

# Incremento da baciloscopia no diagnóstico de tuberculose pulmonar em pessoas privadas de liberdade

## Increment of the microscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in inmates

José Luiz de Oliveira Magalhães<sup>1</sup>

Ana Albertina de Araújo<sup>2</sup>

Leonardo Oliveira da Silva<sup>2</sup>

Ilyana Oliveira Coutinho<sup>3</sup>

Juliana Figueiredo da Costa Lima<sup>4</sup>

Alzira Maria Paiva de Almeida<sup>5</sup>

Nilma Cintra Lea<sup>1</sup>

### Resumo

**Objetivo:** Avaliar um procedimento de fácil execução e baixo custo para incrementar o diagnóstico da tuberculose entre pessoas privadas de liberdade sem riscos de contaminação para profissionais de laboratório. **Métodos:** Amostras de escarro foram analisadas por baciloscopia após tratamento com hipoclorito de sódio e sedimentação espontânea em comparação à baciloscopia direta convencional, cultura pelo método Ogawa-Kudoh e o teste molecular rápido pelo sistema Xpert®/MTB/RIF. Para as análises estatísticas foram empregados os programas Open Epi e SPSS. **Resultados:** De 436 amostras de escarro submetidas ao cultivo 71 foram positivas (verdadeiros positivos) e dessas 50 foram positivas pela baciloscopia direta convencional e 67 pela baciloscopia do escarro processado, o que corresponde a um incremento de 29% na positividade. **Conclusão:** O procedimento proposto preserva as vantagens e aumenta a sensibilidade da baciloscopia direta convencional. A implementação dessa técnica para diagnóstico entre grupos vulneráveis em locais de acesso e recursos limitados poderá aumentar a identificação de casos de tuberculose pulmonar.

### Palavras-chave

Tuberculose; Escarro; *Mycobacterium tuberculosis*; Diagnóstico; Prisioneiros

## INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença infecciosa, predominantemente pulmonar, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* mas pode acometer outros tecidos e órgãos. Por ser de transmissão aérea o *M. tuberculosis* é facilmente disseminado em aglomeração de pessoas. O doente com tuberculose das vias respiratórias (pulmonar ou laríngea) expõe os microrganismos em forma de aerossóis principalmente através da tosse. O portador bacilífero é a principal fonte de infecção, exigindo que, para o controle da doença, esses indivíduos sejam diagnosticados e tratados precocemente.<sup>(1)</sup>

Diagnosticar e tratar a tuberculose pulmonar bacilífera são importantes ações para o controle da doença, mas isto não tem sido atingido plenamente nos países que concentram o maior número de casos devido às fragilidades dos sistemas de saúde. Estima-se que, mundialmente, há 2 a 3 bilhões de infectados e, desses, 5%-15% vão desenvolver a tuberculose durante a vida.<sup>(2)</sup> Nos imunossuprimidos, como

as pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), a probabilidade de adoecimento aumenta 8% a 10% ao ano.<sup>(3,4)</sup>

A tuberculose pulmonar é curável na maioria dos casos, mas ainda persiste como um grave problema de saúde global, principalmente para os grupos mais vulneráveis. No Brasil, esses grupos são as populações indígenas, as pessoas em situação de rua, as pessoas privadas de liberdade pelas precárias condições de vida e os infectados pelo HIV.<sup>(4-6)</sup> O risco de adoecimento e a mortalidade por tuberculose pulmonar nas populações carcerárias é maior que na população geral, principalmente quando associada com o HIV.<sup>(3,4,6)</sup>

O diagnóstico laboratorial da tuberculose é realizado comumente pela baciloscopia direta, pela cultura e, na última década, vêm se destacando os testes moleculares rápidos automatizados. Entretanto, muitos casos são diagnosticados apenas por critérios clínicos sem confirmação bacteriológica. Esse tipo de triagem, por ser de baixa especificidade e sensibilidade, pode induzir a diagnósticos

<sup>1</sup>Doutorado em Ciências Biológicas; Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Fiocruz PE, Departamento de Microbiologia, Campus da UFPE - Recife-PE, Brasil.

