

## NOTA TÉCNICA CONJUNTA Nº 01/2009 - SVS/MS e ANVISA

### ASSUNTO: INFECÇÕES POR MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO: FLUXO DE NOTIFICAÇÕES, DIAGNÓSTICOS CLÍNICO, MICROBIOLÓGICO E TRATAMENTO.

#### Infecções por micobactérias em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos ou cosmiátricos

##### 1. Justificativa

A ocorrência de surtos de infecções causadas por micobactérias, relacionadas aos cuidados com a saúde (hospitalares e não hospitalares), tem sido constatada em várias cidades brasileiras desde 1998 (13, 25, 35, 68, 76-78, 91). Foram reportados à ANVISA, entre o período de 1º de janeiro de 2003 a 28 de Fevereiro de 2009, 2128 casos de infecções ocorridos em hospitais públicos e privados, clínicas de cirurgia plástica, oftalmológicas, de acupuntura, de estética e, recentemente, em unidade de vacinação ([http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite\\_micobacteria/notificados.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite_micobacteria/notificados.pdf)). O agente etiológico mais prevalente na maioria das cidades brasileiras é a espécie *Mycobacterium massiliense*, exceto nas infecções secundárias a mamoplastias onde a maior prevalência é de *M. fortuitum* (Sampaio *et al.*, dados não publicados). Diversas outras espécies têm sido identificadas: *M. abscessus*, *M. bolletii*, *M. cheloneae*, *M. smegmatis*, *M. wolinskyi* e *M. avium*. Todas essas espécies são ambientais e, excetuando *M. avium*, são micobactérias de crescimento rápido (MCR) (11, 30). *M. massiliense* e *M. bolletii* são espécies descritas recentemente e anteriormente eram classificadas como *M. abscessus* (1, 4). Dada a diversidade de espécies, os diferentes perfis de sensibilidade observados para cada grupo de espécies, e o número limitado de opções terapêuticas, o diagnóstico microbiológico, obtido por cultura específica para micobactérias, deve ser prioritário (11). O isolamento do agente em cultura permite a realização do teste de sensibilidade aos

antimicrobianos e a identificação precisa da espécie por sequenciamento de DNA. Os aspectos microbiológicos, incluindo taxonomia, isolamento primário e testes de sensibilidade estão detalhados no item: **Aspectos microbiológicos das Micobactérias de Crescimento Rápido.**

Em função da detecção da espécie *M. massiliense* em diferentes cidades brasileiras, foi realizada a análise de sua clonalidade, por eletroforese em campos alternados. Os resultados obtidos indicam tratar-se de um clone predominante em todo o Brasil, ou seja, um mesmo clone causou infecções em diferentes estados e cidades brasileiras. Uma das particularidades deste clone é a tolerância ao glutaraldeído a 2%, mesmo após 10 horas de exposição (25). A tolerância ao glutaraldeído não é o único fator desencadeante dos surtos, pois há diversos casos de infecções causadas por espécies não tolerantes ao glutaraldeído. Tal fato indica que a remoção inadequada de resíduos orgânicos, antes da exposição dos instrumentais cirúrgicos ao biocida, é uma condição necessária para que as bactérias possam aderir aos instrumentos cirúrgicos e sobreviver à ação do glutaraldeído. Os fatores que levaram à disseminação de um mesmo clone em diversas regiões do Brasil ainda não estão esclarecidos. A cepa INCQS 594, pertencente ao clone denominado BRA100, está depositada na coleção de culturas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

Uma característica marcante das micobactérias de crescimento rápido é a resistência às drogas utilizadas no tratamento da tuberculose. Uma das raras exceções é *M. smegmatis*, que é sensível ao etambutol (41). O clone BRA100 de *M. massiliense*, predominante no Brasil, é sensível *in vitro* à amicacina, claritromicina e tigeciclina, mas resistente à doxiciclina, minociclina, ciprofloxacino e moxifloxacino. Apresenta sensibilidade intermediária *in vitro* à cefoxitina, imipenem e linezolida. Para imipenem, a sensibilidade intermediária *in vitro* é devida à instabilidade do antimicrobiano durante a incubação por 96 horas (tempo de incubação necessário para a interpretação do teste de sensibilidade) e não contra-indica seu uso terapêutico (20, 63).



Dados preliminares indicaram o uso de moxifloxacino e minociclina, mas estudos subsequentes, realizados em três instituições distintas, confirmaram não haver sensibilidade *in vitro* a estes dois antimicrobianos, quando utilizado o método padronizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (20). O seu uso terapêutico deve ser, portanto, restrito aos casos nos quais o teste de sensibilidade, realizado por microdiluição segundo o CLSI, indicar concentrações inibitórias mínimas iguais ou inferiores a 1,0 µg/ml para minociclina e iguais ou inferiores a 0,5 µg/ml para moxifloxacino. Estes critérios interpretativos ainda carecem de correlações clínicas que indiquem sucesso terapêutico no tratamento das infecções por MCR. Para estes antimicrobianos foram utilizados os critérios interpretativos disponíveis para *Nocardia* spp. (20) e *Staphylococcus* spp. (19), respectivamente.

A terapia antimicrobiana deve ser mantida por um mínimo de seis meses, e deve, sempre que possível, ser associada ao desbridamento cirúrgico e remoção de próteses ou qualquer outro corpo estranho. Na maioria absoluta dos casos há necessidade do uso concomitante de dois antimicrobianos. A monoterapia, em particular com fluorquinolonas, pode selecionar mutantes resistentes e restringir ainda mais as opções terapêuticas (11).

Foi constituído um grupo de trabalho que se reuniu no dia 10 de dezembro de 2008, em Brasília/DF, para apresentar e discutir os aspectos clínicos, epidemiológicos, terapêuticos e microbiológicos dessas infecções. Participaram deste evento representantes das seguintes instituições:

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
- Associação Brasileira de Infecção Hospitalar – ABIH;
- Centro de Referência Professor Hélio Fraga - CRPHF/RJ;
- Colégio Brasileiro de Cirurgiões - CBC;
- Instituto Adolfo Lutz – IAL/SP - Lacen-SP;
- Instituto Fleury de Ensino e Pesquisa – São Paulo
- Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS/Fiocruz
- Instituto Evandro Chagas – IEC/PA
- Fundação Ezequiel Dias – Funed/MG



- Secretaria de Saúde do Distrito Federal;
- Secretaria Municipal de Goiânia;
- Secretaria de Vigilância em Saúde/MS - CGLAB, GT-DER e CGDT/SVS/MS
- Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva – Sobed;
- Universidade Federal de São Paulo - Unifesp;
- Universidade Estadual de Campinas – Unicamp;
- Universidade Federal do Espírito Santo - UFES;
- Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;
- Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ;
- Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ.

## **2. Diagnóstico:**

O raciocínio diagnóstico deverá levar em consideração os aspectos epidemiológicos, clínicos e resultados de exames complementares.

### **2.1 Componente epidemiológico:**

Paciente submetido a qualquer procedimento vídeo-assistido, a exemplo de laparoscopia, artroscopia, broncoscopia, endoscopia do sistema genitourinário, ou do sistema digestório para inserção de prótese biliar; qualquer procedimento no qual seja utilizada cânula de aspiração (lipoaspiração), instrumento de fibra ótica, implante de prótese, órtese oftalmológica, ceratotomia, cirurgia plástica, ortopédica, cardíaca, lipoaspiração, mesoterapia, preenchimento cutâneo com ácido hialurônico ou metacrilato, ou injeção por via intra-muscular, que apresente sinais de flogose persistente, por mais de 1 semana.

### **2.2 Componente clínico:**

Paciente apresentando lesões eritematosas de difícil cicatrização, nodulares, com ou sem drenagem de secreção, fístulas, ulcerações, abscesso quente ou frio, não responsivo aos tratamentos antimicrobianos convencionais.



### **2.2.1 Definição de clínica compatível**

Paciente que apresentar dois ou mais dos sinais listados abaixo, em topografia correspondente ao acesso cirúrgico:

- Hiperemia por mais de 1 semana;
- Hipertermia por mais de 1 semana;
- Edema por mais de 1 semana;
- Nódulos com ou sem fistulização;
- Ulcerações;
- Fistulização;
- Drenagem persistente de secreção serosa, purulenta, ou pirosanguinolenta;
- Difícil cicatrização (não responsivo a tratamentos convencionais);
- Lesão em topografia correspondente ao trajeto de cânulas ou trocarte, com ou sem disseminação para áreas adjacentes;
- Recidiva das lesões.

### **2.3 Componente exames complementares**

#### **Exames de imagem:**

Nos pacientes apresentando drenagem de secreção em topografia de ferida cirúrgica, a presença de coleções intra-cavitárias deve ser avaliada por ultrasonografia, tomografia, ou ressonância magnética.

#### **Exames microbiológicos:**

Dada a importância da identificação da espécie e do perfil de sensibilidade para o correto direcionamento terapêutico, a coleta de material para diagnóstico microbiológico é mandatória, mesmo já tendo sido iniciado o tratamento empírico. A coleta com swab deve ser evitada, uma vez que a quantidade de material obtido com este método é, usualmente, insuficiente para um diagnóstico adequado. Coletar aspirados de abscessos e/ou fragmentos de tecidos. As amostras devem ser acondicionadas em frascos estéreis, e alguns fragmentos de tecido, com volume não superior a 1 cm<sup>3</sup> cada um, devem ser acondicionados em soro fisiológico estéril.



Amostras acondicionadas em formol não são adequadas para diagnóstico microbiológico.

Devem ser solicitados os seguintes exames microbiológicos:

1- Cultura geral, bacterioscopia pelo método de Gram e teste de sensibilidade (antibiograma);

2- Cultura para fungos e pesquisa de fungos;

3- Cultura para micobactérias, pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) e teste de sensibilidade (antibiograma). O laboratório deve utilizar obrigatoriamente meio líquido e meio sólido específico para micobactérias que estão detalhados no item: **ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DAS MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO;**

4- Cultura para anaeróbios (quando disponível na instituição e sempre que a pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes for negativa, a bacterioscopia pelo método de Gram evidenciar bactérias e a cultura comum for negativa).

Os detalhes de coleta e processamento estão descritos no item - **ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DAS MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO.** Uma vez havendo crescimento de colônias suspeitas, a presença de BAAR deve ser confirmada utilizando-se o método de Ziehl-Neelsen. As culturas positivas devem ser prontamente reportadas ao médico assistente e obrigatoriamente notificadas à ANVISA. Nos estados nos quais o LACEN não estiver capacitado, ou não dispuser dos insumos necessários para realizar o teste de sensibilidade (antibiograma) por microdiluição segundo os critérios do CLSI (20), e a identificação da espécie por método molecular, a cultura crescida em meio sólido deverá ser enviada diretamente ao Centro de Referência Professor Hélio Fraga. A Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública da Secretaria de Vigilância em Saúde tem organização hierárquica e tem como Laboratório de Referência Nacional para micobactérias o Centro de Referência Professor Hélio Fraga.



Este procedimento visa priorizar a adequação da terapêutica, tornando disponível para o médico assistente, o mais breve possível, e simultaneamente, os resultados de teste de sensibilidade e identificação da espécie.

#### **Exame anátomo-patológico:**

Pelo menos um fragmento deve ser acondicionado em formol a 10% e enviado para exame histopatológico. Além da coloração de hematoxilina-eosina, com atenção para a detecção de granulomas, deve ser realizada a coloração de Ziehl-Neelsen.

### **3. Definições de caso**

#### **3.1 Suspeito**

Paciente submetido a procedimentos invasivos que apresente dois ou mais sinais referidos como clínica compatível.

#### **3.2 Possível**

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito, mas sem investigação laboratorial, e que respondeu ao tratamento específico para micobactérias.

