

# Avaliação dos testes empregados no diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar em pacientes HIV positivos

Assessment of the laboratory tests employed for pulmonary tuberculosis diagnosis in HIV positive patients.

RIALA6/985

Andréa G. V. COELHO\*, Líliliana A. ZAMARIOLI, Clemira M. P. V. REIS, Teresa Á. R. FIGUEIREDO

\* Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Santos, Seção Biologia Médica, Área de Micobactérias, Rua Silva Jardim, 90, Vila Nova, Santos – SP, CEP11015-020 – Tel: (13) 3232-5112 – e-mail: dea\_gobetti@hotmail.com

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar os testes laboratoriais empregados no diagnóstico da tuberculose pulmonar e outras micobacterioses, em pacientes HIV positivos com suspeita de tuberculose pulmonar, atendidos no Centro de Referência em AIDS de Santos (CRAIDS) entre janeiro/1997 e dezembro/2000. Das 1.662 amostras de pacientes HIV positivos, 288 (17,3%) amostras de escarro foram positivas, das quais 169 (58,7%) por meio de técnica de baciloscopia e cultura, 103 (35,8%) pela técnica de cultura e 16 (5,5%) por meio de baciloscopia. Das amostras positivas, 216 (75%) delas foram originadas da primeira amostragem e, portanto, corresponderam às notificações do período. Dentre estas foram isoladas 191 (88,4%) micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* e 25 (11,6%) de outras micobactérias. A maior ocorrência de tuberculose pulmonar em pacientes HIV positivos foi verificada no sexo masculino (71%), na faixa etária entre 30-40 anos (47%). O estudo ressalta a necessidade da realização da cultura e da identificação das espécies micobacterianas isoladas além da baciloscopia no diagnóstico da tuberculose pulmonar em pacientes co-infectados com o vírus HIV. Acreditamos ser este mais um subsídio importante para o conhecimento epidemiológico da coinfeção AIDS –TB, uma vez que 11,5% dos casos eram de micobacteriose e 35,8% de pacientes paucibacilares.

**Palavras-Chave.** tuberculose - HIV, micobactérias atípicas, diagnóstico laboratorial, pacientes HIV positivos.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to assess the laboratory tests employed for pulmonary tuberculosis diagnosis in HIV positive patients with suspected pulmonary tuberculosis (Tb) and other mycobacteria, who were attended at the AIDS REFERENCE CENTER, Santos-SP (CRAIDS), from January 1997 to December 2000. Analyzing 1662 sputum samples, 288 (17.3%) were positive being 169 (58.7%) by means of microscopy and culture technique, 103 (35.8%) by means of culture technique, and 16 (5.5%) by microscopy. Of positive samples, 216 (75%) represented as the first sample, thus corresponding with the notification of the period. Among them, *Mycobacterium tuberculosis* complex was isolated in 191 (88.4%) samples, and other mycobacterias were detected in 25 (11.6%). The major occurrence of pulmonary tuberculosis was in male (71%) HIV co-infected patients of the age varying from 30 to 40 years old (47%). This study shows that the culture procedure and typification of mycobacteria are necessary for the pulmonary tuberculosis diagnosis in HIV positive patients in addition to microscopy technique. We believe that this study is one most remarkable subsidy for epidemiological knowledge on AIDS-Tb co-infection, since 11.5% of positive samples were due to atypic mycobacteria, and 35.8% were paucibacilar.

**Key Words.** Tuberculosis - HIV, atypic mycobacteria, laboratory diagnosis, HIV positive patients.

## INTRODUÇÃO

A tuberculose é a doença infecciosa mais comum da humanidade, de notificação compulsória, que constitui, desde a metade do século, um grave problema de Saúde Pública principalmente nos países em desenvolvimento, onde prevalecem a miséria e a desnutrição. Atualmente estima-se que cerca de 25% a 30% da população brasileira alberga o bacilo da tuberculose (TB), ocorrendo aproximadamente 90 mil casos da doença, que resultam em 5 mil óbitos anualmente. Esses números, porém, não traduzem a realidade, uma vez que se deve levar em conta a subnotificação decorrente das deficiências da rede de Saúde Pública, das dificuldades no diagnóstico ou até mesmo na identificação dos enfermos que não procuram os Postos de Saúde<sup>1,7,22</sup>.

