

2020

Recomendações para o diagnóstico e teste de sensibilidade para micobactérias não tuberculosas (MNT) no estado de Minas Gerais



**Fundação Ezequiel Dias
Instituto Octávio
Magalhães/LACEN-MG
1/10/2020**

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS

Presidente da Fundação Ezequiel Dias

Maurício Abreu Santos

Diretora do Instituto Octávio Magalhães (IOM)/LACEN-MG

Marluce Aparecida Assunção Oliveira

Coordenadora da Divisão de Epidemiologia e Controle das Doenças

Ana Luísa Furtado Cury

Chefe do Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas

Carmem Dolores Faria

Equipe Técnica

Elaboração

Élida Aparecida Leal

Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas – (IOM)/LACEN-MG

Revisão

Cláudio José Augusto

Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas – (IOM)/LACEN-MG

Carmem Dolores Faria

Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas – (IOM)/LACEN-MG

Silvana Spíndola de Miranda

Hospital das Clínicas – UFMG

1 INTRODUÇÃO

Micobactérias não tuberculosas (MNT) é o termo utilizado para designar as espécies do gênero *Mycobacterium* distintas de *M. leprae* e das que compõem o Complexo *M. tuberculosis*. Essas espécies estão globalmente distribuídas, sendo encontradas em todos os continentes e nos mais diversos habitats: reservatórios naturais de água, sistemas de distribuição de água potável e estações de tratamento de água e de esgoto, encanamentos, banheiras de hidromassagem e *spas*, piscinas públicas, máquinas de gelo, edifícios danificados pela água, aerossóis naturais (poeiras ou gotículas), diferentes tipos de solos, poluentes ambientais, fluidos para remoção de partículas metálicas, fazendas de gado, alimentos, animais silvestres e domésticos, vegetais, insetos, protozoários e humanos (PRIMM *et al.*, 2004).

Ao contrário das espécies do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, que podem desencadear a tuberculose no homem e em animais (TORTOLI, 2006; ALEXANDER *et al.*, 2010), as MNT apresentam patogenicidade variada, podendo causar desde infecções assintomáticas até quadros clínicos pulmonares e/ou extrapulmonares (linfonodos, pele, ossos, tendões, olhos, rins entre outros) conhecidas genericamente como micobacterioses (HAWORTH *et al.*, 2017).

As MNT constituem um grupo bacteriano numeroso e heterogêneo, sendo cada vez mais frequente a descrição de novas espécies. Podem ser divididas em espécies de crescimento lento e rápido, de acordo com a capacidade de formar colônias em meio sólido. As micobactérias de crescimento rápido (MCR), formam colônias em meio sólido em até 7 dias e são geralmente associadas às infecções pós-traumáticas e pós-cirúrgicas (Freitas *et al.*, 2003; Leão *et al.*, 2009). As micobactérias de crescimento lento caracteristicamente formam colônias em meio sólido após 7 dias e são geralmente patogênicas ao homem, como as espécies do Complexo *M. avium* (MAC) e a *M. kansasii* (RUNYON, 1959; BROSET *et al.*, 2015).

As espécies pertencentes ao MAC (*M. avium*, *M. intracellulare*/*M. chimaera*) causam danos inflamatórios de progressão lenta, que são causas importantes de doença oportunista de natureza pulmonar ou disseminada em indivíduos imunossuprimidos, sobretudo os portadores de HIV/AIDS (LAKE *et al.*, 2016). O *M. kansasii*, por sua vez, é a espécie de crescimento lento mais isolada no estado de Minas Gerais (FUNED, 2020).

Também é uma importante causa de doença pulmonar fibrocavitária, muito semelhante à tuberculose pulmonar.

O Complexo *M. abscessus* (*M. abscessus subsp. abscessus*, *M. abscessus subsp. massiliense* e *M. abscessus subsp. bolletii*) é um grupo de micobactérias de crescimento rápido clinicamente importante, responsáveis por infecções pulmonares crônicas e recorrentes de difícil tratamento e geralmente associadas a altas taxas de multirresistência (TORTOLI *et al.*, 2016; ADÉKAMBI *et al.*, 2017).

Conforme exposto, as características clínicas da doença pulmonar por MNT são, na maioria das vezes, muito semelhantes à tuberculose. Por outro lado, o tratamento e a epidemiologia são significativamente diferentes, o que torna imprescindível a identificação correta do agente infeccioso para a confirmação diagnóstica e instituição da terapia adequada (CHIMARA & FERRAZOLI, 2009).

O diagnóstico das doenças causadas por MNT envolve a detecção, isolamento e identificação da espécie. Este protocolo apresenta uma descrição dos exames ofertados pelo Lacen-MG, com ênfase nas aplicações, interpretações e limitações de cada técnica.

