

Análise comparativa da técnica de baciloscopia no diagnóstico da tuberculose pulmonar frente ao GeneXpert em amostras de pacientes da cidade de Recife, Pernambuco

Comparative analysis of the bacilloscopy technique in the diagnosis of pulmonary tuberculosis against GeneXpert in samples of patients in the city of Recife, Pernambuco

Natally dos Santos Silva¹

Karoline Rissele Henrique de Almeida²

Carlos Alberto Medeiros Neto³

Ana Albertina de Araújo⁴

Sibele Ribeiro de Oliveira⁵

Resumo

Objetivo: Considerando que atualmente ainda existem algumas limitações quanto à escolha do teste ideal para diagnóstico da TB, ligadas principalmente aos custos e realização adequada das técnicas, o presente estudo teve por objetivo verificar a eficácia do teste de baciloscopia no diagnóstico da tuberculose pulmonar, a partir da comparação dos resultados obtidos através dos testes de baciloscopia e GeneXpert de pacientes da cidade de Recife-PE. **Métodos:** Foram analisadas neste estudo amostras de escarro com os resultados já positivos para TB através da cultura microbiológica. As espécimes foram submetidas ainda aos testes de baciloscopia e GeneXpert para uma análise comparativa dos resultados. **Resultados:** Foi analisado um total de 100 amostras, com positividade para todos os testes realizados no estudo (cultura microbiológica, GeneXpert e baciloscopia). **Conclusão:** O diagnóstico através do GeneXpert representa um ganho expressivo quando levado em conta sua sensibilidade, rapidez e confiabilidade dos resultados, em contrapartida, os custos para realização deste teste ainda são elevados. Este fato reforça a importância das metodologias convencionais de baciloscopia e cultura, quando utilizadas dentro dos parâmetros de controle de qualidade adequados.

Palavras-chave

Tuberculose; diagnóstico; crescimento bacteriano

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) caracteriza-se como uma doença infectocontagiosa, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacilo de Koch (BK), de distribuição mundial, que apesar de contar com uma quimioterapia eficaz e prevenção amplamente conhecida e difundida, constitui-se como um importante problema de saúde pública.⁽¹⁾ O Brasil se encontra ocupando a 20ª posição quanto à carga da doença e tem destaque ainda por sua participação no BRICS (bloco formado por Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul), cujos países somam cerca de 50,0% dos casos de tuberculose no mundo e mobilizam mais de 90,0% dos re-

ursos necessários para as ações de controle da tuberculose por meio de fontes domésticas de financiamento. Neste contexto, a cidade de Recife, capital de Pernambuco, concentra quase metade do total de casos detectados no estado e configura-se como a capital com a terceira maior taxa de incidência e o segundo maior índice de mortalidade por TB no país.⁽²⁾

O tratamento adequado assim como o diagnóstico precoce são essenciais para a eficácia dos programas públicos de controle da doença, os quais buscam curar os doentes e evitar a transmissão do agente etiológico.⁽³⁾ O diagnóstico presuntivo da doença utiliza o histórico clínico do paciente e o achado radiológico, sendo a con-

¹Biomédica, Mestranda em Biotecnologia e Biotecnologia em Saúde, Instituto Aggeu Magalhães (IAM/Fiocruz-PE), Recife-PE, Brasil.

²Biomédica, Residente em Atenção Básica e Saúde da Família, Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru-PE, Brasil.

³Acadêmico de Biomedicina, Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru-PE, Brasil.

⁴Biomédica, responsável técnica do setor de Microbiologia do Laboratório de Saúde Pública da Prefeitura Municipal de Recife-PE.

⁵Biomédica, Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Docente do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru-PE, Brasil.

Instituição: Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico - Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita) - Caruaru-PE, Brasil.

