

VALOR DA PESQUISA DIRETA DO BACILO NO ESCARRO PARA O DIAGNÓSTICO DE CURA NA TUBERCULOSE PULMONAR TRATADA *

JOSÉ FERNANDO CARNEIRO **
NEWTON NEVES DA SILVA ***

A eliminação do bacilo de Koch pelas vias aéreas costuma ser apreciada pelo exame direto do catarro, depois pela cultura e finalmente pela inoculação do material em animais do material em animais do laboratório.

Êstes exames, de acôrdo com o ensinamento clássico, são feitos conforme a sequência enumerada. Quando há poucos bacilos na expectoração, êles não podem ser detectados pelo exame direto. Corper (1) calculava que mais de 100.000 bacilos por ml eram necessários para se conseguir esfregaços positivos. Portanto, um exame de escarro negativo longe está de nos tranquilizar quanto à inexistência de eliminação bacilar. Em nosso meio é costume proceder à cultura do lavado gástrico ou do lavado tráqueo-brônquico em paciente com baciloscopia direta negativa do escarro. Nestes pacientes a expectoração é em geral escassa ou intermitente e assim lança-se logo mão de um lavado (gástrico ou traqueo-brônquico). Com êsse procedimento obtemos resultados positivos em número apreciável de casos negativos ao simples exame direto.

Discutiu-se bastante para saber qual o melhor exame, se a cultura ou a inoculação. Saenz e Costil (2) empregando emulsões bacilares em concentrações cada vez mais fracas verificaram que tanto a sementeira quanto a inoculação continuavam positivas quando operavam com emulsões que ainda contivessem 20 bacilos por ml. Com a diluição de 2×10^{-6} , na qual havia apenas 2 bacilos por ml, ainda lhes foi possível obter algumas ino-

culações positivas (1 cobaio para 4 inoculações), enquanto tôdas as sementeiras foram negativas.

A cultura é recomendável sobretudo quando temos que pesquisar líquidos não contaminados por germes de associação e colhidos com os devidos cuidados de assepsia, como deve ser no caso dos derrames pleurais, ou no caso do liquor. Close (3) chegou a considerar a cultura superior à inoculação no caso dos derrames pleurais.

Acham alguns autores (4,5) que nas experiências de comparação entre inoculação e cultura cumpre atentar para a procedência dos germes. Se recolhidos de lesões humanas, e depois homogenizados, os germes podem se apresentar tão alterados e inibidos em sua virulência que não sejam mais capazes de lesar o cobaio embora ainda sejam capazes de crescer em certos meios artificiais. Esta opinião não pode ser confirmada por Gray e cols. (6) que realizaram uma pesquisa muito bem planejada inoculando e cultivando diluições seriadas de esputo proveniente de tuberculosos em tratamento. Os autores ainda obtiveram inoculações positivas empregando diluições 10 a 100 vezes maiores que a última diluição capaz de permitir culturas positivas. A inoculação proporcionou-lhes pois rendimento muito superior à cultura.

O animal preferido para inoculação é o cobaio, em que pesem as preferências dadas ao criceto dourado por Griffith (7) e outros autores (8, 9). O camundongo preto, conforme foi visto por Gray e cols.

* Trabalho apresentado ao XI Congresso Nacional de Tuberculose reunido em Porto Alegre, 12-18 de Novembro de 1961.

** Professor de Tisiologia da Faculdade de Medicina de Porto Alegre.

*** Diretor do Instituto de Pesquisas Biológicas da Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul.

(6) é também um excelente animal para inoculação e sob certos aspectos superior ao cobaio.

A inoculação apresnta contudo algumas desvantagens práticas, como: a) tempo mais longo de resposta (exceto quando se usa o camundongo preto); b) maior custo; c) morte de alguns animais por doenças intercorrentes; d) necessidade de realizar necropsia etc....

Quanto ao valor relativo dos lavados traqueo-brônquico e gástrico, a experiência brasileira mostra que o primeiro é ligeiramente superior (10, 11).

Tudo isso foi certo, e continua certo no que se refere ao diagnóstico dos casos recentes ou suspeitos de tuberculose pulmonar. Mas perde em exatidão quando queremos fazer o diagnóstico de cura dos pacientes tratados pelos agentes químicos. Nestes, não se observa superioridade marcada da cultura ou da inoculação sobre o exame direto do escarro. Nem a cultura nem inoculação do escarro e dos lavados gástrico e brônquico se mostram positivas, a não ser em raros casos, em pacientes com baciloscopia direta de escarro negativa após quimioterapia prolongada. O que se observa mais vezes até é o oposto: baciloscopias diretas positivas e culturas negativas.