2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

2.1 BAAR

A pesquisa direta de Bacilos Álcool Ácido Resistentes (BAAR) é um exame microscópico realizado a partir do esfregaço da amostra clínica e corado com metodologia padronizada. A baciloscopia corada pelo método de Ziehl Neelsen, apesar da baixa sensibilidade, é um método de baixo custo e de fácil execução, amplamente utilizado na detecção dos pacientes sintomáticos respiratórios, que procuram os serviços de saúde com tosse por período maior ou igual a 3 semanas (BRASIL, 2019).

A técnica consiste na ligação dos lipídios presentes na parede celular das micobactérias ao corante fucsina, o que as torna resistentes à descoloração por soluções álcool-ácidas, daí a definição de Bacilos Álcool Ácido Resistentes. O contraste é dado pelo corante azul de metileno, que facilita a visualização dos bacilos vermelhos contra o fundo azul (BRASIL, 2008).

O número mínimo de BAAR necessário para produzir um esfregaço com resultado positivo foi estimado entre 5000 e 10000 por mililitro de escarro. A confiabilidade da leitura de baciloscopia é altamente dependente da experiência do profissional do laboratório que realiza a leitura, da qualidade da amostra e do número de organismos presentes na amostra (BRASIL, 2008). A microscopia isoladamente não pode diferenciar de maneira confiável a MNT do Complexo *M. tuberculosis* (HAWORTH *et. al.*, 2017).

No estado de Minas Gerais a realização da baciloscopia para diagnóstico e controle das micobactérias é de responsabilidade da esfera municipal. O Lacen-MG não realiza exame de baciloscopia rotineiramente, excetuando-se controle de qualidade de lâminas provenientes dos laboratórios da rede e para acompanhamento da identificação da espécie e avaliação para direcionamento para teste de sensibilidade.

2.2 Cultivo

A cultura é o exame laboratorial que permite a multiplicação e o isolamento de BAAR a partir da semeadura da amostra clínica em meios de cultura específicos para micobactérias. Trata-se de um método sensível e específico para o diagnóstico das doenças causadas por micobactérias (BRASIL, 2008).

Os meios de cultura utilizados podem ser sólidos ou líquidos. No Lacen-MG as culturas são semeadas em meio sólido (Lowestein-Jensen – LJ) ou meio líquido (Middlebrook 7H9), conforme critérios estabelecidos na Nota Técnica 01/2020 (SES/Funed). O meio sólido Ogawa-Kudoh também é utilizado no estado, sendo distribuído exclusivamente aos laboratórios da rede.

O limite de detecção de bacilos viáveis na cultura em meio sólido é de 100 bacilos por mililitro de amostra, o que a torna o método padrão-ouro para o diagnóstico das micobacterioses. A cultura produz resultados tardiamente, porém é mais sensível que a baciloscopia. De modo geral, as culturas positivas podem ser obtidas após 20-30 dias (meio sólido) e 10-15 dias (meio líquido) (MORCILLO *et al.*, 2008). Diante da ausência de crescimento os tubos devem permanecer sob incubação por 56 a 84 dias (meios sólidos) e de 42 a 56 dias (meios líquidos) até serem liberados como negativos (GRIFFITH *et al.*, 2007; BECTON DICKINSON, 2016).

Todos os isolados de MNT devem ser identificados pelo menos no nível de espécie, tendo em vista que a identificação correta é imprescindível para a instituição da terapia antimicrobiana específica. No Lacen-MG a identificação dos isolados de micobactérias é feita por métodos fenotípicos, moleculares e/ou espectrometria de massas, conforme descrito a seguir.

2.3 Identificação

2.3.1 Testes fenotípicos

2.3.1.1 Avaliação morfológica e tempo de crescimento

A detecção do crescimento na cultura depende do tipo de meio usado para o semeio da amostra clínica (CHIMARA & FERRAZOLI, 2009). Na cultura líquida, pode ser observado um crescimento flocular, de caráter inespecífico na superfície do composto fluorescente, que deve ser melhor caracterizado com testes adicionais. Com os meios sólidos, a detecção é feita a partir da observação macroscópica das colônias, que são avaliadas quanto ao aspecto (lisa, rugosa, aspecto de couve-flor, seca ou mucóide), tempo de crescimento e cromogenicidade, de acordo com a classificação de Runyon, 1959. A morfologia e o aspecto das colônias podem variar de acordo com a espécie de micobactéria, daí a importância da avaliação prévia e detalhada dos crescimentos antes da realização de teste molecular e/ou automatizado.

No Lacen-MG, após análise fenotípica, os isolados bacterianos são avaliados quanto à pureza na técnica BAAR e, se não houver presença de contaminantes, as cepas seguem para realização da PCR-PRA $hsp65$ (Reação em cadeia da Polimerase com Análise de Restrição de Polimorfismo do gene $hsp65$) e/ou espectrometria de massas pelo método de Maldi-Tof.

