

# IV SIMPÓSIO BRASILEIRO EM MICOBACTÉRIAS

## ABSTRACTS

Bauru - São Paulo

04 a 08/11/91

**SAAD, M.H.; SANTANNA, C.C.; FERREIRA, J.V.; KRISTSKI, A. & FONSECA, LS.** Atividade de anticorpos IgG anti PPD no sorodiagnóstico da tuberculose infantil.

A detecção de anticorpos IgG anti PPD pelo método imunoenzimático pode ser útil no sorodiagnóstico da tuberculose visto ser a técnica de ELISA rápida e de fácil execução. Com o objetivo de avaliar o uso do ELISA no diagnóstico da tuberculose infantil, foram testados 28 soros de crianças com tuberculose ativa (16 casos com cultura positiva e 12 casos com cultura negativa) e 27 crianças saudáveis. A sensibilidade do teste foi de 43% e a especificidade de 95%. Interessante notar que 33% dos casos com cultura negativa, foi identificado pela sorologia.

A análise destes resultados sugere uma correlação positiva com a doença disseminada (tuberculose miliar e meningeal e uma correlação negativa com a reatividade do teste cutâneo do PPD. O diagnóstico sorológico pela ELISA se mostra promissor mas outros antígenos mais específicos serão avaliados para se obter melhor sensibilidade.

**DAMASCO, M.H.S.; ALBUQUERQUE, E.C.A.; CORREIA, T.G.; GALLO, M.E.N.; NERY, J.A.C.** Acompanhamento de pacientes em alta após tratamento poliquimioterápico.

Com o objetivo de determinar a adequação do tratamento poliquimioterápico em pacientes multibacilares no período de dois anos e definir o estado bacilosscópico na ocasião da alta, foram estudados até o momento 21 pacientes. Esses pacientes foram submetidos aos esquemas de tratamento preconizados pela DNDS

ou OMS durante um período de dois anos. No momento de alta terapêutica foram biopsiados e o material inoculado em pata de camundongo a fim de verificar a viabilidade bacilar.

Dos 21 pacientes, 17 apresentavam  $IB > 3$  na ocasião da alta, 4 apresentavam  $IB < 3$ . Apesar da maioria dos pacientes apresentar  $IB > 3$ , até o momento somente em um caso o teste de viabilidade bacilar foi positivo.

**LEITE, C.Q.F.; FERRACINI Jr., R. & FALCÃO, D.P.** Isolamento e identificação de micobactérias a partir de águas e sua correlação com outras bactérias do mesmo ambiente.

Micobactérias potencialmente patogênicas são encontradas em diferentes tipos de águas, tornando estas águas importante veículo de sua disseminação. Fez-se isolamento e identificação de micobactérias a partir de 302 amostras de água doce. Pesquisou-se bactérias heterotróficas, coliformes fecais e concentração de cloro, nas mesmas amostras. Concentrou-se o material disperso em 1 litro de água, fez-se a descontaminação ácida e cultivou-se o material no meio de Lowenstein-Jensen a 30 e 37°C por 21 dias. Identificou-se as micobactérias através de método recomendado pelo Laboratório de Micobactérias do Instituto Pasteur de Paris, e pela análise dos ácidos micólicos. Fez-se a Contagem Padrão em Placa de Organismos Heterotróficos e determinou-se o NMP de coliformes fecais. Para o teste de resistência ao cloro utilizou-se a técnica de Symon et al modificada com o total de 117 cepas isoladas. Destas, 45, 3% podem ser consideradas potencialmente patogênicas. Isolou-se mico-

bactérias principalmente de águas menos poluídas, com baixa densidade de bactérias heterotróficas e com até 2 coliformes em 100 ml de amostra. Verificou-se alta resistência de micobactérias a coloração. Concluiu-se que mesmo as águas cloradas com a ausência de coliformes fecais podem veicular micobactérias potencialmente patogênicas.

**ALBUQUERQUE, E.C.A.; NERY, J.A.C.; MALTA, A.M.; VIANA, S.M.; GALLO, M.E.N.** Importância da baciloscopia no diagnóstico da hanseníase.

Os avanços tecnológicos em saúde, muitas vezes tem deslocado a atenção dos profissionais da área para técnicas mais complexas em detrimento das mais simples e adequadas aos serviços locais.

A técnica da baciloscopia é simples, de baixo custo e que pode ser implantada na rede pública, sendo importante porém, a manutenção de um bom padrão de qualidade.

A baciloscopia da hanseníase é muito importante na avaliação do status bacilar do paciente, no monitoramento terapêutico e principalmente, é um teste laboratorial que fornece ao clínico parâmetro no diagnóstico da doença.

Os autores apresentam três pacientes que compareceram ao Ambulatório Souza Araújo, relatando apenas queixas neurológicas (dormência) e os quais ao exame dermatológico não apresentavam evidências de lesões hansênicas, foram então submetidos aos exames de rotina (coleta de linfa, avaliação fisioterápica, histopatologia e baciloscopia). A baciloscopia foi extremamente importante nestes casos, pois através dela foi possível diagnosticar estes pacientes que clinicamente não apresentavam sintomas de Hanseníase multibacilare monitorar corretamente o esquema terapêutico utilizado, na medida em que foram adequadamente classificados como multibacilares.

**MARSICO, A.G.; VIEIRA, G.B.O. & GONTIJO FILHO, P.P.** Diagnóstico etiológico da tuberculose em hospital de referência.

O ITP-UFRJ é um hospital de referência para doenças de pulmão, entre as quais se inclui

a tuberculose. O objetivo desta investigação foi a análise da positividade obtida pela baciloscopia e cultura em espécimes provenientes de pacientes atendidos pela primeira vez e em retratamento. Foram analisados 3.766 espécimes clínicos no decorrer de 1990, entre os quais o escarro (73,00%) foi predominantemente. Os demais incluíam principalmente: bronco aspirado (6,71%), lavado brônquico (4,48%), biópsias (5,70%) e urina (3,23%). Os esfregaços preparados a partir de todos os espécimes foram corados pelo método de Ziehl-Neelsen e as culturas foram realizadas em meio de Lowenstein- Jensen. Os materiais contaminados como o escarro, foram tratados pelo método de Petroff. A positividade obtida nos demais métodos foi de 18,3% para baciloscopia e 20,9% para a cultura, sendo mais elevada em ambos os casos quando considerados apenas os pacientes em retratamento; em cerca de 40% dos casos não foi possível verificar o grupo (não referidos pelo não preenchimento correto do pedido de exame. Naqueles em que foi possível comparar diretamente a baciloscopia x cultura (595) a cultura aumentou em cerca de 50% a positividade do diagnóstico. A porcentagem de exames com baciloscopia positiva e cultura negativa foi de 4,0% entre os pacientes em retratamento. O diagnóstico etiológico da tuberculose na clientela atendida pelo ITP obtido em cerca de 20% dos pacientes.

**RODRIGUES, C.A. & GONTIJO FILHO, P.P.** Microscopia fluorescente versus microscopia pelo Ziehl-Neelsen no diagnóstico da tuberculose pulmonar.

A microscopia fluorescente utilizando a auramina O é mais sensível que a microscopia ótica, que emprega técnica de Ziehl-Neelsen no diagnóstico da tuberculose. A sua utilização numa rotina em que a demanda é grande, permite uma melhor racionalização das atividades do laboratório. Para avaliar o rendimento da microscopia fluorescente na rotina do Serviço de Bacteriologia do ITP, foram realizados esfregaços a partir do escarro "in natura", sendo corados pelo método de Ziehl-Neelsen e pela técnica de fluorescência. A positividade obtida pelas microscopias

fluorescente e ótica foram, respectivamente, de 29,13% (30/103) e 22,03% (23/103). A utilização da técnica da fluorescência resultou num aumento de cerca de 30% na positividade do diagnóstico laboratorial da tuberculose, através do exame direto. Não foi observado nenhum caso em que a presença de bacilos álcool-ácido resistentes fosse constatada apenas pelo método Ziehl-Neelsen.

Fluorescência	Ziehl-Neelsen				Total
	-	+	++	+++	
+	7	13	9	1	30
-	73	-	-	-	73
Total	80	13	9	1	103

Os resultados demonstram que o microscópio fluorescente deve ser empregado na rotina de laboratórios que possuam demanda adequada.

**MIRANDA, R.N.; PEREIRA, C.A.Z.; FILLUS NETO, J.; DECHANDT, L.T.** Resultados de inoculação intradérmica, em hansenianos, de uma suspensão de micobactérias cultivadas.

A partir de uma cultura de micobactérias, isolada de doente hanseniano de forma virchowiana e grandemente bacilífera, foram preparadas duas suspensões, em soro fisiológico fenicado, contendo uma delas  $1,5 \times 10^7$  bactérias por ml; outra,  $5,1 \times 10^7$  bactérias por ml, mortas pelo calor. O preparado, antes de ser aplicado em humanos, foi submetido a todas as provas de qualidade e inoquidade recomendadas pela OMS. Submeteram-se espontaneamente à experimentação 64 hansenianos, em tratamento no CELSA, recebendo cada um, inoculações intradérmicas da suspensão bacteriana, uma ou mais vezes, à razão de 0,1 ml em cada inoculação. A leitura das respostas foi realizada aos 21 ou 30 dias, sendo o tubérculo formado no local da inoculação, medido em milímetros lineares e biopsiado para exame. Quarenta e três virchowianos e um dimorfo, todos Mitsudanegativos, responderam com granuloma tuberculóide à primeira ou à posterior inoculação. Oito tuberculóides, Mitsuda-positivos,

responderam igualmente com granuloma tuberculóide. Doze pacientes deixaram de ser avaliados por terem formas clínicas mal definidas ou por motivo de insatisfatório controle. Nenhum paciente apresentou fenômenos adversos durante a experimentação.

**OLIVEIRA, M.H.P.; FOSS, N.T. & CAMARGO, L.C.** Associação de hanseníase virchowiana (HV) e síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA)

J.C.O., 26 anos, solteiro, masculino, preto, pintor, procedente de Ribeirão Preto-SP. Paciente em tratamento irregular de HV há 9 anos, sendo alcoólatra crônico (aproximadamente 9 anos). Faz uso de drogas (maconha cerca de 9 anos) e há 2-3 anos utilizando cocaína (injetável). Apresenta também antecedentes e promiscuidade sexual. Há um ano com sorologia anti HIV+, pertencendo ao grupo III de infectado. Atualmente tem sorologia para sífilis positiva (VDRL positiva) está recebendo tratamento para Tuberculose Pulmonar. O objetivo da apresentação é destacar que após o diagnóstico de HV o paciente teve distúrbios de comportamento seguido das intercorrências mencionadas. Ressalta-se também a importância epidemiológica do quadro, com contaminação de parceiro (amásia tem diagnóstico de hanseníase e imunodeficiência adquirida (SIDA).

