

PESQUISA DE MICOBACTÉRIAS AMBIENTAIS EM DILUENTES E EM MEDICAMENTOS INJETÁVEIS FORNECIDOS PELA CENTRAL DE MEDICAMENTOS DO AMAZONAS (CEMA)

Thaís Farias ARNOLD¹; Mauricio Morishi OGUSKU³; Julia Ignez SALEM²;

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ² Co-Orientador CPCS/INPA; ³Orientadora CPCS/INPA.

1. Introdução

O gênero *Mycobacterium*, composto inicialmente pelas espécies *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium tuberculosis* (Lehman e Newman, 1896 apud Brasil, 2001), foi ampliado após a descoberta de outros bacilos. Estes, isolados do meio ambiente apresentam as mesmas características morfológicas e tintoriais (bastonetes e álcool-ácido resistência, respectivamente), porém com diferenças no tempo de crescimento, produção de pigmentos e patogenicidade ao homem (Runyon, 1959; Collins *et al.*, 1997).

Atualmente existem 130 espécies e subespécies de micobactérias oficialmente reconhecidas, sendo os membros do complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*) e o *M. leprae* as mais conhecidas por causar tuberculose humana e hanseníase, respectivamente (Collins *et al.*, 1997). Já as micobactérias encontradas no meio-ambiente, chamadas de micobactérias ambientais (MA) (Casal, 2003), têm suas patogenicidades variáveis e quando patogênicas são responsáveis pela doença denominada de Micobacteriose (Penso, 1959). Quando adentram o corpo humano podem ocorrer infecções locais (lesões cutâneas localizadas) (Grange, 1982), doença disseminada (Brown, 1985) e lesões pulmonares (Tellis e Putman, 1980), assim como podem apenas colonizar a orofaringe e tecidos cutâneos (Edwards e Palmer, 1959; Salem *et al.*, 1989a, Salem *et al.*, 1989b).

O número de casos de Micobacteriose no Brasil tem aumentado nos últimos anos, sendo que de 2005 a 2009 existem relatos de pelo menos 932 casos. Entre os processos invasivos incriminados como desencadeadores da doença estão às mesoterapias e cirurgias plásticas refrativas para correção de miopia (Sampaio *et al.*, 2003) e videolaparoscópica (Lopes *et al.*, 2005). Visto que no Estado do Amazonas várias espécies de micobactérias ambientais têm sido isoladas de derme sadia (Salem *et al.*, 1989a), secreções pulmonares (Salem *et al.*, 1989b), lesões cutâneas (Salem *et al.*, 1989c), e lesões após mesoterapia (Gadelha *et al.*, 1990). tem sido constante o monitoramento, principalmente em lesões humanas e/ou insumos terapêuticos que podem representar potenciais agentes responsáveis por Micobacteriose, entre eles, diluentes ou medicamentos injetáveis. Neste sentido, recentemente o laboratório de Micobacteriologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), obteve o isolamento de *M. fortuitum* em biópsia de lesão nodular que surgiu após aplicação subcutânea de anticoncepcional, em serviço básico de saúde.

Mais importante do que se diagnosticar casos de micobacterioses é preveni-los e por este motivo a presente pesquisa teve por objetivo investigar a presença de micobactérias em diluentes e em medicamentos injetáveis fornecidos dela Central de Medicamentos do Amazonas (CEMA), os quais são utilizados pelo serviço básico de saúde da cidade de Manaus Este trabalho, portanto, tem como objetivo investigar a presença de micobactérias em diluentes e em medicamentos injetáveis fornecidos dela Central de Medicamentos do Amazonas, bem como verificar qual o medicamento com maior ocorrência de contaminação, quais as micobactérias de maior ocorrência e destas, quais as potencialmente patogênicas ao homem e analisar quais as possíveis fontes de contaminação dos medicamentos por micobactérias.

2. Materiais e métodos

Estudo descritivo, transversal e laboratorial foi realizado através de métodos bacteriológicos de cultivo.

Coleta dos diluentes e medicamentos injetáveis – Foram analisadas 90 amostras de diluentes e medicamentos injetáveis disponibilizados pela Central de Medicamentos do Amazonas em outubro de 2009. As amostras pertenciam a diferentes lotes, visando obter a melhor representatividade da amostra.

Processamento das amostras - 1ª etapa: De cada amostra, foram retirados 0,4 mL para inoculação direta em 2 tubos contendo o meio Löwenstein-Jensen (L-J) (0,2 mL para cada tubo) e 1 mL para cada um dos 2 microtubos utilizados. Posteriormente, os microtubos foram centrifugados a 4.000 x g por 20 minutos. *2ª etapa:* As amostras que continham o composto penicilina tiveram seus sobrenadantes desprezados e aos sedimentos foi adicionado 0,2 mL de água destilada estéril; as demais não apresentavam sobrenadantes

nem sedimentos visíveis, não sendo submetidas ao procedimento citado. Mais 4 tubos com meio L-J e 2 contendo o meio Ogawa foram semeados com 0,2 mL de cada suspensão. **3ª etapa:** Todos os tubos semeados foram incubados por 40 dias nas temperaturas de 30°C e 37°C, sendo 2 tubos de L-J e 1 de Ogawa para cada temperatura. **4ª etapa:** Verificando-se a presença de colônias sugestivas de micobactérias, estas seriam estudadas quanto às características de álcool-ácido resistência, velocidade de crescimento e produção de pigmentos, conforme estabelecido por David *et al.* (1989).