Conflito de interesses: sem conflito de interesses

Recebido em 16/08/2018

Artigo aprovado em 25/03/2019

DOI: 10.21877/2448-3877.201900767

firmação obtida através da comprovação bacteriológica por meio das técnicas de baciloscopia e cultura de escarro.^(2,4,5)

A cultura de escarro é considerada padrão ouro para o diagnóstico da TB por apresentar alta sensibilidade e especificidade, porém não permite diferenciar a espécie de Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR) detectada, nem distinguir os bacilos vivos dos mortos, além de apresentar resultados demorados, entre seis a oito semanas.^(5,6) O diagnóstico realizado por meio da baciloscopia apresenta baixa sensibilidade, uma vez que necessita da presença de no mínimo 5 mil a 10 mil bacilos/mL de amostra para que o resultado seja positivo, sendo capaz de detectar o bacilo em 50% a 60% dos casos.^(5,6) Apesar de tais restrições, no Brasil e na América Latina, a baciloscopia ainda é muito utilizada, não apenas para o diagnóstico como também para o controle do tratamento.

Diante das limitações dos testes convencionais para o diagnóstico da TB, novas tecnologias surgiram para a detecção do *Mycobacterium tuberculosis* e da resistência à rifampicina. O teste GeneXpert MTB/RIF (Cepheid®, USA), recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2010, aprovado no Brasil e incorporado ao Sistema Único de Saúde (SUS) no ano de 2013, é uma técnica de diagnóstico por *Polymerase Chain Reaction* (PCR) em tempo real e PCR de transcriptase reversa, que não depende de um resultado inicial da cultura, detectando a presença de todos os bacilos do complexo *M. tuberculosis* e a resistência à rifampicina diretamente a partir da amostra, disponibilizando o resultado em até duas horas, apresentando ainda uma alta sensibilidade (95% a 99%) e especificidade (98%). Em contrapartida, essa técnica apresenta um alto custo em comparação às demais técnicas disponíveis e rotineiramente utilizadas.^(7,8)

Considerando que atualmente ainda existem algumas limitações quanto à escolha do teste ideal para diagnóstico da TB, ligadas principalmente aos custos e realização adequada das técnicas, bem como infraestrutura ideal disponível, o presente estudo teve por objetivo verificar a eficácia do teste de baciloscopia no diagnóstico da tuberculose pulmonar, a partir da comparação dos resultados obtidos por meio dos testes de baciloscopia e GeneXpert de pacientes da cidade de Recife-PE.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo descritivo e transversal, com uma amostragem censitária, entre os meses de fevereiro e novembro de 2017, no Laboratório Municipal de Saúde Pública na cidade de Recife-PE, Brasil.

Foram analisadas neste estudo amostras de escarro positivas para TB pela cultura microbiológica em meio Löwenstein Jensen durante o período de estudo, sendo este um critério de inclusão. Tais amostras positivas foram

colocadas em cartuchos descartáveis e submetidas ao sistema do teste molecular GeneXpert para realização da amplificação de ácidos nucleicos e detecção da sequência de DNA alvo, usando PCR em tempo real e PCR de transcriptase reversa. Através de um scanner de código de barras e *software* pré-carregado, os resultados foram interfaciados para um computador (Figuras 1 e 2), interpretados e liberados em forma de *Cycles Threshold* (CT) como "alto, médio, baixo e muito baixo", de acordo com o número de ciclos de PCR que foram necessários para a amplificação da sequência, sendo inversamente proporcionais à quantidade de bacilos presentes na amostra (Tabela 1). O trabalho foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), sob parecer de número 1.796.671.

Após a obtenção dos resultados positivos obtidos através do GeneXpert, esfregaços para técnica de baciloscopia foram preparados e interpretados de acordo com o preco-

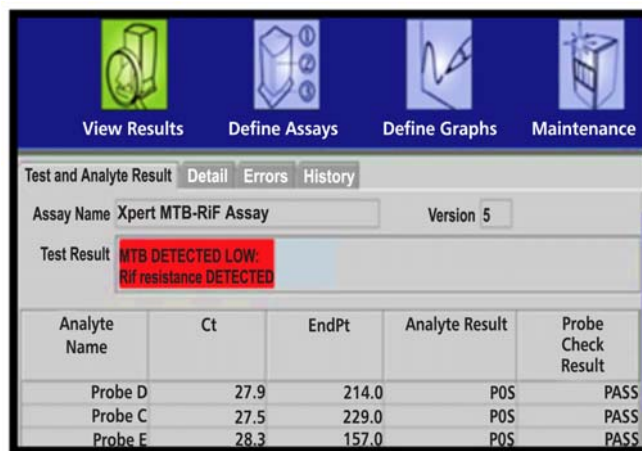


Figura 1. Resultado interfaciado e interpretado como "positivo baixo" com resistência à rifampicina.

