proliferação de contaminantes na amostra.

Entre as culturas positivas, houve a predominância de isolamento do complexo *M. tuberculosis* (88,0%) seguido pelas MNTs de crescimento lento (7,9%) e rápido (4,1%). Neste período, foram também isoladas espécies do gênero *Nocardia* (0,6%). Muricy et al¹⁹ detectaram taxa um pouco maior de isolamento de nocardias (0,12%). Esta diferença pode ter ocorrido pelo fato de terem sido analisados os isolados obtidos de culturas de diferentes espécimes clínicos em meios sólidos e meios líquidos. O crescimento de espécies do gênero *Nocardia* em

meios de cultura para isolamento de micobactérias, como também a álcool-ácido resistência observada na coloração pela técnica de Ziehl-Neelsen são as características que exigem maior percepção do profissional¹⁹.

A comparação entre os exames de baciloscopia negativa e cultura positiva para MNT mostrou a taxa de acréscimo de 71,9% no isolamento de MNT em relação à baciloscopia. O MGIT é um meio rico em nutrientes, composto de meio Middlebrook 7H9 acrescido de solução de enriquecimento (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase-OADC) e mistura liofilizada de antibióticos PANTA. Este meio favorece o isolamento de MNTs, como também de espécies de nocardias¹¹. Muyoyeta et al⁵, em estudo comparativo de quatro sistemas de cultura para isolamento de micobactérias, obtiveram maiores taxas de isolamento de MNT em meio MGIT quando comparado com os meios LJ⁵. No estado de São Paulo, os pesquisadores do Instituto Adolfo Lutz observaram um aumento do isolamento e da diversidade das espécies de MNT após a implantação da cultura líquida^{14,20}.

O acréscimo da cultura líquida em relação à baciloscopia para o diagnóstico da TB foi de 29,9%. Por outro lado, a cultura líquida proporcionou o acréscimo de 71,9% no isolamento de MNT em relação à baciloscopia. Estes dados indicam a melhoria no diagnóstico da TB e das micobacterioses. Outros estudos que avaliaram o desempenho da cultura líquida encontraram valores um pouco maiores de acréscimo desta metodologia no diagnóstico da TB. Em geral, esses estudos têm utilizado o método de descontaminação N-acetil-L-cisteína (NAC), considerado menos drástico, porém com maiores riscos de contaminação^{6,21}. Outro fator que pode ter influenciado neste resultado, foi a possível perda da viabilidade dos bacilos em decorrência do transporte das amostras coletadas em municípios próximos aos CLR-IAL. Novos estudos são necessários para confirmar estes dados.

Outra vantagem da cultura líquida MGIT é o tempo de detecção do crescimento bacteriano. Nas amostras analisadas, o tempo médio para crescimento bacteriano foi de 14,4 dias, similar aos demais estudos^{6,21-23}.

A cultura líquida MGIT 960 automatizada apresentou melhor desempenho em comparação com MGIT manual. Comparando-se a mediana dos tempos de detecção de crescimento entre os métodos MGIT manual e automatizado, foi observada uma diferença significativa de 20 e 10 dias, respectivamente. Isto pode ser explicado pelo fato do sistema automatizado apresentar monitoramento contínuo, a cada 60 minutos, e sinalizar como positivo com base em algoritmos de crescimento específicos. Este sistema faz notificação imediata de amostras positivas, bem como oferece uma mínima intervenção e manuseio por parte do usuário¹¹. Outro aspecto importante a ser destacado quanto à mediana de tempo de crescimento é a redução pela metade (de 15 para 7 dias), ao analisar as amostras com baciloscopias negativa e positiva três cruces, respectivamente. Considerando-es as amostras com baciloscopias positivas, o tempo de detecção de positividade foi inversamente proporcional à carga bacilar e a positividade da baciloscopia foi maior para o complexo *M. tuberculosis* do que para as MNTs.

Os dados deste estudo concordam com os da literatura quanto à rapidez na detecção do crescimento e ao aumento de isolamento das espécies do complexo *M. tuberculosis*, como também das MNTs. Por outro lado, a cultura líquida requer maior percepção por parte do laboratorista, pois as características das colônias são mais evidenciadas em meio sólido. Portanto, há a necessidade de efetuar a identificação rápida do micro-organismo isolado, pois a liberação de resultado de cultura positiva para BAAR pode levar ao diagnóstico equivocado de TB²⁴.

Por esta razão, juntamente com a implantação da cultura líquida nos CLR-IAL, foi implementada a identificação presuntiva das espécies do complexo *M. tuberculosis*, que consiste na observação microscópica em esfregaços de crescimento bacteriano quanto à formação de corda. Neste estudo, foi observada a acurácia de 91,3%, sensibilidade de 95,2% e especificidade de 63,5% para a identificação presuntiva do complexo *M. tuberculosis*. Outros estudos obtiveram índices de especificidade mais elevados. No entanto, esses estudos foram realizados, em sua maioria, analisando-se cultura

em meio sólido e a leitura realizada por observadores de um único laboratório^{25,26}. No presente estudo, a leitura foi realizada por técnicos de dez diferentes laboratórios. Outro fato que merece destaque é que a cultura líquida favorece o crescimento de muitas espécies MNTs em corda, com o aspecto um pouco diferente da corda formada por espécies do complexo *M. tuberculosis*. Esta diferença pode confundir o observador com pouca experiência. O teste de formação de corda é ainda utilizado por muitos laboratórios para efetuar a identificação presuntiva, mas atualmente estão disponíveis comercialmente os testes imunocromatográficos, baseados na detecção do antígeno MPT64 que possibilitam realizar a identificação rápida a partir do crescimento bacteriano²⁷.

