

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O ESCARRO E O MATERIAL
ORO-FARINGO-LARINGEU PARA A PESQUISA DO
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS *

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVAO
(1.º Assistente)

e

ROBERTO BRANDI
(Chefe do Laboratório do Instituto "Clemente Ferreira")

Introdução

Desnecessário será ressaltar a importância da demonstração da eliminação do bacilo da tuberculose pelos métodos de laboratório na prática rotineira da tisiologia. Além disso, a interpretação de opacidades radiológicas do pulmão, frequentemente assintomáticas, apresenta não poucas vezes dificuldades consideráveis. A radiografia em massa, cujo emprêgo se realiza em intensidade crescente, aumentará essas dificuldades. Torna-se indispensável, cada vez mais, o conhecimento de métodos de pesquisa do *Mycobacterium tuberculosis* de alta eficiência e grande praticabilidade.

Contamos hoje com os seguintes processos de demonstração do bacilo da tuberculose de origem pulmonar, por meio do microscópio ou da cultura:

- o exame do escarro,
- o exame do material recolhido da laringe, o "swab" laringeu,
- o exame da lavagem ou do conteúdo gástrico,
- o exame da lavagem traqueobrônquica.

O exame do escarro e o da lavagem ou do conteúdo gástrico são os mais empregados e mais estudados. O primeiro pode ser considerado prático. O segundo, de eficiência muito maior, não é de fácil aplicação em alta escala. A lavagem traqueobrônquica, o processo mais recente, apresenta inconvenientes iguais, pelo menos, aos da lavagem gástrica. E há quem ache que seja realmente uma lavagem apenas oro-faringo-laringea.

O exame do material da laringe, pelo "swab" laringeu, é pouco usado. Alguns pesquisadores europeus, como Nassau¹, Munro-Ashman e Nassau², Sula³,

* Trabalho apresentado ao IV Congresso Nacional de Tuberculose, realizado no Recife, em novembro de 1948.

referem-se entusiásticamente a êste processo, porém não apresentam estudo comparativo entre a sua eficiência e a dos outros métodos. Nem conseguimos encontrar na literatura ao nosso alcance dados comparativos relativos a êsse processo de pesquisa do bacilo de Koch. *A priori*, a sua eficácia é inteiramente admissível, uma vez que não é possível imaginar portadores de escarro positivo sem bacilos nas vias de expulsão dêsse mesmo escarro, e uma vez que indivíduos sem expectoração podem ser eliminadores do bacilo, pela tosse ou pela ação dos cílios epiteliais das vias respiratórias. Em ambos os casos devem se encontrar bacilos pelo menos na laringe, senão em tôda a região oro-faringo-laringea. Resolvemos, por isso, realizar o presente estudo comparativo.

Técnicas

A comparação entre a eficiência da pesquisa do *Mycobacterium tuberculosis* no escarro e no "material da laringe" foi feita sob dois pontos de vista, o do valor de cada método no exame direto ao microscópio e no exame por meio de cultura.

Material de estudo: — Para a comparação entre os dois métodos ao microscópio não se fêz seleção de pacientes, recolhendo-se material de todos os que traziam escarro para exame. Para se avaliar a eficiência de cada processo por meio da cultura colheu-se material apenas de pacientes cujo escarro se revelara negativo microscópicamente.

Colheita do material: — Os escarros para exame microscópico ou cultural foram obtidos e trazidos ao laboratório da maneira usual.

Para a colheita do material laringeu usou-se um pequeno chumaço de algodão prêso à extremidade de um fio de arame fino e flexível. Após curvar-se o arame convenientemente, o chumaço era passado sôbre a superfície da parte posterior da bôca, sôbre tôda a superfície da oro-faringe e, em seguida, após ser introduzido mais profundamente, procurava-se alcançar a laringe. Nesse momento pedia-se ao paciente que tossisse, caso não o fizesse espontâneamente. Não se usou abaixador de língua ou espêlho laringoscópico, nem se puxava a língua do paciente. Usou-se êste processo de preferência a uma técnica mais refinada, embora correndo o risco de nem sempre alcançar a laringe, por se achar que se a eficiência do método dependesse do emprêgo dos processos clássicos de laringoscopia, a sua vantagem estaria diminuída, pela necessidade da intervenção de um médico para a colheita do material.