**VIANA, S.B.; FERREIRA, R.L.T.; SCHWANTES, I.; XAVIER, R.G.; CARAMOIR, A.C.; MATUSIAK, R.; SEVERO, L.C.** Integração entre laboratórios que atuam em saúde pública para diagnóstico de micobactérias em hospital geral.

De dezembro de 1989 março de 1991, 77 amostras de materiais diversos foram enviados ao laboratório de microbiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para pesquisa de micobactérias. Realizou-se exame direto, com coloração Ziehl-Neelsen, e cultura em meio de Lowenstein-Jensen.

As 37 culturas positivas foram encaminhadas ao Instituto de Pesquisas Biológicas (SSMA/RS) que centraliza no estado este tipo de cultivo, controlando e selecionando as amostras

para melhoria de sua qualidade e, enviando-as ao laboratório do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, Rio de Janeiro - RJ, atualmente responsável perante os Programas de Controle de Tuberculose dos estados brasileiros, pela identificação e teste de resistência à tuberculostáticos. Para controle de qualidade externo foram enviadas aleatoriamente amostras ao CDDC para América Latina em Otawa, Canadá.

Enfatiza-se a importância da integração, em nosso meio, entre laboratórios ligados à saúde pública principalmente levando-se em conta as dificuldades financeiras encontradas atualmente nos países em desenvolvimento.

Apesar de estar se realizando há pouco tempo, a integração já tem mostrado resultados promissores, como o crescente envio dos mesmos materiais para serem cultivados nos dois laboratórios locais (HCPA e IPB).

**ARRUDA, M.S.P.; FLEURY, R.N.; ARRUDA, O.S.; VILANI, F.R.; NOGUEIRA, M.E.S.** Reatividade ao PPD em hanseníase.

Os autores investigaram a correlação entre a reação de Mitsuda e reatividade frente a antígenos do *M. tuberculosis*/BCG em 18 pacientes tuberculóides e 101 virchovianos, sendo 47 inativos e 54 em atividade. Destes últimos, 21 em surto de Entoma nodoso hanseniano, na época da experimentação.

Neste estudo a frequência de positividade ao P.P.D. em pacientes hansenianos em atividade é semelhante aquela verificada na população normal (39,79% e 42% respectivamente). Em pacientes inativos a frequência é maior (51,06%). Reações gigantes (induração igual ou superior a 40 mm de diâmetro) foram observadas em 4,2% dos pacientes inativos.

A avaliação da participação da hipersensibilidade a antígenos do *M. tuberculosis*/ BCG na manifestação histológica da reação de Mitsuda não foi evidenciada neste estudo, pois 61,11% dos pacientes Mitsuda histologicamente positivos, não exibiam reatividade ao P.P.D.. Além disso, embora 40,25% dos pacientes virchovianos apresentassem reatividade ao P.P.D., eram Mitsuda negativos.

Os autores sugerem que, embora estas micobactérias expressem epítomos comuns,

é possível que estes pacientes respondam a antígenos altamente específicos do *M. leprae* e *M. tuberculosis*/BCG. No caso dos pacientes virchovianos, ressaltam ainda, a possibilidade da interferência de células supressoras que atuariam inibindo a resposta a epítomos presentes apenas no *M. leprae*.

**COSTA, H.C.; OPROMOLLA, D.V.A.; BEIGUELMAN, B.** Resistência do *Mycobacterium leprae* à Diamino difenil sulfona (DDS) e a acetilação da isoniazida (INH) em pacientes virchovianos.

O presente trabalho teve por objetivo investigar se o fenótipo acetilador de isoniazida (INH) tem ou não influência na emergência de resistência nos bacilos de pacientes com hanseníase.

Vinte e um pacientes virchovianos, de acordo com a classificação de Madrid, internados no Hospital Lauro de Souza Lima, estado de São Paulo, com mais de 5 anos de tratamento com diamino difenil sulfona (DDS) e com índice bacilar maior ou igual a 3+, foram estudados quanto ao fenótipo acetilador de INH pela técnica proposta por EIDUS el alli, 1973; HODGLIN el alli, 1974. Com o intuito de estudar a resistência do *Mycobacterium leprae* desses pacientes à DDS, os bacilos provenientes de suas lesões mais ativas foram coletados e processados de acordo com a técnica de inoculação em coxim plantar de camundongos estirpe BALB/c isogênicos (SHEPARD, 1960; PETTIT & REES, 1964).

Nossos resultados demonstraram que a resistência a doses altas de DDS (resistência total) ocorre mais rapidamente nos indivíduos que são acetiladores rápidos de INH. Os indivíduos com fenótipo acetilador rápido de INH possuem uma carga bacilar maior por permanecerem com a DDS ativa em circulação por menor intervalo de tempo. Seus bacilos, apresentam, por isso, maior probabilidade de sofrer mutação e conseqüentemente apresentar resistência à DDS. Em decorrência do constatado no presente trabalho, que os indivíduos acetiladores rápidos possuem uma carga bacilar maior do que os lentos, quando os seus bacilos são sensíveis à DDS, a dose de DDS nos acetiladores rápidos pode ser aumentada e nos lentos

diminuída.

**ALVARIZA, M.C.B.; BOFFO, M.M.S.; COCH, M.N.G.; DURO, A.A.; HUTNER, M.D.; SASSI, M.G.M.; TEIXEIRA, T.M.M & TOSO, L.C.** Detecção de micobactérias em material patológico na cidade de Rio Grande - RS.

Os autores apresentam os resultados do programa de detecção de micobactérias em material patológico na cidade de Rio Grande, RS. Os espécimes examinados foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Ensino Miguel Riet Correa Jr. e ao Centro de Saúde local, no período de 3/4/91 a 15/5/91, apresentando a seguinte distribuição: 103 amostras de escarro correspondentes a 57 pacientes; 14 amostras de urina correspondentes a 4 pacientes; 2 fragmentos necropsiados de pulmão referentes a um paciente; uma biópsia de gânglio e uma amostra de líquido pleural. O exame baciloscópio detectou a presença de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) em 18,18% das lâminas. O critério de seleção para os 76 cultivos realizados em meios de Lowenstein-Jensen e Stonebrink incluiu todos os materiais originados de punção-biópsia ou necrópsia, pelo menos uma amostra de escarro por paciente e 3 amostras de urina por paciente. Em 9 cultivos (11,84%) foi identificado *Mycobacterium tuberculosis*, através dos testes de produção de niacina, redução de nitratos e inibição da catalase a 68°C. Foi detectado crescimento de BAAR em onze outros cultivos (14,47%), entretanto por pequeno número de colônias, presença de outras bactérias ou diferente resposta aos testes de triagem necessitariam ser repicados e submetidos a estudos complementares.

**MALUCELLI, M.I.C.; NIERO, R.; LUCCHIARI, P.H.; BACILA, M.** Estudo da sensibilidade do método polarográfico na determinação do consumo de oxigênio da vacina BCG liofilizada.

Visando a rápida determinação da viabilidade da vacina BCG liofilizada, foi construído um equipamento de polarografia,

especialmente projetado para esta finalidade, com base em instrumentos anteriormente desenvolvidos por LUCCHIARI et alii, 1984. Tal polarógrafo, possui importantes características, sendo o eletrodo de platina e o de referência AgAgCl embutidos em uma peça única, que ainda contém um sensor que permite controlar, com precisão, as variações de temperatura que ocorrem na câmara de reação. A sensibilidade do método polarográfico em diversas concentrações da vacina BCG liofilizada (de 1 a 100 mg) foi testada em relação ao consumo de oxigênio, tendo sido verificada a existência de linearidade de 1 a 20 mg de vacina, fato que permite ampla margem de análise, particularmente em processo de rápida execução. Verificou-se também direta correlação entre a concentração de proteínas das amostras e a velocidade de consumo de oxigênio. O estudo de correlação entre os valores obtidos por regressão linear, mostrou excelente correlação tanto entre concentração de vacina liofilizada e consumo de oxigênio, como entre concentração proteica e consumo de oxigênio, com coeficientes de correlação de 0,9986 e ,09859 (alfa =0,05), respectivamente.

**MALUCELLI, M.I.C.; NIERO, R.; LUCCHIARI, P.H.; BACILA, M.** Determinação do consumo de oxigênio pelo método polarográfico de três lotes de vacina BCG liofilizada submetidos a diferentes temperaturas.

Testou-se a confiabilidade do método polarográfico (Malucelli, 1991), na determinação da viabilidade da vacina BCG liofilizada, pela determinação do consumo de oxigênio, tendo em vista a sensibilidade do BCG quando exposto ao calor. Amostras da vacina foram submetidas a diferentes temperaturas (42°C por 60 minutos; 56°C; 70°C e 100°C por 15 minutos), em comparação com amostras mantidas em temperatura adequada (2° a 8°C). As amostras dos três lotes mantidas durante 60 minutos a 42°C mostraram uma redução de 65% do consumo de oxigênio. As demais, mantidas a 56°C, 70°C e 100°C, durante 15 minutos não revelaram consumo de oxigênio nos três lotes estudados, demonstrando que 8 se não existem organismos

vivos, não há consumo de oxigênio.

**MALUCELLI, M.I.C.; NIERO, R.; LUCCHIARI, P.H.; BACILA, M.; SOUZA, M.D.C.; BRUZZO, D.; ALVES, R.C.B.** Estudo comparativo da viabilidade da vacina B.C.G. pelos métodos polarográficos, Walburg e contagem de colônias (UFC).

Em 34 lotes de vacina BCG liofilizada, comparou-se a determinação da viabilidade, pelos métodos polarográficos (Malucelli, 1991), Walburg e contagem de colônias (UFC). Os resultados obtidos entre o método polarográfico e o de Walburg foram não significantes, quando analisados estatisticamente (teste *t*), demonstrando que ambos os métodos dão resultados semelhantes, tendo a regressão linear revelado correlação positiva de alta intensidade  $r=0,8615$  ( $\alpha=0,05$ ). Na comparação entre o método polarográfico e o de contagem de colônias, a regressão linear revelou também correlação positiva  $r=0,6530$  ( $\alpha=0,05$ ). O método polarográfico apresentou as seguintes vantagens em relação aos métodos analisados (cerca de 15 minutos), utilização de menor quantidade de vacina no teste (1-20mg), leitura direta de variação de temperatura; curva de consumo de oxigênio inscritas diretamente no papel de registro; facilidade de construção e manejo; baixo custo operacional e de equipamento.