Diferente do que se imaginou nas décadas de 60 e 70, de que, com a conquista de uma potente quimioterapia a doença tenderia a um efetivo controle, entretanto a tuberculose recrudescceu em todo o mundo. Este recrudescimento foi facilitado por suas relações com a pandemia do HIV, pela ampliação da miséria da população desfavorecida, em contraste com o aumento da longevidade nas mais desenvolvidas, pela progressiva diminuição dos investimentos no setor de saúde e a deterioração dos serviços de assistência pública<sup>7,9</sup>.

Estudos mostram que o bacilo da tuberculose se encontra em estado latente em cerca de 1/3 da população mundial, desta forma, é de se esperar um aumento nos casos de tuberculose num paciente imunodeprimido, como o infectado pelo HIV. A TB leva a óbito 32% dos indivíduos com AIDS, representando o triplo das mortes causadas por qualquer outra causa patológica nestes pacientes. Além disso, mulheres com tuberculose morrem mais do que todas as causas de mortalidade materna somadas; e mata mais jovens e adultos do que qualquer outra doença infecciosa. O risco anual de progressão para tuberculose-doença, entre os pacientes coinfectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* – HIV, varia de 5% à 15%, contra 0,5% à 1% nos não co-infectados. A probabilidade de um indivíduo HIV negativo e infectado por tuberculose vir a adoecer durante toda a sua vida é cerca de 10%, enquanto para o HIV positivo a taxa de adoecimento é de 10% a cada ano<sup>7,18,21</sup>.

No Brasil entre os casos de AIDS notificados pelo Ministério da Saúde (MS), a tuberculose é a terceira infecção mais freqüente (20%). Cerca de 29% dos pacientes com AIDS apresentam tuberculose no momento do diagnóstico e cerca de 50% dos infectados pelo HIV poderão ter tuberculose no decorrer de suas vidas. Em 1990, cerca de 4,2% de todos os casos de tuberculose foram atribuídos à infecção pelo HIV e em 1999 o município em estudo apresentou 564 casos de tuberculose, sendo 23,9% com sorologia positiva para o HIV<sup>4,6</sup>.

A partir dos anos 80, com o advento da AIDS, a presença das micobactérias não tuberculosas (MNT) tornaram-se comuns em pacientes imunocomprometidos. Entre estas, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium avium* – *intracellulares* são espécies com alta freqüência de isolamento em doenças pulmonares

humanas. A prevalência de MNT no Brasil é de aproximadamente 6 por 1000 habitantes. Nos pacientes com HIV, 60% das MNT são representadas pelo complexo *Mycobacterium avium-intracellulare* e 16% pela *Mycobacterium kansasii*<sup>2,19</sup>.

No Brasil, onde é alta a incidência da co-infecção TB/HIV, podemos esperar um aumento dos casos de MNT e de tuberculose extrapulmonar, assim o diagnóstico precoce e terapêutica apropriada para estes pacientes deve ser priorizada no intuito de diminuir a morbi/mortalidade associada à co-infecção<sup>18</sup>.

Assim, o presente estudo foi efetuado com o objetivo de avaliar os ensaios utilizados no diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar em pacientes HIV positivos, atendidos no Centro de Referência em AIDS de Santos (CRAIDS).

## MATERIAL E MÉTODOS

Entre janeiro/1997 a dezembro/2000, foram analisados 1662 amostras de escarro, de pacientes HIV positivos, com suspeita clínica de tuberculose pulmonar, procedentes do Centro de Referência em AIDS (CRAIDS) – Santos/SP. Deste total 1.212 representam primeira amostra (sintomáticos respiratórios) e 450 segunda e terceira amostra, conforme recomendações do Manual de Bacteriologia da Tuberculose<sup>16</sup>. Os dados dos pacientes, segundo sexo e faixa etária, foram verificados nas fichas de notificação procedentes do CRAIDS, e confrontados com os dados laboratoriais do Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Santos.

### Procedimentos Bacteriológicos

1 – Baciloscopia: foi realizado um esfregaço de cada amostra coletada e corado pelo Método de Ziehl-Neelsen. No caso de lâminas positivas realizou-se a contagem bacilar semiquantitativa conforme o índice baciloscópico recomendado pelo MS<sup>16</sup>.