Métodos de exame: — A pesquisa baciloscópica foi feita pelo método direto, tanto para os exames de escarro como para os de material da garganta. Para êstes os esfregaços foram preparados passando-se simplesmente os chumaços sôbre as lâminas.

A cultura, a partir do escarro ou do "swab", foi realizada após o tratamento pelo fosfato trissódico de Corper e Stoner⁴. A eficiência dêste processo foi verificada por Van Vranken⁵ em mais de mil exames.

Julgamos ser dos primeiros a utilizar êsse método de tratamento em nosso meio, e por isso o descrevemos, embora sumariamente. Transferiam-se 5 cm³ do

escarro a um tubo de centrifugação e se juntava igual volume de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 23%. Agitava-se bem a mistura e levava-se à estufa, por 24 horas, a 37°C., durante as quais, de vez em quando, se agitava novamente o material. Em seguida neutralizava-se o fosfato trissódico com ácido sulfúrico, centrifugava-se a 2.800 r.p.m. durante 30 minutos, ressuspensava-se o sedimento em pequena quantidade de salina e inoculavam-se 4 tubos de meio de cultura. Parece-nos que Corper^{6,7} deixou provado que os meios de gema de ovo são superiores às misturas complexas de vários pesquisadores. Van Vranken⁵ também o confirmou. Por economia usamos, porém, o meio de Petragnani (modificação de Saenz), reduzindo à metade, entretanto, a quantidade de verde-malaquita e duplicando a quantidade de gemas de ovo, alterações essas baseadas nos trabalhos do mesmo Corper.

Para os "swabs", imaginamos o seguinte processo: Cortava-se o arame logo acima do chumaço, deixando este cair em um tubo de centrifugação contendo 4 cm³ de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 11,5%, obtendo-se assim condições de tratamento iguais às do escarro. Agitava-se fortemente o tubo, procurando obter o máximo desprendimento do material agarrado ao algodão. Confiou-se, portanto, embora um tanto empiricamente, no grande poder detergente do fosfato trissódico para a retirada das bactérias do chumaço de algodão. Com pinça estéril, tomava-se então o chumaço, que se espremia o mais possível, deixando escorrer naturalmente o líquido para dentro do tubo, e se o desprezava. Os tubos com a suspensão do material assim obtido eram depois submetidos às mesmas condições que os de escarro: estufa a 37° por 24 horas, neutralização com ácido sulfúrico, centrifugação a 2.800 r.p.m. por 30 minutos, ressuspensão do sedimento em salina e inoculação em 4 tubos do mesmo meio de Petragnani modificado.

Resultados negativos somente eram tomados como tal após incubação por três meses.

Resultados

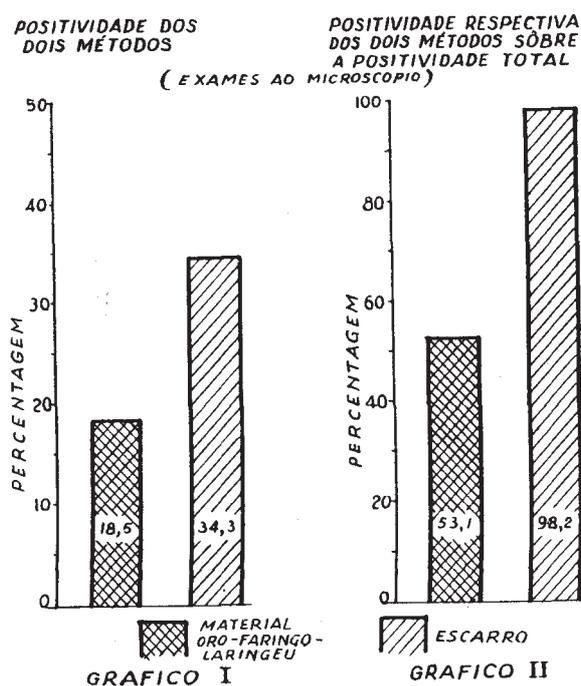
Apresentamos no Quadro I os dados obtidos pelos exames diretos ao microscópio, podendo-se ver aí todas as combinações dos resultados (V. também gráfico I).