**SUFFYS, P.N.; DE MIRANDA, A.B.; SANTOS, A.R.; SARNO, E.N. & DEGRAVE, W.N.** Possible diagnosis of tuberculosis and leprosy by use of microbial DNA amplification with the polymerase chain reaction - PCR.

Leprosy and tuberculosis are both infectious diseases caused respectively by *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium tuberculosis*. While leprosy is afflicting mostly inhabitants of third world countries, tuberculosis is also widely observed now in immunocompromised patients (e.g. AIDS). Diagnosis of (certain stages of) these diseases is still hampered by the lack of an, at the same time, sensitive, specific and fast assay. Amplification of nucleic acids with the

polymerase chain reaction (PCR) fulfills all these conditions and some preliminary data on the use of PCR for detection of several malignancies have been reported. Using these literature data, we have synthesized several specific and nonspecific amplification and detection oligonucleotides. Furthermore, we developed a highly efficient protocol for extraction of nucleic acids from mycobacteria <1>. We successfully used this DNA as target for PCR - amplification with oligonucleotides presumed to be specific for a repetitive sequence downstream of the 65 kd antigen of *M. leprae* and are investigating sensitivity and specificity of this system. Experiments for PCR - amplification of DNA from *M. tuberculosis* are underway. We are also systematically collecting of clinical specimens from patients with different clinical manifestations of leprosy and tuberculosis. Optimal processing of this samples for PCR is being investigated.

**TANAKA, A.Y.; SATO, D.N.; DEUS, D.M.; SILVA, E.A.M.; TEDESCO, E.F.D.; PEDRO, H.S.; ALGE, M.E.; TELLES, M.A.S.; MARTINS, M.C.; MA-TINHÃO, M.F.; VICENTE, M.P.; GARNICA, M.A.; FIGUEIREDO, R.C.P.S.; SILVA, R.R.F.; KIMURA, R.S.; KOGA, S.M.; CAMPOS, S.G.S.; UEKI, S.Y.M** Utilização da baciloscopia nos Programas de controle de tuberculose e hansenfase no estado de São Paulo. Avaliação 1980-1990.

Realizou-se uma análise quantitativa das baciloscopias de tuberculose e hansenfase efetuadas pelos laboratórios regionais das regiões administrativas do Estado de São Paulo, com o objetivo de avaliar sua utilização no diagnóstico dessas enfermidades. Com a municipalização desses serviços as informações laboratoriais tornaram-se precárias, talvez pela falta de instrumentos uniformes que permitam recuperar dados de importância epidemiológica, necessárias para este tipo de avaliação. Das notificações recebidas pelo Centro de Vigilância Epidemiológica em 1980, nota-se que casos novos de tuberculose pulmonarem maiores de 15 anos, 64% apresentavam baciloscopia positiva, 25% negativa e 115 não realizada. Em 1990 observa-se um aumento de casos sem comprovação

bacteriológica, distribuindo-se os percentuais em 53% com baciloscopia positiva, 24% negativa e 22% não realizada. Com os dados até o momento disponíveis, podemos adiantar que o número de laboratórios envolvidos no Programa aumentou significativamente, devendo-se este aumento à região da Grande São Paulo, bem como o número de baciloscopia realizadas que tiveram um acréscimo de 31% aproximadamente. Em relação a hanseníase verificou-se uma melhora ao longo dos anos, pois o diagnóstico e o controle laboratorial apresentaram acréscimo de 17% em comparação a 1980. Os casos novos notificados tiveram acréscimo de 26%.

**NIERO, R.** Identificação do *M. avium*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum* por eletroforese em gel de poli(acrilamida)dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) de extrato de células integras.

Extratos de células íntegras de cepas de *M. avium*, *M. intracellulare* e *M. scrofulaceum*, mostraram perfis eletroforéticos distintos quando analisados por eletroforese em gel de poli(acrilamida)dodecil-sulfato de sódio. Os extratos foram obtidos por ultrassom e as bandas de polipeptídeos das 3 espécies estudadas foram discriminatórias e próprias de cada espécie. Os perfis eletroforéticos mostraram polipeptídeos com pesos moleculares compreendidos entre 14 000 e 100 000 daltons aproximadamente. Os perfis do *M. avium* e *M. intracellulare*, embora distintos, mostraram alguns polipeptídeos de pesos moleculares semelhantes. Já o *M. scrofulaceum* mostrou perfil eletroforético totalmente distinto das espécies mencionadas, justificando sua exclusão do anteriormente denominado complexo MAIS. Os coeficientes de similaridade calculados pelo coeficiente de Dice mostraram valores de 0,47, 0,49, 0,52, para os pares *M. intracellulare*/*M. avium*; *M. intracellulare*/*M. scrofulaceum* e *M. avium*/*M. scrofulaceum*, respectivamente.

**NIERO, R.** Identificação do *M. smegmatis*, *M. fortuitum* e *M. ph/ei* por eletroforese em gel de poli(acrilamida)dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) de extratos de células integras.

Extratos de células integras de cepas de *M. smegmatis*, *M. fortuitum* e *M. ph/ei* mostraram perfis eletroforéticos distintos, quando analisados por eletroforese em gel de poli(acrilamida)dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE). Os extratos foram obtidos por ruptura mecânica das células com pérolas de vidro (NIERO, 1987), tendo em dez miligramas (10mg) de bactérias (peso úmido) e 50 microlitros (50µl) de extrato fornecido os melhores perfis. Os perfis de polipeptídeos nas espécies estudadas foram discriminatórios e próprios de cada espécie. No entanto, alguns polipeptídeos são idênticos e possuem pesos moleculares semelhantes, como é o caso daqueles com pesos aproximados de 66 000 daltons, comuns às espécies *M. smegmatis* e *M. ph/ei* e semelhantes no *M. fortuitum*. Polipeptídeos com pesos moleculares aproximados de 30 000 e 32 000 daltons característicos e comuns ao *M. fortuitum* e *M. phlei*, não foram encontrados no *M. smegmatis*.

**YAMASHITA, J.T.; CRUAD, P.; ROTTA, O.; PAPA, F.; DAVID, H.L.** Imunocomplexos circulares na hanseníase.

Os autores analisam os imunocomplexos circulantes (ICC) nos doentes com hanseníase, demonstrando a presença de anticorpos contra o antígeno específico na composição destes imunocomplexos.

O soro de 38 doentes com hanseníase virchoviana e 26 indivíduos normais foram submetidos à prova de precipitação dos ICC, utilizando-se o poli(etileno-glicol) 6000. Os imunocomplexos precipitados foram lavados, dissociados com agente ácido e neutralizados; para posteriormente serem submetidos à prova ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) para o glicolípido fenólico I (PGL I) do *M. leprae* e o sulfolípido IV (SL IV) do *M. tuberculosis*.

Demonstramos que os imunocomplexos isolados apresentam em sua composição anticorpos da classe IgG e IgM com atividade contra o PGL I e o SL IV. Em alguns doentes, mesmo com sorologia convencional negativa, os anticorpos isolados a partir dos ICC reagiram com os antígenos específicos.

Os anticorpos presentes no ICC parecem seros mesmos que se encontram presentes nos

soros dos hansenianos. Conclue-se que os anticorpos contra os antígenos específicos podem participar na formação dos imunocomplexos na hanseníase.

**SALEM, J.I.; COSTA, M.F.A.; CRUAD, P. & DAVID, H.L.** A avaliação de antígenos glicopolipídicos em soros de portadores de tuberculose pulmonar.

Realizou-se um estudo e verificação e método de ELISA, utilizando-se antígenos glicopolipídico (PGL - tbi) e sulfopolipídicos (SL-I e SL-IV) de *Mycobacterium tuberculosis*, no sorodiagnóstico de pacientes sintomáticos respiratórios suspeitos de tuberculose pulmonar e residentes no estado do Amazonas (considerado área de alta endemicidade). O estudo foi realizado em 53 pacientes que apresentavam esfregaço direto negativo para bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). De cada paciente foi retirado 5 ml de sangue não heparinizado para obtenção de soro nos quais, realizou-se a pesquisa dos antígenos citados. Paralelamente, cada paciente submeteu-se a dois exames bacteriológicos de escarro (baciloscopia após centrifugação e cultivo para *M. tuberculosis*), em dias sucessivos. Através de bacteriologia confirmou-se o isolamento de *M. tuberculosis* em 24 casos, dos quais 14 apresentaram sorologia positiva para 1 ou mais dos antígenos testados (cut-off de 150 para PGLtbi, 250 para SL-1 e 300 para SL-IV) com resultados baciloscópicos que vão de negativos à 4+. Nos 29 casos restantes obteve-se 6 soros positivos para 1 ou mais dos antígenos testados. Concluiu-se que a especificidade do PGL-tbi é de 95,0% enquanto que as do SL-I e SL-IV são de 86,4% e 85%, respectivamente.

**FERRAZOLI, L.; SATO, H.K.; PALACI, M.; MARQUES, H.H.S.; JACOB, C.M.A.; GRUMACH, A.S. & ROXO, E.** Disseminação do *M. bovis* cepa BCG e desenvolvimento de resistência à drogas em uma criança com imunodeficiência celular.

Paciente do sexo feminino, 1 ano e 4 meses. Foi vacinada com BCG aos 4 meses de idade, e após 4 meses apresentou tumor na região axilar D. Foi introduzido inicialmente INH e após mês

havendo regressão do quadro, realizou-se exame bacteriológico de secreção ganglionar.

Nesta época foi mantida INH por mais 2 meses e como o tumor não regrediu foi introduzido RMP e PZA por um período de 3 meses. Apesar da terapêutica instituída, houve progresso do quadro com disseminação e tumor abdominal (TA). Foi realizado exame anátomo patológico de biópsia deste tumor e primeiro exame bacteriológico da secreção ganglionar revelou a presença de *M. bovis* cepa BCG, sensível a INH, RMP, EMB, SM e resistente a PZA, e o segundo teste de sensibilidade (TS) realizado com cepa isolada da biópsia do TA, revelou resistência a INH, RMP e PZA e sensível ao EMB, e SM. Somente essas últimas drogas foram mantidas e administradas por mais dois meses, sendo posteriormente acrescida a ETH ao esquema, por período de 4 meses. A resistência do BCG a SM foi observado no último TS realizado com cepa isolada do gânglio supra clavicular que foi biopsiado 3 meses após a introdução do SM. Apesar do tratamento instituído a paciente foi a óbito (1 ano após o recebimento da vacina). O caso descrito alerta para a possibilidade de disseminação generalizada e desenvolvimento de resistência à drogas do BCG em indivíduos portadores de imunodeficiência celular.