Quadro 1 – Classificação das micobactérias segundo Runyon, 1959

Grupo	Característica	Descrição
I	Fotocromógena	Crescimento lento (após 7 dias de incubação). Colônias não pigmentadas que adquirem cor, que pode variar de amarelo ao laranja quando expostas à luz.
II	Escotocromógena	Crescimento lento (após 7 dias de incubação). Colônias adquirem cor que pode variar do amarelo ao laranja quando cultivadas na ausência ou presença da luz.
III	Não cromogênica	Crescimento lento (após 7 dias de incubação). Colônias geralmente não pigmentadas (cor creme).
IV	Crescimento rápido	Desenvolvem colônias nos meios de cultura em 7 dias ou menos. Podem ser pigmentadas ou não.

Fonte: Manual de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras micobactérias, 2008.

2.3.2 Teste molecular – PCR-PRA_{hsp65}

O método PCR-PRA é baseado na amplificação de um fragmento de 441 pares de bases do gene *hsp65* (presente em todas as espécies de micobactérias), seguida de digestão com duas enzimas de restrição, *BstEII* e *HaeIII*. Os fragmentos resultantes da digestão enzimática são analisados após separação por eletroforese em gel de agarose e os perfis obtidos são comparados com um banco de dados eletrônico, possibilitando a identificação da espécie micobacteriana (TELENTI *et al.*, 1993).

Os perfis de restrição obtidos devem ser avaliados conjuntamente com os achados dos testes fenotípicos (morfologia das colônias, pigmentação e tempo de crescimento) para que os resultados possam ser liberados com segurança (CHIMARA & FERRAZOLI, 2008).

2.3.3 Maldi-Tof

Com a espectrometria de massas pelo método de Maldi-Tof (da sigla inglesa Dessorção a Laser Assistida por Matriz com Analisador de Massa do Tipo Tempo de Voo) as diferentes espécies de micobactéria são identificadas a partir da análise do seu conteúdo proteico.

Resumidamente, a técnica consiste na mistura do isolado de micobactéria (previamente inativado) com uma matriz sobre uma placa de metal condutora. Após a cristalização do conjunto (matriz + isolado), a placa metálica é introduzida no Maldi-Tof, onde é bombardeada com breves pulsos de laser, que são responsáveis pela transformação do estado físico das moléculas microbianas, de sólido para o gasoso. Os componentes da amostra são, em seguida, acelerados por um campo elétrico e direcionados para um tubo metálico submetido à vácuo (analisador Tof), por onde as moléculas passam até atingirem o detector. Neste tubo a vácuo, os componentes da amostra são separados de acordo com a razão massa/carga, chegando ao detector em diferentes tempos. Moléculas mais leves viajam mais rápido, seguidas por analitos progressivamente mais pesados. Desse modo, os componentes das amostras separados por Tof, formam espectros de massa característicos denominados “Impressão digital em massa de peptídeo” (PMF), que contém picos específicos para tipos de organismos individuais. Para identificação de isolados microbianos desconhecidos, os PMF gerados são comparados com um banco de dados de PMF conhecidos permitindo a identificação do microrganismo ao nível de família, gênero ou espécie (CARBONNELLE, 2011; CEYSSSENSA *et al.*, 2017).

Os isolados de micobactérias são submetidos a um pré-tratamento que tem por objetivo promover a inativação do microrganismo e o rompimento da parede celular rica em ácidos micólicos, possibilitando a liberação do conteúdo proteico bacteriano e a posterior identificação da espécie no Maldi-Tof (PATEL, 2015).

3 INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

No laudo de identificação da espécie de MNT emitido pelo Lacen-MG serão reportados, além dos dados da amostra clínica do paciente, o nome da espécie identificada, o método de identificação (Fenotípico, PCR-PRA ou Maldi-Tof) e a seguinte observação

padronizada: “O isolamento de micobactérias não tuberculosas pode estar relacionado com doença, contaminação, colonização transitória, dependendo do material e da bactéria isolada”, que deve ser interpretada da seguinte forma:

- Considera-se o isolamento sugestivo de doença quando a espécie de MNT potencialmente patogênica identificada for proveniente de um de sítio estéril (sem microbiota associada). Por outro lado, quando o isolamento for proveniente de amostra não estéril, uma única cultura positiva não indica infecção ou doença. Nestes casos, devem ser coletadas até três ou mais amostras com intervalo de semanas e destas, pelo menos duas, devem produzir crescimento da mesma espécie de MNT para confirmação do diagnóstico (GRIFFITH *et al.*, 2007; (HAWORTH *et al.*, 2017).
- Considera-se o isolamento raramente sugestivo de doença quando a espécie raramente patogênica identificada é isolada de um ou dois espécimes clínicos não estéreis. Nestes casos pode também ser necessária à coleta de novos espécimes para descartar a possibilidade de contaminação das amostras ou colonização transitória (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

O *M. gordonae*, por exemplo, está presente na água da torneira utilizada pela maioria dos pacientes para enxague da boca antes da expectoração e, por este motivo, têm alta probabilidade de ser isolada na cultura, o que não indica doença, mas representa contaminação das amostras. *M. simiae*, *M. lentiflavum*, *M. immunogenum*, por sua vez, já foram associados a múltiplos surtos resultantes de contaminação de máquinas automáticas de limpeza de broncoscópios (WILSON *et.al.*, 2001; MOORE *et. al.*, 2000) e seu achado na cultura deve ser avaliado com cautela.