3. Resultados e Discussão

Todas as 90 amostras de diluentes e medicamentos injetáveis (Quadro 1) cedidas pela Central de Medicamentos do Amazonas foram processadas e analisadas por método de cultivo específico de isolamento de micobactérias. Das amostras, 11% eram diluentes e 89% eram medicamentos injetáveis.

Quadro 1 – Amostras de diluentes e medicamentos injetáveis, provenientes da CEMA, processadas e analisadas.

| Nº da amostra | Medicamento | Nº da amostra | Medicamento |
|---------------|--|---------------|---|
| 1 | acetilcisteína 10% | 45 | epinefrina 1g |
| 2 | ácido ascórbico 1g | 46 | epinefrina 1g |
| 3 | ácido ascórbico 1g | 47 | escopolamina + dipirona 4mg+500mg/ml |
| 4 | água destilada p/ injeção | 48 | escopolamina 20mg/ml |
| 5 | água destilada p/ injeção | 49 | escopolamina 20mg/ml |
| 6 | água p/ injeção | 50 | escopolamina 20mg/ml |
| 7 | amicacina (sulfato) 100mg/2ml | 51 | escopolamina 20mg/ml |
| 8 | amicacina (sulfato) 250mg/ml | 52 | fitometadiona 10mg/ml |
| 9 | amicacina (sulfato) 500mg/ml | 53 | fitometadiona 10mg/ml |
| 10 | amicacina (sulfato) 500mg/ml | 54 | fosfato dissódico de dexametasona 4mg/ml |
| 11 | aminofilina 24mg/ml | 55 | furosemida 10mg/ml |
| 12 | amiodarona (cloridrato) 50mg/ml | 56 | furosemida 10mg/ml |
| 13 | benzilpenicilina G. benzatina 600.000UI | 57 | gentamicina 40mg/ml |
| 14 | benzilpenicilina G. potássica cristalina 1.000.000UI | 58 | gentamicina 40mg/ml |
| 15 | benzilpenicilina G. benzatina 1.200.000UI | 59 | gentamicina 80mg/2ml |
| 16 | benzilpenicilina G. potássica cristalina 5.000.000UI | 60 | gliconato de calcio 10% |
| 17 | bicarbonato de sódio 10% | 61 | gliconato de calcio 10% |
| 18 | bromoprida 5mg/ml | 62 | gliconato de calcio 10% |
| 19 | ceftazidima pentaidratada 1g | 63 | glicose 25% |
| 20 | ceftriaxona 1g | 64 | glicose 50% |
| 21 | clindamicina 300mg/2ml (fosfato) | 65 | hermitartarato de norepinefrina |
| 22 | clindamicina 600mg/ml (fosfato) | 66 | hidralazina (cloridrato) 20mg/ml |
| 23 | clindamicina 600mg/ml (fosfato) | 67 | magnésio (sulfato) 10% |
| 24 | cloreto de potássio 10% | 68 | magnésio (sulfato) 50% |
| 25 | cloreto de potássio 10% | 69 | magnésio (sulfato) 50% |
| 26 | cloreto de sódio 0,9% | 70 | metilprednisolona (succinato sódico) 125mg |
| 27 | cloreto de sódio 0,9% | 71 | metilsulfato de neostigmina 0,5mg/ml |
| 28 | cloreto de sódio 10% | 72 | metoclopramida (cloridrato) 5mg/ml |
| 29 | cloreto de sódio 10% | 73 | nitroprusseto de sódio 25mg/ml |
| 30 | cloridrato de bupivacaína + epinefrina 0,5%+1:200000 | 74 | omeprazol 40mg+diluyente |
| 31 | cloridrato de bupivacaína 0,5% | 75 | ped-element |
| 32 | deslanosídeo 0,2mg/ml | 76 | pentoxifilina 100mg |
| 33 | deslanosídeo 0,2mg/ml | 77 | pentoxifilina 20mg/ml |
| 34 | deslanosídeo 0,2mg/ml | 78 | Polivitaminico |
| 35 | diclofenaco sódico 25mg/ml | 79 | prometazina 25mg/ml (cloridrato) |
| 36 | diclofenaco sódico 25mg/ml | 80 | prometazina 50mg/2ml |
| 37 | diclofenaco sódico 75mg/ml | 81 | prometazina 25mg/ml |
| 38 | diclofenaco sódico 75mg/ml | 82 | ranitidina (cloridrato) 25mg/ml |
| 39 | dipirona sódica 500mg/ml | 83 | ranitidina (cloridrato) 25mg/ml |
| 40 | dobutamina (cloridrato) 12,5mg/ml | 84 | ranitidina (cloridrato) 50mg/2ml |
| 41 | dopamina (cloridrato) 5mg/ml | 85 | ranitidina (cloridrato) 25mg/ml |
| 42 | dopamina (cloridrato) 5mg/ml | 86 | ringer lacatado |
| 43 | enoxaparina sódica 20mg/0,2ml | 87 | salbutamol (sulfato) 0,5mg/ml |
| 44 | enoxaparina sódica 40mg/0,4ml | 88 | salbutamol (sulfato) 0,5mg/ml |
| | | 89 | sulfametoxazol+trimetoprima sol. Injetável 400+80mg |
| | | 90 | sulfato de atropina 0,25mg/1ml |