<sup>2</sup>Graduação em Biomedicina; Laboratório Municipal de Saúde Pública (LMSP), Brasil.

<sup>3</sup>Especialização em Saúde Ambiental Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Fiocruz PE, Departamento de Imunologia, Campus da UFPE - Recife-PE, Brasil.

<sup>4</sup>Doutorado em Clínica Médica Instituto Aggeu Magalhães (IAM) Fiocruz PE, Departamento de Imunologia, Campus da UFPE - Recife-PE, Brasil.

<sup>5</sup>Doutorado em Microbiologia; Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Fiocruz PE, Departamento de Microbiologia, Campus da UFPE - Recife-PE, Brasil.

Instituição: Instituto Aggeu Magalhães (IAM) – Fiocruz PE, Departamento de Microbiologia - Campus da UFPE - Recife-PE, Brasil.

Recebido em 28/03/2018

Artigo aprovado em 06/11/2018

DOI: 10.21877/2448-3877.201800690

falso-positivos e conseqüente tratamento indevido, ou falso-negativos, levando à evolução de quadros mais graves por falta do tratamento.<sup>(2,7)</sup>

No Brasil, desde 2013, o Ministério da Saúde (MS), pelo Programa Nacional de Controle da Tuberculose, vem implantando, em várias regiões, um teste molecular rápido (TMR), o Xpert®MTB/RIF, para detecção do *M. tuberculosis* e resistência à rifampicina. No entanto, os laboratórios de saúde pública, em sua grande maioria, são estruturalmente inadequados para a implantação de metodologias mais complexas e onerosas.<sup>(8,9)</sup> Portanto, apesar da grande importância da detecção de casos de tuberculose, ainda não existe uma ferramenta totalmente eficaz.<sup>(10)</sup>

Assim, nosso objetivo foi avaliar um procedimento de fácil execução e baixo custo para incrementar o rendimento da baciloscopia direta convencional no diagnóstico da tuberculose pulmonar em pessoas privadas de liberdade, sem riscos de contaminação para os profissionais de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, prospectivo, para avaliação da acurácia da baciloscopia em amostras de escarro processado em comparação com três métodos usuais de diagnóstico da tuberculose pulmonar. Foi selecionada uma amostra não probabilística, por conveniência, de escarros de sintomáticos respiratórios. As amostras foram provenientes do Laboratório Municipal de Saúde Pública da Prefeitura da Cidade do Recife, Pernambuco, Brasil, obtidas de pessoas privadas de liberdade das unidades prisionais situadas na Região Metropolitana do Recife, no período de julho/2015 a março/2016.

No Laboratório Municipal de Saúde Pública, as amostras foram analisadas pelo teste molecular rápido no sistema Xpert®MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, USA) de acordo com o protocolo do fabricante e preconizado pelo Ministério da Saúde<sup>(8,9)</sup> e em seguida processadas para cultura pelo método Ogawa-Kudoh (O-K).<sup>(10)</sup> Os recipientes com o restante das amostras de escarro foram encaminhados ao Instituto Aggeu Magalhães (IAM), Fiocruz, PE, para pesquisa de BAAR (bacilo álcool-ácido resistente) pela baciloscopia direta convencional conforme procedimentos usuais<sup>(11)</sup> e baciloscopia no escarro processado.<sup>(12)</sup> A sequência dos procedimentos realizados com as amostras está sumarizada no fluxograma (Figura 1).