Para a interpretação do resultado de um isolamento de MNT é de extrema importância que o médico tenha pleno conhecimento do contexto em que a amostra foi obtida a fim de avaliar o significado clínico do achado (GRIFFITH *et al.*, 2007).

4 TESTE DE SENSIBILIDADE

A partir da confirmação de que a cepa de MNT isolada é clinicamente significativa, o teste de sensibilidade aos fármacos (TS) poderá ser realizado.

De acordo com GRIFFITH *et al.* (2007), HAWORTH *et al.*, (2017) e CLSI (2018), o método recomendado para TS para MNT é a determinação de MIC (concentração inibitória mínima) por diluição em meio líquido). Tem se observado, no entanto, que para a maioria das espécies de MNT os pontos de corte para MIC não tiveram validação clínica, em outras palavras, não existe de fato uma correlação consistente entre sensibilidade *in vitro* e resposta clínica *in vivo* ao antimicrobiano.

No Lacen-MG a determinação de MIC é realizada somente para as espécies de MNT listadas e seguindo os critérios abaixo definidos. Mesmos nestes casos, é recomendável que o médico seja cauteloso ao avaliar os resultados de MIC e leve em consideração que, diferentemente da tuberculose, algumas doenças causadas por MNT podem não ser erradicadas com terapia baseada em resultados de sensibilidade *in vitro*.

4.1 Critério para realização de testes de sensibilidade para MNT

4.1.1 Complexo *Mycobacterium avium* (MAC)

Critérios para realização de TS:

Será realizado TS nos casos novos de doença pulmonar por MAC (sem tratamento prévio) a fim de estabelecer valores basais e em amostras subsequentes, nas seguintes situações:

- Pacientes com cultura positiva após 6-12 meses ou após a conclusão do tratamento para MNT;
- Pacientes com conversão da cultura (retorno de culturas positivas após amostras sucessivas negativas) na vigência do tratamento para MNT;
- Pacientes com AIDS que desenvolveram bacteremia na profilaxia com macrolídeo;
- Pacientes com MAC disseminada após 3 meses de tratamento com esquema de macrolídeo.

As espécies do MAC têm sensibilidade limitada *in vitro* e a resposta clínica demonstrou correlação apenas com os macrolídeos, sendo a claritromicina o “agente de escolha” da classe.

Com base nesta constatação e seguindo as recomendações da ATS/BTS (2007; 2018) e os pontos de corte definidos pelo CLSI (2018), o Lacen-MG liberará para o Complexo MAC a Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos seguintes fármacos: claritromicina, amicacina, moxifloxacino e linezolida.

A escolha do regime terapêutico deve ser baseada na gravidade da doença e na tolerância medicamentosa.

4.1.2 *M. kansasii*

O TS não é rotineiramente necessário, pois a *M. kansasii* normalmente responde bem ao tratamento com isoniazida, rifampicina e etambutol (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Porém diante da disponibilidade do exame, é recomendável que a cepa isolada seja avaliada quanto à sensibilidade em relação à rifampicina e claritromicina, levando-se em consideração que o esquema terapêutico padronizado para doença pulmonar por *M. kansasii* sensível à rifampicina prevê o uso deste fármaco em associação com etambutol, isoniazida e um macrolídeo (claritromicina ou azitromicina) (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Isolados de *M.kansasii* resistentes à rifampicina normalmente correlacionam-se com falha terapêutica. Nestes casos, o teste de sensibilidade deve ser realizado com um painel mais amplo de antibióticos. Com base nesta constatação e seguindo as recomendações da ATS/BTS (2007; 2018) e os pontos de corte definidos pelo CLSI (2018), o Lacen-MG liberará para *M. kansasii* a MIC dos seguintes fármacos: claritromicina, rifampicina, amicacina, ciprofloxacino, doxiciclina, linezolida, moxifloxacino, rifabutina e sulfametoxazol-trimetoprim.

Deve ser ressaltado, no entanto, que o clínico deve ter em mente que o resultado da MIC terá como finalidade orientar os regimes de tratamento.