RESULTADOS DOS EXAMES DIRETOS AO MICROSCÓPIO PARA A PESQUISA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Resultados	N.º	%
Exames realizados	324	100,0
Exames negativos	211	65,1
Exames positivos	113	34,9
Escarros positivos	111	34,3
"Swabs" positivos	60	18,5
Exames positivos em ambos	58	17,9
Escarros positivos e "swabs" negativos	53	16,4
Escarros negativos e "swabs" positivos	2	0,6

Quadro I

Vê-se, pelos resultados apresentados, que dos 113 exames positivos microscòpicamente, o escarro acusou a positividade de 111, ou seja 98,2%, enquanto o "swab" revelou como positivos 60, isto é, 53,1% (V. gráf. II). O "swab" evidenciou sòmente dois resultados não acusados pelo escarro.



Gráficos I e II

Procurou-se, como complemento a esta comparação, fazer a cultura do material oro-faringo-laríngeo dos pacientes cujo escarro fôra positivo e cujo "swab" fôra negativo ao microscópio. Para êste fim realizou-se a cultura de 36 "swabs" nessas condições. Deveríamos admitir, *a priori*, a presença de bacilos da tuberculose nesses "swabs", e o resultado negativo encontrado se explicaria, mais provavelmente, pela não transferência dos bacilos às lâminas pelo simples ato de esfregar os chumaços nas mesmas. No entanto, apenas 20, ou 55,5%, deram cultura positiva.

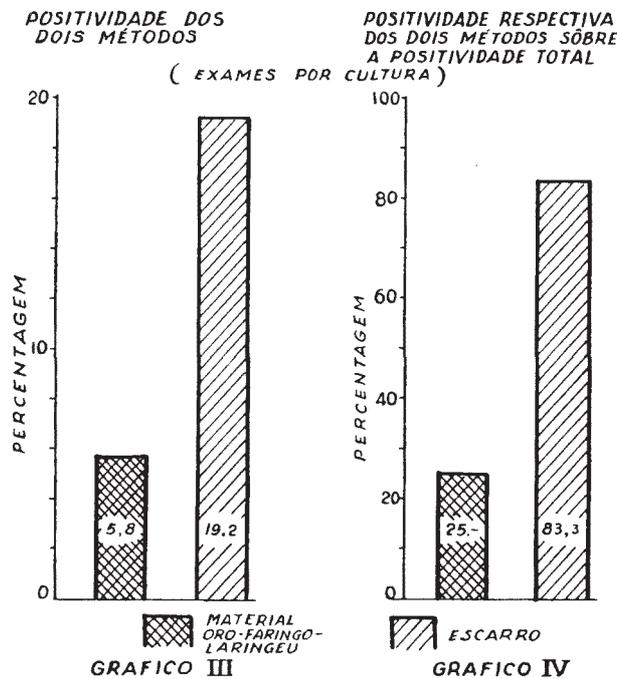
No Quadro II apresentam-se os resultados, em tôdas as combinações possíveis, das culturas de escarro e de material oro-faringo-laríngeo dos pacientes cujo escarro não revelara microscòpicamente a presença de *Mycobacterium tuberculosis* (V. também gráf. III).

RESULTADOS DA PESQUISA DO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* POR CULTURAS DE ESCARRO E DE "SWAB" DOS PACIENTES COM ESCARRO NEGATIVO AO MICROSCÓPIO

Resultados	N.º	%
Culturas realizadas	156	100,0
Culturas negativas	120	76,9
Culturas positivas	36	23,1
Culturas de escarro positivas	30	19,2
Culturas de "swabs" positivas	9	5,8
Culturas positivas de escarro e de "swab"	3	1,9
Cultura de escarro positivas e de "swab" negativas	27	17,3
Culturas de escarro negativas e de "swab" positivas	6	3,8

Quadro II

Vê-se que dos 36 espécimes positivos por um ou pelo outro método, o escarro revelou 30, isto é, 83,3%, enquanto o "swab" só evidenciou 9, ou 25% (V. gráf. IV). Há a assinalar os 6 casos positivos, ou seja 16,7%, revelados unicamente pelo "swab". Estas percentagens de positividade individual sôbre a positividade total evidentemente são calculadas apenas para fim ilustrativo, dado o pequeno número em jôgo. Não nos foi possível realizar maior número de comparações por falta de material, pois ao chegarmos à cultura n.º 156 tínhamos 1.392 tubos de Petragani em incubação (1.248 correspondentes às 156 comparações apresentadas no Quadro II e 144 aos 36 "swabs" já referidos de casos de escarro positivo e material oro-faringo-laríngeo negativo microscópicamente).