### Baciloscopia no escarro processado

O procedimento foi realizado como descrito.<sup>(12)</sup> Em resumo, adicionou-se hipoclorito comercial de 2,0 a 2,5% em um volume correspondente a duas vezes o volume da amostra de escarro restante no coletor (mínimo de 1 mL). O

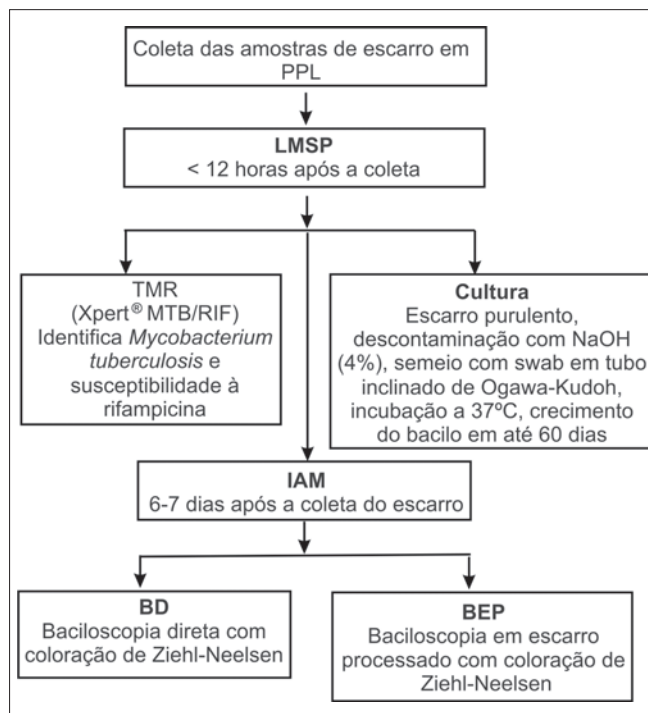


Figura 1. Fluxograma adotado para as análises das amostras de escarro para diagnóstico de tuberculose pulmonar em pessoas privadas de liberdade.

recipiente foi completamente rosqueado e agitado vigorosamente e deixado em repouso por no mínimo 10 minutos à temperatura ambiente para inativação do *M. tuberculosis* e outras bactérias contaminantes e diminuir o risco de formação de aerossóis. Em seguida, o material foi transferido para um tubo tipo Falcon de 15mL com tampa rosqueável e novamente homogeneizado. Após repouso por 12 a 18 horas, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento utilizado para confecção do esfregaço. Para isso, o tubo foi invertido sobre a lâmina até completo escoamento do sedimento, que foi em seguida espalhado pela superfície da lâmina usando-se a própria boca do tubo. Após secagem do esfregaço à temperatura ambiente e fixação em chama direta realizou-se a coloração de Ziehl-Neelsen<sup>(11)</sup> com redução do tempo de coloração com a fucsina fenicada para três minutos.<sup>(12)</sup> A leitura das lâminas foi realizada em microscópio ótico com objetiva de imersão considerando resultados negativos quando nenhum BAAR era encontrado em 100 campos e positivos quando encontrados > 1-9 BAAR, em 100 campos.<sup>(2,7,11)</sup>

### Análise estatística

Os resultados foram introduzidos num banco de dados construído no programa SPSS 20.0 for Windows. Foi calculada a acurácia (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e precisão) da metodologia em estudo pelo programa Open Epi<sup>(13)</sup> e pelo próprio SPSS. Foram considerados padrão-ouro a cultura e o teste molecular rápido.

### Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fiocruz PE (CAAE-0022.0.095.000-11) e teve a anuência da Secretaria Municipal de Saúde de Recife, PE.

## RESULTADOS

Foram analisadas 436 amostras de escarro para avaliar a acurácia da baciloscopia em escarro processado pelo tratamento químico com hipoclorito comercial e sedimentação espontânea, em comparação com a baciloscopia convencional, a cultura e o teste molecular rápido.

O teste molecular rápido foi positivo em 18,6% (81/436), na cultura houve crescimento de *M. tuberculosis* em 16,3% (71/436) e sete (1,6%) revelaram-se contaminadas, a baciloscopia convencional foi positiva em apenas 12,6% (55/436) e a do escarro processado foi positiva em 16,3% (71/436) das amostras. Não foi observada resistência à rifampicina nas amostras positivas para *M. tuberculosis* pelo teste molecular rápido no sistema Xpert®MTB/RIF.