**FOSS, N.T.; CALLERA, F.; ALBERTO, F.L.; OLIVEIRA, M.H.P.** Níveis de anti PGL-I no soro de doentes com hanseníase, seus comunicantes, pacientes de tuberculose pulmonar e doadores de sangue da região de Ribeirão Preto.

Conhecendo que PGL-I constitui fração antigênica específica ao *M. leprae*, determinouse os níveis de anti PGL-I no soro de 402 indivíduos da região de Ribeirão Preto, SP; sendo: 47 doentes de hanseníase (26 virchovianos - HV, 16 tuberculóides - HT, e 5 dimorfos - HD), 19 comunicantes (11 Mitsuda positivos, 08 negativos), 12 pacientes com tuberculose pulmonar e 324 doadores de sangue do Hemocentro do HCFMRP-USP com o objetivo de observar a especificidade do teste. Utilizando-se o método ELISA (Tecnosuma) para determinação do anti-PGL-I,

observou-se que a maioria dos indivíduos normais apresentou títulos dentro da faixa da normalidade (76%), assim com os HT e doentes com tuberculose pulmonar. H<sub>v</sub> virgem de tratamento apresentava títulos elevados; nos tratados os níveis de anti-PGL-I decresciam quanto maior o tempo de tratamento. Apenas 01 comunicante (lepromino negativo) apresentou níveis suspeitos de anti PGL-I. Houve 2% de títulos elevados nos doadores de sangue, mas após exame clínico e baciloscópico não foram encontradas lesões de hanseníase nestes indivíduos. Os resultados sugerem boa especificidade do teste e revelam sua utilidade para aplicação em estudos epidemiológicos.

**DAVID, H.L.** Eliminação da tuberculose: situação atual e perspectivas.

O objetivo desta comunicação é discutir as possibilidades de reduzir a incidência de tuberculose a menos de 1/100 000 habitantes (=eliminação). Os métodos atuais serão revistos, mas o principal objetivo da comunicação será de descrever novas propostas de diagnóstico e o seu possível valor no próximo futuro.

**HADAD, D.J.; FERRAZOLI, L.; ARAÚJO, A.; PALHARES, M.C.A.; PETRI, T.C.; PALACI, M.** Associações de diferentes espécies de micobactérias em pacientes portadores da síndrome de Imunodeficiência Adquirida.

Os autores descrevem 4 associações de diferentes espécies de micobactérias identificadas em momentos distintos, em 4 pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), atendidos no Centro de Referência e Treinamento - AIDS (C.R.T.A) em São Paulo.

As associações compreendiam: *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium avium-intracellulare* em amostras de escarro no primeiro paciente; *Mycobacterium tuberculosis* em lavado brônquico e *Mycobacterium avium-intracellulare* no sangue no 2º paciente; *Mycobacterium kansasii* em amostra de escarro e fragmento de gânglio e *Mycobacterium avium-intracellulare* no sangue no 3º paciente e *M. tuberculosis* na urina e *M. avium-intracellulare* em fezes,

sangue e aspirado de medula óssea no 4º paciente. São analisados os dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de cada paciente bem como é realizada uma comparação com os casos de associações existentes na literatura.

**SANTOS, D.O.; SUFFYS, P.N.; BONIFÁCIO, K.; MARQUES, M.A.; SARNO, E.N.** Produção de Tumor Necrosis Factor (TNF) por monócitos de pacientes lepromatosos antes, durante e após Erythema Nodosum Leprosum.

A indução de produção de Tumor Necrosis Factor (TNF) por células fagocíticas de pacientes lepromatosos (pacientes antes, durante e após Erythema Nodosum Leprosum (ENL) e indivíduos normais estimuladas por *Mycobacterium leprae* foi avaliada através do Teste de Citotoxicidade usando uma linhagem celular TNF sensível - WEHI 164 c113. No presente estudo todos os indivíduos estudados mostraram uma pequena produção espontânea de TNF. No entanto, a produção espontânea de TNF por monócitos de pacientes com ENL foi significativamente maior ( $p < 0,005$ ). O estímulo de células fagocíticas com *M. leprae* induziu ao aumento da produção de TNF em todos os grupos estudados, exceto para células isoladas de pacientes lepromatosos virgens de tratamento. Pacientes manifestando ENL mostraram uma exuberante produção de TNF em resposta ao *M. leprae* ( $p < 0,004$ ). Este nível de TNF foi consideravelmente reduzido em pacientes com ENL que estavam sendo tratados com Talidomida ( $x = 3,5 \pm 0,2$  U/ml). Os níveis de TNF ainda se mantêm significativamente elevados no estado pós-reação ( $p < 0,01$ ). De especial relevância no presente estudo são os resultados encontrados em pacientes ENL. Pouco se sabe sobre a ativação de monócitos nestes pacientes. Este estudo estende a perspectiva de investigar o papel da produção de TNF por pacientes lepromatosos com episódios reacionais desde que esta citocina parece estar envolvida com a complexa sintomatologia vista em pacientes com ENL.

**CRUAUD, P.H.; PAPA, F.; DAVID, H.L.; FANDINHO, F.C.O.; SALEM, J.I.** Diagnóstico sorológico da tuberculose.

ELISA usando os antígenos PGL-Tb1 e

SL-IV foi realizada em 1134 soros de indivíduos não tuberculosos (grupo testemunho) e em soros de 248 pacientes de tuberculose (161 pulmonar; 59 AIDS associado tuberculose; 9 meningites; 6 pleurisias; 5 urogenital e 6 cutânea). A especificidade e sensibilidade do método na pesquisa de novos casos e no diagnóstico da tuberculose serão analisados nesta comunicação.

**SILVA, E.A.M.; FERRAZOLI, L.; MARTINS, M.C.; ICHIKAWA, T. & PALACI, M.**  
Infecções por micobactérias outras que não o *Mycobacterium tuberculosis*.

Foram identificados 289 cepas de micobactérias outras que não o bacilo da tuberculose (MOTT), isoladas de diferentes espécimes biológicos, no período de 1985 a 1990. As amostras estudadas originaram-se de 228 pacientes matriculados em diversas unidades de assistência médica do estado de São Paulo. Destes, apenas 30 casos atenderam aos critérios básicos de confirmação diagnóstica.

As espécimes relacionadas com estes casos foram: *M. kansasii*, *M. aviumintracellulare*, *M. chelonae*, *M. scrofalaceum*, *M. marinum* e *M. szulgai*. A presença de MOTT nas amostras dos demais pacientes foi considerada meramente ocasional, sem significado clínico.

**SILVA, C.L.; COLSTON, M.J.; LOWRIE, D.B.**  
Transfecção de macrófagos com genes de *Mycobacterium leprae*: expressão de proteína e reconhecimento por diferentes subpopulações de linfócitos.

Os mecanismos básicos sobre as vias utilizadas para o processamento e apresentação antigênica por macrófagos infectados com *M. leprae* e o reconhecimento dos antígenos imunodominantes por diferentes subpopulações de linfócitos ainda não são esclarecidos e são extremamente importantes para o entendimento da imunopatologia da hanseníase e confecção de vacinas. Neste trabalho clonamos num vetor retroviral (pZIPNeoSV(X)) o gene de uma proteína imunodominante de *M. leprae*, uma heat-shock protein de 65 KD (ML65hsp) e transfectamos uma linhagem de células macrófagicas murina (J774G8) para estudar o processamento e reconhecimento do antígeno expressado endogenamente pelos macrófagos transfectados

(CJ11). As análises do mRNA por Northern blot e mapeamento com enzima nuclease S1 bem como as análises sobre expressão de proteína ML65hsp através de Western blot e análise por FACS, mostraram que tanto o mRNA como proteína de *M. leprae* sendo expressados de forma estável na célula transfectada. Os primeiros estudos sobre apresentação antigênica realizados com a proteína micobacteriana endógena mostraram que ela utiliza-se tanto da via exógena quanto da endógena da célula apresentadora de antígenos para ser processada e os fragmentos antigênicos associados a moléculas de classe II ou classe I do MHC foram reconhecidos por linfócitos T antígeno-específicos, tanto CD4+Th quanto CD8+CTL, induzindo-os respectivamente, a proliferarem (e secretarem IL2 e IL3) e causarem lise celular específica. Camundongos BALB/c imunizados com os macrófagos transfectados apresentaram maior resistência a um desafio com BCG, do que aqueles imunizados somente com a proteína ML65hsp solúvel. Esses resultados iniciais indicam perspectivas promissoras para o entendimento de aspectos imunológicos básicos da hanseníase, bem como para o seu controle.

**SUSEMIHL, M.A.A.M.M.; DIAS, M.F.R.; GIMENEZ, R.D.; SILVA, F.L.R.; PALACI, M.; CECCARELLI, V.R.M.**  
Avaliação do método de Ogawa-Kudoh para o cultivo de micobactérias.

Visando avaliar o método de descontaminação Ogawa-Kudoh e compará-lo ao de Petroff, foram analisadas 254 amostras de escarro obtidas de pacientes com suspeita clínica de tuberculose.

Obteve-se 90% de concordância ajustada (Kappa) entre métodos. Verificou-se 31,2% de positividade em relação ao método de Petroff e 28,75% em relação ao método Ogawa. Observou-se ainda contagens de colônias mais elevadas no método de Ogawa-Kudoh e nível de contaminação idêntico em ambos os métodos.

**ANJOS FILHO, L. DOS; GONTIJO FILHO, P.P.** Meio líquido no diagnóstico de formas extra-pulmonares de tuberculose.

O diagnóstico da tuberculose extra-pulmonar é usualmente difícil em virtude do pequeno número de micobactérias presentes nos

espécimes clínicos. Estes materiais apresentam cerca de 25% na rotina do serviço de bacteriologia do ITP.

O objetivo deste trabalho foi à avaliação por meio líquido (Kirchner) seletivo no diagnóstico da tuberculose pleural.