Discussão

§ 1 — *Exame microscópico direto*: A comparação dos resultados dos exames diretos ao microscópio mostra claramente a inferioridade do “swab” em relação ao escarro, pois que, praticamente, só revelou a metade dos positivos. O “swab” tem, entretanto, outras vantagens que o escarro não apresenta, como economia de material: torna desnecessário o fornecimento de potinhos aos pacientes, com a consequente economia da autoclavagem e lavagem desse material, sempre acompanhadas de quebras; economia de tempo: pois o resultado é sabido na hora e não no dia em que o paciente voltar; ganho de doentes: uma vez que sempre há os que não voltam espontaneamente para trazer escarro; e impossibilidade de mistificações: uma vez que entre pacientes ignorantes sempre existe a possibilidade de trazerem escarros de outrem como sendo seus.

A colheita do material oro-faringo-laringeu é facilíma, não toma muito tempo e é bem tolerada pela quase totalidade dos pacientes, não representando desvantagem.

Em vista disso, o “swab” poderia ser adotado como processo rápido de triagem, que revelaria logo a metade dos positivos que o exame do escarro iria evidenciar. E, certamente, é o processo natural para a obtenção de material dos pacientes sem escarro, adultos que não expectoram e crianças.

§ 2 — *Exame por cultura*: Antes de discutirmos os dados revelados pela cultura, cabe-nos informar sobre o método de tratamento do material pelo fosfato trissódico. Corper⁵ mostrou que esse sal de reação fortemente alcalina e de grande poder detergente, empregado na concentração e no tempo indicados, destrói praticamente todas as bactérias contaminadoras do escarro, enquanto que não exerce nenhuma ação nociva sobre o *Mycobacterium tuberculosis*; revelou mais que sua ação sobre o bacilo da tuberculose é inferior à da própria solução salina, e que mesmo após um contacto de 7 dias a 37°C., a sua nocividade a esse bacilo é mínima.

Baseados nos resultados encontrados por Corper, autoridade de reconhecida competência no assunto, decidimos empregar o tratamento pelo fosfato trissódico. Tal método, no decorrer deste trabalho, revelou-se excelente pela sua praticabilidade, alta eficiência homogenizadora dos escarros e pela percentagem mínima de sobrevivência de contaminadores capazes de crescer no meio de Petragani empregado (com metade do verde-malaquita indicado no original).

Quanto aos resultados das culturas, vemos, pela comparação dos dados apresentados no Quadro II, evidenciada aqui também a inferioridade do “swab”, pelo menos como foi aplicado e tratado neste trabalho. Não se pode, com efeito, negar a possibilidade de os resultados serem diferentes quando sempre se introduzir o chumaço de algodão na laringe dos pacientes, como tem sido feito por outros pesquisadores, embora se possa duvidar da probabilidade de tal fato. E se pode também achar que o processo adotado neste trabalho, para a transferência do material do “swab” para o meio de cultura, não seja suficientemente eficaz. A simples agitação, embora violenta, do chumaço de algodão na solução detergente, realmente não deve retirar todas as bactérias nele presas. Esta suposição estaria provada pelo fato de somente 20 dos “swabs” dos casos de escarro positivo e material oro-faringo-laringeu negativo microscópicamente — “swabs” que deveriam ter bacilos — terem dado cultura positiva. E é de todo plausível que a

inoculação do próprio "swab" em meio líquido de cultura, como realizada por Sula^{3,4}, dê resultados diversos, tudo levando a crer que deva aumentar a positividade. Neste trabalho não foi empregado êsse método de inoculação, por não dispormos de arame de aço inoxidável, que foi o usado por Sula; o arame galvanizado comum, segundo Sula⁴, se enferrujaria durante o longo tempo de incubação necessário ao crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*, além de poder exercer ação oligodinâmica, sendo ambos êstes fatos prejudiciais ao crescimento do bacilo da tuberculose.

No entanto, mesmo empregado com as limitações que se pode apontar, o método usado para a pesquisa por cultura do bacilo da tuberculose no material oro-faringo-laríngeo evidenciou um fato digno de consideração, que foi o achado de 6 casos positivos não revelados pelo escarro. Tendo a pesquisa no escarro revelado 30 culturas positivas, segue-se que o emprêgo conjunto do "swab" laríngeo aumentou de 20% a positividade. Submetida à análise estatística pelo teste do χ^2 , essa diferença encontrada não se revelou significativa e, portanto, nada de positivo se pode afirmar, o que, todavia — e como é óbvio — não quer dizer que a diferença em questão não seja real.