#### **3.3 Provável**

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito e que apresente granulomas em tecido obtido de ferida cirúrgica ou tecidos adjacentes, ou baciloscopia positiva, mas cultura negativa para micobactéria.

#### **3.4 Confirmado**

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito e apresenta cultura, da ferida cirúrgica ou tecidos adjacentes, positiva para micobactéria.

### **4. Tratamento**

Uma vez diagnosticada a doença, esta deverá ser tratada com os regimes terapêuticos a seguir descritos, pelo período mínimo de seis meses. Diante dos novos conhecimentos científicos produzidos sobre os agentes etiológicos, e a



evolução dos casos até então tratados, recomenda-se que os pacientes em uso dos esquemas terapêuticos preconizados no Informe Técnico nº 2/de Fevereiro de 2007, com evolução favorável, e em fase final de tratamento, continuem apenas com a claritromicina, suspendendo-se os demais, até receber alta. Nos casos nos quais foi obtido o diagnóstico etiológico, o esquema terapêutico deve ser baseado no teste de sensibilidade (antibiograma) e na espécie identificada. Há detalhes sobre o perfil de sensibilidade de cada espécie no item: **ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DAS MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO.**

A estratificação dos pacientes de acordo com a localização, a extensão do acometimento das lesões e a presença ou não de co-morbidades são de suma importância para elaborar a estratégia terapêutica. Em algumas situações a hospitalização será necessária para prover esquema por via parenteral. Não há, disponíveis na literatura indexada no PubMed, estudos controlados e randomizados comparando os diferentes esquemas e os tempos de tratamento nas diversas apresentações clínicas das infecções causadas por micobactérias de crescimento rápido. As condutas propostas abaixo são baseadas em estudos descritivos, sumarizados por Brown-Elliott & Wallace (11) e experiência clínica de participantes do grupo elaborador deste texto.

#### **4.1 Lesão única**

**Topografia limitada à pele e subcutâneo (incisional superficial), comprovado por ultra-som, tomografia ou ressonância magnética, ausência de prótese ou outro corpo estranho:**

- Desbridamento cirúrgico;
- Claritromicina: 500 mg – via oral – 12/12 horas por período de seis meses;
- A única espécie para qual pode ser implementada a monoterapia com claritromicina, sem o desbridamento cirúrgico é *M. chelonae*;
- Reavaliar conduta terapêutica em função dos resultados da identificação da espécie e antibiograma;
- Secundária a injeção intra-muscular, sem evidência de osteomielite, avaliada por tomografia ou ressonância magnética:



- Desbridamento cirúrgico, sempre que possível. Caso o dano estético seja uma limitação, drenar e iniciar o tratamento antimicrobiano. Reavaliar por tomografia ou ressonância em quatro semanas;
- O esquema terapêutico deve incluir dois antimicrobianos;
- Claritromicina: 500 mg – via oral – 12/12 horas por período mínimo de seis meses
- Amicacina: 15mg/Kg de peso até 1g/dose – dose única diária – intra-muscular ou endovenoso, por uma semana com início no intra-operatório após a coleta de material para exame microbiológico. Após a primeira semana alterar a posologia da amicacina para três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira, por exemplo), por um a dois meses (41, 69). Esta posologia consta na diretriz da *American Thoracic Society* para tratamento de infecções por *M. avium/M. intracellulare*, mas não para as MCR. Em função da escassez de opções terapêuticas, e de recidivas observadas após monoterapia com claritromicina, esta posologia tem sido utilizada. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente.
- Reavaliar conduta terapêutica em função dos resultados da identificação da espécie e antibiograma;
- Em caso de cultura negativa, mas presença de granulomas no exame histopatológico, manter claritromicina por seis meses e amicacina três vezes por semana por um a dois meses.

**4.2 Lesões múltiplas, mas com topografia limitada à pele e subcutâneo (incisional superficial), comprovado por ultra-som, tomografia ou ressonância magnética, ausência de prótese ou outro corpo estranho:**

- Desbridamento cirúrgico;
- O esquema terapêutico deve incluir dois antimicrobianos;
- Claritromicina: 500 mg – via oral – 12/12 horas por período mínimo de seis meses;
- Amicacina: 15mg/Kg de peso até 1g/dose – dose única diária – intra-muscular ou endovenoso, por uma semana com início no intra-operatório após a coleta de material para exame microbiológico. Após a primeira semana alterar a posologia da amicacina para três vezes por semana (segunda-feira, quarta-feira e sexta-feira, por

exemplo), por um a dois meses. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente;

- Reavaliar conduta terapêutica em função dos resultados da identificação da espécie e antibiograma;

- Em caso de cultura negativa, mas presença de granulomas no exame histopatológico, manter claritromicina por seis meses e amicacina três vezes por semana por um a dois meses. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente.

**4.3 Infecção incisional profunda acometendo fáscia e músculo, comprometimento intra-peritoneal ou evidência de disseminação, e nos casos de artrite ou osteomielite ou pacientes com maior gravidade:**

- Desbridamento cirúrgico;

- O esquema terapêutico deve incluir - três antimicrobianos;

- Claritromicina: 500 mg – EV – 12/12 horas. A infusão deve ser preferencialmente por via venosa profunda, pois a flebite quando da infusão em veia periférica é um fator limitante;

- Amicacina: 15mg/Kg de peso até 1g/dose – dose única diária – intra-muscular ou endovenoso, por duas semanas com início imediatamente após desbridamento cirúrgico. Após a segunda semana alterar a posologia da amicacina para três vezes por semana, por um a dois meses (41, 69). O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente;

- Imipenem – 500 mg - EV 6/6 horas - três a oito semanas. O período de oito semanas pode ser necessário nas infecções graves disseminadas e nas osteomielites;

- Caso não seja possível utilizar a amicacina, utilizar tigeciclina – dose de ataque de 100 mg EV seguido de 50 mg 1x/dia por três a oito semanas;

- Reavaliar a conduta terapêutica em função dos resultados da identificação da espécie e antibiograma;



- Em caso de cultura negativa, mas presença de granulomas no exame histopatológico, manter claritromicina por 12 meses e amicacina três vezes por semana por dois meses. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente.

#### **4.4 – Infecções secundárias a mamoplastia de aumento (prótese mamária):**

- Desbridamento cirúrgico com remoção da prótese
- O esquema terapêutico empírico deve incluir três antimicrobianos
- Claritromicina: 500 mg – EV – 12/12 horas por período mínimo de seis meses
- Amicacina: 15mg/Kg de peso até 1g/dose – dose única diária – intra-muscular ou endovenoso, por duas semanas com início imediatamente após limpeza cirúrgica. Após a segunda semana alterar a posologia da amicacina para três vezes por semana, por um a dois meses. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente.
- Imipenem – 500 mg 6/6 horas - três a seis semanas
- Caso não seja possível utilizar a amicacina, utilizar tigeciclina – dose de ataque de 100 mg EV seguido de 50 mg 1x/dia por 3 a 6 semanas
- Reavaliar a conduta terapêutica em função dos resultados da identificação da espécie e antibiograma. A doxiciclina, o sulfametoxazol e o ciprofloxacino podem ser opções importantes para tratamento das espécies do Grupo *M. fortuitum*, e a linezolida pode ser uma opção terapêutica para diferentes espécies.
- Em caso de cultura negativa, mas presença de granulomas no exame histopatológico, manter claritromicina por 12 meses e amicacina três vezes por semana por dois meses. O uso da amicacina pode ser estendido por até seis meses, de acordo com a evolução do caso e a critério do médico assistente. O ciprofloxacino (500 mg 12/12 horas) pode ser adicionado ao esquema, em associação com a claritromicina, em função da prevalência elevada de *M. fortuitum* neste tipo de cirurgia, mas apenas naqueles pacientes sem uso desta classe de antimicrobiano após a cirurgia.

## **5. Recomendações adicionais:**

- Solicitar avaliação laboratorial das funções hepática e renal antes do início do tratamento. Em caso de alteração da função renal (creatinina sérica igual ou superior a 2,0 mg/dl) não usar amicacina; no tratamento empírico o antimicrobiano alternativo com maior atividade é a tigeciclina. Caso o antibiograma e a identificação da espécie estejam disponíveis e houver sensibilidade, a linezolida pode ser uma opção adequada em função de sua elevada biodisponibilidade quando administrada por via oral.
- A linezolida não deve ser utilizada por mais de quatro semanas em função da possibilidade de ocorrência de neurite periférica irreversível. É comum a mielotoxicidade; acompanhar semanalmente com hemograma e contagem de plaquetas.
- As fluorquinolonas devem ser utilizadas sempre em associação com outro antimicrobiano, pois há relatos de seleção de mutantes resistentes durante o tratamento, e de recidiva (94).
- Realizar desbridamento das lesões, com margem de segurança. Remover órteses ou próteses do sítio acometido.
- Nas infecções secundárias a mesoterapia, nas quais o desbridamento cirúrgico pode causar maior dano estético, avaliar a presença de coleções por ultra-som, e caso presentes, realizar drenagem por punção. Essas lesões podem evoluir satisfatoriamente apenas com drenagem e tratamento antimicrobiano. Caso não haja resposta clínica adequada avaliar necessidade de desbridamento cirúrgico.
- Nos casos nos quais houver o comprometimento de mais de um sítio, por exemplo, subcutâneo e peritônio, mama e arcos costais, e nos casos de artrite o tratamento poderá ser prolongado para 9 a 12 meses, ou mais, de acordo com a evolução clínica.
- Pacientes em uso de antiretrovirais, como efavirenz e inibidores da protease, poderão ter seus regimes antivirais modificados para permitir a utilização da claritromicina. No entanto, a larga experiência de serviços de referência com aids no Brasil, com frequente utilização concomitante desses fármacos, permite seu uso.



- Os inibidores de proteases em geral aumentam a concentração sérica de claritromicina e, portanto, um monitoramento regular da função hepática é fundamental durante todo o tratamento. Aqueles que não induzem elevações significativas de níveis séricos de claritromicina são: indinavir, nelfinavir, lopinavir, e fosamprenavir.
- Evitar utilizar atazanavir ou ritonavir, pois as elevações de níveis séricos de claritromicina são mais acentuadas. Caso não seja possível alterar a terapia anti-retroviral, reduzir a dose de claritromicina para 500 mg/dia.
- Evitar co-administrar efavirenz e claritromicina (62). Em estudo com pacientes recebendo efavirenz (400 mg) e claritromicina (500 mg 12/12 horas), o efavirenz induziu o metabolismo da claritromicina, levando a uma redução da concentração sérica máxima, da área sob a curva e da concentração mínima em 26%, 39% e 53%, respectivamente. A concentração máxima de efavirenz, por sua vez, sofreu elevação de 11%. Foi observado rash cutâneo em 46% dos pacientes em uso concomitante dos dois fármacos.

## **6. Acompanhamento do paciente**

### **6.1 Durante o tratamento**

- Recomenda-se o retorno do paciente no sétimo dia após o início do tratamento, e posteriormente, a cada 15 a 30 dias, de acordo com a evolução clínica;
- Para os pacientes em uso de aminoglicosídeo, está indicada a avaliação otorrinolaringológica e pesquisa de otoemissões acústicas transientes a cada 30 dias de uso desse antimicrobiano. Além disso, questionar o paciente quanto a queixas de zumbido, tonturas e perda da acuidade auditiva. Na presença de qualquer uma dessas queixas, suspender a administração do aminoglicosídeo.
- Monitorar provas de função hepática, pelo menos uma vez a cada dois meses, durante o uso dos esquemas terapêuticos;
- Monitorar a função renal a cada três a quatro dias enquanto o uso da amicacina for diário.
- Monitorar a evolução das lesões com exames de imagem com três meses de tratamento e ao final para auxiliar a decisão de alta.