A baciloscopia convencional identificou BAAR em 50 das 71 amostras positivas por cultura (considerados verdadeiros positivos) e a do escarro processado em 62 das 71, o que corresponde a uma sensibilidade de 87% (62/71) e significa um incremento de 24% na positividade em comparação com a baciloscopia convencional (Tabela 1).

A baciloscopia do escarro processado foi positiva em mais cinco amostras que foram negativas na baciloscopia convencional e na cultura, totalizando 67 amostras positivas, que corresponde à sensibilidade de 94% (67/71) e um incremento de 29%.

Na comparação do desempenho dos métodos avaliados em relação às 71 culturas positivas (verdadeiros positivos), a sensibilidade da baciloscopia direta convencional foi de 70%, da baciloscopia do escarro processado 87% e do teste molecular rápido 89% (Tabela 1).

Tendo como padrão-ouro o teste molecular rápido, que é a técnica usada na rotina do Laboratório Municipal de Saúde Pública, na comparação com os demais métodos avaliados, a sensibilidade da baciloscopia direta foi 65%, da baciloscopia do escarro processado foi de 84% e da cultura também de 84% (Tabela 1).

A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e precisão entre os métodos com intervalo de confiança de 95% são mostrados na Tabela 1.

Nas análises de acurácia dos quatro métodos, todos os resultados foram estatisticamente significantes, comprovando que não foram aleatoriamente positivos ou negativos.

A sensibilidade, especificidade e concordância entre os testes foram satisfatórias.

Tabela 1 - Avaliação da acurácia das análises em 436 amostras de escarro pela baciloscopia do escarro processado, baciloscopia direta convencional, cultura e teste molecular rápido para diagnóstico de tuberculose pulmonar em pessoas privadas de liberdade

Comparações	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Precisão
	IC 95%	IC 95%	IC 95%	IC 95%	IC 95%
BD x Cultura	70 (59-80)	99 (98-100)	98 (90-10)	94 (92-96)	95 (92-97)
BEP x Cultura	87 (78-93)	99 (97-99)	93(84-97)	98 (95-99)	97 (95-98)
TMR x Cultura	89 (79-94)	97 (94-98)	84 (74-90)	98 (96-99)	95 (93-97)
BD x TMR	65 (54-75)	99 (98-99,8)	96 (87-99)	93 (90-95)	93 (90-95)
BEP x TMR	84 (74-90)	99 (98-99)	96 (88-99)	96 (95-98)	96 (94-98)
Cultura x TMR	84 (74-91)	98 (96-99)	89 (79-94)	97 (94-98)	95 (93-97)

VPP: Valor preditivo positivo; VPN: Valor preditivo negativo; IC: intervalo de confiança; BD: baciloscopia direta convencional; BEP: baciloscopia do escarro processado; TMR: teste molecular rápido (Xpert®MTB/RIF)

## DISCUSSÃO

A tuberculose pulmonar atinge prioritariamente as pessoas em precárias condições socioeconômicas e, entre os grupos com maior vulnerabilidade, as pessoas privadas de liberdade possuem maiores chances de adoecimento.<sup>(5,6)</sup> A grande magnitude da doença nessa população está ligada ao precário estado nutricional dos indivíduos, consumo de drogas (permitidas e ilícitas), doenças associadas como o HIV/AIDS e a assistência à saúde inexistente ou ineficiente.<sup>(3)</sup>

As condições desfavoráveis do ambiente prisional (celas com espaços insuficientes, superlotadas, sem iluminação natural e ventilação inadequada) potencializam a transmissão e agravamento da doença. Adicionalmente, o abandono do tratamento entre os prisioneiros é mais frequente que na população livre, o que favorece o aparecimento de cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos fármacos.<sup>(3-6)</sup>

Para diminuir a transmissão da doença em prisioneiros, o Ministério da Saúde recomenda a implantação de ações para diagnóstico e tratamento de tuberculose nos presídios em todo território nacional, inclusive na admissão.