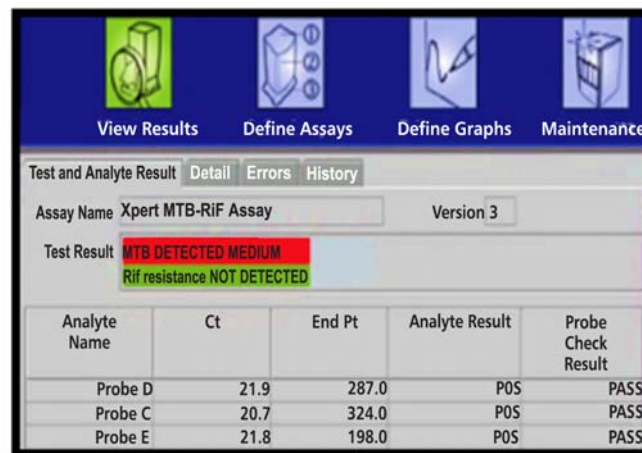


Figura 2. Resultado interfaciado e interpretado como "positivo médio" sensível à rifampicina.

nizado pelo Ministério da Saúde e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen. Em seguida, foi realizada análise ao microscópio de campo claro para a quantificação de BAAR, seguindo o sistema de contagem de cruzes (Tabela 2). Em seguida, os dados resultantes dos dois métodos foram confrontados para realização de uma análise comparativa das técnicas empregadas no estudo.

Tabela 1 - Intervalos de valores de CT para os resultados de MTB exibidos no GeneXpert.

Interpretação	Limite de Ciclo Alcançado (CT Range*)
Alto	<16 ciclos
Médio	16 - 22 ciclos
Baixo	22 - 28 ciclos
Muito Baixo	>20 ciclos

Fonte - Adaptação de LOW HIGH (2014).

*CT Range: Cycles Threshold Range/Faixa de Limiar de Ciclos.

Tabela 2 - Interpretação dos resultados da baciloscopia de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde.

Leitura	Resultado
Nenhum BAAR observado em 100 campos	Negativo
Nenhum BAAR observado em 100 campos	Nº DE BAAR observado
10 - 99 BAAR observados em 100 campos	Positivo 1 cruz (+)
1 - 10 BAAR observados por campo, nos primeiros 50 campos	Positivo 2 cruzes (++)
>10 BAAR observados por campo, nos primeiros 20 campos	Positivo 3 cruzes (+++)

Fonte - Adaptação de Ministério da Saúde (2008).

RESULTADOS

Foram analisadas um total de cem amostras, quantidade esta, no período de estudo, que mostraram-se positivas para TB pela cultura de escarro. Estas mesmas espécies apresentaram positividade também pelas demais técnicas de estudo neste trabalho, baciloscopia e GeneXpert. Na Tabela 3, de acordo com a interpretação dos resultados liberados pelo GeneXpert, 34 (34%) das amostras foram classificadas como "Positivo Alto", 42 (42%) como "Positivo Médio", 21 (21%) como "Positivo Baixo" e três (3%) como "Positivo Muito Baixo" (3%). Em relação à baciloscopia, 81 (81%) das amostras foram classificadas como positivas, com três cruzes (+++), nove (9%) com duas cruzes (++) e dez (10%) com uma cruz (+) (Tabela 3).

De acordo com a Tabela 4, a análise comparativa dos resultados das amostras pelas técnicas de GeneXpert e baciloscopia resultou em uma concordância de 34% entre os resultados classificados como "positivo alto" no GeneXpert e positivo três cruzes (+++) na baciloscopia. Os resultados que se apresentaram como positivo médio no

GeneXpert tiveram um percentual de 5% como positivo uma cruz (+), 9% como positivo duas cruzes (++) e 28% como positivo três cruzes (+++) na baciloscopia, estando dentro do limite de detecção da classificação "Média" do GeneXpert, que abrange os limites de detecção dentro dos parâmetros do número de CT Range, como apresentado na Tabela 1. Já 24% dos resultados classificados como positivo baixo e muito baixo no GeneXpert apresentaram-se como positivo uma cruz (+) e positivo duas cruzes (++) na baciloscopia (Tabela 4).