## **6.2 Após o tratamento**

- Reavaliar, com exames clínicos e de imagem, 6, 12, 18 e 24 meses após o término do tratamento.
- Na suspeita de recidiva da infecção todos os procedimentos diagnósticos deverão ser repetidos.

## **7. Notificação**

Diante da necessidade de consolidação nacional do perfil epidemiológico e sanitário destes eventos e do desencadeamento de respostas rápidas e proporcionais ao perfil de cada evento, é necessário o estabelecimento de um fluxo padronizado de notificação, para todas as instituições.

É compulsória a notificação, por profissionais e instituições de saúde pública ou privada, de todo e qualquer caso de infecção por micobactéria em ferida cirúrgica que atenda às definições de caso detalhadas no início deste documento.

Isto deverá ser realizado por meio do preenchimento do formulário padronizado disponível no link: [http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite\\_micobacteria/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite_micobacteria/index.htm) e apresentado em Anexo I.

Não está contra-indicado que as secretarias estaduais e municipais e do DF estabeleçam rotinas específicas, desde que façam o registro no instrumento nacional de forma concomitante, a partir da data de divulgação desta nota.

Todos os registros recebidos na esfera federal, independente da sua fonte (população, profissionais ou instituições de saúde pública ou privada), além de constituir um banco único de dados, irão imediatamente ser reportados às referências estaduais no monitoramento dos surtos relacionados aos serviços de saúde.

É importante esclarecer que esta notificação tem como objetivo junto aos Serviços de Vigilância e Assistência a Saúde:

- 1- Identificar a magnitude do problema no país
- 2- Conhecer o perfil epidemiológico do evento



3- Vigilância e resposta às ocorrências infecciosas pós-procedimentos invasivos, especialmente infecções por MCR.



## ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DAS MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO

### 1. Introdução:

O gênero *Mycobacterium*, tem sofrido revisões constantes e a ele pertencem, atualmente, 138 espécies e 11 subespécies (29). As micobactérias têm forma bacilar, são aeróbias, e resistem à descoloração com álcool-ácido, em função do alto conteúdo lipídico de sua parede celular. Apesar de não se corarem integralmente pelo método de Gram, são consideradas Gram-positivas. A morfologia colonial é variável, podendo ser rugosa ou lisa, mesmo em isolados da mesma espécie.

A árvore filogenética das micobactérias pode ser dividida em dois grandes grupos: micobactérias de crescimento rápido e micobactérias de crescimento lento. As micobactérias de crescimento rápido formam colônias visíveis a olho nu em até sete dias, quando incubadas em meio sólido. Aquelas de crescimento lento o fazem após sete a 30 dias de incubação. A temperatura ideal de crescimento é variável de acordo com a espécie, e oscila numa faixa de 25 °C a 45 °C. A maioria das espécies é capaz de crescer em meios simples contendo aminoácidos, glicerol e sais minerais, mas algumas requerem suplementos, a exemplo de *M. haemophilum* que requer hemina, ou ainda não foi cultivada fora de células eucarióticas viáveis, como é o caso de *M. leprae* (100). Algumas espécies de crescimento lento, em função da grande similaridade genética e do fato de causarem o mesmo espectro de doenças, são agrupadas em complexos, a exemplo do Complexo *M. tuberculosis*, que inclui *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. pinnipedii* e *M. canettii* (10). Princípio semelhante fundamentou a descrição do Complexo *M. fortuitum*, que inclui *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. abscessus* e *M. cheloneae* (81). A caracterização de novas espécies com distintos perfis de sensibilidade e espectro de doenças tornou esta classificação sem utilidade clínica para as micobactérias de crescimento rápido (11).

O conceito de Grupo tem melhor correlação com a apresentação clínica e o perfil de sensibilidade e é, portanto, o mais aceito. O Grupo *M. fortuitum* comprehende as espécies *M. fortuitum*, *M. peregrinum*, *M. mucogenicum*, *M. senegalense*, *M.*



*margeritense*, *M. septicum*, *M. houstonense*, *M. bonickei*, e *M. conceptionense*. As espécies deste Grupo usualmente são sensíveis às fluorquinolonas, doxiciclina, amicacina, imipenem, linezolida e sulfametoxazol. O grupo *M. smegmatis* inclui as espécies *M. smegmatis*, *M. goodii* e *M. wolinskyi*, e tem como característica marcante a resistência à claritromicina, mas sensibilidade às quinolonas, amicacina, imipenem, linezolida e sulfametoxazol.

O grupo *M. chelonae-abscessus* abrange as espécies *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. immunogenum*, *M. bolletii* e *M. massiliense*. As espécies deste grupo são usualmente resistentes às fluorquinolonas, sulfametoxazol, doxiciclina, mas sensíveis à claritromicina, amicacina, tigeciclina e imipenem (11).

Dentre as espécies do Grupo *M. chelonae-abscessus*, apenas *M. bolletii* ainda não foi detectado em amostras ambientais, pois *M. massiliense*, foi detectada em amostras coletadas de gastroscópio e broncoscópio, em um hospital da cidade de São Paulo (Sampaio *et al.*, dados não publicados) e em trocarte (25). As demais espécies são encontradas em água potável, biofilmes em tubulações de sistemas de distribuição de água potável, piscinas, esgoto, solo, e superfície de artigos hospitalares (14, 15, 31, 39, 48, 50, 52-54, 61, 72). Carlson *et al.* demonstraram que *M. chelonae* ATCC 14472, quando incubada em água destilada estéril a 25 °C, é capaz de multiplicar-se e manter viabilidade por um mínimo de 30 dias (15). Além da capacidade de multiplicação e sobrevivência em condições de escassez de nutrientes, *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. immunogenum* podem ser resistentes ao cloreto de benzalcônio, compostos organo-mercuriais, cloro, glutaraldeído e clorexidina (32-34, 85, 87, 89, 90, 101). A ubiquidade dessas espécies no ambiente, particularmente em água e ambientes úmidos, contribui para o fato de que as espécies *M. chelonae* e *M. abscessus*, e os membros do Grupo *M. fortuitum* sejam as espécies mais prevalentes em infecções oportunistas causadas por micobactérias de crescimento rápido e relacionadas à infusão de soluções aquosas, ou exposição de sítios estéreis a água contaminada com micobactérias (61, 89, 92, 95).

#### ***Mycobacterium abscessus:***



A espécie *M. abscessus* foi proposta por Moore & Frerichs em 1953, quando descreveram o seu isolamento a partir de uma cultura de material de abscesso de joelho (65). A aceitação da espécie *M. abscessus* desde então fora um assunto controverso, tendo sido proposta por Stanford *et al.*, em 1972, a denominação *M. chelonei* (84). Em 1972, Kubica *et al.* demonstraram que os isolados então classificados como *M. chelonae* ou “*M. chelonei*” podiam ser divididos em dois táxons: *M. chelonae* subsp. *chelonae* e *M. chelonae* subsp. *abscessus* (49). A denominação das espécies *M. abscessus* e *M. chelonae* foi sugerida em 1986 por Lévy-Frébault *et al.* comparando as cepas tipo *M. chelonae* ATCC 35752 e *M. abscessus* ATCC 19977 por hibridização DNA-DNA (56), mas só ocorreu após a publicação do trabalho de Kusunoki & Ezaki (51). Essas alterações taxonômicas frequentes, somadas ao número reduzido de testes fenotípicos disponíveis para a diferenciação dessas espécies, impedem que em grande parte das publicações datadas dos anos de 1972 a 1992 seja possível definir qual a espécie descrita (11). *M. abscessus* causa infecções adquiridas na comunidade, e infecções relacionadas a procedimentos médicos ou executados por outros profissionais de saúde. Dentre as infecções adquiridas na comunidade, o quadro clínico mais comum é a doença pulmonar crônica em pacientes com alterações anatômicas e/ou funcionais pulmonares, a exemplo de bronquiectasias ou fibrose cística, ou ainda em pacientes com doença granulomatosa crônica como tuberculose ou sarcoidose. As infecções pulmonares por esta espécie usualmente acometem mulheres idosas e não fumantes, sendo a evolução clínica frequentemente indolente (21, 42).

As infecções extra-pulmonares adquiridas na comunidade usualmente consistem em infecções cutâneas nas quais há uma quebra da barreira cutânea e contato com solo ou água contaminada, ou raramente após picada de inseto (12, 97). Este quadro é observado predominantemente em pacientes imunocomprometidos, ocasionado linfadenite ascendente semelhante àquela observada em quadros de esporotricose (45). Um quadro descrito há muito e que ainda ocorre em surtos é a infecção cutânea relacionada a banhos em piscinas aquecidas (66). O surto mais recente ocorreu no Canadá, tendo sido acometidos 85 pacientes, que apresentaram lesões cutâneas em áreas de atrito das mãos e pés (26).

As infecções nosocomiais, ou relacionadas aos cuidados com a saúde, causadas por espécies do Grupo *M. chelonae-abscessus*, representam um problema emergente no Brasil e em vários países. Segundo Wallace *et al.*, as infecções de feridas cirúrgicas representam cerca de 43% das infecções extra-pulmonares por *M. abscessus* (97). Há relatos de casos isolados e surtos relacionados a mamoplastia de aumento, cirurgia plástica facial, cirurgia cardíaca, mesoterapia, cirurgias oftalmológicas e injeções esteróides ou de medicamentos alternativos (16, 36). Há relatos de casos de osteomielite e infecções do sítio de inserção de cateteres de diálise peritoneal (6, 27, 60, 71). Os relatos de bacteremia ou endocardite são relacionados a próteses valvares cardíacas, de origem biológica, marca-passo epicárdico, ou a reuso de colunas em hemodiálise (9, 22, 44, 73, 75). Os casos de infecção relacionados a próteses biológicas e dialisadores, assim como aqueles relacionados a banhos de piscina, decorrem do fato de que *M. abscessus* é resistente a concentrações baixas de cloro, glutaraldeído ou formaldeído, que podem ser utilizadas incorretamente durante a desinfecção de alto nível de materiais e equipamentos médicos (15, 58, 90).

#### ***Mycobacterium chelonae:***

*M. chelonae* é descrita como agente de infecções adquiridas na comunidade e infecções nosocomiais, mas em contraste a *M. abscessus*, raramente causa infecção do trato respiratório (42). Os relatos dessas infecções, disponíveis na literatura, em sua maioria refletem erros de taxonomia ou não realização de testes fenotípicos que permitam a diferenciação das espécies (11). Em uma revisão de 146 casos de infecções pulmonares causadas por micobactérias de crescimento rápido, Griffith *et al.* observaram apenas um caso de infecção por *M. chelonae*.

As infecções extra-pulmonares adquiridas na comunidade são observadas mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos, por uso prolongado de corticosteróides, quimioterapia ou terapia combinada como utilizado em transplantes de órgãos sólidos, doenças auto-imunes. A apresentação clínica nesses casos é de infecção disseminada com múltiplos nódulos subcutâneos e eventualmente

osteomielite (5, 28, 86, 96, 98). A neutropenia parece não ser um fator de risco relevante para infecções disseminadas por *M. chelonae*, havendo apenas um relato na literatura (59). Apesar de os estudos de prevalência de doença disseminada por *M. chelonae* em pacientes com aids serem escassos, a ocorrência de infecção disseminada neste grupo de pacientes parece ser inferior àquela observada em outras populações de imunocomprometidos cujo status imunológico foi induzido por drogas (7, 57). De modo similar a *M. abscessus*, *M. chelonae* causa infecções adquiridas na comunidade e relacionadas a traumas abertos, podendo ser limitadas a um nódulo cutâneo isolado, celulite ou osteomielite. Essas infecções são secundárias a traumas onde houve exposição a solo, água ou objetos contaminados (79, 97).

