

PESQUISA DE FUNGOS EM AMOSTRAS DE ESCARRO DE PACIENTES COM SUSPEITA DE TUBERCULOSE

Isabela Ponciano de SOUZA¹; João Vicente Braga de SOUZA²; Júlia Ignez SALEM³
¹Bolsista PIBIC/CNPq; ²Co-orientador INPA/CPCR; ³Orientador INPA/CPCR

1. Introdução

Dados coletados junto à Coordenação de Controle da Tuberculose do Estado do Amazonas, mostraram que em Manaus, no ano de 2008, o Centro de Referência Especializado em Pneumologia Sanitária Cardoso Fontes, a partir da investigação de 11.584 pacientes sintomáticos respiratórios com suspeita de Tuberculose Pulmonar, diagnosticou 712 casos de tuberculose pulmonar (TbP), do total de 1.332 casos da cidade de Manaus. Estes dados demonstram que uma grande parte dos sintomáticos respiratórios, com suspeita de tuberculose, deve possuir outras afecções, entre estas as subestimadas infecções fúngicas. Os principais agentes fúngicos que causam infecção primária a partir do pulmão são: *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis jirovecii*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Aspergillus* sp. (Erjavec e Vermeij 2002). Levando em conta que no Estado do Amazonas, o conhecimento a respeito da prevalência de infecções fúngicas em sintomáticos respiratórios e sobre existência de co-infecção de tuberculose com agentes fúngicos é pequeno. Este projeto teve como objetivo investigar a presença de fungos em amostras de escarro de pacientes de Manaus, sintomáticos respiratórios e com suspeita de tuberculose. Especificamente, foi avaliada qual a frequência e identidade dos isolados fúngicos e será verificada a co-existência de isolamento de agentes fúngicos e tuberculose.

2. Material e Métodos

Os pacientes foram selecionados no CREPS Cardoso Fontes e foram encaminhados ao Laboratório de Micobacteriologia do INPA com suas devidas amostras, sendo necessário o seu cadastro em fichas específicas e autorização para participação do estudo através Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Um total de 82 pacientes participaram da pesquisa, suas amostras de escarro foram submetidas à pesquisa para tuberculose (Trabalho da Mestranda Amélia Nunes Sicsu) e para pesquisa de fungos (presente projeto). Os procedimentos para a pesquisa de fungos foram o exame direto e a cultura (Sidrim e Moreira, 1999). O material recebido (5 mL de escarro) foi posto em tubos falcon de 15 ml, acrescido e 1 ml de N-acetilcisteína e processado em centrífuga em 2.000 rpm durante 15 minutos. Para o exame direto porções mais espessas do escarro foram distendidas em três lâminas de microscopia, seguidas pela realização das colorações de KOH, tinta da china e Giemsa e para cultura as amostras foram inoculadas em Àgar Sabouraud, Àgar Mycosel e Àgar BHI sendo os mesmo armazenados tanto em temperatura ambiente quanto a 37°C. Os fungos desenvolvidos foram identificados (Sidrim e Moreira, 1999).

3. Resultados e discussão

Na tabela 1 são apresentadas as características epidemiológicas/clínicas dos pacientes sintomáticos respiratórios incluídos no estudo. Quanto ao gênero, dos 82 pacientes que realizaram a pesquisa fúngica, 41 (50%) eram do sexo masculino e 41 eram (50%) do sexo feminino. A maior parte destes 29 (35,4%) pertencia à faixa etária de 34 a 49 anos de idade. Quanto à existência de sinais clínicos, 70 (91,5%) apresentavam tosse, 30 (36,5%) dor torácica e 30 (36,5%) de febre, sinais característicos da manifestação da tuberculose. Quanto à característica da amostra do escarro, 60 (73,2%) apresentaram aspecto mucopurulento. As co-morbidades associadas mais importantes foram o tabagismo 18 (22%) e hipertensão 14 (17%).

Tabela 1 - Características epidemiológicas/clínicas dos pacientes sintomáticos respiratórios.