Muito se tem conjecturado sobre esse último fato, hoje de observação corrente.

Fruhlinger e Bala (12) verificando a presença de PAS no esputo dos pacientes em tratamento procuraram determinar se a concentração de PAS existente no escarro seria suficiente para determinar a inibição do crescimento bacilar na cultura. Essa indagação teve resposta positiva, encontrando-se em muitos casos 1 mg ou mais de PAS por 100 ml. Foi afirmado por esses autores que a ocorrência de culturas negativas em pacientes positivos ao exame direto era paralela à presença de PAS na expectoração. Seri (13), por sua vez, aconselha que se interrompa a administração de INH três dias antes da colheita de escarro destinado a ser cultivado. Alguns autores como Meissner (14) ou como Vincze e colaboradores (15) acham insuficiente esse período de três dias.

A presença de substâncias tuberculoestáticas no escarro não impedirá, é

claro, a proliferação dos germes resistentes a essas substâncias, mas poderá eventualmente impedir a proliferação de germes sensíveis quando a eliminação desses estiver sendo feita em número pequeno. A explicação aventada por Fruhlinger e Bala (12), em resumo, é válida para um certo número de casos, mas não para todos. Certos germes que visualizamos ao exame direto mas não cultivamos são germes profundamente alterados em sua biologia mercê da ação das drogas tuberculoestáticas, sobretudo da INH. Faltam-lhes enzimas respiratórias essenciais. Falta-lhes peroxidase para desdobrar os peróxidos, e em virtude desse impedimento e de outros semelhantes não podem desenvolver-se nas culturas. Mas é de supor que possam viver e até multiplicar-se em determinados locais do organismo, onde lhes sejam fornecidos os fermentos necessários.

Enfim, de acordo com uma explicação, os germes visíveis mas inváveis seriam germes normais e sensíveis às drogas; de acordo com outra explicação geralmente aceita os germes em questão devem ser interpretados como o germes extremamente intoxicados, carentes de enzimas essenciais à respiração. O fato é paradoxal, não há dúvida, pois os germes resistentes à SM e à INH em geral se reproduzem bem.

Com a quimioterapia prolongada, como se vem praticando hoje em dia, o que se observa de regra é, ou estancamento da eliminação bacilar, com eventual eliminação de corpos bacilares dificilmente viáveis, ou aparecimento da resistência bacteriana com eliminação de germes resistentes em número tal que podem ser surpreendidos pelo exame direto. E quanto maior o número de resistências, mais abundante a eliminação. Não queremos dizer que alguns pacientes não possam eliminar germes resistentes em quantidade pequena, tão pequena que o exame direto se mostre negativo enquanto a cultura seja positiva. O fato pode ocorrer, mas não é frequente. De regra, quando um paciente expectora bacilos resistentes, sobretudo bacilos resistentes a duas drogas, podemos concluir que o número deles é considerável.

Canetti (16) baseando-se na análise de peças de secção, declara expressa-

mente: "Un malade dont les bacilles sont devenus résistants à un agent antibacillaire héberge en moyenne, dans ses lésions, plus de bacilles qu'on malade dont les bacilles sont restés sensibles à cet agent: un malade dont les bacilles sont devenus résistants a deux agents, plus de bacilles qu'on malade dont les bacilles sont devenus résistants à un agent, etc."...

Por tudo isso, os critérios de cura e inatividade das lesões tratadas precisam talvez ser revisados. Já Carrijo e cols. (17), em 1959, analisando 530 culturas de material proveniente de 292 pacientes tratados com tuberculoestáticos e com exames diretos repetidamente negativos, encontraram apenas 4 espécimes positivos à cultura. Concluíram os autores ser pequena a contribuição que a cultura fornece para uma maior segurança de julgamento de inatividade. E propuseram, a nosso ver muito acertadamente, que a exigência da cultura e inoculação negativas da National Tuberculosis As-

sociation fôsse dispensada, ou pelo menos atenuada.

Em nosso país, o Serviço Nacional de Tuberculose (Instrução N.º 12, de 1955), na caracterização de "cura atual" exige ao lado de provas clínicas e radiológicas, a seguinte prova bacteriológica: três exames negativos por cultura e inoculação, realizados pelo menos três meses depois de suspenso o tratamento por bacteriostáticos. Para uma "cura atual provável", a prova bacteriológica é a seguinte: escarro negativo à pesquisa direta durante o mínimo de 6 meses, com uma verificação mensal pelo menos; ou então, um lavado negativo (cultura ou inoculação) apenas.