As infecções nosocomiais ou associadas aos cuidados da saúde, causadas por *M. chelonae*, são menos frequentes que aquelas causadas por *M. abscessus*, mas tem havido um aumento do número de relatos de infecções relacionadas a cirurgias oftalmológicas, em particular cirurgias a laser para correção de miopia (8, 17, 18, 35, 37, 38, 47, 67, 74, 103). Há descrições de infecções relacionadas a próteses manufaturadas com meninges de porco (40), e cateteres vasculares ou de diálise peritoneal (43, 46, 55, 83, 96, 99). As condições que permitem a ocorrência desses casos e surtos são provavelmente procedimentos inadequados de esterilização ou desinfecção. Meyer *et al.* demonstraram o isolamento de *M. chelonae* na água da torneira à qual era conectado o sistema de aspiração utilizado durante as cirurgias de lipoaspiração em uma clínica privada no estado da Califórnia, Estados Unidos da América (61).

### ***Mycobacterium immunogenum:***

A espécie *M. immunogenum*, inicialmente denominada *M. immunogen*, foi descrita por Wilson *et al.* em 2001 (101). Os estudos, que culminaram com a descrição desta espécie, foram iniciados com a investigação de um surto de pneumonite de hipersensibilidade entre trabalhadores em indústria de metalurgia. Como parte da investigação ambiental, amostras da água, utilizada para refrigeração das máquinas



e peças durante a usinagem, foram cultivadas para isolamento de micobactérias. Vinte e cinco isolados, com perfil de PRA-*hsp65* até então não descrito, foram detectados nessas amostras. As culturas de escarro ou lavado bronco-alveolar desses pacientes, quando cultivadas para micobactérias, resultaram negativas (64). Uma análise do banco de isolados, do laboratório de micobactérias da Universidade do Texas em Tyler (UTHC), evidenciou que diversos isolados clínicos não correlacionados e isolados de pseudo-surtos nosocomiais apresentavam o mesmo perfil de PRA-*hsp65*. A análise de sequencias parciais dos genes 16S rRNA, *hsp65* e ITS-16S-23S rRNA (ITS), além de hibridização DNA-DNA, evidenciaram tratar-se de uma nova espécie (101). Estudos subsequentes realizados por Wallace *et al.*, analisando amostras de água de indústrias de metalurgia em diferentes estados americanos, evidenciaram a presença de um mesmo clone de *M. immunogenum* em diferentes áreas geográficas. Em contraste, a análise de isolados de origem clínica, sem relação epidemiológica, não evidenciou origem clonal comum (93). A espécie *M. immunogenum* já foi isolada a partir de diversas amostras clínicas: pele de paciente receptor de transplante hepático, córnea, sítio de inserção de cateter vascular, líquido sinovial, lavado bronco-alveolar, sítio de inserção de marca-passo, e sangue. Dois surtos causados por esta espécie, no qual a bactéria foi isolada de tecido infectado, estão relatados na literatura. O primeiro ocorre no Brasil, em São Paulo, relacionado a cirurgia a laser para correção de miopia (77) e o mais recente, relacionado a mesoterapia, ocorreu em Buenos Aires, na Argentina (24).

#### ***Mycobacterium massiliense:***

A espécie *M. massiliense* era classificada até 2004 como *M. abscessus*; portanto é possível que uma parte significativa da literatura científica que descreve infecções e surtos causados por *M. abscessus* possa corresponder a *M. massiliense*. A cepa tipo foi isolada de amostras de escarro e lavado broncoalveolar de uma paciente com quadro de bronquiectasia. A paciente foi tratada com claritromicina e doxiciclina por seis meses tendo havido resposta clínica. O artigo original indica que os testes fenotípicos que diferenciam esta espécie das demais pertencentes ao Grupo *M. chelonae-abscessus* são: susceptibilidade à doxiciclina, tolerância ao cloreto de

sódio a 5%, produção de n-acetil-glicosaminidase, triptofano-desaminase, betagalactosidase e produção de indol (4). As publicações subsequentes indicam que a susceptibilidade à doxiciclina é um evento incomum nesta espécie e, portanto, não pode ser utilizada para diferenciar *M. abscessus* e *M. massiliense* (82, 91).

#### ***Mycobacterium bolletii:***

A espécie *M. bolletii* foi proposta por Adékambi *et al.* em 2006, e da mesma forma que *M. massiliense*, era classificada como *M. abscessus* (1). A descrição original e uma publicação recente indicam que esta espécie pode ser resistente à claritromicina. Em ambas as publicações os isolados foram cultivados de amostras de escarro ou lavado broncoalveolar (1, 3). O primeiro surto descrito na literatura ocorreu na cidade de Belém, relacionado à mesoterapia (91).

#### ***M. fortuitum:***

A espécie *M. fortuitum* foi isolada na cidade do Rio de Janeiro, de um paciente com abscesso após injeção intramuscular de solução de vitaminas (23). A maioria das infecções causadas por *M. fortuitum* são secundárias a traumas nos quais há quebra da barreira cutânea, infecções relacionadas a cateteres vasculares, mamoplastia de aumento e cirurgias cardíacas, mas assim como *M. abscessus*, pode causar infecção pulmonar em pacientes com bronquiectasias (11). Vários surtos de infecção cirúrgica têm sido reportados, e um dos mais recentes ocorreu na cidade de Campinas, em pacientes submetidas a mamoplastia de aumento (68, 76). Apesar de várias espécies distintas terem sido isoladas de casos de infecção pós-mamoplastia, *M. fortuitum* é a espécie mais prevalente. Este fato reforça a importância do diagnóstico etiológico e do antibiograma, pois fluorquinolonas, doxiciclina e sulfametoxazol, em função da facilidade de administração por via oral, podem ser parte do esquema terapêutico para tratamento das infecções causadas por esta espécie, apesar de não terem atividade significativa contra as espécies do Grupo *M. cheloneae-abscessus*.

## **2.Recomendações para Coleta e Encaminhamento de Amostras Biológicas**

### **2.1 - Coleta para exame microbiológico:**

#### **2.1.1 – Conceitos importantes:**

- A coleta adequada é essencial para o sucesso no isolamento do agente etiológico. Informe-se no laboratório de sua instituição antes de realizar a coleta.
- Todo material destinado a exame microbiológico deve ser acondicionado em recipientes estéreis.
- Não utilize swabs para coleta de amostras, pois a quantidade de material recuperada em um swab não é adequada para a cultura e pesquisa de micobactérias.
- Fragmentos de tecido fixados em formol NÃO são adequados para análise microbiológica.
- Certifique-se que o circulante de sala está ciente do procedimento a ser realizado.
- Certifique-se da identificação adequada das amostras com nome completo do paciente, tipo de material e data da coleta.
- Visando facilitar o processamento no laboratório, colete dois ou três fragmentos de tecido com volume máximo de 1 cm<sup>3</sup> cada.
- Não envolva o material em compressa cirúrgica, pois causa ressecamento e dificulta o processamento no laboratório.
- Quando houver prótese de mama, envie o raspado do material aderido à mesma, e não a prótese.
- Não envie material em seringa com agulha, pois há grande chance de ocorrência de acidente durante transporte e processamento.
- A coleta de secreção de fistulas pode resultar em resultados falsamente negativos em função do crescimento de colonizantes.

#### **2.1.2 – Amostras obtidas por punção percutânea:**

- Realizar a anti-sepsia da pele com clorexidina alcoólica.
- Realizar a punção e aspirar o conteúdo do abscesso. Transferir o material para frasco estéril (preferencialmente plástico descartável com tampa rosqueada).



- Não há necessidade de adicionar salina ou meio de transporte. Caso seja solicitada cultura para anaeróbios injetar parte do material em um frasco de hemocultura para anaeróbios.
- Caso o material tenha volume inferior a 1,0 ml, lavar o interior da seringa em 2,0 ml de soro fisiológico estéril.

#### **2.1.3 - Fragmentos de tecidos:**

- Coletar dois ou três fragmentos de tecido com volume máximo de 1 cm<sup>3</sup> cada.
- Acondicionar frasco estéril contendo 5 a 10 ml de soro fisiológico estéril. A adição de soro fisiológico tem como objetivo impedir o ressecamento da amostra.
- Não há necessidade de adicionar meio de transporte.

#### **2.1.4 – Transporte e estabilidade da amostra para cultura de fungos e micobactérias:**

- Caso o tempo entre a coleta e a chegada prevista ao laboratório exceda uma hora, transportar em recipiente de isopor contendo gelo reciclável.
- Os frascos estéreis deverão ser acondicionados em sacos plásticos, de modo a evitar que a água de degelo não penetre no recipiente da amostra ou remova a identificação do frasco
- Estabilidade da amostra em temperatura ambiente: uma hora
- Estabilidade da amostra mantida sob refrigeração (2 a 8 °C): 72 horas
- Não congelar
- A responsabilidade do transporte ao LACEN fica a cargo do solicitante.

#### **2.1.5 Requisição médica**

Devem ser solicitados os seguintes exames microbiológicos:

- a- Cultura geral, bacterioscopia pelo método de Gram e teste de sensibilidade
- b- Cultura para fungos e pesquisa de fungos
- c- Cultura para micobactérias, pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) e teste de sensibilidade.
- d- Cultura para anaeróbios (quando disponível na instituição).



- Para envio ao LACEN, além da requisição médica é necessária a Ficha de Notificação. Coletar, no máximo, três amostras de sítios estéreis distintos, indicando esta informação no formulário de notificação.

## **2.2 - Processamento das amostras**

### **2.2.1 – Baciloscopy**

- Para amostras com volume igual ou inferior a 2 ml, ou fragmentos de tecidos, realizar baciloscopy apenas do material original (sem concentração).
- Para amostras com volume superior a 2 ml preparar um esfregaço do material original e outro do concentrado obtido após tratamento para descontaminação e centrifugação.
- Utilizar a coloração de Ziehl-Neelsen e ler 300 campos em aumento de 1000X em cada esfregaço.
- Os resultados deverão ser comunicados ao requisitante em até 24 horas após a chegada do material no laboratório.
- Guardar as lâminas positivas por um prazo de um ano.

### **2.2.2 – Cultura para micobactérias**

- As amostras oriundas de sítios usualmente estéreis (peritônio, abscesso, osteomielite, fragmentos de tecido) não necessitam de tratamento para descontaminação e devem ser semeadas diretamente nos meios de cultura após homogeneização ou maceração quando necessário.
- Amostras potencialmente ou sabidamente “contaminadas” devem ser processadas para eliminação de “contaminantes”, utilizando o método de NALC-NaOH 2% com centrifugação em temperatura de 2 a 5 °C, e força centrífuga 4.000 x g por 15 minutos (70) ou 3.000 x g por 30 minutos. Um método alternativo de descontaminação é o de Petroff.
- Todos os laboratórios que processarem materiais para cultura de micobactérias deverão, obrigatoriamente, utilizar um meio líquido e dois meios sólidos.