4.1.3 MNT de Crescimento Rápido

O TS é indicado somente nos casos confirmados laboratorialmente com forte associação clínica e nos casos de infecções pulmonares e extrapulmonares com falência de tratamento (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

4.1.3.1 *M. abscessus*

Doença extrapulmonar: Validação clínica do TSA é limitada e foi realizada somente para cefoxitina, aminoglicosídeos e sulfametoxazol-trimetoprim.

Doença pulmonar: Os resultados da validação clínica *in vivo* com macrolídeos são geralmente ruins e não se correlacionam bem com a sensibilidade verificadas *in vitro*, o que provavelmente pode ser explicado por 2 motivos:

- Curta duração dos regimes terapêuticos, que foram frequentemente interrompidos em virtude da toxicidade.
- Resistência constitucional à macrolídeos codificada pelo gene *erm*. Estudos mostram que a presença de um gene *erm* funcional nas cepas de *M. abscessus* está associada à resistência a macrolídeos, podendo prever falha no tratamento. Boa resposta ao tratamento com macrolídeos tem sido verificada em isolados de *M. abscessus* com gene *erm* afuncional.

Seguindo as recomendações de GRIFFITH *et al.*, 2007, HAWORTH *et al.*, 2017 e WETZSTEIN *et al.*, 2020 e os pontos de corte definidos pelo CLSI (2018), o Lacen-MG liberará para *M. abscessus* a MIC dos seguintes fármacos: claritromicina, cefoxitina, ciprofloxacino, amicacina, tigeciclina, imipenem, sulfametoxazol-trimetoprim, doxiciclina, moxifloxacina e linezolida.

4.1.3.2 *M. chelonae*

É muito importante diferenciar laboratorialmente isolados de *M. chelonae* daqueles de *M. abscessus*, pois ambas as espécies podem causar infecções na pele, ossos e tecidos moles, porém a terapia para *M. chelonae* é potencialmente mais eficaz do que para infecção por *M. abscessus* (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Doenças da pele, ossos e tecidos moles são as manifestações clínicas mais importantes da infecção por *M. chelonae*. A doença disseminada também pode ocorrer em pacientes imunocomprometidos e apresenta-se como lesões de pele características. *M.*

chelonae é uma causa menos comum de doença pulmonar que *M. abscessus* (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Para *M. chelonae*, a tobramicina é mais ativa *in vitro* do que a amicacina. Imipenem é preferível à cefoxitina, porque isolados de *M. chelonae* são uniformemente resistentes à cefoxitina. A terapia ideal para a doença pulmonar por *M. chelonae* é desconhecida, no entanto estudos mostram que um regime baseado em claritromicina com um segundo agente (com base na sensibilidade *in vitro*) provavelmente terá êxito (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Seguindo as recomendações de GRIFFITH *et al.*, 2007, HAWORTH *et al.*, 2017 e os pontos de corte definidos pelo CLSI (2018), o Lacen-MG liberará para *M. chelonae* a MIC dos seguintes fármacos: claritromicina, cefoxitina, ciprofloxacino, amicacina, tigeciclina, imipenem, sulfametoxazol-trimetoprim, doxiciclina, moxifloxacina, linezolida e tobramicina.

4.1.3.3 *M. fortuitum*

A doença pulmonar por *M. fortuitum* é clinicamente semelhante à doença pulmonar causada por *M. abscessus*. Embora o *M. abscessus* seja responsável pela maioria das doenças pulmonares causada por MNT de crescimento rápido, uma exceção importante é um pequeno grupo de pacientes com distúrbios gastroesofágicos com vômitos crônicos associados à doença pulmonar por micobactéria de crescimento rápido, nos quais *M. abscessus* e *M. fortuitum* ocorrem com igual frequência. Diferente deste cenário específico, a doença pulmonar por *M. fortuitum* é rara (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Pele, ossos e tecidos moles são os sítios mais comuns de infecções por *M. fortuitum*. Os isolados de *M. fortuitum* são geralmente susceptíveis a múltiplos agentes antimicrobianos orais, incluindo macrolídeos e mais recentes quinolonas. TS para esta espécie é uma ferramenta importante para orientar terapia (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Seguindo as recomendações de GRIFFITH *et al.*, 2007, HAWORTH *et al.*, 2017 e os pontos de corte definidos pelo CLSI (2018), o Lacen-MG liberará para *M. fortuitum* a MIC dos seguintes fármacos: claritromicina, cefoxitina, ciprofloxacino, amicacina, tigeciclina, imipenem, sulfametoxazol-trimetoprim, doxiciclina, moxifloxacina e linezolida.

