

PESQUISA DE MICOBACTÉRIAS NO LÍQUIDO ASCÍTICO PELA CULTURA EM MEIO LÍQUIDO DE DUBOS

Airton Carlos Torres da COSTA ⁽¹⁾, Cecília Mattos ULSON ⁽²⁾ e Mitja POLAK ⁽¹⁾

RESUMO

Foram realizadas culturas de micobactérias do líquido ascítico, em 28 portadores de peritonite tuberculosa. O meio de cultura empregado foi o de Dubos. Em 20 exames (71%), foram cultivadas micobactérias, identificadas, em todos os casos, como sendo bacilo da tuberculose do tipo humano. Os resultados do presente trabalho mostraram índice de positividade superior ao referido para os meios sólidos.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico da peritonite tuberculosa é estabelecido, com segurança, somente pela demonstração de lesões características no peritônio ou pela identificação de bacilos de Koch no tecido peritoneal ou no líquido ascítico. A existência de lesões tuberculosas pode ser comprovada pelo exame histopatológico do material obtido por biópsia do peritônio parietal; a presença de bacilos de Koch pode ser verificada pelos exames bacteriológicos (direto, cultura e inoculação animal).

Em publicações anteriores ^{2, 6, 14}, relatamos nossos resultados com a biópsia peritoneal no diagnóstico da peritonite tuberculosa. Neste trabalho, queremos apresentar nossa experiência com a cultura de micobactérias do líquido ascítico, realizada em meio líquido descrito por Dubos. É nosso propósito chamar a atenção para este tipo de meio, muito pouco difundido, salientando suas vantagens sobre os classicamente utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 28 pacientes com peritonite tuberculosa, atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina

da Universidade de São Paulo, no período compreendido entre abril de 1966 e outubro de 1970. A idade dos doentes variou entre 5 e 63 anos; 16 pertenciam ao sexo feminino e 12 ao masculino, sendo 13 brancos, 9 pardos e 6 pretos. Em todos, o diagnóstico foi estabelecido, com segurança, por meio de dados clínicos e do exame histopatológico do tecido peritoneal, obtido por biópsia.

A punção abdominal foi realizada no quadrante inferior esquerdo; aproximadamente 20 ml de líquido ascítico foram aspirados com seringa e inoculados diretamente em frasco contendo igual quantidade de meio líquido de Dubos. O meio utilizado foi preparado com o material fornecido pelo Laboratório Difco, o qual tem a seguinte composição por litro: bacto-casitona 0,5 g, bacto-asparagina 2,0 g, fosfato monopotássico 1,0 g, fosfato dissódico (anidro) 2,5 g, citrato férrico amoniacal 50 mg, sulfato de magnésio 10 mg, cloreto de cálcio 0,5 g, sulfato de zinco 0,1 mg, sulfato de cobre 0,1 mg e glicerina na proporção de 2,5%. Não foram, entretanto, adicionados "tweens" nem albumina, como preconizado, originalmente, por Dubos.

Uma vez inoculado, o meio foi mantido em estufa de 14 a 20 dias, prolongando-se este período, nos casos negativos, até 120 dias.

- (1) Médico assistente da Disciplina de Gastroenterologia do Departamento de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil
- (2) Professor-assistente-doutor e Chefe da Seção de Micobactérias do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Foram realizadas, também, culturas em meio de tioglicolato, com o objetivo de identificar outras bactérias.

RESULTADOS

Houve crescimento de micobactérias em 20 dos 28 casos estudados (71%). Nestes, as colônias de bacilos cresceram no coágulo formado no líquido (Fig. 1).

Em todos os casos positivos, a micobactéria foi identificada como sendo o bacilo da tuberculose do tipo humano.

As culturas em meio de tioglicolato resultaram negativas em todos os casos.