Supondo-se, para efeito de argumentação, que essa diferença viesse a se repetir, uma questão se nos apresenta. Será vantajoso fazer-se sempre a cultura do material oro-faringo-laríngeo além da cultura do escarro? O aumento da percentagem de positividade ganho por êsse modo compensará a duplicação do trabalho e do material de laboratório? Ou será mais conveniente esperar os resultados da cultura do escarro para, então, submeter sòmente os casos negativos ao exame mais delicado da lavagem ou do conteúdo gástrico, ou ao exame da lavagem traqueobrônquica? Embora nos inclinando para a última solução, não podemos deixar de julgar, diante do longo tempo que isso acarretaria, que a resposta a essas perguntas dependerá do volume do trabalho e das facilidades com que conte cada laboratório em particular. De qualquer maneira, os resultados dêste trabalho justificam a cultura do material oro-faringo-laríngeo nos casos sem expectoração e nas crianças.

Sumário

Foi realizado um estudo comparativo entre a eficiência da pesquisa do *Mycobacterium tuberculosis* no escarro e no material colhido da região oro-faringo-laríngea sob dois pontos de vista: o do valor de cada método no exame direto ao microscópio e no exame por cultura.

Em 324 exames microscópicos, o escarro revelou 34,3% como positivos, enquanto o material da garganta acusou 18,5%. Sòmente 2 casos evidenciados pelo último método não foram confirmados pelo primeiro.

O exame por cultura foi feito com material dos casos negativos microscópicamente. O tratamento do material foi realizado pelo fosfato trissódico, processo que se revelou excelente. Em 156 casos, 36 deram resultado positivo, tendo o escarro revelado 30, e o material da garganta, 9. Há a notar que 6 casos foram evidenciados sòmente pelo último processo. O emprêgo do material da garganta, além do escarro, aumentou, assim, a positividade de 20%.

As vantagens e desvantagens de cada método, assim como o processo usado para transferir o material oro-faringo-laríngeo do chumaço para o meio de cultura, são discutidos.

Summary

A comparative study on the efficiency of sputum and throat swabs to demonstrate the presence of *Mycobacterium tuberculosis* was made both by direct microscopic examination and by culture.

In 324 microscopical examinations, the sputum revealed 34.3% as positives and the throat material, 18.5%. Only 2 cases that were positive by the latter method were not confirmed by the former.

The examination by culture was made with material from the microscopically negative cases. Treatment of the material was done with trisodium phosphate, which was found to be excellent for this purpose. In 156 cases, 36 were positive, the sputum having revealed 30 positives and the throat material, 9; however, 6 cases were positive only through the latter method. Therefore the joint use of sputum plus throat material increased the positivity by 20%.

Advantages and disadvantages of each method as well as the process used to transfer the throat material from the swabs to the culture medium, are discussed.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — Nassau, E.: Culture of tubercle bacilli from laryngeal swabs. Proc. Roy. Soc. Med., **34**:397-400, maio '41.
- 2 — Munro-Ashman, F. e Nassau, E.: The value of exact sputum examination (laryngeal swab culture) in the diagnosis and management of pulmonary tuberculosis. Tubercle, **24**:79-84, maio '43.
- 3 — Sula, L.: A liquid ascitic medium for the isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from pathological material. Pub. Health Rep., **63**:867-883, julho '48.
- 4 — Corper, H. J. e Stoner, R. E.: An improved method for the diagnostic culture of mammalian tubercle bacilli. Jour. of Lab. and Clin. Med., **31**:1364-1371, dezembro '46.
- 5 — Van Vranken, M.: Diagnostic culture of tubercle bacilli. A simplified procedure in public health work. Am. Rev. Tuberc., **55**:374-378, abril '47.
- 6 — Corper, H. J. e Cohn, M. L.: The nutrient quality of eggs for growing tubercle bacilli. Am. J. Hyg., **18**:1-25, julho '33.
- 7 — Corper, H. J. e Cohn, M. L.: Media for tubercle bacilli; an evaluation of different media for diagnostic cultures of tubercle bacilli. Am. Rev. Tuberc., **46**:560-567, novembro '42.