4.2 Espécies de MNT que não serão submetidas a Teste de Sensibilidade

Não há recomendações atuais de um método específico de teste de sensibilidade *in vitro* para espécies fastidiosas de MNT e algumas espécies de MNT menos comumente isoladas. O tratamento das doenças causadas por espécies de MNT pouco ou raramente isoladas deve ser feito com base nos poucos relatos de casos anteriores. Com essa limitação em mente, salvo indicação em contrário, a duração da terapia para a maioria das MNT causadoras de doença pulmonar baseia-se nas recomendações de tratamento para as espécies mais frequentemente encontradas, como MAC e *M. kansasii* (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

Seguem abaixo considerações para interpretação de resultados de identificação e indicações de tratamento para outras espécies de MNT.

4.2.1 *M. simiae*

M. simiae é uma causa incomum de doença clínica. A maioria dos relatos de casos envolvem grupos imunocomprometidos, como pacientes com AIDS ou pacientes com doença pulmonar subjacente.

TS: Não recomendado para esta espécie. Porém, em casos excepcionais a espécie poderá ser avaliada com os mesmos fármacos utilizados para tratamento de *M. kansasii* resistente à rifampicina: amicacina, linezolida, moxifloxacina e sulfametoxazol-trimetoprim (GRIFFITH *et al.*, 2007; HAWORTH *et al.*, 2017).

4.2.2 *M. gordonae*

M. gordonae é frequentemente encontrada no meio ambiente e quase sempre considerada uma espécie não patogênica. É frequente a contaminação laboratorial de culturas de amostras respiratórias por *M. gordonae*, pois o microrganismo está presente na água da torneira geralmente utilizada pelos pacientes para enxague da boca antes da coleta do escarro (GRIFFITH *et al.*, 2007)

TS: Não recomendado para esta espécie.

Indicações de tratamento: Agentes antimicrobianos mais consistentemente ativos *in vitro* incluem: etambutol, rifabutina, claritromicina, linezolida e as fluorquinolonas (GRIFFITH *et al.*, 2007).

4.2.3 *M. szulgai*

M. szulgai raramente é recuperada do meio ambiente, dessa forma isolados desta espécie são na maioria das vezes clinicamente relevantes e representam quadros patológicos. A doença pulmonar por *M. szulgai* é indistinguível da causada por *M. tuberculosis* e caracteriza-se por tosse crônica, perda de peso e infiltrados cavitários no lobo pulmonar superior. Infecção extrapulmonar por *M. szulgai* inclui casos de tenossinovite da mão, bursite do olécrano, osteomielite, ceratite, linfadenite cervical e infecção renal ou cutânea. Infecção disseminada pode ser relatada em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico da doença por *M. szulgai* pode ser considerado com apenas uma cultura positiva, desde que as circunstâncias clínicas sejam sugestivas (GRIFFITH *et al.*, 2007).

- **TS:** Não recomendado para esta espécie.
- **Indicações de tratamento:** Estudos relatam sensibilidade *in vitro* de isolados de *M. szulgai* à maioria das drogas anti tuberculose, às quinolonas e aos novos macrolídeos (GRIFFITH *et al.*, 2007).

4.2.4 *M. immunogenum*

M. immunogenum está intimamente relacionado à *M. abscessus* e *M. chelonae*. Estudos mostram a associação de *M. immunogenum* com múltiplos surtos resultantes de contaminação de máquinas automáticas de limpeza de broncoscópios. Isolados clinicamente significativos foram recuperados de lesões de diferentes sítios: pele, córnea, líquido articular e sangue. A doença pulmonar por *M. immunogenum* também foi relatada (GRIFFITH *et al.*, 2007).

- **TS:** Não recomendado para esta espécie.
- **Indicações de tratamento:** Estudos relatam sensibilidade *in vitro* de isolados de *M. immunogenum* à amicacina e claritromicina e resistência *in vitro* à ciprofloxacina, doxiciclina, cefoxitina, tobramicina e sulfametoxazol-trimetoprim. A terapia ideal é desconhecida e provavelmente difícil devido à extensa resistência a antibiótico verificada (GRIFFITH *et al.*, 2007).

4.2.5 *M. mucogenicum*

As infecções por cateter venoso central são as infecções clínicas mais importantes causadas por este organismo. É frequente a contaminação laboratorial de culturas de

amostras respiratórias por *M. mucogenicum*, pois o microrganismo está presente na água da torneira (GRIFFITH *et al.*, 2007).

- **TS:** Não recomendado para esta espécie.
- **Indicações de tratamento:** Estudos relatam sensibilidade *in vitro* de isolados de *M. mucogenicum* a múltiplos agentes antimicrobianos incluindo: aminoglicosídeos, cefoxitina, claritromicina, minociclina, doxiciclina, quinolonas, sulfametoxazol-trimetoprim e imipenem (GRIFFITH *et al.*, 2007).

4.2.6 *M. genavense*

É uma espécie de micobactéria de crescimento lento, caracterizada por crescimento de colônias minúsculas, transparentes, não fotocromogênicas e disgônicas. Patógeno oportunista podendo causar infecções generalizadas, sendo mais relacionado a distúrbios gastrointestinais (GRIFFITH *et al.*, 2007).