O presente estudo apresenta algumas limitações, porque as taxas de contaminação das culturas foram calculadas apenas para seis laboratórios; ademais, não foram avaliados os casos que apresentaram resultados de baciloscopias positivas e culturas negativas.

Em conclusão, a cultura líquida MGIT implantada na rede de laboratórios públicos demonstrou ser excelente alternativa para realizar o diagnóstico da TB e das micobacterioses, em razão da rapidez na detecção do crescimento bacteriano. Esta rapidez possibilita uma intervenção rápida e eficaz no tratamento, com benefícios para os pacientes e para o controle da doença.

AGRADECIMENTOS

À Erica Chimara, Fernanda Cristina dos Santos Simeão e Romilda Aparecida Lemes pela realização das identificações das espécies de micobactérias isoladas.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016. Geneva: World Health Organization. [acesso 2017 Mai 5]. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf?ua=1].
2. Mathew P, Kuo YH, Vazirani B, Eng RH, Weinstein MP. Are three sputum acid fast bacillus smears necessary for discontinuing tuberculosis isolation? *J Clin Microbiol*. 2002;40(9):3482-4. [DOI: http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.9.3482-3484.2002].

3. World Health Organization. Automated Real-Time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary TB in Adults and Children. 2013.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 436p.
5. Muyoyeta M, Schaap JA, De Haas P, Mwanza W, Muvwimi MW, Godfrey-Faussett P, et al. Comparison of four culture systems for *Mycobacterium tuberculosis* in the Zambian National Reference Laboratory. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(4):460-5.
6. Brum CB, Ramos DF, Abilleira FS, Silva AB, von Groll A, Silva PE. The BACTEC MGIT™ 320 system as a laboratory tool to diagnose tuberculosis in a Brazilian hospital with a high prevalence of HIV infection. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49(1):112-4. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0125-2015>].
7. Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Figueiredo TRA. Estudo comparativo entre técnicas de Löwenstein-Jensen e do sistema MB/BacT™ no isolamento de micobactérias. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2005; 64(1):132-6.
8. Pedro HS, Nardi, SM, Arroyo MG, Ferreira MI, Goloni MR, Ferrazoli L. Avaliação do desempenho dos meios de cultura Ogawa-Kudoh e MGIT™ para isolamento de micobactérias. *BEPA*. 2011;8(91):5-13.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 284p.
10. World Health Organization. Use of liquid TB culture and drug susceptibility testing (DST) in low and medium-income settings. Summary report of the Expert Group Meeting on the use of Liquid Culture Media. Geneva, 26 March 2007. Geneva, Switzerland.
11. Becton Dickinson & Co. BBL MGIT BD BACTEC MGIT 960 system user's manual. Document Number MA-0117 Revision: E. USA: 2004/06.
12. Collins CH, Grange JM, Yates MD. Identification of species. In: *Tuberculosis bacteriology: organization and practice*. 2ª ed. Butterworth-Heinemann, Oxford, 1997.
13. Coelho AGV, Zamarioli LA, Reis CMPV, Duca BLF. Avaliação do crescimento em cordas na identificação presumida do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bras Pneumol*. 2007;33(6):707-11. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132007000600015>].
14. 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 Microbiology*. 2008; 20(8):48. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-8-48>].
15. EPI Info™ 7 [internet]. Version 7.1.2.0. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 2017 [acesso 2017 Fev 3]. Disponível em: [<http://www.cdc.gov/epiinfo>].
16. Souza AM. Departamento de Estatística - PPGEMQ/PPGEP – UFSM, 2009. Disponível em: [www.ufsm.br/adriano/aulas/qq/pqq.pdf].
17. Pimentel-Gomes F. Curso de Estatística Experimental. São Paulo: Nobel, 1987.
18. Aily DC, Sato DN, Martins MC, Telles MAS. Isolamento de micobactérias em espécimes clínicos utilizando o sistema automatizado MB/BacT™. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62(3):233-7.
19. Muricy EC, Lemes RA, Bombarda S, Ferrazoli L, Chimara E. Differentiation between *Nocardia* spp. and *Mycobacterium* spp.: Critical aspects for bacteriological diagnosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2014;56(5):397-401. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652014000500005>].
20. Ueki SYM, Martins MC, Telles MAS, Virgilio MC, Giampaglia CM, 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. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-24442005000100003>].

21. Chien HP, Yu MC, Wu MH, Lin TP, Luh KT. Comparison of the BACTEC MGIT 960 with Löwenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4(9):866-70.
22. Rodrigues C, Shenai S, Sadani M, Sukhadia N, Jani M, Ajbani K, et al. Evaluation of the Bactec MGIT 960TB system for recovery and identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in a high through put tertiary care centre. *Indian J Med Microbiol*. 2009; 27(3):217-21. [DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.53203>].
23. Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol*. 1999;37(3):748-52.
24. Anthony RM, Cobelens FGJ, Gebhard A, Klatser PR, Lumb R, Rusch-Gerdes S et al. Liquid culture for *Mycobacterium tuberculosis*: proceed, but with caution. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(9):1051-3.
25. Simeão FC, Chimara E, Oliveira RS, Yamauchi JU, Latrilha FO, Telles MAS. Cord factor detection and macroscopic evaluation of mycobacterial colonies: an efficient combined screening test for the presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex on solid media. *J Bras Pneumol*. 2009;35(12):1212-6. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132009001200008>].
26. Monteiro PHT, Martins MC, Ueki SYM, Giampaglia CMS, Telles MAS. Cord formation and colony morphology for the presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Braz J Microbiol*. 2003;34(2):171-4. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822003000200016>].
27. Chikamatsu K, Aono A, Yamada H, Sugamoto T, Kato T, Kazumi Y et al. Comparative evaluation of three immunochromatographic identification tests for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *BMC Infect Dis*. 2014;14:54. [DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-54>].