Vejamos, de acordo com a análise de 760 escarros examinados no Instituto de Pesquisas Biológicas da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul o valor atual da baciloscopia direta e a segurança senão absoluta pelo menos bastante apreciável do exame direto negativo nos pacientes submetidos a uma prévia quimioterapia antituberculosa.

Resultados de 760 exames de escarro para a pesquisa do bacilo de Koch realizados no Instituto de Pesquisas Biológicas (1960-1961)

1)	Número de pacientes examinados	760
2)	Número de exames diretos positivos	317
3)	Número de culturas positivas	274
4)	Número de sensíveis	59
5)	Número de resistentes	215
6)	Distribuição das resistências:	
	SM	22
	INH	81
	SM + INH	112
7)	Número de culturas positivas em casos com baciloscopia positiva	257 entre 317
8)	Número de baciloskopias positivas entre as culturas negativas	60 entre 486
9)	Número de baciloskopias negativas entre os casos com cultura positiva	17 entre 274
10)	N.º de baciloskopias negativas entre os sensíveis	5 entre 59
11)	N.º de baciloskopias negativas entre os resistentes	12 entre 215
12)	Número de baciloskopias negativas entre os resistentes a 1 droga	8 entre 103
13)	Número de baciloskopias negativas entre os resistentes à 2 drogas	4 entre 112

Os escarros enviados ao Instituto provêm de pacientes em sua maioria, com o diagnóstico já anteriormente firmado de tuberculose, e internados em hospitais de Pôrto Alegre, como o Sanatório Parthenon e a Santa Casa de Misericórdia. Poucos foram os casos de exames feitos antes de uma quimioterapia antituberculosa de alguma duração. Os escarros são enviados para que seja feita a determinação da sensibilidade bacilar aos auberculoestáticos. O material é semeado em meio de Lowenstein — Jensen, usando-se 4 tubos para a SM, 4 para a INH, 4 para o PAS e 2 testemunhas. Nestas condições cada catarro é semeado em 14 tubos, conservados na estufa até 40 dias. Os limites de resistência empregados para avaliação da resistência à SM são de 4 e de 10 mcg; para o INH de 0,2 e de 1 mcg; para o PAS, de 0,5 e de 2 mcg. Recentemente se tem acrescentado a determinação rotineira da sensibilidade à Kanamicina, à Cicloserina e ao Trecator. A determinação da sensibilidade à Kanamicina, que já foi feita em

79 casos, será aliás objeto de uma comunicação à parte a ser feita por um de nós (N. N. S.).

Como a finalidade precípua do exame bacteriológico pedido foi, conforme vimos, estabelecer a sensibilidade ou resistência dos germes aos tuberculoestáticos, não houve preocupação em realizar um exame direto minucioso.

Não obstante, nos 760 materiais examinados, o exame direto foi positivo 317 vezes, enquanto a cultura foi positiva 274 vezes apenas. Houve 17 casos nos quais a cultura foi positiva enquanto a baciloscopia foi negativa. Em compensação houve 60 casos nos quais se encontrou baciloscopia positiva e cultura negativa. Entre 274 casos com cultura positiva o exame direto foi também positivo em 257 casos, o que fornece uma concordância de 93,5 por cento. Somente 17 vezes, conforme vimos, o exame direto foi negativo, o que fornece uma discordância de 6,2 por cento. Separando os casos de germes sensíveis e de germes resistentes a 2 drogas temos o seguinte quadro:

Resultados negativos ao exame direto de escarro em pacientes tratados que eliminam germes sensíveis e resistentes			
Culturas	Número de casos	Baciloscopias diretas neg.	%
sensíveis	59	5	8.4
resistentes a 1 droga	103	8	7.7
resistentes a 2 drogas	112	4	3.5
Total	274	17	6.2

A medida que cresce o número de resistências decresce a percentagem de casos nos quais se pode encontrar baciloscopia direta negativa e cultura positiva.

Enquanto isso houve número apreciável de achados diretos positivos em pacientes cujo escarro não cresceu em nenhum dos 14 tubos nos quais cada paciente teve seu escarro semeado. Isso

ocorreu em 60 casos. É possível que um pequeno número dessas culturas viessem a se positivar, caso houvessem sido guardadas por espaço mais longo que 40 dias. Entretanto, não é esse o aspecto que desejamos sobretudo focalizar, mas sim o fato de que a baciloscopia direta negativa, em paciente longamente tratado significa na quase totalidade dos casos estancamento da eliminação bacilar. U-

ma série de exames diretos negativos de pacientes tratados com as modernas drogas, antituberculosas vale como critério bastante plausível de "cura atual" ou de "inatividade" da lesão pulmonar.