- **TS:** Não recomendado para esta espécie.
- **Indicações de tratamento:** Estudos relatam sensibilidade *in vitro* de isolados de *M. genavense* à amicacina, rifampicina e fluorquinolonas (BOTTGER, 1904; THOMSEN *et al.*, 1999). A terapia ideal não é determinada, mas terapias multidrogas incluindo claritromicina parecem ser mais eficazes do que monoterapia com claritromicina (GRIFFITH *et al.*, 2007).

5 INVESTIGAÇÕES DEVEM SER REALIZADAS DURANTE E APÓS O TRATAMENTO DA DOENÇA PULMONAR POR MNT (HAWORTH *et al.*, 2017)

5.1 Critério de cura

Escarro: Conversão da cultura, definida como três amostras consecutivas de escarro (coletadas por um período mínimo de 3 meses) com resultado negativo. Se não tiver escarro, considera-se uma única cultura de lavado broncoalveolar (BAL) negativa.

5.2 Recorrência

Definida como duas culturas micobacterianas positivas após negativação prévia.

5.3 Doença refratária

Falha na conversão/negativação da cultura após 12 meses de tratamento para MNT.

5.4 Outras considerações

- As amostras de escarro devem ser enviadas para a cultura de micobactérias a cada 4 a 12 semanas durante a vigência do tratamento e 12 meses após o término para avaliação de resposta microbiológica.
- Se houver dúvida quanto a persistência da infecção por MNT mesmo diante de culturas negativas de escarro, deve ser realizada uma lavagem brônquica direcionada por TC para avaliar a resposta microbiológica ao tratamento.
- No caso de infecções por espécies de MNT cujo TS não é indicado ou, em casos pontuais em que se justificar a realização de teste de sensibilidade a determinado fármaco, o laboratório de Micobacterioses deve ser contactado a fim de discutir as possíveis condutas laboratoriais.

Endereço e contatos:

Fundação Ezequiel Dias

Instituto Octávio Magalhães

Serviço de Doenças Bacterianas e Fúngicas – Laboratório de Micobacterioses

Rua Conde Pereira Carneiro, 80 Gameleira – CEP: 30510-10

Responsáveis pelo diagnóstico de tuberculose/micobacterioses:

Cláudio José Augusto – claudio.augusto@funed.mg.gov.br

Élida Aparecida Leal – elida.leal@funed.mg.gov.br

Fone: (31) 3314-4659

REFERÊNCIAS

ADEKAMBI, T.; SASSI, M.; VAN, INGEN J. *et al.* Reinstating *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* as species of the *Mycobacterium abscessus* complex. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* v.67, n.8, p.2726-2730, ago., 2017. doi: 10.1099/ijsem.0.002011.

ALEXANDER, K.A; LAVER, P.N.; MICHEL, A.L. *et al.*, Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg. Infect. Dis.* v.16, n.8, p.1296-1299, ago., 2010. doi: 10.3201/eid1608.100314.

BACTEC MGIT 960 SIRE kits For the antimycobacterial susceptibility testing of *Mycobacterium*. USA: Beckton Dickinson. 2016.

BOTTGER, E.C. *Mycobacterium genavense*: an emerging pathogen. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* v.13, n.11, p.932-936, nov, 1994. doi: 10.1007/BF02111494.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília, Ministério da Saúde, 2008. 436 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Brasília, Ministério da Saúde, 2019, 364 p.

BROSET, E.; MARTÍN, C.; GONZALO-ASENSIO, J. Evolutionary landscape of the *Mycobacterium tuberculosis* complex from the viewpoint of PhoPR: Implications for virulence regulation and application to vaccine development. *MBio.* v.6, n.5, p.1-15, set.-out., 2015. doi: 10.1128/mBio.01289-15.

CARBONNELLE, E.; NASSIF, X. Applications of MALDI-TOF-MS in clinical microbiology laboratory. *Medical Science.* v.27, n.10, p.882-888, out., 2011. doi:10.1590/S1676-24442013000400004

CEYSSSENSA, P. J.; SOETAERTA, K.; TIMKE, M. *et al.* Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry for Combined Species Identification and Drug Sensitivity Testing in *Mycobacteria*. *J Clin Microbiol.* v.5, n.2, p.624-634, dez., 2017. doi: 10.1128/JCM.02089-16.

CHIMARA, E.; FERRAZOLI, L.; UEKY, S.Y. *et al.* Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis PRA_{hsp65} in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-_{hsp65} patterns. *BMC Microbiol.* v.8, n.48, mar., 2008. doi: 10.1186/1471-2180-8-48

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance standards for susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia spp., and other aerobic actinomycetes.* 1thed. CLSI supplement M 62. Wayne, Pennsylvania USA, 2018.