A maioria das unidades prisionais brasileiras encaminha as amostras biológicas para diagnóstico nos laboratórios do Sistema Único de Saúde (SUS).<sup>(7)</sup>

A demora em diagnosticar e tratar o doente favorece a disseminação do *M. tuberculosis* entre os encarcerados, trabalhadores dos presídios e familiares em visita. A diminuição da morbimortalidade por tuberculose pulmonar tanto na população geral como nos encarcerados depende do diagnóstico e tratamento precoces para diminuir a transmissão aérea do bacilo entre os contatos/comunicantes.<sup>(5)</sup>

Para atender à necessidade de uma técnica de fácil execução e de baixo custo e sem risco de acarretar contaminação para os profissionais de laboratório, avaliamos neste trabalho um procedimento previamente desenvolvido para incrementar o rendimento da baciloscopia direta convencional.<sup>(12,14-16)</sup>

As amostras utilizadas foram provenientes de uma população de pessoas privadas de liberdade prioritariamente atingida pela tuberculose e que se enquadra entre os grupos de maior vulnerabilidade pelas precárias condições socioeconômicas e sanitárias, com maior chance de adoecimento.<sup>(5,6)</sup>

Entre os métodos laboratoriais para o diagnóstico da tuberculose pulmonar, a cultura é o padrão-ouro para avaliação da acurácia de outros métodos.<sup>(2)</sup> Entretanto, é uma técnica laboriosa e, por concentrar os microrganismos, exige estrutura laboratorial complexa e maior nível de biossegurança.<sup>(11,16)</sup> Em adição, a liberação do resultado pode demorar até oito a doze semanas, sendo inadequado para triagem de casos.<sup>(7)</sup>

O teste molecular rápido, apesar do excelente desempenho, rapidez no diagnóstico e identificar a resistência à rifampicina,<sup>(8)</sup> exige laboratórios mais estruturados, com maior aporte financeiro para aquisição de equipamentos e insumos importados. Isso pode inviabilizar a sua implantação em regiões de difícil acesso e com baixo poder econômico. Portanto, no Brasil, na maioria dos laboratórios do SUS, a baciloscopia direta convencional permanece como única opção para diagnóstico da tuberculose pulmonar.<sup>(7)</sup>

Em uma amostra de 436 escarros provenientes de prisioneiros na cidade do Recife foi avaliada a acurácia da baciloscopia em escarro processado por tratamento químico com hipoclorito comercial e sedimentação espontânea em comparação com os testes usualmente empregados no Brasil para diagnóstico da tuberculose pulmonar.

Considerando a cultura como padrão-ouro, a sensibilidade da baciloscopia convencional foi de 70%, na baciloscopia do escarro processado de 87% e no teste molecular rápido de 89% (Tabela 1). Analisando-se o desempenho dos três métodos em comparação com a cultura (padrão-ouro), verificou-se que, em 30% (21/71) das amostras positivas na cultura, a baciloscopia direta foi

falso-negativa, enquanto que pela baciloscopia do escarro processado o percentual de positividade foi 13%, ou seja, um incremento de 24%.

A baciloscopia do escarro processado usando um produto facilmente encontrado e de baixo custo, apesar de retardar a liberação do resultado em um dia quando comparado à baciloscopia direta convencional, minimiza os riscos de contaminação dos profissionais de laboratório por inviabilizar os microrganismos presentes na amostra biológica.<sup>(17-19)</sup> Além disso, a baciloscopia do escarro processado proporcionou importante incremento, aumentando 29% na positividade das amostras (67/71) em comparação com a baciloscopia convencional.

Pode-se conjecturar que, se as análises forem realizadas logo após a coleta das amostras, antes de outras manipulações dos escarros, a detecção de casos positivos pela baciloscopia no escarro processado poderia ser mais alta.

## CONCLUSÕES

Assim, conclui-se que o processamento das amostras de escarro com hipoclorito e sedimentação espontânea, além de preservar as vantagens, aumenta a sensibilidade da baciloscopia convencional. Portanto, a implementação da baciloscopia no escarro processado em locais de acesso limitado e com poucos recursos financeiros poderá aumentar a identificação de casos de tuberculose pulmonar, entre os grupos mais vulneráveis.