Nenhuma das 90 amostras teve crescimento micobacteriano após os 40 dias de incubação. Nas amostras de nº 58 (L-J/37°C), nº 61 (Ogawa/37°C), nº 76 (L-J/37°C), nº 78 (L-J/37°C; L-J/30°C), nº 80 (L-J, direto/37°C), nº 81 (L-J, direto/37°C) e nº 85 (L-J, direto/37°C), houve o crescimento de fungos. Entretanto, o fato de serem diferentes amostras, com inoculação em diferentes dias e o não crescimento do fungo em todos os tubos de L-J semeados (de uma mesma amostra) reforçam a idéia de que houve contaminação do tubo semeado durante o longo período de incubação (estufa) ou no momento da inoculação daquele tubo. Pois caso o fungo estivesse presente no medicamento original, os seis tubos semeados de cada amostra exibiriam o mesmo crescimento fúngico, fato não ocorrido. Esta contaminação fúngica representa uma taxa aceitável, ou seja, menor que 3% dos tubos semeados, em laboratórios de micobacteriologia (David *et al.*, 1989). Devido ao não crescimento de colônias micobacterianas o estudo das características de álcool-ácido resistência, velocidade de crescimento e produção de pigmentos não foi realizado.

4. Conclusão

Nenhuma das 90 amostras processadas e analisadas apresentou crescimento de micobactérias. Como a obtenção das amostras se deu de forma aleatória, pode-se afirmar que os lotes dos medicamentos podem ser utilizados com segurança para a saúde humana.

5. Referências

Brasil. 2001. Ministério da Saúde. *Tuberculose – diagnóstico laboratorial – baciloscopia*. Brasília: Série TELE-LAB.

Brown, T. H. 1985. The Rapidly Growing Mycobacteria-*Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae*. *Infection of control*, 6: 283-288.

Casal, M. 2003. Cómo denominar a las micobacterias diferentes a *Mycobacterium tuberculosis* y a *M. leprae*. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 21(6): 296-298.

Collins, C.H.; Grange, J. M.; Yates, M.D. 1997. *Identification of species in tuberculosis bacteriology organization and practice*. 2ª ed. Editora Butterworth-Heinemann, Oxford. p. 139.

Edwards, L.B.; Palmer, C.E. 1959. Isolation of "Atypical" Mycobacteria from Health Persons. *American Review Respiratory Disease*, 80: 757-749.

Gadelha, A.R.; Salem, J.I.; Maroja, M.F.; Fandinho, F.C.O. 1990. Micobacteriose Cutânea Induzida por Mesoterapia. In: *Resumos do III Simpósio Brasileiro em Micobactérias, 1990*, Manaus-AM. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA.

Penso G. 1959. Premier Colloque International sur les Mycobacteries. Anvers: Janssens.

Runyon, E.H.; Karlson, A.G.; Kubica, G.P.; Wayne, L.G. 1959. Mycobacterium, In: Lennette, E.H.; Balows, A.; Hausler, W.J.; Truant. J.P. (Eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 3ª ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology, 273-90pp.

Salem, J.I.; Gontijo-filho P.; Lévy-frébault, V.; Davis, H. 1989a. Isolation and Characterization of Mycobacteria Colonizing the Healthy Skin. *Acta Leprologica*, 7(1): 18-30.

Salem, J.I.; Maroja, M.F.; Farias, C.F.; Otsuka, M.; Feuillet, A. 1989b. Mycobacteria Other Than Tubercle Bacilli in Sputum Specimens from Patients in Manaus (Amazônia, Brasil). *Acta Amazônica*, 19: 349-54.

Salem, J.I.; Gadelha, A.R.; Maroja, F.; David, H.L., 1989c. Non-cultivable mycobacteria in ulcers of the skin. *Acta Leprologica*, 7(Supl. 1): 10-5.

Sampaio, J.L.M.; Osugui, S.K.; Teixeira, S.E.M.; Mendes, C.M.R.; Leão, S.C. 2003. Infecções por *Mycobacterium chelonae* em pacientes submetidas à mesoterapia. *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia*. MIC 100.

Tellis, C.; Putman, J.S. 1980. Pulmonary Disease Caused by Nontuberculosis Mycobacteria. *Medical clinics of North America*, 64: 433-446.