DISCUSSÃO

Para a cultura do bacilo da tuberculose existem, fundamentalmente, três tipos de

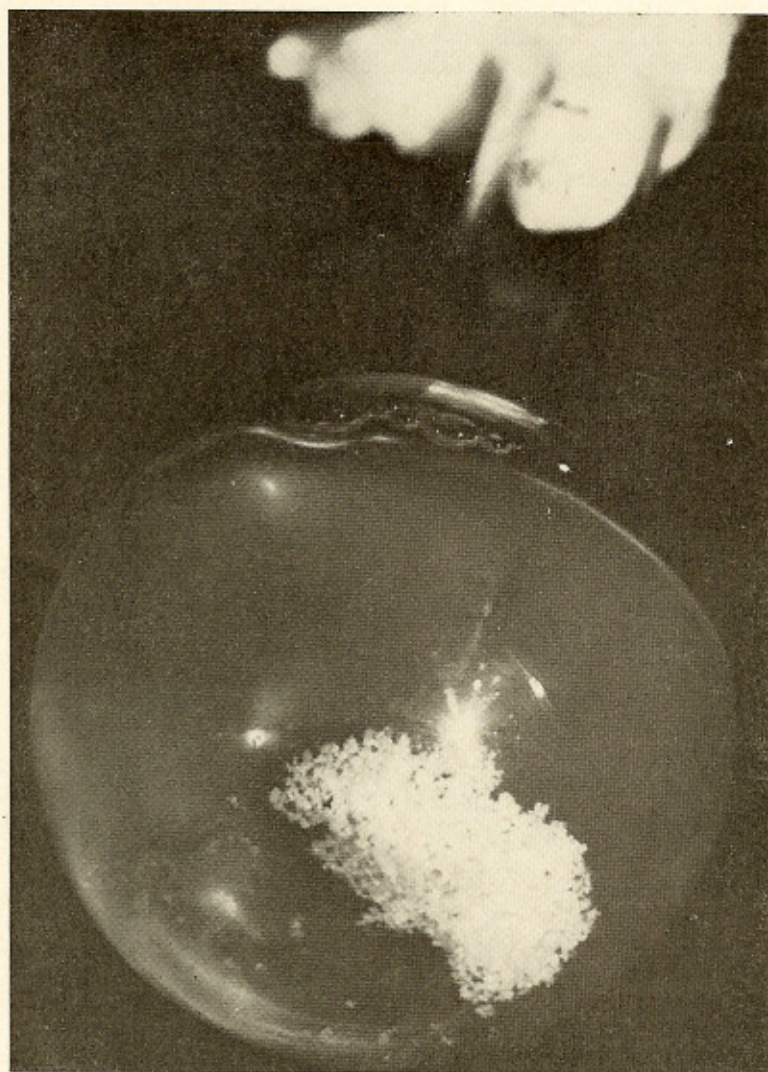


Fig. 1 — Colônias de bacilo de KOCH, crescendo em meio líquido de DUBOS

meios. O primeiro está representado pelos meios sintéticos simples, contendo minerais, amônia, glutamato ou asparagina e glicose ou glicerina. Estes meios são deficientes porque, para se positivarem, requerem que a amostra inoculada contenha quantidade apreciável de bacilos, além de necessitarem intensa oxigenação. O segundo grupo é constituído por meios contendo, em sua composição, substâncias orgânicas complexas, tais como sôro animal, gema de ovo, batata, carvão vegetal, amido etc. Estes são os meios mais utilizados na prática e, entre eles, o de Petragani e o de Löwenstein-Jensen. O terceiro grupo de meios consiste numa mistura de substâncias sintéticas à qual se acrescenta albumina sérica e certos ácidos graxos ou ésteres hidrossolúveis dos mesmos^{3, 4, 5}. Tanto o primeiro como o segundo grupo são meios sólidos, enquanto que o terceiro é líquido.

Culturas em meios sólidos, realizadas com líquido ascítico, apresentam de acôrdo com a literatura, baixa positividade. JAIN & col.¹¹, SARIN & col.¹⁵ e PINÓS & col.¹³ não tiveram nenhum caso positivo em 7, 20 e 59 exames, respectivamente; HYMAN & col.⁹ verificaram 2 casos positivos em 23 culturas; SOCHOCKY¹⁷ 13 em 100; LEVINE¹² 6 em 20; HUGHES & col.⁸ 5 em 13; BURACK & HOLLISTER¹ 8 em 20; e GONNELLA & HUDSON⁷ 11 em 26.

Em 1945, DUBOS³ observou que adicionando substâncias fosfatadas e ésteres de ácidos graxos de cadeia longa ao meio sintético de Long, era possível acelerar o crescimento submerso dos bacilos da tuberculose. Posteriormente, DUBOS & DAVIS⁴ e DUBOS & MIDDLEBROOK⁵ chamaram a atenção para a importância de cada um dos componentes do meio líquido anteriormente descrito, especialmente da albumina. Esta protege o bacilo da tuberculose contra substâncias bactericidas e bacteriostáticas.

Outros meios líquidos foram idealizados posteriormente para cultura do bacilo de Koch em exsudatos orgânicos. Assim, SULA¹⁸ descreveu um meio líquido para cultura de micobactérias do líquido pleural, o qual foi posteriormente modificado por IVES & McCORMICK¹⁰. Embora, estes trabalhos fôssem referentes à cultura de derrames pleurais, eles são unânimes em salientar a maior positividade dos meios líquidos quando comparados aos sólidos, clàssicamente utilizados.

Nossos resultados, com culturas de líquido ascítico de portadores de peritonite tuberculosa, mostram índice de positividade bastante superior aos obtidos por Autores que empregaram meios sólidos^{1, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 17}.

SINGH & col.¹⁶, usando igualmente meio líquido de cultura, referiram 83% de casos positivos em um total de 47 líquidos ascíticos examinados de pacientes com tuberculose peritoneal. Estes Autores semearam, entretanto, maior quantidade de material (1 litro) do que nós (20 ml). Estes resultados confirmaram as observações de SULA¹⁸ que obteve positividade, com a cultura de derrames serosos, proporcional à quantidade do material semeado.