- O meio líquido deve ser o caldo Middlebrook 7H9 suplementado com ADC ou aqueles disponíveis comercialmente (MGIT – Becton-Dickinson ou MB/BacT - bioMérieux). O uso exclusivo de meio sólido diminui a sensibilidade da cultura.
- Um dos meios sólidos deve ser Middlebrook 7H10 suplementado com OADC, Lowenstein-Jensen ou Ogawa, incubado a 37 °C.
- O segundo meio sólido deve ser ágar sangue de carneiro a 5% (selar a placa com fita adesiva para impedir a desidratação), Middlebrook 7H10 suplementado com OADC, Lowenstein-Jensen ou Ogawa, incubado a 30 °C. Caso o laboratório não disponha de estufa a 30 °C, a incubação pode ser feita em temperatura ambiente (20 °C a 25 °C). Algumas espécies de MCR, em particular *M. chelonae* e *M. haemophilum*, não crescem adequadamente a 37 °C.
- Examinar os meios diariamente durante a primeira semana e semanalmente após este prazo, até 60 dias.
- Havendo crescimento de colônias suspeitas, realizar a coloração de Ziehl-Neelsen para confirmação.
- Comunicar ao médico assistente o isolamento de provável micobactéria e a seguir encaminhar prontamente a cultura, crescida em meio sólido, para o laboratório de referência para identificação da espécie e teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (antibiograma).
- Liberar laudo provisório (parcial):

**Houve crescimento de bacilo álcool-ácido resistente. A cultura foi encaminhada ao laboratório de referência. A identificação da espécie e o teste de sensibilidade estarão disponíveis, em média, 14 dias após a liberação deste laudo.**

### **2.2.3 Identificação em nível de espécie:**

- O gênero *Mycobacterium*, assim como os demais gêneros bacterianos, tem sido objeto de uma revisão taxonômica constante. As definições de espécies, inicialmente baseadas em testes fenotípicos, atualmente são baseadas no sequenciamento de vários genes essenciais ao metabolismo da célula bacteriana. Tais fatos limitam o uso do método PRA-hsp65 no diagnóstico microbiológico, pois

há superposição de perfis de várias espécies distintas. Apesar das limitações, o método PRA-*hsp65* pode ser utilizado para a identificação preliminar das espécies de MCR mais frequentes. Para detalhes da metodologia PRA-*hsp65* e interpretação dos perfis eletroforéticos consultar a página eletrônica <http://app.chuv.ch/prasite/index.html>.

É importante lembrar que o método PRA-*hsp65*, com uso das enzimas de restrição HaeIII e BstEII, não permite a diferenciação entre algumas espécies, havendo necessidade de sequenciamento complementar nessas situações. Alguns exemplos são a diferenciação entre *M. bolletii* e *M. massiliense*; *M. senegalense* e *M. wolinskyi*; *M. conceptionense*, *M. farcinogenes*, *M. neworleansense*, *M. houstonense* e *M. senegalense*.

Visando priorizar a adequação terapêutica e obter dados que possam ser revisados a qualquer momento, sempre que houver disponibilidade técnica, é recomendável que a identificação em nível de espécie seja realizada por sequenciamento de DNA. Para as MCR o alvo a ser utilizado é o gene *rpoB*. Deverão ser utilizados os oligonucleotídos MycoF 5' GGCAAGGTCACCCCGAAGGG e MycoR 5' AGCGGCTGCTGGGTGATCATC, e a análise deverá ser restrita ao fragmento interno a estes oligonucleotídeos (2). Para que a identificação da espécie seja conclusiva, o índice de similaridade entre a sequência da amostra analisada e aquela da cepa padrão com o maior índice deverá ser maior que 98,1%. Deverão constar no laudo o maior índice de similaridade e o código do acesso do GenBank com o qual foi observada a maior similaridade, conforme exemplo abaixo:

A identificação da espécie foi realizada por sequenciamento parcial do gene *rpoB*. A sequência obtida foi comparada àquelas de cepas de referência, contidas no Genbank. A análise de similaridade foi restrita ao fragmento limitado pelas posições 2571 e 3258 do genoma de *Mycobacterium abscessus* CIP104536 (GenBank AY147164.1). O maior índice de similaridade (99,7%) foi obtido quando comparado com os depósitos AY859692.1 e EU109293.1 que correspondem à cepa padrão de *Mycobacterium bolletii*.

O sequenciamento para identificação das micobactérias de crescimento lento deverá empregar como alvo o gene *hsp65*, utilizando os oligonucleotídeos TB1 5' ACCAACGATGGTGTGTCCAT e TB12 5' CTTGTCGAACCGCATAACCCT (88) ou *hsp667F* 5' GGCCAAGACAATTGCGTACG e *hsp667R* 5' GGAGCTGACCAGCAGGAT (80). A análise deverá ser restrita ao fragmento interno aos oligonucleotídeos TB11 e TB12, de 401 pares de bases, pois há erros em algumas sequências depositadas no GenBank, na região de anelamento desses oligonucleotídeos. Para que a identificação da espécie seja conclusiva, o índice de similaridade entre a sequência da amostra analisada e aquela da cepa padrão com o maior índice deverá ser maior ou igual a 99%. Deverão constar no laudo o maior índice de similaridade e o código do acesso do GenBank com o qual foi observada a maior similaridade, conforme exemplo abaixo:

A identificação da espécie foi realizada por sequenciamento parcial do gene *hsp65*. A sequência obtida foi comparada àquelas de cepas de referência, contidas no GenBank. A análise de similaridade foi restrita ao fragmento de 401 pares de bases do gene *hsp65*, limitado pelas posições 186865 e 187265 do genoma de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (GenBank BX842573). O maior índice de similaridade (100%) foi obtido quando comparado com os depósitos DQ284768.1, AF547808.1, AF547809.1, AF547810.1, que correspondem a *Mycobacterium avium* ATCC 25291, CIP104244, CIP 103963, e CIP103317.

O laboratório deve ter procedimento operacional padrão, validação do procedimento com um mínimo de 10 cepas de espécies distintas, de coleções de culturas, e treinamento dos colaboradores documentados. A cada lote de reações de sequenciamento deve ser incluída uma cepa de referência.

#### **2.2.4 - Teste de sensibilidade aos antimicrobianos para micobactérias de crescimento rápido:**

A única metodologia validada para realização dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, para este grupo de bactérias, é a microdiluição em caldo Mueller-



Hinton, conforme descrito pelo CLSI no documento M24-A (20). Os métodos de difusão em ágar (disco-difusão e Etest), e microdiluição com caldo Middlebrook 7H9 não devem ser utilizados, pois não há critérios interpretativos ou há limitações quanto à reproduzibilidade (102).

**Tabela 1- Concentrações de Antimicrobianos, Critérios para Interpretação e Controle de Qualidade**

Antimicrobiano	Concentrações Testadas ( $\mu\text{g/ml}$ )	Categorias (CIMs em $\mu\text{g/ml}$ )			Referência	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (CIMs em $\mu\text{g/ml}$ )
		S	I	R		
<b>Amicacina</b>	0,06 - 128	$\leq 16$	32	64	M24-A	1 - 4
<b>Cefoxitina</b>	0,25 - 256	$\leq 16$	32 - 64	$\geq 128$	M24-A	1 - 4
<b>Ciprofloxacino</b>	0,03 - 64	$\leq 1$	2	$\geq 4$	M24-A	0,12 - 0,5
<b>Claritromicina</b>	0,015 - 32	$\leq 2$	4	$\geq 8$	M24-A	0,12 - 0,5
<b>Doxiciclina</b>	0,015 - 32	$\leq 1$	2 - 8	$\geq 16$	M24-A	0,12 - 0,5
<b>Imipenem</b>	0,007 - 16	$\leq 4$	8	$\geq 16$	M24-A	0,015 a 0,06
<b>Linezolida</b>	0,12 - 256	$\leq 8$	16	$\geq 32$	M24-A	1 - 4
<b>Sulfametoxazol</b>	0,25 - 512	$\leq 32$	-	$\geq 64$	M24-A	32 - 128
<b>Tigeciclina</b>	0,015 - 32	$\leq 4$	-	$\geq 8$	Wallace <i>et al.</i> 2002	0,03 - 0,25

Ao testar *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. immunogenum*, *M. bolletii* ou *M. massiliense*, substituir imipenem por tigeciclina. A susceptibilidade ao imipenem não deve ser avaliada rotineiramente, em função de sua instabilidade durante incubação por quatro dias, tempo usualmente necessário para permitir leitura do antibiograma de espécies do Grupo *M. chelonae-abscessus* e da baixa reproduzibilidade do teste (20).

- A tobramicina só necessita ser testada para *M. chelonae*, pois as CIMs são mais baixas para esta espécie.
- Para detalhes da metodologia, consultar o documento M24-A, e seguintes informações complementares:
  - a. Preparar suspensão bacteriana, em 4,5 ml de NaCl a 0,85% ou caldo Mueller-Hinton, a partir de crescimento obtido em ágar Middlebrook 7H10, ágar Mueller-

Hinton ou ágar TSA com sangue de carneiro a 5%, com tempo de cultivo não superior a 7 dias.

- b. A linezolida é solubilizada em metanol, e não água.
- c. A solução de tigeciclina pode ser preparada do produto injetável em uso atualmente, sem lactose no liófilo.
- d. Após preparar a diluição da suspensão, reisolar 10 µl em ágar sangue de carneiro a 5%, e incubar a 30 °C por 3 dias, para confirmar a pureza da amostra.
- e. Não liberar resultados sem avaliar a pureza da amostra e o controle de qualidade.
- f. A placa com a cepa *S. aureus* ATCC 29213 deve ser incubada a 35 °C, ar ambiente e lida após 16 a 20 horas. A indicação do uso de *S. aureus* ATCC 29213 e não *M. peregrinum* ATCC 700686 é a inexistência de parâmetros para tigeciclina e definição imprecisa dos limites inferiores para amicacina, ciprofloxacino, claritromicina e sulfametoxazol; entretanto é aconselhável que o laboratório teste esta cepa por um mínimo de quatro vezes de modo a familiarizar-se com o preparo de suspensões de amostras com colônias rugosas, assim como a leitura dos painéis.
- g. O laboratório deve ter documentada a reproduzibilidade do ensaio, com um mínimo de 20 testes com a cepa *S. aureus* ATCC 29213. A validação pode ser considerada adequada se houver no máximo um resultado inadequado por antimicrobiano em um total de 20 placas testadas ou três em um total de 30 placas testadas. O laboratório deverá ter procedimento operacional padrão documentado e registro de treinamento dos colaboradores.
- h. Para painéis preparados no próprio laboratório, o controle de qualidade com a cepa *S. aureus* ATCC 29213 deve ser realizado e documentado a cada bateria de testes com amostras clínicas.
- i. Ao testar a tigeciclina, proteger a placa da exposição à luz durante a preparação e incubação. O caldo Mueller-Hinton deve ser preparado no dia do uso, pois a sua oxidação resulta em CIMs falsamente elevadas. Incluir no laudo a seguinte observação: Não há critérios definidos pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, para interpretação dos testes de susceptibilidade à tigeciclina. Foram

utilizados os critérios interpretativos propostos por Wallace *et al.*, 2002, segundo os quais são consideradas sensíveis isolados com CIMs iguais ou inferiores a 4 µg/ml.

j. As soluções de antimicrobianos devem ser conservadas em temperatura igual ou inferior a -70 °C.

k. Antes de liberar um teste de sensibilidade sempre avaliar se o resultado obtido é compatível com a espécie (Tabela 2).

**Tabela 2- Perfis de Susceptibilidade das Espécies de Micobactérias de Crescimento Rápido mais Prevalentes em Infecções Humanas**

Espécie	Amicacina	Cefoxitina	Ciprofloxacin o	Clarithromic a	Doxiciclina	Imipenem	Linezolida	Sulfametoxazo	Tigeciclina
<i>M. abscessus</i>	S	S	<b>R</b>	S	<b>R</b>	* <sup>1</sup>	S	<b>R</b>	S
<i>M. bolletii</i>	S	V	<b>R</b>	V	<b>R</b>	* <sup>1</sup>	V	<b>R</b>	S
<i>M. chelonae</i> <sup>*2</sup>	S <sup>1</sup>	<b>R</b>	<b>R</b>	S	<b>R</b>	* <sup>1</sup>	S	<b>R</b>	S
<i>M. immunogenum</i>	S	<b>R</b>	<b>R</b>	S	<b>R</b>	* <sup>1</sup>	S	<b>R</b>	S
<i>M. massiliense</i>	S	V	<b>R</b>	S	<b>R</b>	* <sup>1</sup>	V	<b>R</b>	S
<i>M. fortuitum</i>	S	S	<b>S</b>	V	V	S	S	S	S
<i>M. houstonense</i>	S	S	<b>R</b>	<b>R</b>	V	S	S	S	S
<i>M. mucogenicum</i>	S	S	<b>S</b>	S	S	S	S	S	S
<i>M. peregrinum</i>	S	S	<b>S</b>	S	S	S	S	S	S
<i>M. smegmatis</i>	S	S	V	V	V	S	S	S	S
<i>M. wolinskyi</i>	S	S	V	<b>R</b>	V	S	S	S	S

\*<sup>1</sup> - A susceptibilidade ao imipenem não deve ser avaliada rotineiramente, em função de sua labilidade durante incubação por quatro dias, tempo usualmente necessário para permitir leitura do antibiograma de espécies do Grupo *M. chelonae-abscessus*. O imipenem é ativo *in vivo* contra as espécies deste Grupo.