Um total de 145 espécimes, compreendendo 89 fragmentos de pleuras, 42 líquidos pleurais e 14 biópsias, representadas predominantemente por gânglios linfáticos, foram inoculados sem tratamento prévio no meio de Kirchner, contendo antimicrobianos, e em Lowenstein-Jensen (LJ). O crescimento no meio líquido foi subcultivado, independentemente de turvação, em LJ, após 2 e 4 semanas de incubação. As culturas foram identificadas como *M. tuberculosis* através de testes bacteriológicos e bioquímicos.

A presença do bacilo da tuberculose foi confirmada em 37/145 (25,5%) dos espécimes cultivados verificando-se uma taxa de contaminação de 1,3%. A maior população de resultados positivos, quando considerados os resultados alcançados no meio seletivo, foi obtida a partir das biópsias (50%); a pleura e o líquido pleural foram positivos em 24,7% e 19,0%, respectivamente.

O uso do meio seletivo resultou um aumento de 75% na positividade do diagnóstico laboratorial de formas paucibacilares quando comparado ao cultivo em apenas Lowenstein- Jensen.

**VIEIRA, G.B.O.; MARSICO, A.G. & GONTIJO, P.P.**  
Resistência secundária do *M. tuberculosis*.

Apesar do conhecimento atual que a quimioterapia anti tuberculosa de curta duração negativa o escarro em quase 100% dos pacientes, fatores como a falta de cooperação do doente e recursos financeiros insuficientes, que justificam a falta de medicamentos resultam no fracasso do tratamento e na emergência de amostras resistentes do bacilo da tuberculose. O objetivo deste estudo foi fazer o levantamento das taxas de resistência secundária à INH, estreptomicina, etambutol e rifampicina na clientela atendida pelo ITP - UFRJ.

Foram realizados testes de avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos "in vitro" através do método das proporções. Foram estudadas 198 amostras de pacientes em

retratamento. A taxa de resistência foi extremamente alta (60,10%) entre essas, 99,2% foi resistente à INH.

Estas taxas de resistência à rifampicina, etambutol, estreptomicina foram igualmente elevadas, respectivamente de cerca de 75, 50 e 43%. A poli-resistência às drogas antimicrobianas foi verificada em 99/198 amostras. Quando considerada a resistência múltipla à INH e RMP, medicamentos que fazem parte do esquema de tratamento, a taxa de resistência atingiu cifras preocupantes (71,4%).

**VILLARES DE OLIVEIRA, M.C.B. & ZAMBON, L.**  
Identificação de *M. kansasii* líquido pericárdico: relato de um caso.

A espécie de *M. kansasii* potencialmente patogênica para o homem, sendo conhecida como agente causal da doença pulmonar, indistinguível clínica e histologicamente da tuberculose.

Manifestações extra pulmonares podem ocorrer envolvendo abscessos, celulites e sistema músculo esquelético. A espécie *M. kansasii* isolada de líquido pericárdico pela primeira vez em 1984, continuando-se até o presente, no único relato da literatura.

Em nosso trabalho identificamos uma amostra de *M. kansasii* líquido pericárdico.

**PIMENTEL, M.I.; MAGALHÃES, M.C.C.; PEREIRA, C.P.; FONSECA, L.S. & SAAD, M.H.F.**  
Valor operacional do teste de ELISA para detecção de IgM anti PGL-I na hansenfase.

Usando a técnica do ELISA os níveis de anticorpos IgM anti-PGL-I foram mensurados em 37 pacientes hansenianos virgens de tratamento e os resultados foram correlacionados com dados clínicos, histológicos, bacteriológicos (IB) e com a reação de Mitsuda. Os resultados mostraram que a maioria dos pacientes classificados como paucibacilar (BT, TT) apresentou níveis de IgM com DO < 0,5. Todos tinham IB=0 e a maioria apresentou teste cutâneo de Mitsuda+ (4 a 7mm). Entre os pacientes diagnosticados dentro do espectro multibacilar (BB, BL, LL) foram obtidas DO > 0,5 em 13/19 pacientes. Todos apresentavam reação de Mitsuda negativa (0 a 3mm) e o IB variou de 1+ a 5+. Estes resultados mostram uma correlação inversa entre a resposta imune celular e humoral.

Este balanço entre os 2 tipos de resposta foi também observado quando um apaciente paucibacilar apresentou resposta imune humoral exacerbada DO > 0,7, teste de Mitsuda negativo e IB = 0, e 6 pacientes multibacilares mostraram DO < 0,5 com IB variando de 1+a4+, sendo que 5 destes 7 pacientes apresentaram episódios reacionais em períodos que variam de 2 a 6 meses após os testes sorológicos. Estes resultados sugerem que a resposta imune humoral poderia refletir melhor as alterações ocorridas na hansenfase em decorrência de modulações na resposta imune mediada por células, que parâmetros como IB e teste de Mitsuda. A sorologia para detecção de anticorpos IgM antiPGL-I poderiatraplicação prática como auxiliar na classificação da hanseníase.

**MAGALHÃES, H.; CARNEIRO, G.M.; PIRES, A.R.; MEDEIROS, M.I.M.; GONÇALVES, W.M.; SANTIAGO, S.S.F.; SILVA, M.G.; FONSECA, L.S. & MELLO, S.C.R.P.** Epizootia por *M. chelonie* em rãs touros (Rana cotesbeianashaw, 1802)

A doença atingiu rãs adultas de uma criação no município de Maricá/ RJ, com mortalidade diária de 1,5%. Os animais apresentaram apatia e algumas lesões avermelhadas e ferimentos na pele. A necropsia em 08 rãs revelou nódulos grandes e esbranquiçados nos órgãos internos, principalmente no baço, alterando sua morfologia. A histopatologia evidenciou lesões disseminadas no fígado, baço, rins, coração e pulmões, sendo mais acentuada no fígado. A coloração pelo método de Ziehl-Neelsen revelou presença de bacilos álcool-ácido resistentes. Diferentes tecidos dessas rãs e do macerado de girinos de seis tanques distintos foram tratados pelo método de Petroff e cultivado em Lowenstein-Jensen a 30, 35 e 37°C. No L-J cresceram colônias a partir do quarto dia, que foram identificadas como *M. chelonie*. Essa espécie tem sido isolada de lesões animais e humanas e é considerada oportunista em patologia humana. Seu isolamento também é comum a partir de mamíferos e anfíbios saudáveis, de ambientes aquáticos e solo.

**NASCIMENTO, M.C.P.; BARRETO, A.M.W.; PALACI, M. & FONSECA, L.S.** Observação de plasmídeos em *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* e *M. fortuitum*.

Como objetivo de verificar a presença de plasmídeos em espécies micobacterianas 32 amostras pertencentes ao complexo MAIS e 15 amostras identificadas como *M. fortuitum* em sua maioria isoladas de material clínico, foram submetidas à lisa celular e extração de DNA. A massa bacteriana obtida por centrifugação ou raspagem do crescimento desenvolvido, respectivamente em meio líquido (Middlebrook 7H9) ou sólido (Lowenstein-Jensen), foi depositada em "eppendorf" (0,7 ml) contendo fenol saturado, (500 µl), tampão Tris-EDTA (400 µl) e "beads" de 100 µm de diâmetro (aprox. 750 IA). A mistura foi agitada vigorosamente por 3 min em Vortex, centrifugada e a fase aquosa tratada com perclorato de Na (1 M), fenol-clorofórmicoalc. isoamílico (25:24:1), v/v e precipitada com etanol absoluto, sendo o sedimento ressuspenso em tampão Tris-EDTA.

Após eletroforese em gel de agarose, corado com brometo de etídio a observação em transiluminador UV permitiu a constatação de bandas plasmidiais em 30 das estirpes de MAIS (94%) e 8 das de *M. fortuitum* (53%). DNA genômico fragmentado estava presente em todas as preparações: embora não impedindo a visualização dos plasmídeos, trata-se de contaminante que estamos tentando eliminar, afim de obtermos suspensões plasmidiais purificadas para estudos adicionais.

**SATO, D.N.; SILVA, E.A.M.; FERRAZOLI, L. & PALACI, M.** Ação in vitro de diferentes drogas, sobre o *M. kansasii*.

Com objetivo específico de dar apoio bacteriológico ao tratamento de doentes portadores de micobacterioses, os autores estudaram 30 cepas de *Mycobacterium kansasii* isoladas de doentes com comprovado comprometimento pulmonar causado por esta micobactéria. As drogas utilizadas foram a isoniazida, rifampicina, estreptomicina, etionamida, kanamicina e ciprofloxacina. Foram realizados testes de sensibilidade, segundo o método das proporções e determinado as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) e Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM); os

meios de cultura utilizados nos testes foram Lowenstein-Jensen e Middlebrook 7H9. Com os resultados deste trabalho, os autores pretendem avaliar o perfil de resistência do *Mycobacterium kansasii* às drogas e colocar em discussão os possíveis mecanismos desta resistência.

**VIANNA, S.B.; SOHWANTES, I.; XAVIER, R.G.; CARAMOIR, A.N.; MATUSIAK, R.; SEVERO, L.C.** Micobactérias isoladas de lavado bronco-alveolar no hospital de clínicas de Porto Alegre.

De 145 amostras de lavado bronco-alveolar coletados no período de abril de 1989 a fevereiro de 1991 no HCPA e, enviadas para cultura de micobactéria, 45 foram positivas. Quanto tipificadas, 35 eram *M. tuberculosis*, uma de *M. avium-intracellulare*, uma de *M. fortuitum* e 8 *Mycobacterium sp.* (estas não puderam ser identificadas por não apresentarem crescimento após repique).

Sessenta e uma (61) amostras eram de pacientes com SIDA. Quinze (15) delas foram positivas para micobactéria. Destas 11 foram identificadas como *M. tuberculosis*, uma como *M. avium-intracellulare*, uma *M. fortuitum* e duas como *Mycobacterium sp.* Neste material de sidéticos isolou-se também uma amostra de rodococo.

As amostras foram descontaminadas pelo método de Petroff modificado, semeadas em meio de Lowenstein-Jensen e incubadas à 37°C.

As culturas foram identificadas no Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no Rio de Janeiro, através de testes bioquímicos, tempo de crescimento e produção de pigmento.

**KRITSKI, A.L.; MEOHAS, M.M.G.; MARINE, J.; MAGARÃO, S.; PACHECO, E.L.; PENNA, M.LF. & GONTIJO FILHO, P.P.** Adoecimento por tuberculose (TB) entre profissionais de saúde (PS) em 4 hospitais no Rio de Janeiro.