2 – Cultura: os espécimes clínicos foram semeados em Meio de Lowestein-Jensen, após digestão e descontaminação pelo Método de Petroff<sup>16,17</sup> e incubados a 37°C, por 60 dias e inspecionados semanalmente. Não havendo crescimento nos tubos após 60 dias, as culturas foram consideradas negativas.

3 – Identificação: culturas positivas foram encaminhadas ao IAL Central para identificação de acordo com as técnicas preconizadas pelo MS; observando-se a pigmentação das colônias, aspecto e realização de provas bioquímicas<sup>12,15,16</sup>.

## RESULTADOS

Do total de 1662 amostras de escarro analisados no diagnóstico de tuberculose pulmonar, provenientes de pacientes HIV+ atendidos no CRAIDS – Santos/SP, 1.212 espécimes eram de 1ª amostragem e 450 de 2ª e 3ª amostragem, representando 13% e 4% de culturas positivas respectivamente (Tabela 1). O

resultado segundo a técnica de cultura foi positivo em 288 (17,3%) sendo 169 (58,7%) detectadas através das técnicas de baciloscopia e cultura, 103 (35,8%) apenas pelo cultivo, isto é, apresentaram baciloscopia negativa e cultura positiva e 16 (5,5%) pela baciloscopia (Tabela 2).

No universo das 288 amostras de escarro positivas, 216 (75%) eram provenientes de sintomáticos respiratórios,

correspondendo assim a 1ª amostra, portanto de casos novos de tuberculose no período em análise (janeiro/1997 a dezembro/2000), as demais 72 (25%) amostras positivas representam a 2ª e 3ª amostra coletadas no período (Tabela 2).

Na Tabela 3 podemos verificar uma predominância do sexo masculino (71%) na faixa etária do 30-40 anos (47%) entre os pacientes HIV+ co-infectados pela TB.

**Tabela 1.** Exames realizados para diagnóstico de TB pulmonar, em pacientes HIV+, segundo a técnica de cultura, atendidos no CRAIDS – Santos/SP, no período de 1997 a 2000.

Ano	1ª. amostra		2ª. / 3ª. amostra		Total de amostras n° (%)
	P	N	P	N	
1997	66	226	20	90	402 (24)
1998	50	268	26	123	467 (28)
1999	53	263	11	92	419 (25)
2000	47	239	15	73	374 (23)
Total de amostras n° (%)	216 (13)	996 (60)	72 (4)	378 (23)	1662 (100)

P – positivo. N – negativo.

**Tabela 2.** Distribuição das 288 amostras de escarro positivas para diagnóstico de TB pulmonar, em pacientes HIV+, segundo técnica de baciloscopia e cultura, atendidos no CRAIDS – Santos/SP, no período de 1997 a 2000.

Ano	1ª. amostra			2ª. e 3ª. amostra			Total de amostras n° (%)
	BK(+) C(+)	BK(+) C(-)	BK(-) C(+)	BK(+) C(+)	BK(+) C(-)	BK(-) C(+)	
1997	37	01	28	14	00	06	86 (30)
1998	28	02	20	15	00	11	76 (26)
1999	26	09	18	08	00	03	64 (22)
2000	29	04	14	12	00	03	62 (22)
Total n° (%)	216 (75)			72 (25)			288 (100)

BK – baciloscopia, C – cultura, (+) – positivo, (-) – negativo

**Tabela 3.** Distribuição das 216 amostras de escarro positivas na 1ª. amostra, para diagnóstico de TB pulmonar, em pacientes HIV+, segundo sexo e faixa etária, atendidos no CRAIDS – Santos/SP, no período de 1997 a 2000.

Faixa Etária	Sexo		Total de amostras n° (%)
	Masculino	Feminino	
10 - 20	01	01	02 (1)
20 - 30	27	19	46 (20)
30 - 40	82	26	108 (47)
40 - 50	37	12	49 (27)
50 - 60	07	04	11 (5)
Total de amostras n° (%)	154 (71)	62 (29)	216 (100)

**Tabela 4.** Distribuição das 216 amostras de escarro positivas na 1ª. amostra, para diagnóstico de TB pulmonar, em pacientes HIV+, segundo o agente etiológico, atendidos no CRAIDS – Santos/SP, no período de 1997 a 2000.