\*<sup>2</sup> - Para *M. chelonae*, a tobramicina é mais ativa, *in vitro*, do que a amicacina.

S – Sensível ( $\geq 90\%$  dos isolados sensíveis); R - Resistente ( $\geq 90\%$  dos isolados resistentes); V - 11 a 89% dos isolados sensíveis.

Fontes: Brown-Elliott & Wallace, 2002 (11); Sampaio *et al.* dados não publicados.

Brasília, 24 de Abril de 2009.

De acordo.

**Gerson Oliveira Penna**

**Filho**

**Agnelo Santos Queiroz**



Secretário de Vigilância em Saúde  
ANVISA

Diretor da



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. **Adekambi, T., P. Berger, D. Raoult, and M. Drancourt.** 2006. *rpoB* gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**:133-43.
2. **Adekambi, T., P. Colson, and M. Drancourt.** 2003. *rpoB*-based identification of nonpigmented and late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *J Clin Microbiol* **41**:5699-708.
3. **Adekambi, T., and M. Drancourt.** 2009. *Mycobacterium bolletii* respiratory infections. *Emerg Infect Dis* **15**:302-5.
4. **Adekambi, T., M. Reynaud-Gaubert, G. Greub, M. J. Gevaudan, B. La Scola, D. Raoult, and M. Drancourt.** 2004. Amoebal coculture of "*Mycobacterium massiliense*" sp. nov. from the sputum of a patient with hemoptoic pneumonia. *J Clin Microbiol* **42**:5493-501.
5. **Baisi, A., M. Nosotti, B. Chella, and L. Santambrogio.** 2005. Relapsing cutaneous *Mycobacterium cheloneae* infection in a lung transplant patient. *Transpl Int* **18**:1117-9.
6. **Bar, T., J. Mishal, A. Lewkowicz, and O. Nahlieli.** 2005. Osteomyelitis of the mandible due to *Mycobacterium abscessus*: a case report. *J Oral Maxillofac Surg* **63**:841-4.
7. **Bartralot, R., R. M. Pujol, V. Garcia-Patos, D. Sitjas, N. Martin-Casabona, P. Coll, A. Alomar, and A. Castells.** 2000. Cutaneous infections due to nontuberculous mycobacteria: histopathological review of 28 cases. Comparative study between lesions observed in immunosuppressed patients and normal hosts. *J Cutan Pathol* **27**:124-9.
8. **Becero, F., J. R. Maestre, V. Buezas, P. Sanchez, L. Martinez, and R. Ortigueira.** 2002. [Keratitis due to *Mycobacterium cheloneae* after refractive surgery with LASIK]. *Enferm Infect Microbiol Clin* **20**:44-5.
9. **Bolan, G., A. L. Reingold, L. A. Carson, V. A. Silcox, C. L. Woodley, P. S. Hayes, A. W. Hightower, L. McFarland, J. W. Brown, 3rd, N. J. Petersen, and et al.** 1985. Infections with *Mycobacterium chelonei* in patients receiving dialysis and using processed hemodialyzers. *J Infect Dis* **152**:1013-9.
10. **Brosch, R., S. V. Gordon, M. Marmiesse, P. Brodin, C. Buchrieser, K. Eiglmeier, T. Garnier, C. Gutierrez, G. Hewinson, K. Kremer, L. M. Parsons, A. S. Pym, S. Samper, D. van Soolingen, and S. T. Cole.** 2002. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**:3684-9.
11. **Brown-Elliott, B. A., and R. J. Wallace, Jr.** 2002. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* **15**:716-46.
12. **Burns, J. L., U. Malhotra, J. Lingappa, and S. Smith.** 1997. Unusual presentations of nontuberculous mycobacterial infections in children. *Pediatr Infect Dis J* **16**:802-6.
13. **Cardoso, A. M., E. Martins de Sousa, C. Viana-Niero, F. Bonfim de Bortoli, Z. C. Pereira das Neves, S. C. Leao, A. P. Junqueira-Kipnis, and**

- A. Kipnis.** 2008. Emergence of nosocomial *Mycobacterium massiliense* infection in Goias, Brazil. *Microbes Infect* **10**:1552-7.
14. **Carson, L. A., L. A. Bland, L. B. Cusick, M. S. Favero, G. A. Bolan, A. L. Reingold, and R. C. Good.** 1988. Prevalence of nontuberculous mycobacteria in water supplies of hemodialysis centers. *Appl Environ Microbiol* **54**:3122-5.
15. **Carson, L. A., N. J. Petersen, M. S. Favero, and S. M. Aguero.** 1978. Growth characteristics of atypical mycobacteria in water and their comparative resistance to disinfectants. *Appl Environ Microbiol* **36**:839-46.
16. **Chadha, R., M. Grover, A. Sharma, A. Lakshmy, M. Deb, A. Kumar, and G. Mehta.** 1998. An outbreak of post-surgical wound infections due to *Mycobacterium abscessus*. *Pediatr Surg Int* **13**:406-10.
17. **Chandra, N. S., M. F. Torres, K. L. Winthrop, D. A. Bruckner, D. G. Heidemann, H. M. Calvet, M. Yakrus, B. J. Mondino, and G. N. Holland.** 2001. Cluster of *Mycobacterium chelonae* keratitis cases following laser in-situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* **132**:819-30.
18. **Chung, M. S., M. H. Goldstein, W. T. Driebe, Jr., and B. H. Schwartz.** 2000. *Mycobacterium chelonae* keratitis after laser in situ keratomileusis successfully treated with medical therapy and flap removal. *Am J Ophthalmol* **129**:382-4.
19. **CLSI.** 2008. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S18. Clinical and Laboratory Standards Institute.
20. **CLSI.** 2003. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard. CLSI document M24-A.
21. **Cullen, A. R., C. L. Cannon, E. J. Mark, and A. A. Colin.** 2000. *Mycobacterium abscessus* infection in cystic fibrosis. Colonization or infection? *Am J Respir Crit Care Med* **161**:641-5.
22. **Cutay, A. M., H. W. Horowitz, R. W. Pooley, K. Van Horn, and G. P. Wormser.** 1998. Infection of epicardial pacemaker wires due to *Mycobacterium abscessus*. *Clin Infect Dis* **26**:520-1.
23. **da Costa Cruz, J. C.** 1938. *Mycobacterium fortuitum*: um novo bacilo ácido-resistente patogênico para o homem (new acid fast bacillus pathogenic for man) *Acta Med. (Rio de Janeiro)* **1**:298-301.
24. **Del-Castillo, M., D. Palmero, B. Lopez, R. Paul, V. Ritacco, P. Bonvehi, L. Clara, M. Ambroggi, L. Barrera, and C. Vay.** 2009. Mesotherapy-associated outbreak caused by *Mycobacterium immunogenum*. *Emerg Infect Dis* **15**:357-9.
25. **Duarte, R. S., M. C. S. Lourenço, L. S. Fonseca, S. C. Leão, E. L. T. Amorim, I. L. L. Rocha, F. S. Coelho, C. Viana-Niero, K. M. Gomes, M. G. Silva, N. S. O. Lorena, M. B. Pitombo, R. M. C. Ferreira, M. H. O. Garcia, O. Lupi, B. R. Vilaça, L. R. Serradas, A. Chebabo, E. A. Marques, L. M. Teixeira, M. Dalcolmo, S. G. Senna, and J. L. M. Sampaio.** 2009. An Epidemic of Post-Surgical Infections Caused by *Mycobacterium massiliense* *J Clin Microbiol Accepted*.
26. **Dytoc, M. T., L. Honish, C. Shandro, P. T. Ting, L. Chui, L. Fiorillo, J. Robinson, A. Fanning, G. Preedy, and R. P. Rennie.** 2005. Clinical,



- microbiological, and epidemiological findings of an outbreak of *Mycobacterium abscessus* hand-and-foot disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*.
27. **Ellis, E. N., G. E. Schutze, and J. G. Wheeler.** 2005. Nontuberculous mycobacterial exit-site infection and abscess in a peritoneal dialysis patient. A case report and review of the literature. *Pediatr Nephrol* **20**:1016-8.
28. **Ena, P., L. A. Sechi, P. Molicotti, S. Ortu, and S. Zanetti.** 2005. Cutaneous *Mycobacterium chelonae* I infection extending in the lower extremities in a renal transplanted patient. *J Eur Acad Dermatol Venereol* **19**:504-5.
29. **Euzéby, J. P.** 2008. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature - Genus *Mycobacterium*.
30. **Falkinham, J. O., 3rd.** 2002. Nontuberculous mycobacteria in the environment. *Clin Chest Med* **23**:529-51.
31. **Fischeder, R., R. Schulze-Robbecke, and A. Weber.** 1991. Occurrence of mycobacteria in drinking water samples. *Zentralbl Hyg Umweltmed* **192**:154-8.
32. **Fraser, V. J., M. Jones, P. R. Murray, G. Medoff, Y. Zhang, and R. J. Wallace, Jr.** 1992. Contamination of flexible fiberoptic bronchosopes with *Mycobacterium chelonae* linked to an automated bronchoscope disinfection machine. *Am Rev Respir Dis* **145**:853-5.
33. **Fraud, S., A. C. Hann, J. Y. Maillard, and A. D. Russell.** 2003. Effects of ortho-phthalaldehyde, glutaraldehyde and chlorhexidine diacetate on *Mycobacterium chelonae* and *Mycobacterium abscessus* strains with modified permeability. *J Antimicrob Chemother* **51**:575-84.
34. **Fraud, S., J. Y. Maillard, and A. D. Russell.** 2001. Comparison of the mycobactericidal activity of ortho- phthalaldehyde, glutaraldehyde and other dialdehydes by a quantitative suspension test. *J Hosp Infect* **48**:214-21.
35. **Freitas, D., L. Alvarenga, J. Sampaio, M. Mannis, E. Sato, L. Sousa, L. Vieira, M. C. Yu, M. C. Martins, A. Hoffling-Lima, and R. Belfort, Jr.** 2003. An outbreak of *Mycobacterium chelonae* infection after LASIK. *Ophthalmology* **110**:276-85.
36. **Galil, K., L. A. Miller, M. A. Yakrus, R. J. Wallace, Jr., D. G. Mosley, B. England, G. Huitt, M. M. McNeil, and B. A. Perkins.** 1999. Abscesses due to *Mycobacterium abscessus* linked to injection of unapproved alternative medication. *Emerg Infect Dis* **5**:681-7.
37. **Garg, P., A. K. Bansal, S. Sharma, and G. K. Vemuganti.** 2001. Bilateral infectious keratitis after laser in situ keratomileusis: a case report and review of the literature. *Ophthalmology* **108**:121-5.
38. **Gelender, H., H. L. Carter, B. Bowman, W. E. Beebe, and G. R. Walters.** 2000. *Mycobacterium* keratitis after laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* **16**:191-5.
39. **Gillespie, T. G., L. Hogg, E. Budge, A. Duncan, and J. E. Coia.** 2000. *Mycobacterium chelonae* isolated from rinse water within an endoscope washer-disinfector. *J Hosp Infect* **45**:332-4.
40. **Grange, J. M.** 1992. Mycobacterial infections following heart valve replacement. *J Heart Valve Dis* **1**:102-9.
41. **Griffith, D. E., T. Aksamit, B. A. Brown-Elliott, A. Catanzaro, C. Daley, F. Gordin, S. M. Holland, R. Horsburgh, G. Huitt, M. F. Iademarco, M.**