Com o objetivo de determinar a incidência de TP entre PS em 4 hospitais no Rio de Janeiro, analisamos retrospectivamente as notificações no período de setembro/89 a dezembro/90. Foram considerados como tuberculosos os PS com confirmação bacteriológica e/ou histológica.

População	Incidência de IP entre PS		
	1988	1989	1990
HRPS-MS	2,88%,"	4,14%	2,28%
HESN-UFRJ	2,11%	4,38%	12,01%
ITP - UFRJ	11,30%	12,34%	4,63%
HUGG-UniRio	3,90%	5,21%	5,23%
Município do RJ*	0,71%	0,90%	0,92%

\* Incidência de tuberculose no Município do Rio de Janeiro - Dados IBGE

\*\* Taxa doentes/1000 indivíduos

Dos 33 profissionais com TB, 9 (27%) eram auxiliares de enfermagem, 6 (18,7%) auxiliares operacionais ou de limpeza, 4 (12%) enfermeiras e os demais integraram diferentes classes de PS.

A TB de 2,3 a 13,6 vezes mais frequentemente entre os PS do que na população em geral, sendo o risco maior entre os profissionais do ITP (Hospital de referência para a tuberculose) e o HUGG (Hospital de referência para a AIDS).

**TRINDADE, M.A. & FLEURY, R.N.** Reação de Mitsuda em contatos consangüíneos e não consangüíneos de doentes de hanseníase com formas bacilíferas - Análise histológica.

A reação de Mitsuda foi realizada em 23 contatos não consangüíneos e 17 consangüíneos de doentes de hanseníase e com formas bacilíferas. As respostas histológicas negativas foram significativamente mais frequentes entre consangüíneos (35,3%) que entre os não consangüíneos (8,7%). Reações com alguma induração clínica sem correspondência histológica, ocorrem entre os consangüíneos. A baciloscopia foi positiva em 1 não consangüíneo e 5 consangüíneos. Os resultados foram comparados com os de contatos ou não, e de doentes, sugerindo-se que a reação histológica dos não consangüíneos se assemelharia a dos não contatos, enquanto a reação dos consangüíneos assemelharia a dos doentes de hanseníase das formas Vou D.

**ANNAKU, M.M. & LEITE, C.Q.F.** Efeitos da inoculação de *Mycobacterium fortuitum* em camundongos suíços.

Lotes de camundongos suíços, de 18 a 20 dias de idade, foram inoculados endovenosamente com 5 cepas diferentes de *M. fortuitum*. Inoculou-se 0,5 ml de suspensões de

*M. fortuitum* na concentração equivalente a escala de Mac Farland. Os camundongos foram mantidos sob observação por 40 dias, sendo sacrificados na seqüência. Dos animais foram retirados, sangue por punção cardíaca e alguns órgãos (pulmão, rins, baço e fígado) por excisão cirúrgica. 0,2 ml do sangue e 0,5 ml do macerado de cada órgão foram semeados em placa contendo meio de Lowenstein-Jensen, e incubados por 7 dias a 37°C.

Os camundongos apresentaram sinais clínicos evidentes de infecção como: hepatomegalia, "spinning disease" (perda da noção de equilíbrio e cabeçatombada para um os lados), além de diminuição do consumo de água e da ração.

Recuperou-se *M. fortuitum* dos diferentes órgãos analisados porém não do sangue.

Observou-se variação morfológica das colônias de lisa para rugosa após passagem do microorganismo pelo sistema "in vivo".

**MAROJA, M.F.; SALEM, J.I.; FANDINHO, F.C.O.; CRUAUD, P & DAVID, H.L.** Tuberculose cutânea: achados bacteriológicos e sorológicos.

Na região amazônica são inúmeros os casos de pacientes portadores de lesões cutâneas e de etiologia desconhecida. Na realização deste trabalho selecionou-se 97 pacientes estudados no período de 1989 a 1991. Estes, apresentavam em comum lesões de evolução crônica sendo que, alguns tinham enfartamento ganglionar e/ou lesões ulceradas de bordos descolados. A amostragem foi subdividida em quatro grupos conforme os exames realizados: Grupo 1 - realizou apenas exame bacteriológico da lesão cutânea (55 casos); Grupo 2 - realizou exames da lesão cutânea e do escarro (3 casos); Grupo 3 - realizou exames bacteriológicos da lesão cutânea e do escarro assim como, a pesquisa sorológica dos antígenos PGL-I (obtido de *M. leprae*), PGL-Tb1 e SL-IV (obtidos de *M. tuberculosis*), com 23 casos estudados: Grupo 4- realizou

exame bacteriológico da pele e pesquisa sorológica dos antígenos PGL-I e PGL-Tb1 e SL-IV (16 casos). Os resultados obtidos mostram a importância dos exames bacteriológicos do escarro neste grupo de estudo já que, 21 casos foram comprovados de tuberculose 3 foram diagnosticados devido ao isolamento do *M. tuberculosis* apenas nas secreções pulmonares. Os resultados sorológicos mostram uma alta especificidade e baixa sensibilidade sendo entretanto, de grande importância no estudo individual dos casos.

**MAROJA, M.F.; SALEM, J.I.; COSTA, M.F.A.; CRUAUD, P.; DAVID, H.L.** Reação de Mitsuda em indivíduos normais e pacientes de hanseníase.

A reação de Mitsuda foi realizada em 512 indivíduos normais (recrutas incorporados em Manaus, de 18/19 anos e em 84 pacientes de hanseníase. Antes de administrar a Lepromina (Lepromina H, contendo cerca de 16 x 10<sup>8</sup> bacilos em 0,1 ml) foram colhidos 10 ml de sangue para pesquisas sorológicas (ELISA usando como antígenos PGL-I, PGL-Tb1 e SL-IV).

Nos pacientes, a reação variou de 0-2 mm nos virchovianos a > 6 mm nos tuberculoides; nas formas intermediárias (Borderline e Indeterminada) os valores variam de 0 a 6 mm. Uma relação quantitativa inversa se observa entre o valor da reação de Mitsuda e o título dos anticorpos contra PGL-I e SL-IV. A análise comparativa revelou que valores de Mitsuda > 6 mm correspondem sempre a resultados sorológicos negativos.

Nos indivíduos normais, a reação de Mitsuda mostra uma distribuição normal (média = 6,0 e mediana = 0,8 nos não vacinados; média = 7,9 e mediana = 8,0 nos vacinados pelo BCG na infância). A diferença entre não vacinados (n=319) não é estatisticamente significativa.

ELISA nos soros revelou resultados positivos independentes da reação de Mitsuda.

O conjunto dos resultados deste estudo leva as conclusões seguintes:

- 1- O critério de positividade da reação de Mitsuda é > 6 mm;
- 2 -A reação de Mitsuda não é interpretável da mesma maneira entre sãos e doentes;
- 3 - A vacinação pelo BCG feita há mais de dez anos não protege contra a infecção.

**FERRACINI JUNIOR, R.; FALCÃO, D.P.; LEITE, C.Q.F.**

Avaliação de técnicas de descontaminação empregadas no isolamento de micobactérias a partir de águas.

A água, como o sítio de ocorrência de micobactérias potencialmente patogênicas, vem sendo bastante estudada. As metodologias empregadas no isolamento de micobactérias envolvem técnicas de concentração de material suspenso na água e técnicas de descontaminação do material concentrado. Aceita-se que as técnicas de descontaminação possam influir na composição da população micobacteriana recuperada. Avaliou-se estatisticamente a recuperação de micobactérias e destruição de microorganismos contaminantes após inoculação experimental de números conhecidos de células em água estéril, filtração e utilização de 7 técnicas de descontaminação: tratamento com cloreto de cetilpiridínio a 0,01%, 0,02% e 0,04%, com laril sulfato de sódio a 0,4%, com hidróxido de sódio a 2% e 4%, e com ácido sulfúrico a 4%. A pesquisa de micobactérias em águas diversas foi realizada utilizando-se os tratamentos com hidróxido de sódio a 2%, com ácido sulfúrico a 4% e com cloreto de cetilpiridínio a 0,04%, uma vez que os resultados obtidos não permitem afirmar que algumas das técnicas fosse seguramente a mais indicada para o isolamento desses microorganismos de maneira geral.

**FANDINHO, F.C.O.; SALEM, J.I.; MAROJA, M.F. & GONTIJO FILHO, P.P.** Flora micro- bacteriana da pele em portadores de hanseníase.

Realizou-se estudo do cultivo de Micobactérias a partir de amostras e lavado de mãos, escarificação de quirodactilos e biópsias de lesões cutâneas, de pacientes portadores de hanseníase multibacilar e paucibacilar.

As amostras do lavado de mãos foram obtidas com o auxílio de solução aquosa de cetilpiridínio a 0,05%.

A secreção da escarificação dos dedos foi obtida com o auxílio de lâmina de bisturi número 15, através de pequena incisão da área de corte sem causar sangramento. As biópsias foram obtidas com o auxílio de "punch" de 0,7 cm e os fragmentos foram macerados, sem que fosse

retirado a epiderme. As amostras do lavado de mãos e biópsias cutâneas foram submetidas à descontaminação pelo método do ácido sulfúrico, antes de serem semeadas em meio de Lowenstein-Jensen acrescido ou não de piruvato de sódio ou de citrato férrico amoniacal. O material de escarificação foi semeado diretamente em tubo de Lowenstein-Jensen. De 89 amostras de lavado de mãos, 12 pacientes tiveram seus cultivos positivos para micobactérias, representando 15% de isolamentos. No material de escarificação, também executado em 89 doentes, obteve-se apenas 5,6% de isolamento de micobactérias, enquanto que no material de biópsia, estes isolamentos atingiram 11,1% e foram executados em apenas 36 fragmentos cutâneos. Tanto em relação ao número de cepas obtidas assim como as espécies identificadas obteve-se uma forte relação com as formas multibacilares da doença.

**MENEZES, D.M.F.; LOPES, V.G.S.; RAMOS, R.G.; NASCIMENTO, L.M.** Placentite tuberculosa.

A infecção placentária pela *Mycobacterium tuberculosis* e a forma congênita por este microorganismo são raras. Os autores fazem um relato de um caso de placentite tuberculosa cuja gestante era portadora de um derrame pleural. A biópsia mostrou áreas de necrose de caseificação e o método de coloração para bacilo álcool-ácido resistente WADDE - mostrou bactérias com características da *M. tuberculosis*.