Agente Etiológico	Total de amostras	%
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	191	88
<i>Mycobacterium kansasii</i>	03	1
<i>Mycobacterium avium</i>	04	2
<i>Mycobacterium terrae</i>	01	1
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	11	5
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	01	1
Outras n° (%)	05	2
Total de amostras	216	100

Dentre as 216 amostras de escarro positivas provenientes de pacientes coinfectados foi observado presença de *Mycobacterium tuberculosis* em 191 (88,4%) amostras, seguidas das demais micobactérias (11,6%) (Tabela 4).

## DISCUSSÃO

O HIV tem profundo efeito na patogênese da tuberculose, pois em pacientes infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis*, a coinfeção com HIV aumenta o risco de evolução da infecção para a doença ativa e a disseminação da tuberculose, o que acelera o processo epidêmico<sup>20</sup>.

A infecção pelo vírus HIV produz uma disfunção progressiva do Sistema Imune, comprometendo a imunidade celular mediada pelos linfócitos CD4, tornando essas células incompetentes na defesa contra o microrganismo<sup>3</sup>.

Em pacientes HIV positivos com CD4 superior a 350 céls/mm<sup>3</sup>, a tuberculose é indistinguível daquela encontrada em pacientes não-infectados pelo HIV. A doença extrapulmonar ocorre em frequência igual ou pouco superior (10 a 20%) àquela observada nos pacientes com tuberculose não infectados pelo vírus. Nestes casos a dificuldade reside no diagnóstico da infecção pelo HIV. Nos infectados com HIV e com CD4 abaixo de 200 céls/mm<sup>3</sup>, a tuberculose ocorre tanto na forma extrapulmonar quanto na pulmonar. Nesta situação a positividade na forma pulmonar da baciloscopia de escarro e lavados brônquicos tende a ser baixa, tornando o diagnóstico difícil, atrasando o início da terapia antituberculose<sup>5,11,14</sup>.

Devido à grande frequência de pacientes infectados por HIV em nossa região, a tuberculose deveria ser incluída no diagnóstico diferencial de virtualmente todas as condições

clínicas. Principalmente na fase avançada da infecção pelo HIV, todo e qualquer material obtido, deveria ser examinado para detecção da micobactéria<sup>10,13</sup>.

No diagnóstico laboratorial da enfermidade, a sensibilidade da baciloscopia direta do escarro varia de 41% a 81%. Em pacientes na fase avançada da infecção pelo HIV esta sensibilidade diminui, além de ser mais difícil à obtenção do escarro<sup>8</sup>. Em nossos resultados a sensibilidade da baciloscopia foi de 64% e a cultura de 95%, proporcionando um acréscimo de 36% em relação ao total de casos diagnosticados; enfatizando assim a necessidade de acrescentar a realização da cultura, no diagnóstico da tuberculose nos pacientes coinfectados, conforme critérios estabelecidos pelo Programa de Controle da Tuberculose<sup>16</sup>. Além de oferecer maior sensibilidade, a técnica de cultura possibilita isolamento do microrganismo, a identificação do agente etiológico e estudos da resistência frente aos atuais quimioterápicos, informações estas que se mostram importantes na avaliação do tratamento e nos esquemas terapêuticos utilizados<sup>8</sup>.

Sendo assim, ressaltamos que a presença de bacilos álcool ácidos resistentes (BAAR) no escarro, bem como a presença de colônias de micobactéria na cultura, não fecham o diagnóstico nos pacientes com HIV, necessitando da identificação da espécie devido à frequência de micobacterioses (11,6%). Sendo confirmada a suspeita de micobactéria atípica, que é verificada pela ausência de resposta ao tratamento adotado nos pacientes com suspeita de albergar cepas multiresistentes, é necessário realizar alteração da terapia medicamentosa pois a maioria das cepas atípicas é resistente aos tuberculostáticos<sup>8</sup>.

Em pacientes HIV, o impacto da doença oportunista causada pelas micobacteriose, em particular pelo *Mycobacterium avium*, e seu significado na síndrome da AIDS são variáveis de região para região, apresentando taxas entre 1,1% e 45% ou mais<sup>23</sup>. Em nosso estudo apresentou uma taxa de 2%.

Os dados desta avaliação confirmam ainda que a doença em pacientes coinfectados não ocorre de forma homogênea entre os sexos e faixas etárias, mostrando uma maior ocorrência no sexo masculino (71%) e na faixa etária dos 30 - 40 anos (47%).

