

AVALIAÇÃO DA MODIFICAÇÃO NO MÉTODO DE DESCONTAMINAÇÃO DE OGAWA-KUDOH NO ISOLAMENTO DE *Mycobacterium tuberculosis* DE SECREÇÕES PULMONARES.

Clarice Maia Carvalho⁽¹⁾, Alessandra Cristina Martins da Silva⁽¹⁾, Mauricio Morishi Ogusku⁽²⁾, Mari Otsuka de Lima⁽³⁾, Julia Ignez Salem⁽²⁾.

⁽¹⁾Bolsista CNPq/PIBIC – INPA, ⁽²⁾Orientadores INPA/CPCS, ⁽³⁾Colaborador INPA/CPCS

No Brasil, grande parte das unidades laboratoriais responsáveis pelas ações de controle da Tuberculose (Tb) realiza a bacteriologia, para isolamento do *Mycobacterium tuberculosis*, por métodos clássicos não automatizados. Usualmente esse procedimento diagnóstico é realizado em amostras de escarro paucibacilares com baciloscopia direta negativa e em amostras com suspeita de Tb extra-pulmonar. Todos os métodos clássicos têm 3 diferentes etapas: descontaminação/desmucolização, centrifugação e neutralização da amostra. Essa última, se não devidamente executada é responsável por resultados falso-negativos. Assim, visando otimizar os procedimentos para isolamento do *M. tuberculosis* e com base nos fundamentos dos métodos de descontaminação de Petroff modificado (David *et al.*, 1994) e Ogawa (Ogawa *et al.*, 1950) e o meio de cultivo de Ogawa-Kudoh modificado (Kudoh & Kudoh, 1974), elaborou-se um método que eliminou a etapa de neutralização das amostras, utilizou descontaminante fácil de ser adquirido/preparado e permitiu menores gastos na produção do meio de cultivo. A análise da eficácia desse método, por nós denominado de **PKO Concentrado** foi o objetivo do presente trabalho.

Para atingir nossos objetivos, foram processadas 91 amostras de escarro de pacientes com suspeita de Tb pulmonar e com persistentes baciloscopias direta negativas pelos métodos de Ogawa-Kudoh (método do swab), Petroff modificado e o **PKO Concentrado**. Nesse, ao escarro é adicionado igual volume de hidróxido de sódio a 4% (NaOH 4%), deixado em repouso por 5 minutos (no método de Petroff são 15 minutos), completado o volume para 10 mL com H₂O destilada estéril e centrifugado a 3.000 x g por 15 minutos. O excesso de sobrenadante é eliminado e alíquotas de 0,2 mL são semeadas em cada um de 3 tubos contendo meio de Ogawa modificado (pH 6.4). Vale ressaltar que no método de Petroff, após eliminação do excesso de sobrenadante, tem-se que neutralizar o sedimento para posterior semeadura no meio de cultivo de Lowenstein-Jensen (meio com pH neutro). No método de Ogawa-Kudoh, um swab impregnado com a porção mais purulenta da amostra é imerso em NaOH por 2 minutos e utilizado para distribuir a porção da amostra por toda a superfície do meio de cultivo de Ogawa modificado (pH 6.4).

A frequência de isolamento de *M. tuberculosis* pelos métodos testados, está demonstrada na Tabela e o período de crescimento das cepas está demonstrado na Figura.

Tabela
Frequência de isolamentos de *M. tuberculosis*

Métodos	N ^o de Amostras	Resultados dos cultivos		
		Positivo	Negativo	Contaminado
Petroff	91	14	75	2
OK swab	89	06	82	1
PKO conc.	91	14	75	2

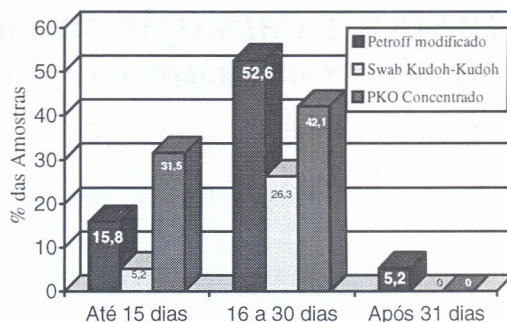


Figura
Período de crescimento de *M. tuberculosis*

A análise comparativa entre o método de **PKO Concentrado** e o de Petroff, mostrou paridade de resultados no isolamento de *M. tuberculosis* (Tabela). A sensibilidade e especificidade do método de **PKO Concentrado**, foi respectivamente 64,3% e 93,4%. Já a sensibilidade do método do Swab de Ogawa-Kudoh foi de 28,6% e a especificidade 98,7%. O crescimento do *M. tuberculosis* foi significativamente mais rápido no **PKO Concentrado** (Figura).

O método de **PKO Concentrado** apresentou sensibilidade igual e contaminação menor que os métodos padrão e de Ogawa-Kudoh Swab para amostras paucibacilares. Em relação ao tempo de crescimento micobacteriano, o **PKO Concentrado** propiciou crescimento em menor tempo do que os demais métodos testados neste trabalho, favorecendo uma resposta mais rápida no diagnóstico da Tuberculose paucibacilar e, conseqüentemente, a introdução de quimioterapia específica e quebra da cadeia de transmissão da doença em menor espaço de tempo. O método de **PKO Concentrado** é mais simples e rápido, não necessitando de equipamentos sofisticados e pessoal técnico especializado.

David, H.L.; Brum, L.; Prieto, E. 1994. Manual de micobacteriologia em saúde pública: Princípios e Métodos. Laboratório de Micobactérias, Departamento de Microbiologia, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Lisboa.

Kudoh, S. & Kudoh, T. 1974. A simple technique for culturing tubercle bacilli. Bulletin of the World Health Organization, 51:71-82.

Ogawa, T. et al. 1950 *Kekkaku* (in Japanese), 25:207-214.