O exame histopatológico da placenta evidenciou: Corioamnionite, deciduíte, intervilosite, vilosite necroproliferativa. Observou-se no espaço interviloso lesão granulomatosa com área central de necrose caseosa apresentando na periferia, em meio a infiltrado inflamatório constituído por linfócitos principalmente, a presença de célula gigante tipo Langhans. Notamos comprometimento por este processo das vilosidades circunvizinhas. O tipo de lesão sugeriu processo de natureza específica tuberculosa e tal fato foi confirmado pela coloração especial para bacilo álcool-ácido resistente.

As investigações clínicas e laboratoriais realizadas no recém-nascido não evidenciaram alterações específicas.

**LEITE, S.R.A.; FALCÃO, D.P.; BARRETO, A.M.W.; FERRAZOLI, L.; DAVID, H. & LEITE, C.Q.F.** Estudos de ácidos das micobactérias isoladas em ambiente e de infecções humanas.

O gênero *Mycobacterium* compreende espécies comprovadamente patogênicas, espécies potencialmente patogênicas e espécies saprófitas. Portanto quando se procede ao isolamento das micobactérias, é fundamental a identificação da espécie. A identificação clássica das micobactérias consiste em trabalho árduo e moroso requerendo inúmeros testes diferenciais. Pretendeu-se desenvolver uma metodologia rápida e sensível, para a identificação das micobactérias, através da análise de ácidos micólicos, pela técnica da cromatografia em camada delgada. Foram analisadas até o presente, um total de 180 cepas, originárias de águas ou de infecções humanas.

Os ácidos micólicos foram extraídos da parede das micobactérias, metilados com diazometano e cromatografados em placas de sílica gel (Revelador: rodamina B). A identificação do tipo ácido micólico permitiu dividir as micobactérias em grupos cada qual com um determinado perfil desta substância.

A identificação da espécie, dentro de cada grupo, é então possível, mediante somente alguns testes complementares.

**FLEURY, R.N.** Episódios de novas lesões Dimorfas em pacientes hansenianos multibacilares em tratamento. Recidiva? Exacerbação? Reação reversa?

Após 2 anos os pacientes hansenianos multibacilares submetidos à multidrogaterapia (MDT) tem seu tratamento interrompido. Admitiu-se que este período de tratamento é suficiente para destruição de todos os bacilos do organismo, restando apenas a "carcaça" bacilar para ser eliminada. Dentro deste contexto é importante a interpretação de episódios de novas lesões com características dimorfas, ocorridos durante ou após a terapêutica referida.

A "priori" estes surtos de novas lesões tem sido interpretados como Reação Reversa, isto é, uma reação granulomatosa à antígenos bacilares, propiciados pela redução da carga bacilar com o tratamento, e recuperação da capacidade imune celular (CMI). Assim

interpretados estes episódios deveriam ser controlados por corticóides sem necessário reinício da MDT. Esta conduta tem reservado algumas surpresas e evidências de proliferação bacilar e portanto exacerbação ou recidiva da doença se seguem ao emprego de corticóides.

Diante disto postula-se que estes novos surtos de reação representam, em qualquer fase evolutiva da doença, respostas a focos de proliferação bacilar a partir de bacilos persistentes. A deterioração da resposta granulomatosa em pacientes dimorfos seria função apenas do aumento progressivo da carga bacilar, não havendo uma queda real na CMI. Assim, a qualquer momento, à um foco inicial de proliferação bacilar a resposta granulomatosa própria do indivíduo seria deflagrada.

**FERREIRA, R.L.T.; VIANNA, S.B.; SOHWANTES, I.** Adenite supurativa como complicação de vacina BCG - Intradérmico - Relato de um caso.

DCP, 11 meses de idade, feminina, branca, natural de Porto Alegre (RS), hígida anteriormente, fez vacina BCG - Intradérmica que teve evolução complicada com extensa adenite supurativa (axilar e epitroclear). O material ganglionar foi encaminhado ao IPB e mostrou-se positivo à baciloscopia e ao cultivo no meio Lowenstein-Jensen. Posteriormente, no laboratório do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (Rio de Janeiro) a cultura foi identificada como não tuberculosa e, para identificação foram usados testes bioquímicos, tempo de crescimento e produção de pigmento chegando-se ao diagnóstico de *M. bovis*(BCG).

Com drenagem cirúrgica seguida do uso de tuberculostático houve ótima resposta terapêutica.

Os autores destacam a importância de bem documentar a divulgação de casos como este que constituem achados pouco frequentes da vacinação com BCG-Id tal qual é realizada em nosso meio e que, por isto, usualmente caracterizam-se por dificuldades em seu manejo clínico.

**LASTORIA, J.C.; OPROMOLLA, D.V.A.; FLEURY, R..N.** A reação de Mitsuda na identificação das formas reacionais Tuberculóide e Dimorfa da hanseníase.

Estudou-se a reação de Mitsuda em 37

pacientes portadores de hanseníase sendo 18 de formatuberculóide reacional e 19 da formadimorfa reacional, sob o ponto de vista clínico, histológico e baciloscópio, com leituras realizadas aos 30, 60, 90 e 120 dias, com o objetivo de se tentar identificar uma forma de outra. A maioria dos pacientes tuberculóides reacionais apresentou reação de Mitsuda +. As reações de Mitsuda diminuíram com o tempo nos dois grupos, sendo mais persistentes no grupotuberculóide reacional. A baciloscopia aos 30 dias foi negativa ou houve presença de raros bacilos em 77,78% dos casos tuberculóides reacionais e positiva em 94,74% dos casos dimorfos reacionais. Conclui-se que os tuberculóides reacionais possuem uma maior capacidade de clareamento bacilar que os dimorfos reacionais e que a reação de Mitsuda pode ser útil na identificação dessas duas formas e, inclusive, sugerir sua evolução quanto ao prognóstico e quanto à terapêutica.

TRIFILIO, M.O. & FLEURY, R.N. Avaliação baciloscópio na hanseníase virchoviana. (Estudo de 60 necrópsias).

Em 60 necropsias de pacientes com hanseníase virchoviana (HV) avaliamos o índice bacteriológico e o índice morfológico simplificado em secções histológicas da pele, nervos e vísceras.

Os pacientes foram classificados de acordo com o último índice baciloscópio antes do óbito nos seguintes grupos:

- ativos e progressivos: (15 pacientes) - ativos
- e regressivos (17 pacientes) - inativos (28 pacientes)

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

1) A capacidade de adaptação e proliferação do *M. leprae* nas localizações orgânicas é relacionada com a temperatura. Os maiores valores dos índices baciloscópicos na laringe, testículos e faringe, são evidências sugerindo que o *M. leprae* apresenta maior capacidade de proliferação abaixo de 37°C.

2) O encontro dos maiores valores do índice baciloscópio na laringe em comparação à outras localizações viscerais sugere que esta localização apresenta condições de temperatura similares à mucosa nasal, que é considerada por muitos hansenologistas como porta de entrada e de eliminação do *M. leprae*.

3) O encontro dos bacilos típicos em localizações viscerais como laringe e testículos, enquanto em pele e nervos a baciloscopia era negativa ou mostrava apenas bacilos granulados, deixa em aberto a possibilidade que os bacilos se manteriam viáveis nessas localizações durante muito tempo, em casos clinicamente inativos, a qualquer momento podendo proliferar, disseminar e provocar recidivas.

CHIMELLI, L.; NASCIMENTO, O.; FREITAS, M. Estudo morfológico de biópsias de nervo periférico em 40 pacientes hansenianos.

Analisamos morfológicamente o nervo periférico de 40 pacientes com diagnóstico clínico de hanseníase, todos com sinais clínicos e eletrofisiológicos de neuropatia, na maior parte dos casos, mononeuropatia múltipla. O nervo mais biopsiado foi o sural e ocasionalmente o auricular, radial, superficial, ramodorsal do cubital e o nervo músculo cutâneo. Em todos eles foi feito estudo histológico convencional e parte do nervo foi processado para cortes semi e ultrafinos e dissociação de fibras.

Em 20 casos o nervo era representado por fibrose densa que substituiu totalmente ou grande parte das fibras mielínicas e amielínicas. Infiltrado inflamatório mononuclear envolvendo epi, peri ou endoneuro estava presente em 27 casos. Em alguns casos chamava a atenção uma antigênese excessiva no endoneuro. Predominou a neuropatia axonal com grau variado de perda axonal, 23 deles com perda axonal total. Em 7 casos havia preferência por perdas de fibras mielínicas de pequeno calibre e amielínicas. Uma neuropatia predominantemente desmielinizante estava presente em 9 casos com sinais de remielinização e proliferação de células de Schwann. Em quatro casos em que o envolvimento clínico era exclusivo dos membros superiores o nervo sural estava normal. Bacilos álcool-ácidos resistentes foram vistos predominantemente em células de Schwann e células endoteliais, estando ausentes em alguns casos de forma indeterminada, tuberculóide e em 6 dos dez pacientes previamente tratados. Treze nervos tinham a morfologia na forma virchoviana clássica com muitos bacilos e 5 eram da forma tuberculóide com granulomas típicos. Naqueles com fibrose difusa do nervo não foi possível caracterizar a forma da hanseníase.

A biópsia neural foi decisiva no dia-

grnóstico da hanseníase nos casos de forma neural pura e permitiu avaliar o grau de envolvimento neural e a atividade da doença nos casos tratados.

ROXO, E.; PALACI, M.; FERRAZOLI, L.; AMARAL, L.B.S.; PINHEIRO, S.R. Isolamento de micobactéria em diversas espécies animais.

Os autores descrevem a ocorrência de micobactérias de diferentes graus de patogenicidade em diversas espécies de animais domésticos e silvestres. De 217 amostras recebidas pela Seção de Patologia Clínica do Instituto Biológico no período de 1984 a 1990, 67 foram positivas para bacilos, álcool-ácidos resistentes e destes 16 foram identificados através de características culturais e bioquímicas. As espécies mais frequentemente isoladas *M. fortuitum* (3 amostras a partir de linfonodo bovino), seguida de *M. bovis* (2 amostras de pulmão bovino) e *M. avium-intracellulare* (2 amostras de linfonodo bovino). *M. tuberculosis* foi isolado de suíno com lesão no fígado e pulmão de sagui com lesão pulmonar. O isolamento e a identificação de micobactérias a partir de animais torna-se importante no sentido de detectar outras espécies além do complexo *M. tuberculosis*, que não causam lesões típicas de tuberculose, mas interferem nos testes tuberculínicos e muitas vezes podem levar ao abate desnecessário dos animais reagentes.