Ao analisar os dados obtidos neste período, os autores ressaltam a importância de uma metodologia organizada e coerente com a realidade da região, evidenciando a necessidade de realizar a cultura bacteriológica no momento do diagnóstico além da baciloscopia, pois representou um aumento de 3% na positividade, e da identificação do agente etiológico, uma vez que 11% das cepas eram outras micobactérias, para que o laboratório possa ter um subsídio importante no conhecimento epidemiológico da coinfeção AIDS-TB e diagnóstico laboratorial da enfermidade, contribuindo com as ações de vigilância e melhoria do diagnóstico.

## REFERÊNCIAS

1. Barco, P.; Cardoso, R.F. Tuberculose e Resistência a Drogas. **Rev. Laes & Haes**. 141: 130-44, 2003.
2. Barreto, A.M.W.; Campos, C.E.D. Micobactérias "não tuberculosas" no Brasil. **Bol. Pneumol. Sanit.** 8(1): 23-32, 2000.
3. Bender, B.S. et al. Role of the mononuclear phagocyte system in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. **Rev. Infect. Dis.** 10: 1142 - 54, 1988.
4. BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Aids**. 6(2): set., 1994.
5. BRASIL, Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/Aids co-infecção TB/HIV/AIDS, 1994.
6. BRASIL, Ministério da Saúde/DNPS/CNCT. Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço. CNT/NUTES. 4ª. ed. Revisada, Rio de Janeiro, 1994.
7. BRASIL, Ministério da Saúde. MS/FNS/CRPHF/PNCT. Reunião de avaliação operacional e epidemiológica do PNCT na década de 80. Documento Básico. **Bol. Pneumol Sanit.** no. especial, 1993.
8. Fiúza de Melo, F.A. Tuberculose. In: Veronesi, R. F.. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 9114-42.
9. Fiúza de Melo, F.A. Tuberculose: um assunto atual e oportuno. **J. Pneumologia**. 19: III, 1993.
10. Haddad, D.J. **Micobactérias isoladas de pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana na Grande São Paulo: aspectos microbiológicos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais**. São Paulo, 1994 [Dissertação de Mestrado - Escola Paulista de Medicina].
11. Hopewell, P.C. Impact of human immunodeficiency virus infection on the epidemiology, clinical features, management and control of tuberculosis. **Clin. Infect. Dis.** 15: 540-7, 1992.
12. Kent, P.T.; Kubica, G.P. Identification test techniques. In: Public Health Mycobacteriology. **A guide for the Level III Laboratory**. Centers for Disease Control, Atlanta, p. 207, 1985.
13. Kritski, A.L. **Infecção pelo HIV em pacientes com tuberculose pulmonar ativa atendidos em dois sanatórios do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 1992 [Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Rio de Janeiro].
14. Kritski, A.L. Tuberculose e infecção e HIV. In: Schecheter M.; Marangoni, D. (eds). **Manual de doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica**. Guanabara Koogan: 465-71, 1993.
15. Levy, U. et al. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnoses of pulmonary tuberculosis. **Chest**. 95: 1193-7, 1989.
16. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Programa Nacional de Combate da Tuberculose. Manual de Bacteriologia da Tuberculose, 1ª. ed. Rio de Janeiro. Fundação Nacional da Saúde, 1998.
17. Petroff, S.A. A new rapid method for the isolation and cultivation of tubercle bacilli directly from sputum and feces. **J. Exp. Med.** 21: 38, 1915.
18. Raviglione, M.C.; Sender, D.E.; Kochi, A. Global epidemiology of tuberculosis morbidity and mortality of a worldwide epidemic. **JAMA**. 273: 220-6, 1995.
19. Silva, E.A.M. et al. Ocorrência de infecção pulmonar devida ao *Mycobacterium kansasii*, em São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. 47: 11-7, 1987.
20. Small, P.M.; Moss, A. Molecular epidemiology and the New Tuberculosis. Stanford University, 2000.
21. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Alguns dados sobre Tuberculose, 2000. Availabe, [http://www.nib.unicamp.br/sbpt/daddeptb.html].
22. Sutre, P.; Tem Dan, G.; Kochi, A. Tuberculosis: a global overview of the situation today. **Bull WHO**. 70: 149-59, 1992.
23. Woods, G.L.; Washington, J.A. Mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*: review of microbiologic and clinical aspects. **Rev. Infect. Dis.** 9: 275-94, 1987.