### Abstract

**Objective:** To evaluate an easy and low-cost procedure to improve the diagnosis of tuberculosis among inmates devoid of risk of contamination for laboratory professionals. **Methods:** Sputum samples from inmates were analyzed after treatment with sodium hypochlorite and spontaneous sedimentation compared to direct conventional smear microscopy, culture and the rapid molecular test by the Xpert®MTB/RIF system. The Open Epi and SPSS programs were employed for the statistical analyzes. **Results:** Of 436 sputum samples from inmates 71 were culture positive (true positives). Out of these 50 were positive by the conventional direct microscopy and 67 by the processed sputum microscopy technique what corresponds to 29% increase in positivity compared to the conventional microscopy. **Conclusion:** The procedure evaluated maintains the advantages and increases the sensitivity of the conventional direct microscopy. The implementation of this procedure among vulnerable group of persons with limited access and resources could increase the identification of pulmonary tuberculosis cases.

### Keywords

Tuberculosis; Sputum; Mycobacterium tuberculosis; Diagnosis; Prisoners

## REFERÊNCIAS

1. Sulis G, Roggi A, Matteelli A, Raviglione MC. Tuberculosis: epidemiology and control. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014;6(1): e2014070.
2. WHO. Global tuberculosis report 2016. WHO/HTM/TB/2016.13. World Health Organization, Geneve, 2016 Available from: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en)

3. Law SD, Wood R, Wilkinson RJ. Changing concepts of "Latent Tuberculosis Infection" in patients living with HIV infection. *Clin Dev Immunol*. 2011; pii: 980594.
4. Tiemersma EW, Van der Werf MJ, Borgdorff MW, Williams BG, Nagelkerke NJ. Natural history of tuberculosis: duration and fatality of untreated pulmonary tuberculosis in HIV negative patients: a systematic review. *PLoS One*. 2011;6(4):e17601.
5. Larouzé B, Ventura M, Sánchez A R, Diuana V. Tuberculose nos presídios brasileiros: entre a responsabilidade estatal e a dupla penalização dos detentos. *Cad. Saúde Pública*, 2015;31(6):1127-30.
6. Valença MS, Possuelo LG, Cezar-Vaz MR, da Silva PEA. Tuberculose em presídios brasileiros: uma revisão integrativa da literatura. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2016;21(7): 2147-60.
7. Brasil - Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_laboratorio\\_tb\\_3\\_9\\_10.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_laboratorio_tb_3_9_10.pdf)
8. FIND. Foundation for Innovative New Diagnostics. Frequently asked questions on Xpert®MTB/RIF assay. Geneva, 2011.
9. BRATIS. Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde. XPERT®MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar. Ano VI N° 16. Set. de 2011. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/periodicos/brats\\_16.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/periodicos/brats_16.pdf).
10. Trajman A, Menzies D. Active tuberculosis case finding-do we have the right tool? *Lancet Infect Dis*. 2016 Sep;16(9):986-7.
11. Fitz-Gerald M (ed) The handbook global edition. Laboratory diagnosis of tuberculosis by sputum microscopy. 2013.
12. Magalhães JLO, Lima JFDC, Araújo AA, Coutinho IO, Leal NC, Almeida AMP. Microscopic detection of Mycobacterium tuberculosis in direct or processed sputum smears. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018;51(2):237-9.
13. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Estatísticas epidemiológicas de código aberto para a Saúde Públ, Versão 2013. Disponível em: [https://www.openepi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm)
14. Cambanis A, Ramsay A, Wirkom V, Tata E, Cuevas LE. Investing time in microscopy: an opportunity to optimise smear-based case detection of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007;11(1):40-5.
15. Steingart KR, Ramsay A, Pai M. Optimizing sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2007;5(3):327-31.

---

Correspondência

**José Luiz de Oliveira Magalhães**

*Instituto Aggeu Magalhães (IAM) - Fiocruz PE  
Departamento de Microbiologia Campus da UFPE  
Av. Moraes Rego s/n, Cidade Universitária  
50740-465 – Recife - PE, Brasil*