LOPES, V.G.S. A gravidez na doença de Hansen.

O autor estuda 20 gestantes portadoras da Doença de Hansen, nas diversas formas clínicas, analisando a placenta sob o ponto de vista macro e microscópico, avaliando a presença de alterações específicas relacionadas ou não à presença do bacilo.

Correlaciona as lesões encontradas com a forma clínica da doença e o tipo de tratamento. Investiga a transmissão placentária de anticorpos específicos presente nas mães.

Conclui que:

- A incidência de surtos reacionais é alta, principalmente entorna nodoso leproso (50% dos casos).

- A ocorrência de prematuridade foi de 30% (todos eram filhos de mães multibacilares).

- Em 11 das 15 placentas de gestantes multibacilares foi detectada *Mycobacterium*

*leprae*, sendo que nove apresentavam vilosite. Em nenhuma das paucibacilares evidenciou-se a presença de bactéria.

- A presença da *Mycobacterium leprae* na placenta esteve relacionada à forma clínica da doença e não à regularidade do uso de drogas específicas durante a gestação.

- Entre os dois grupos estudados (20 placentas) 95 apresentaram sinais de vascularite.

Em seis placentas das sete gestantes que receberam clofazimine, durante o tratamento, havia sinais microscópicos sugestivos de depósito da droga.

- A dosagem de anticorpos da classe IgM antiglicolípido fenólico foi elevada no soro de 100% das gestantes multibacilares e em 75% das paucibacilares.

- Nos 13 recém-nascidos de mães multibacilares nos quais foram dosados os anticorpos da classe IgM antiglicolípido fenólico, a soropositividade média foi 7 vezes maior que a considerada normal.

**ANJOS FILHO, L. dos & GONTIJO FILHO, P.P.**

Micobactérias isoladas de material clínico no Instituto FR Fisiologia e Pneumologia da UFRJ.

Os objetivos do trabalho foi ode identificar as micobactérias recebidas pelo Serviço de bacteriologia, verificar a presença de biotipos dentro do complexo *M. tuberculosis*, bem como a relação entre amostras catalase-negativas e resistência à isoniazida.

Cento e dezenove amostras foram identificadas através dos seguintes testes: tempo de crescimento a 37°C e a 24°C; morfologia colonial; produção de pigmento; crescimento em meio Lowenstein-Jensen contendo ácido p-nitrobenzóico, hidrazida do ácido tiofênico, tiosemicarbazona e NaCl a 5%; crescimento em agar MacConkey; hidrólise de Tween 80; urease; catalase a temperatura ambiente e 68°C; niacina; e redução do nitrato. O teste da susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método das proporções. Entre 119 amostras, cerca de 13% (16 amostras) foram caracterizadas como micobactérias não tuberculosas (MNT). Em 3 pacientes verificou-se a presença de infecções mistas: *M. tuberculosis* + *M. scrofulaceum*, *M. tuberculosis* + *M. phlei* e *M. fortuitum* + *M. scrofulaceum*. Entre as MNT predominou o complexo *M. fortuitum* (8/16). Apenas 3 dos 16

espécimes positivos correspondiam a material não contaminado, permitindo diagnóstico de doença causada por MNT. Os demais eram escarro, sendo portanto necessário a recuperação do microrganismo a partir de um segundo espécime, para confirmação de doença por MNT.

Entre as 103 amostras do complexo *M. tuberculosis*, 22,3% foram nitrato-negativo e 6,7% niacina-negativa. Em cerca de 70% das amostras foi realizada avaliação da sensibilidade aos poliquimioterápicos, verificando-se um predomínio de polirresistentes (cerca de 70%). Entre as 35 amostras de *M. tuberculosis* catalase-negativa, 29,8% foram resistentes à isoniazida.

#### VII. LARES de OLIVEIRA, M.C.B. & ULSON, C.M.

Estudo bacteriológico das micobactérias isoladas de pacientes do Hospital das Clínicas da UNICAMP visando, em especial, as micobactérias outras que não *M. tuberculosis*- MOTT.

Durante 4 anos foram estudados 6949 espécimes clínicos, provenientes de pacientes internados ou ambulatoriais, com suspeita clínica de tuberculose, visando a pesquisa-cultura e identificação dos microrganismos do gênero *Mycobacterium*. A distribuição dos espécimes clínicos foi escarro (96,7%), urina (5,8%), lavado brônquico (3,4%), liquor (0,8%), líquido pleural (2,3%) e outros (1,0%). O coeficiente de positividade das culturas de *Mycobacterium tuberculosis* em nosso material foi de 5,52% e de espécies outras que não *M. tuberculosis* de 0,87%, havendo variação entre os diferentes espécimes clínicos. O coeficiente de concordância entre baciloscopia e cultura foi de 96,8% e o de discordância 3,2%. O estudo das 61 espécies "MOTT" mostrou que 33 (54,09%) pertenciam às espécies potencialmente patogênicas e que 10 (16,4%) pertenciam à espécies de patógenos ocasionais. As restantes 18 (29,51%) amostras isoladas foram espécies de crescimento rápido e escotocromógenas, sem importância clínica. Tendo em vista que o isolamento de amostras "MOTT" pode significar simples colonização, o diagnóstico de micobactérias deverá ter evidência clínica e/ou radiológica com confirmação microbiológica. Dos espécimes clínicos obtivemos um coeficiente de positividade de 0,87% (61 amostras) de espécies "MOTT", sendo que 37 eram de escarro, 8 de lavado brônquico, 2 de líquido pleural, 13 de urina e 1 de outros. As

amostras foram inicialmente agrupadas segundo RUNYON. As de crescimento lento não fotocromógenas, que diferiam dos bacilos da tuberculose e BCG foram submetidos a diferentes provas, assim como as fotocromógenas e as escotocromógenas. A identificação das 61 espécies de "MOTT" foram a saber: 10 de *M. avium-intracellulare*, sendo nove do trato respiratório e uma do trato urinário, 10 de *M. fortuitum subsp peregrinum*, sendo oito do trato respiratório e duas do trato urinário, 3 de *M. fortuitum subsp fortuitum* sendo duas do trato respiratório, uma do trato urinário, 4 de *M. kansasii* sendo 2 do trato respiratório, 1 do trato urinário e uma do líquido pericárdico, 1 de *M. szulgai* do trato respiratório, 5 de *M. chelonae subsp chelonae* todas encontradas no trato respiratório, 7 de *M. terrae* sendo 5 do trato respiratório e 2 do trato urinário, 2 de *M. triviale* sendo do trato urinário, 1 de *M. nonchromogenicum* do trato respiratório e 1 de BCG de local de vacinação. Foram encontradas também 18 saprófitas, 14 do trato respiratório e quatro do trato urinário.

#### NAKAJIMA, M.; MATA, F.C.L.; MOTA, P.M.P.C.

Diagnóstico da Paratuberculose em Minas Gerais.

Apesar de ser uma doença muito freqüente nos Estados Unidos e países Europeus, no Brasil, a paratuberculose foi registrada apenas em quatro ocasiões nos Estados do Rio de Janeiro e Santa Catarina, envolvendo somente bovinos importados e seus descendentes, por razões ainda desconhecidas. A causa deste pequeno número de notificações pode ser devido ao conceito generalizado de doença que causa diarreia com corrugações na parede intestinal semelhante as circunvoluções cerebrais verificadas na sua forma mais característica. Como na maioria dos casos de diarreia persistentes, sem causa definida, acabam ficando sem diagnóstico. Outra causa pode ser um fator ambiental ainda não esclarecido que não permite a perpetuação da doença no País. Pode ser que devido a este fato, a doença ocorra somente em animais importados e seus descendentes.

No início do corrente ano, o Laboratório de Tuberculose do LARA/Pedro Leopoldo recebeu fragmentos intestinais de uma vaca Holandesa preta e branca, de cinco anos de idade, de procedência americana de um criador de Juiz de Fora/MG, adquirida no Estado do Paraná. O ani-

mal apresentou diarreia persistente, que resistia às tentativas de tratamento, antes de morrer.

Na necropsia foi encontrado lesões intestinais característicos da doença. O exame bacteriológico realizado através da coloração de Ziehl-Nielsen revelou a presença de grande quantidade de organismos álcool-ácido resistentes. No exame histopatológico foi observado lesões proliferativas com infiltrações leucocitárias e presença de bacilos AAR no interior dos macrófagos e nas vilosidades intestinais pela coloração de Ziehl-Nielsen. Na cultura realizada a partir de emulsão de fragmentos intestinais, descontaminados com cloreto de benzalcônio a 0,3% durante 24 horas à temperatura ambiente, inoculada em tubos com meio de Lowenstein-Jensen com "*Mycobactin P*", fator essencial para o crescimento do *M. paratuberculosis* e produto da extração com acetona de cultura de *M. phlei* e tubos sem o fator de crescimento, verificou-se o crescimento de organismos AAR somente nos tubos com "*Mycobactin P*", confirmando a etiologia do agente causadora doença.

**REPKA, J.C.D.; FABRICIO, L.H.; BRAND, L.R.; LEMOS, ALL.; PENTEADO FILHO, S.R.; STAHLKE, P.H.** Serologic study by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) against the synthetic glycoconjugate of *Mycobacterium leprae* in professional contacts with leprosy patients.

This study associates the serologic re-

sults using ELISA, against synthetic disaccharide conjugate of specie specific antigen of *Mycobacterium leprae* to the results obtained in Mitsuda Test. 68 professional contacts with 0 to 24 years of working in leprosy has been studied. It was found 10% of seropositivity and 85,30% of Mitsuda Test.

Palavras-chave: Hanseníase, ELISA, Glicolípido Fenólico-1, Contactos.

**REPKA, J.C.D.; BRAND, L.R.; FABRICIO, L.H.; LEMOS, ALL.; PENTEADO FILHO, S.R.; STAHLKE, P.H.** Some aspects in immunological evaluation in the treatment.

The present study reports the results obtained by Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) against PGL-1, and Single Radial Immunodiffusion (SRID) against a complete bacterial cell of *Mycobacterium leprae* in two groups: one with non treated leprosy patients and one with treated leprosy patients. It was observed that average of antibody levels was superior in non- treated group while the Mitsuda test did not show significant variation between the groups.

According to the results described above, the ELISA test against PGL-1 is suitable for therapeutic evaluation of leprosy. Furthermore the SRID against PGL-1 could be studied more deeply, because it is an easier test and also less expensive.

Palavras-chave: Hanseníase, ELISA, Glicolípido Fenólico-1, Tratamento.