	N	%
Gênero		
Feminino	41	50
Masculino	41	50
Idade		
18-33	12	14,7
34-49	29	35,4
50-65	20	24,4
>65	21	25,7
Quadro Clínico Atual		
Tosse	75	91,5
Dor torácica	30	36,5
Febre	30	36,5
Cansaço	21	26
Emagrecimento	14	17
Outros	43	52,5
Característica da Amostra do Escarro		
Saliva	22	26,8
Mucopurulento	60	73,2
Sanguinolento	01	1,2
Translúcido	01	1,2
Mucoso	19	23,2
Co-morbidades Associadas		
Tabagismo	18	21,9
HAS	14	17
Alcoolismo	08	9,7
Asma	03	3,6
Diabetes	03	3,6
Outros	20	24,3

Na tabela 2 são apresentados os resultados dos exames diretos do escarro. Por esta análise, 66 (80,4%) pacientes sintomáticos respiratórios evidenciaram ausência de estruturas fúngicas. As estruturas fúngicas mais freqüentes foram à presença de pseudo-hifas e leveduras unibrotantes.

Tabela 2- Porcentagem de estruturas fúngicas dos exames diretos das amostras de escarro.

Observado	N	%
Ausência de estruturas fúngicas	66	80,4
Presença de pseudo-hifas	10	12,2
Presença de leveduras unibrotantes	4	4,9
Presença de hifas verdadeiras	2	2,4

Foram investigadas as culturas para fungos onde em 59,5% das amostras foi observada a ausência de crescimento de fungos. Os isolados mais freqüentes foram *Candida sp*, *Aspergillus* e *Penicillium* (Tabela 3). A análise por meio de cultivo detectou mais fungos do que o exame direto. No entanto, os resultados dos exames diretos foram adequados para prever os microrganismos que se desenvolveram no meio de cultivo. A continuação deste estudo permitirá: a) finalizar a análise das culturas para pesquisa de fungos, inclusive identificando os isolados em nível de espécie; b) correlacionar os achados fúngicos com o diagnóstico de tuberculose (pesquisa em andamento) e c) discutir com a literatura existente, os achados fúngicos no escarro de sintomáticos respiratórios.

Tabela 3 - Diversidade de espécies fúngicas observadas em cultura obtidas a partir das amostras de escarro.

Fungos	N	%
Ausência de Crescimento	62	75,6
<i>Candida sp.</i>	15	18,3
<i>Aspergillus sp</i>	04	4,9
<i>Penicillium sp.</i>	01	1,2

No caso específico das candidoses, estudos vêm sendo realizados com o objetivo de esclarecer sua participação como agente etiológico de infecções pulmonares. No entanto, não há dúvida que este grupo de agentes atua como colonizador durante processos inflamatórios e infecções causadas por outros organismos. O isolamento de microrganismos do gênero *Aspergillus sp* e *Penicillium sp* em cultura, como dado isolado, não permite o diagnóstico de infecção fúngica. A suspeita de infecção fúngica por estes agentes é suportada pelo: a) pelo isolamento do agente em nas várias replicadas dos meios de cultivo (Sabouraud, Mycosel e BHI), b) pelo achado de formas fúngicas no exame direto, c) por outros exames laboratoriais e d) por critérios clínicos. Durante a pesquisa, apenas uma amostra de escarro resultou em exame direto (hifas hialinas, septadas e ramificadas com ângulos agudos) e cultura compatível com o gênero *Aspergillus*.

4. Conclusão

Apresentar as conclusões relevantes face aos objetivos do trabalho, destacando o progresso e as aplicações que a pesquisa propicia e sempre que apropriado, indicar formas de continuidade do estudo.

5. Referências

Erjavec, Z.; Verweij, P.E. 2002. Recent progress in the diagnosis of fungal infections in the immunocompromised host. *Drug Resistance Updates*, 5: 3-10.

Sidrim, J. J. C.; Moreira, J. L. B. 1999. Fundamentos clínico-laboratoriais da micologia médica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. 171-190 pp.