A demonstração do bacilo da tuberculose no líquido ascítico, pela cultura, possibilita: 1.º o estabelecimento, com segurança, do diagnóstico da peritonite tuberculosa (de especial importância naqueles casos em que a biopsia peritoneal fôr negativa); 2.º a determinação da sensibilidade das micobactérias aos antibióticos, permitindo melhor orientação terapêutica em casos de infecção por micobactérias resistentes aos antibióticos específicos de primeira linha.

Os meios líquidos apresentam, em relação aos sólidos, as seguintes vantagens: 1.º possibilitam a inoculação do líquido ascítico diretamente no meio, sendo desnecessárias manipulações e preparações prévias; 2.º permitem a inoculação de quantidade maior de líquido ascítico a ser examinado, aumentando, assim, a possibilidade do encontro de micobactérias; 3.º apresentam crescimento mais rápido do bacilo da tuberculose. Em consequência destes fatos, o diagnóstico da peritonite tuberculosa é estabelecido com maior frequência e em tempo mais curto, quando utilizados meios líquidos de cultura.

SUMMARY

Cultivation of mycobacteria from ascitic fluid in Dubos' liquid medium

In 28 patients with tuberculous peritonitis the cultivation of tubercle bacilli from ascitic fluid was attempted. The cultures were carried out in Dubos' liquid medium. Positive results were obtained in 20 patients (71%). The advantages of the Dubos' medium for

cultivation of mycobacteria from exudates are discussed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BURACK, W. R. & HOLLISTER, R. M. — Tuberculous peritonitis; a study of forty-seven proved cases encountered by a general medical unit in twenty-five years. *Amer. J. Med.* 28:510-513, 1960.
2. COSTA, A. C. T. da — *Biopsia peritoneal às cegas no diagnóstico da peritonite tuberculosa*. Tese. Faculdade de Medicina, São Paulo, 1970.
3. DUBOS, R. J. — Rapid and submerged growth of mycobacteria in liquid media. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 58:361-362, 1945.
4. DUBOS, R. J. & DAVIS, B. D. — Factors affecting the growth of tubercle bacilli in liquid media. *J. Exp. Med.* 83:409-423, 1946.
5. DUBOS, R. J. & MIDDLEBROOK, G. — Media for tubercle bacilli. *Amer. Rev. Tuberc.* 56:334-345, 1947.
6. FRANÇA, L. C. M.; POLAK, M. & COSTA, A. C. T. da — Aspectos histopatológicos do tecido, obtido pela biopsia peritoneal, na peritonite tuberculosa. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. São Paulo* 26:45-48, 1971.
7. GONNELLA, J. S. & HUDSON, E. K. — Clinical patterns of tuberculous peritonitis. *Arch. Intern. Med.* (Chicago) 117:164-169, 1966.
8. HUGHES, H. J.; CARR, D. T. & GERACI, J. E. — Tuberculous peritonitis: a review of 34 cases with emphasis on diagnostic aspects. *Dis. Chest.* 38:42-45, 1960.
9. HYMAN, S.; VILLA, F.; ALVAREZ, S. & STEIGMANN, F. — The enigma of tuberculous peritonitis. *Gastroenterology* 42:1-6, 1962.
10. IVES, J. C. J. & McCORMICK, W. — A modification of Sula's method for the cultivation of tubercle bacilli from pleural fluid. *J. Clin. Path.* 9:177-178, 1956.
11. JAIN, S. C.; MISRA, S. M.; MISRA, N. P. & TANDON, P. L. — Diagnostic value of ascitic fluid examination. *J. Ass. Physicians India* 14:59-69, 1966.
12. LEVINE, H. — Needle biopsy of peritoneum in exsudative ascites. *Arch. Intern. Med.* 120:542-545, 1967.
13. PINÓS, T. A.; MUÑOZ, J. M.; GARCIA-GALERA, J. & VILARDELL, F. — Diagnóstico y tratamiento de la peritonitis tuberculosa. *Rev. Esp. Enferm. Apar. Dig.* 13:277-317, 1954.
14. POLAK, M. — Biopsy of the peritoneum. *Gut* 7:203-204, 1966.
15. SARIN, L. R.; MEHTA, S. R. & SHARMA, S. K. — Diagnosis of abdominal tuberculosis; a critical evaluation of various techniques with particular reference to peritoneal biopsy. *Indian J. Med. Sci.* 18:319-327, 1964.
16. SINGH, M. M.; BHARGAVA, A. N. & JAIN, K. P. — Tuberculous peritonitis: an evaluation of pathogenetic mechanisms, diagnostic procedures and therapeutic measures. *New Eng. J. Med.* 281:1091-1094, 1969.
17. SOCHOCKY, S. — Tuberculous peritonitis: a review of 100 cases. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 95:398-401, 1967.
18. SULA, L. — Fibrin-clot culture technique for isolation of tubercle bacilli from pleural exsudates. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 80:438-440, 1959.

Recebido para publicação em 19/4/1971.