- Iseman, K. Olivier, S. Ruoss, C. F. von Reyn, R. J. Wallace, Jr., and K. Winthrop.** 2007. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* **175**:367-416.
42. **Griffith, D. E., W. M. Girard, and R. J. Wallace, Jr.** 1993. Clinical features of pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. An analysis of 154 patients. *Am Rev Respir Dis* **147**:1271-8.
43. **Hsueh, P. R., L. J. Teng, P. C. Yang, Y. C. Chen, S. W. Ho, and K. T. Luh.** 1998. Recurrent catheter-related infection caused by a single clone of *Mycobacterium chelonae* with two colonial morphotypes. *J Clin Microbiol* **36**:1422-4.
44. **Jorge Sdo, C., F. A. Gondim, A. S. Arnoni, M. M. Zamorano, O. Garcia Dde, and J. E. Sousa.** 1994. [Endocarditis due to *Mycobacterium chelonei* in a valvular prosthesis]. *Arq Bras Cardiol* **63**:121-5.
45. **Kelley, L. C., K. C. Deering, and E. T. Kaye.** 1995. Cutaneous *Mycobacterium chelonei* presenting in an immunocompetent host: case report and review of the literature. *Cutis* **56**:293-5.
46. **Kleinpeter, M. A., and N. K. Krane.** 2001. Treatment of mycobacterial exit-site infections in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial* **17**:172-5.
47. **Kohnen, T., D. Schopfer, J. Buhren, and K. P. Hunfeld.** 2003. [Flap Amputation in *Mycobacterium chelonae* Keratitis after Laser-in-situ Keratomileusis (LASIK)]. *Klin Monatsbl Augenheilkd* **220**:634-7.
48. **Kressel, A. B., and F. Kidd.** 2001. Pseudo-outbreak of *Mycobacterium chelonae* and *Methylobacterium mesophilicum* caused by contamination of an automated endoscopy washer. *Infect Control Hosp Epidemiol* **22**:414-8.
49. **Kubica, G. P., I. Baess, R. E. Gordon, P. A. Jenkins, J. B. G. Kwapinski, C. McDurmott, S. R. Pattyn, H. saito, V. Silcox, J. L. Stanford, K. Takeya, and M. Tsukamura.** 1972. A co-operative numerical analysis of rapidly growing mycobacteria. *J. Gen. Microbiol.* **73**:55-70.
50. **Kubica, G. P., R. E. Beam, and J. W. Palmer.** 1963. A Method for the Isolation of Unclassified Acid-Fast Bacilli from Soil and Water. *Am Rev Respir Dis* **88**:718-20.
51. **Kusunoki, S., and T. Ezaki.** 1992. Proposal of *Mycobacterium peregrinum* sp. nov., nom. rev., and elevation of *Mycobacterium chelonae* subsp. *abscessus* (Kubica et al.) to species status: *Mycobacterium abscessus* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* **42**:240-5.
52. **Le Dantec, C., J. P. Duguet, A. Montiel, N. Dumoutier, S. Dubrou, and V. Vincent.** 2002. Chlorine disinfection of atypical mycobacteria isolated from a water distribution system. *Appl Environ Microbiol* **68**:1025-32.
53. **Le Dantec, C., J. P. Duguet, A. Montiel, N. Dumoutier, S. Dubrou, and V. Vincent.** 2002. Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution systems. *Appl Environ Microbiol* **68**:5318-25.
54. **Leoni, E., P. Legnani, M. T. Mucci, and R. Pirani.** 1999. Prevalence of mycobacteria in a swimming pool environment. *J Appl Microbiol* **87**:683-8.

55. **Levendoglu-Tugal, O., J. Munoz, A. Brudnicki, M. Fevzi Ozkaynak, C. Sandoval, and S. Jayabose.** 1998. Infections due to nontuberculous mycobacteria in children with leukemia. *Clin Infect Dis* **27**:1227-30.
56. **Lévy-Frébault, V., F. Grimont, P. A. D. Grimont, and H. L. David.** 1986. Deoxyribonucleic acid relatedness study of the *Mycobacterium fortuitum*-*Mycobacterium chelonae* complex. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **36**:458-460.
57. **Liao, C. H., M. Y. Chen, S. M. Hsieh, W. H. Sheng, C. C. Hung, and S. C. Chang.** 2004. Discontinuation of secondary prophylaxis in AIDS patients with disseminated non-tuberculous mycobacteria infection. *J Microbiol Immunol Infect* **37**:50-6.
58. **Lowry, P. W., C. M. Beck-Sague, L. A. Bland, S. M. Aguero, M. J. Arduino, A. N. Minuth, R. A. Murray, J. M. Swenson, and W. R. Jarvis.** 1990. *Mycobacterium chelonae* infection among patients receiving high-flux dialysis in a hemodialysis clinic in California. *J Infect Dis* **161**:85-90.
59. **McWhinney, P. H., M. Yates, H. G. Prentice, M. Thrussell, S. H. Gillespie, and C. C. Kibbler.** 1992. Infection caused by *Mycobacterium chelonae*: a diagnostic and therapeutic problem in the neutropenic patient. *Clin Infect Dis* **14**:1208-12.
60. **Meredith, F. T., and D. J. Sexton.** 1996. *Mycobacterium abscessus* osteomyelitis following a plantar puncture wound. *Clin Infect Dis* **23**:651-3.
61. **Meyers, H., B. A. Brown-Elliott, D. Moore, J. Curry, C. Truong, Y. Zhang, and R. J. Wallace Jr.** 2002. An outbreak of *Mycobacterium chelonae* infection following liposuction. *Clin Infect Dis* **34**:1500-7.
62. **Ministério\_da\_Saúde.** 2008. Recomendações para Terapia Anti-retroviral em Adultos Infectados pelo HIV, 7th ed. Ministério da Saúde, [http://www.aids.gov.br/data/documents/storedDocuments/%7BB8EF5DAF-23AE-4891-AD36-1903553A3174%7D/%7B762E0EBF-A859-4779-8A92-704EB1F3B290%7D/consensoAdulto005c\\_2008montado.pdf](http://www.aids.gov.br/data/documents/storedDocuments/%7BB8EF5DAF-23AE-4891-AD36-1903553A3174%7D/%7B762E0EBF-A859-4779-8A92-704EB1F3B290%7D/consensoAdulto005c_2008montado.pdf).
63. **Miyasaka, T., H. Kunishima, M. Komatsu, K. Tamai, K. Mitsutake, K. Kanemitsu, Y. Ohisa, H. Yanagisawa, and M. Kaku.** 2007. In vitro efficacy of imipenem in combination with six antimicrobial agents against *Mycobacterium abscessus*. *Int J Antimicrob Agents* **30**:255-8.
64. **Moore, J. S., M. Christensen, R. W. Wilson, R. J. Wallace, Jr., Y. Zhang, D. R. Nash, and B. Shelton.** 2000. Mycobacterial contamination of metalworking fluids: involvement of a possible new taxon of rapidly growing mycobacteria. *Aihaj* **61**:205-13.
65. **Moore, M., and J. B. Frerichs.** 1953. An unusual acid-fast infection of the knee with subcutaneous, abscess-like lesions of the gluteal region; report of a case with a study of the organism, *Mycobacterium abscessus*, n. sp. *J Invest Dermatol* **20**:133-69.
66. **Morgan, J. K., and R. Blowers.** 1964. Swimming-Pool Granuloma in Britain. *Lancet* **37**:1034-6.
67. **Pache, M., I. Schipper, J. Flammer, and P. Meyer.** 2003. Unilateral fungal and mycobacterial keratitis after simultaneous laser in situ keratomileusis. *Cornea* **22**:72-5.
68. **Padoveze, M. C., C. M. Fortaleza, M. P. Freire, D. Brandao de Assis, G. Madalosso, A. C. Pellini, M. L. Cesar, V. Pisani Neto, M. M. Beltramelli, E.**

- Chimara, L. Ferrazoli, M. A. da Silva Telles, J. L. Sampaio, and S. C. Leao.** 2007. Outbreak of surgical infection caused by non-tuberculous mycobacteria in breast implants in Brazil. *J Hosp Infect* **67**:161-7.
69. **Peloquin, C. A., S. E. Berning, A. T. Nitta, P. M. Simone, M. Goble, G. A. Huitt, M. D. Iseman, J. L. Cook, and D. Curran-Everett.** 2004. Aminoglycoside toxicity: daily versus thrice-weekly dosing for treatment of mycobacterial diseases. *Clin Infect Dis* **38**:1538-44.
70. **Perera, J., and D. M. Arachchi.** 1999. The optimum relative centrifugal force and centrifugation time for improved sensitivity of smear and culture for detection of *Mycobacterium tuberculosis* from sputum. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **93**:405-9.
71. **Pruitt, T. C., L. O. Hughes, R. D. Blasier, R. E. McCarthy, C. M. Glasier, and G. J. Roloson.** 1993. Atypical mycobacterial vertebral osteomyelitis in a steroid-dependent adolescent. A case report. *Spine* **18**:2553-5.
72. **Reali, D., M. G. Deriu, P. Baldi, A. Baggiani, and B. Pinto.** 2004. [Mycobacteria in swimming pool water and the meaning of microbiological conventional indicators]. *Ann Ig* **16**:247-53.
73. **Repath, F., J. H. Seabury, C. V. Sanders, and J. Domer.** 1976. Prosthetic valve endocarditis due to *Mycobacterium chelonei*. *South Med J* **69**:1244-6.
74. **Reviglio, V., M. L. Rodriguez, G. S. Picotti, M. Paradello, J. D. Luna, and C. P. Juarez.** 1998. *Mycobacterium chelonae* keratitis following laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* **14**:357-60.
75. **Robicsek, F., P. C. Hoffman, T. N. Masters, H. K. Daugherty, J. W. Cook, J. G. Selle, C. U. Mauney, and P. Hinson.** 1988. Rapidly growing nontuberculous mycobacteria: a new enemy of the cardiac surgeon. *Ann Thorac Surg* **46**:703-10.
76. **Sampaio, J. L., E. Chimara, L. Ferrazoli, M. A. da Silva Telles, V. M. Del Guercio, Z. V. Jerico, K. Miyashiro, C. M. Fortaleza, M. C. Padoveze, and S. C. Leao.** 2006. Application of four molecular typing methods for analysis of *Mycobacterium fortuitum* group strains causing post-mammaplasty infections. *Clin Microbiol Infect* **12**:142-9.
77. **Sampaio, J. L., D. N. Junior, D. de Freitas, A. L. Hofling-Lima, K. Miyashiro, F. L. Alberto, and S. C. Leao.** 2006. An outbreak of keratitis caused by *Mycobacterium immunogenum*. *J Clin Microbiol* **44**:3201-7.
78. **Sampaio, J. L., C. Viana-Niero, D. de Freitas, A. L. Hofling-Lima, and S. C. Leao.** 2006. Enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR is a useful tool for typing *Mycobacterium chelonae* and *Mycobacterium abscessus* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* **55**:107-18.
79. **Satta, R., F. Cottoni, P. Molicotti, A. Lissia, and D. Cerimele.** 2002. Cutaneous *Mycobacterium chelonae* infection in a presumably immunocompetent host. *Acta Derm Venereol* **82**:156-7.
80. **Selvaraju, S. B., I. U. Khan, and J. S. Yadav.** 2005. A new method for species identification and differentiation of *Mycobacterium chelonae* complex based on amplified *hsp65* restriction analysis (AHSPRA). *Mol Cell Probes* **19**:93-9.