FREITAS, D.; ALVARENGA, I.L.; SAMPAIO, J. *et al.* An outbreak of *Mycobacterium chelonae* infection after LASIK. *Ophthalmology*. v.110, n.2, p.276-285, fev., 2003. doi :[https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(02\)01643-3](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(02)01643-3).

GRIFFITH, D. E.; AKSAMIT, T.; BROWN-ELLIOT. An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. v.175, p. 367–416, jan., 2007. DOI: 10.1164/rccm.200604-571ST.

HAWORTH, C. S.; BANKS, J.; CAPSTICK, T. *et al.* British Thoracic Society guidelines for the management of non-tuberculous mycobacterial pulmonary disease. *Thorax*, v.72, p. iii1–ii64, 2017.

LAKE, M.A.; AMBROSE, L.R.; LIPMAN, M.C.I *et al.*, “Why me, why now?”. Using clinical immunology and epidemiology to explain who gets nontuberculous mycobacterial infection. *BMC Med*. v.14, n.54, p.1-13, mar., 2016. doi: 10.1186/s12916-016-0606-6.

LEÃO, S.C.; TORTOLLI, E.; VIANA-NIERO C. *et al.* Characterization of mycobacteria from a major Brazilian outbreak suggests that revision of the taxonomic status of members of the *Mycobacterium chelonae-M. abscessus* group is needed. *J Clin Microbiol*. v.47, n.9, p.2691-2698, set., 2009. doi: 10.1128/JCM.00808-09.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Saúde. Coordenação do Programa Estadual de Controle da Tuberculose. Fundação Ezequiel Dias. Nota técnica conjunta SES/ Funed 01/2020 Critérios e fluxos para realização de exames para diagnóstico laboratorial da tuberculose em Minas Gerais. 2020. Disponível em: www.funed.mg.gov.br

MORCILLO, N.; IMPERIALE, B.; PALOMINO, J.C. New simple decontamination method improves microscopic detection and culture of mycobacteria in clinical practice. *Infect. Drug Resist*. v.1, p.21-26, ago., 2008. doi: 10.2147/idr.s3838.

MOORE, J.S.; CHRISTENSEN, M.; WILSON, R.W. *et al.* Mycobacterial contamination of metalworking fluids: involvement of a possible new taxon of rapidly growing mycobacteria. *Aiha J*. v.61, n.2, p.205–213, mar.-abr., 2000. doi: 10.1080/15298660008984529.

PATEL, R. Maldi-Tof MS for the diagnosis of infectious disease. *Clin. Chem*. v.61, n.1, p.100-110, jan., 2015. doi: 10.1373/clinchem.2014.221770.

PRIMM, T.P.; LUCERO, C.A.; FALKINHAM, J.O. Health impacts of environmental mycobacteria. *Clin. Microbiol. Rev*. v.17, n.1, p.98-106, jan., 2004. doi: 10.1128/CMR.17.1.98-106.2004.

RUNYON, E.H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Am*. v.43, n.1, p.273–290, jan., 1959. doi: 10.1016/s0025-7125(16)34193-1.

TELENTI, A.; MARCHESI, F.; BALZ, M. *et al.* Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol*. v.31, n.2, p.175-178, fev., 1993.

THOMSEN, V.O.; DRAGSTED, U.B.; BAUER, J. *et al.* Disseminated infection with *Mycobacterium genavense*: a challenge to physicians and mycobacteriologists. *J. Clin. Microbiol.* v.37, n.12, p.3901-3905, dez., 1999. doi: 10.1128/JCM.37.12.3901-3905.1999.

TORTOLI, E. The new mycobacteria: an update. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* v.48, n.2, p.159–178, nov., 2006. doi: 10.1111/j.1574-695X.2006.00123.x.

TORTOLI, E.; KOHL, T.A.; BROWN-ELLIOT, B.A. *et al.* Emended description of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* v.66, n.11, p. 4471-4479, nov., 2016. doi: 10.1099/ijsem.0.001376.

WETZSTEIN, N.; KOHL, T. A.; SCHULTZE, T. G. *et al.* Antimicrobial susceptibility and phylogenetic relations in a German cohort infected with *Mycobacterium abscessus*. *J. Clin. Microbiol.* set. 2020, doi:10.1128/JCM.01813-20.

WILSDON, R.W.; STEINGRUBE, V.A.; BOTTGER, E.C. *et al.* *Mycobacterium immunogenum* sp, nov., a novel species related to *Mycobacterium abscessus* and associated with clinical disease, pseudo-outbreaks and contaminated metalworking fluids: an international cooperative study on mycobacterial taxonomy. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* v.51, n.5, p.1751-1764, set., 2001. doi: 10.1099/00207713-51-5-1751.