Cabe entretanto uma advertência ou esclarecimento final. Não se deve inferir do que dissemos que o critério de cura clínica da tuberculose pulmonar possa ser estabelecido apenas em função de exames de escarro negativos ao exame direto. O critério de cura é clínico-radiológico-bacteriológico. Não são excepcionais os casos de pacientes tratados, negativos tanto ao exame direto quanto à cultura e entretanto portadores de lesões habitadas como tuberculomas, ou então de cavernas reveláveis ao exame radiológico, constituindo os casos "open-negative" dos autores americanos (18). Operados, verifica-se nas peças de resecção a presença até abundante de germes em geral resistentes. Alguns germes, entretanto, em percentagem não desprezível, se mostram incultiváveis, e quando inoculados não proliferam nem causam lesão nos animais de laboratório. O mesmo problema observado no escarro se repete portanto na análise bacteriológica das peças de resecção. A natureza desses germes visíveis mas inviáveis vem sendo objeto de debates, mas não parece que se haja chegado nesse assunto a uma conclusão definitiva (19).

SUMMARY

Data obtained by direct microscopic examination and by culture of sputums from 760 tuberculous patients under prolonged chemotherapy are analysed. The sputum was cultured in Löwenstein-Jensen medium. Fourteen tubes were inoculated from each specimen.

Among the 760 cases examined there were found 317 positive by direct microscopic examination, but only 274 were positive by culturale. The meaning of such a finding is discussed in the light of similar results obtained by others in the study of resected lung specimens.

The combination of a negative direct examination and a successful cultivation is often seen in untreated patients and it was often seen in the past in patients treated with rest and collapse. Now, the finding of sputum negative by direct exa-

mination and positive by cultivation very seldom occurs in patients treated with prolonged chemotherapy. These patients as a rule become either completely negative to direct smear or culture of the sputum or expellers of resistant germs in such a number as to be easily detected by direct microscopic examination. In the latter situation confirmatory culturales are needed, of course, to determine the drugs to which the germs are resistant.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — Corper H. J. — JAMA 91: 371, 1928.
- 2 — Saenz A. et Costil L. — Diagnostique bacteriologique de la tuberculose — Paris: Masson, 1936.
- 3 — Close G. H. — Lancet I: 193, 1946.
- 4 — Jensen K. A. and Bindsley J. — Acta Tuberc. Scand. 20: 46, 1946.
- 5 — Bloch H. — J. Exp. Med. 91: 197, 1950.
- 6 — Gray D. F., Clarke B. L. and Matkinson M. — Am. Rev. Tuberc. 69: 92-103, 1954.
- 7 — Griffith A. S. — J. Hyg. Camb. 29: 244, 1941.
- 8 — Ungar J. — Nature 150: 432, 1943.
- 9 — Glover R. E. — J. Path. and Bact. 68: 1, 1946.
- 10 — Magarão M. F. e Linhares H. — Diagnóstico bacteriológico da tuberculose — Publicação da Campanha Contra a Tuberculose, Rio de Janeiro, 1949.
- 11 — Carrijo L. N. e cols. — Rev. Paulista Tisiologia e Torax 16: 29. 1955.
- 12 — Fruhlinger B. and Bala J. — Am. Rev. Tuberc. 68: 42, 1953.
- 13 — Seri I. — Beitr. Klin. Tbk. 119: 85, 1958.

- 14 — Meissner G. — Beitr. Klin. Tbk. 3: 280, 1955. de la tuberculose" — Revue de Tuberc. 22: 735, 1958.
- 15 — Vincze E. et al. — Acta Tuberc. Scand 38: 26-39, 1960.
- 16 — Canetti G. — XII Congrès National de la Tuberculose, Montpellier, 9, 10 et 11 avril, 1958 — Symposium sur "Les effects directs et indirects des therapeutiques actuelles sur les risques de contagion
- 17 — Carrijo L. N., Taveres de Lima M., Faria M. F. e Conde M. — Rev. Paulista Tisiologia e Torax 20: 201-207, 1959.
- 18 — AMERICAN TRUDEAU SOCIETY — Am. Rev. Resp. Dis. 80: 118-119, 1959.
- 19 — Canetti G. — Ann. Inst. Pasteur 97: 53-79, 1959.