81. **Silcox, V. A., R. C. Good, and M. M. Floyd.** 1981. Identification of clinically significant *Mycobacterium fortuitum* complex isolates. *J Clin Microbiol* **14**:686-91.
82. **Simmon, K. E., J. I. Pounder, J. N. Greene, F. Walsh, C. M. Anderson, S. Cohen, and C. A. Petti.** 2007. Identification of an emerging pathogen, *Mycobacterium massiliense*, by *rpoB* sequencing of clinical isolates collected in the United States. *J Clin Microbiol* **45**:1978-80.
83. **Siu, Y. P., K. T. Leung, M. K. Tong, and M. K. Lee.** 2005. *Mycobacterium chelonae* exit site infection in a patient on peritoneal dialysis. *Clin Nephrol* **63**:321-4.
84. **Stanford, J. L., S. R. Pattyn, F. Portaels, and W. J. Gunthorpe.** 1972. Studies of *Mycobacterium chelonei*. *J. Med. Microbiol.* **5**:177-182.
85. **Steingrube, V. A., R. J. Wallace, Jr., L. C. Steele, and Y. J. Pang.** 1991. Mercuric reductase activity and evidence of broad-spectrum mercury resistance among clinical isolates of rapidly growing mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother* **35**:819-23.
86. **Stelzmueller, I., K. M. Dunst, S. Wiesmayr, R. Zangerle, P. Hengster, and H. Bonatti.** 2005. *Mycobacterium chelonae* skin infection in kidney-pancreas recipient. *Emerg Infect Dis* **11**:352-4.
87. **Takigawa, K., J. Fujita, K. Negayama, S. Terada, S. Yamaji, K. Kawanishi, and J. Takahara.** 1995. Eradication of contaminating *Mycobacterium chelonae* from bronchofibrescopes and an automated bronchoscope disinfection machine. *Respir Med* **89**:423-7.
88. **Telenti, A., F. Marchesi, M. Balz, F. Bally, E. C. Bottger, and T. Bodmer.** 1993. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* **31**:175-8.
89. **Tiwari, T. S., B. Ray, K. C. Jost, Jr., M. K. Rathod, Y. Zhang, B. A. Brown-Elliott, K. Hendricks, and R. J. Wallace, Jr.** 2003. Forty years of disinfectant failure: outbreak of postinjection *Mycobacterium abscessus* infection caused by contamination of benzalkonium chloride. *Clin Infect Dis* **36**:954-62.
90. **Vess, R. W., R. L. Anderson, J. H. Carr, W. W. Bond, and M. S. Favero.** 1993. The colonization of solid PVC surfaces and the acquisition of resistance to germicides by water micro-organisms. *J Appl Bacteriol* **74**:215-21.
91. **Viana-Niero, C., K. V. Lima, M. L. Lopes, M. C. Rabello, L. R. Marsola, V. C. Brilhante, A. M. Durham, and S. C. Leao.** 2008. Molecular characterization of *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* in isolates collected from outbreaks of infections after laparoscopic surgeries and cosmetic procedures. *J Clin Microbiol* **46**:850-5.
92. **Villanueva, A., R. V. Calderon, B. A. Vargas, F. Ruiz, S. Aguero, Y. Zhang, B. A. Brown, and R. J. Wallace, Jr.** 1997. Report on an outbreak of postinjection abscesses due to *Mycobacterium abscessus*, including management with surgery and clarithromycin therapy and comparison of strains by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* **24**:1147-53.
93. **Wallace Jr, R. J., Jr., Y. Zhang, R. W. Wilson, L. Mann, and H. Rossmoore.** 2002. Presence of a single genotype of the newly described species *Mycobacterium immunogenum* in industrial metalworking fluids

- associated with hypersensitivity pneumonitis. *Appl Environ Microbiol* **68**:5580-4.
94. **Wallace, R. J., Jr., G. Bedsole, G. Sumter, C. V. Sanders, L. C. Steele, B. A. Brown, J. Smith, and D. R. Graham.** 1990. Activities of ciprofloxacin and ofloxacin against rapidly growing mycobacteria with demonstration of acquired resistance following single-drug therapy. *Antimicrob Agents Chemother* **34**:65-70.
95. **Wallace, R. J., Jr., B. A. Brown, and D. E. Griffith.** 1998. Nosocomial outbreaks/pseudo-outbreaks caused by nontuberculous mycobacteria. *Annu Rev Microbiol* **52**:453-90.
96. **Wallace, R. J., Jr., B. A. Brown, and G. O. Onyi.** 1992. Skin, soft tissue, and bone infections due to *Mycobacterium chelonae chelonae*: importance of prior corticosteroid therapy, frequency of disseminated infections, and resistance to oral antimicrobials other than clarithromycin. *J Infect Dis* **166**:405-12.
97. **Wallace, R. J., Jr., J. M. Swenson, V. A. Silcox, R. C. Good, J. A. Tschen, and M. S. Stone.** 1983. Spectrum of disease due to rapidly growing mycobacteria. *Rev Infect Dis* **5**:657-79.
98. **Wallace, R. J., Jr., D. Tanner, P. J. Brennan, and B. A. Brown.** 1993. Clinical trial of clarithromycin for cutaneous (disseminated) infection due to *Mycobacterium chelonae*. *Ann Intern Med* **119**:482-6.
99. **Ward, M. S., K. V. Lam, P. K. Cannell, and R. P. Herrmann.** 1999. Mycobacterial central venous catheter tunnel infection: a difficult problem. *Bone Marrow Transplant* **24**:325-9.
100. **Wayne, L. G., and G. P. Kubica.** 1986. The Mycobacteria, p. 1435-1457. In P. H. A. Sneath (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore.
101. **Wilson, R. W., V. A. Steingrube, E. C. Bottger, B. Springer, B. A. Brown-Elliott, V. Vincent, K. C. Jost, Jr., Y. Zhang, M. J. Garcia, S. H. Chiu, G. O. Onyi, H. Rossmoore, D. R. Nash, and R. J. Wallace, Jr.** 2001. *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* **51**:1751-64.
102. **Woods, G. L., J. S. Bergmann, F. G. Witebsky, G. A. Fahle, B. Boulet, M. Plaunt, B. A. Brown, R. J. Wallace, Jr., and A. Wanger.** 2000. Multisite reproducibility of Etest for susceptibility testing of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, and *Mycobacterium fortuitum*. *J Clin Microbiol* **38**:656-61.
103. **Yang, K. S., Y. F. Chen, K. K. Lin, and C. H. Hsiao.** 2005. *Mycobacterium* keratitis after laser in situ keratomileusis. *Cornea* **24**:344-6.

## ANEXO I

[http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id\\_aplicacao=1826](http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=1826)

### NOTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO RELACIONADA À ASSISTÊNCIA À SAÚDE POR MICOBACTERIOSE NÃO TUBERCULOSA (PROFISSIONAL DE SAÚDE )

#### Dados Gerais

##### Informações gerais do notificador

1) Notificador:

2) Data da Notificação: \*

3) Estado: \*

4) Unidade de Saúde (ou  
outra fonte notificadora):

#### Dados do Caso

##### 3.1 Suspeito

Paciente submetido a procedimentos invasivos que apresente dois ou mais sinais referidos como clínica compatível.

##### 3.2 Possível

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito, mas sem investigação laboratorial, e que respondeu ao tratamento específico para micobactérias.

##### 3.3 Provável

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito e que apresente granulomas em tecido obtido de ferida cirúrgica ou tecidos adjacentes, OU baciloscopia positiva, mas cultura negativa para micobactéria .

##### 3.4 Confirmado

Paciente que preenche os critérios de caso suspeito e apresenta cultura, da ferida cirúrgica ou tecidos adjacentes, positiva para micobactéria.



**5) Nome do paciente: \***

Inserir o nome completo  
do paciente infectado/sob  
suspeita de infecção por  
MCR

**6) Data de Nascimento: \***

Dia/Mês/Ano 99/99/9999

**7) Endereço completo:**

Inserir o endereço  
completo

**8) Data do procedimento: \***

Inserir a data do  
procedimento

**9) Data dos Primeiros**

Sintomas: \*

**10) Doenças pre-existentes:**

Pode-se marcar mais de uma  
alternativa (CTRL + opção)

Nenhuma  
Diabetes  
Imunossupressão  
Renal crônico  
Outras

**11) Especialidade relacionada  
à infecção: \***

Indicar o sítio principal (ex.:  
oftalmologia)

**12) Infecção de sítio cirúrgico:**

Sítio específico para infecção  
cirúrgica

**13) Procedimento realizado: \***

**14) Via de acesso:**

Indicar a via de acesso. Ex.:

- Video
- Convencional



(mesoerapia = não se aplica)

- Ambas
- Ignorado
- Não se aplica

**15) Nome do cirurgião: \***

Inserir o nome completo do profissional que realizou o procedimento

**16) CRM do cirurgião:**

Inserir o número da inscrição no conselho regional do médico que fez o procedimento (procure na receita - carimbo do médico)

**17) Estado: \***

Inserir o Estado (UF) de inscrição do médico (Ex.: CRM 111/UF)

#### **Dados Institucionais**

**18) Nome da instituição que realizou o procedimento: \***

**19) Caráter do Hospital:**

Especificar o tipo de atendimento do paciente no local do procedimento

(ex.: operou em hosp. privado, filantrópico, estadual...)

**20) Município: \***

**21) Estado:**

Local de realização do procedimento

**22) Código (IBGE):**

#### **Dados da instituição do procedimento realizado**

**23) CNES ou CNPJ:**



**24) Endereço: \***

(rua, avenida,...)

**25) Telefone:**

**Informe ddd e número - apenas  
números**

### **Clínica e Laboratório**

**26) Sinais e Sintomas: \***

- Febre**
- Hiperemia (vermelhidão)**
- Hipertemia (calor)**
- Edema (inchaço)**
- Vesículas (bolhas)**
- Nódulos (tumorações)**
- Fistulização (drenagem)**
- Secreção (serosa -  
piosanguinolenta)**
- Difícil cicatrização**

### **Clínica e Laboratório**

**27) Definição de caso: \***

### **Clínica e Laboratório**

**28) Coletada amostra clínica? \***

- Sim**
- Não**
- Ignorado**



## Clínica e Laboratório

29) Nome do laboratório:

Indicar o nome do laboratório (endereço, telefone...) que recebeu a amostra clínica

## Tratamento

30) Tratamento iniciado? \*

- Sim
- Não
- Ignorado

## Tratamento

31) Esquema terapêutico: \*

Indicar o último esquema terapêutico adotado. Se o último esquema utilizado não tiver sido iniciado na mesma data do tratamento, indicar no campo observação (último campo)

## Processamento

32) Os materiais de videocirurgias são reprocessados?

- Sim
- Não
- Ignorado

33) O instrumental de vídeo é exclusivo da instituição?

- Sim
- Não



Ignorado

**34) Número médio do procedimento por mês:**

**Conclusão**

**35) Conclusão:**

**Indicar a evolução do caso**

**36) Classificação final do caso: \***

**Devem ser marcadas as opções necessárias para classificação do caso, conforme a definição de caso confirmado**

Confirmado por laboratório
Confirmado por Clínica
Confirmado por vínculo epidemiológico
Descartado

**Investigador**

**37) Nome:**

**38) Função:**

**39) E-mail: \***

**40) Observações:**

---