Tabela 3 - Total de amostras analisadas através dos GeneXpert e baciloscopia.

Resultado do GeneXpert	ultados da baciloscopia
Positivo alto	34 (34%) Positivo 3 cruzes (+++) 81 (81%)
Positivo médio	42 (42%) Positivo 2 cruzes (++) 09 (09%)
Positivo baixo	21 (21%) Positivo 1 cruz (+) 10 (10%)
Positivo muito baixo	3 (3%)

Tabela 4 - Comparativo dos resultados positivos apresentados no GeneXpert e baciloscopia

Genexpert	Baciloscopia	Percentual de concordância
Alto	3 cruzes	34%
Médio	1 cruz	5%
Médio	2 cruzes	9%
Médio	3 cruzes	28%
Baixo e muito baixo	1 e 2 cruzes	24%

DISCUSSÃO

A fim de diminuir os casos de tuberculose (TB) em todo o mundo, é fundamental a ocorrência de pesquisas continuadas que possam aperfeiçoar as ferramentas de diagnóstico existentes e possibilitar a introdução de instrumentos inovadores para o diagnóstico da TB. Dentre as principais estratégias de combate a doença, podemos citar a detecção precoce e tratamento adequados, associados a estratégias de prevenção de novos casos.⁽⁹⁾

Diante das limitações apresentadas pelos testes disponíveis para o diagnóstico da TB no que se refere à baciloscopia e cultura microbiológica, os métodos moleculares têm ganhado cada vez mais espaço por possuírem características como rapidez, sensibilidade e especificidade significativas.⁽¹⁰⁾ Em contrapartida, os custos para realização de tais metodologias ainda são questionados, reforçando a importância dos testes convencionais.⁽¹¹⁾ Neste estudo, foi evidenciado que, além das limitações relacionadas ao alto custo para a utilização de métodos moleculares, o GeneXpert apresenta limitações acerca dos parâmetros de referência

dentro do número de ciclos realizados para detecção dos bacilos, podendo apresentar problemas quando o teste é utilizado no acompanhamento da evolução do tratamento do indivíduo com tuberculose, uma vez que a informação da quantidade de bacilos presentes em uma amostra fornecida no sistema de cruces pela baciloscopia é de suma importância para a avaliação do quadro evolutivo do paciente. Estas limitações apontam as metodologias tradicionais utilizadas de baciloscopia e cultura microbiológica como métodos importantes ainda na atualidade.

Neste estudo, 100% das amostras que se mostraram positivas no teste GeneXpert apresentaram também positividade na baciloscopia, corroborando assim com Opota et al.,⁽¹²⁾ em cujo estudo 94,2% das amostras identificadas como positivas para o *M. tuberculosis*, apresentaram positividade nos dois métodos utilizados. Além disto, a técnica da baciloscopia também alcançou no presente estudo uma positividade de 100% em amostras já confirmadas pela cultura de escarro, corroborando também o estudo de Opota et al. no qual 100% das amostras confirmadas na cultura e no GeneXpert apresentaram positividade também na baciloscopia, apesar desta técnica ser considerada de menor sensibilidade em relação às demais.^(10,11,13-15)

Ainda como mencionado por Opota et al., houve comparação da sensibilidade, especificidade e valor preditivo do GeneXpert em relação à baciloscopia a partir da correlação entre os resultados das duas técnicas, constatando que os resultados positivos semiquantitativos "alto, médio, baixo e muito baixo" do GeneXpert concordavam com os resultados positivos da baciloscopia, assim como o perfil de concordância observado neste estudo, que analisou os resultados semiquantitativos do GeneXpert e os resultados pelo sistema de cruces da baciloscopia, demonstrando que esta técnica ainda pode ser considerada efetiva, desde que sua realização siga todos os critérios relacionados ao controle de qualidade, associada à capacitação contínua dos profissionais que realizam as leituras e aos fatores relacionados à pré-análise como orientação de coleta de material adequado, transporte e armazenamento das amostras. Desta maneira, a baciloscopia ainda deve ser vista como um dos métodos mais confiáveis, viáveis e de baixo custo para diagnóstico laboratorial de TB.

CONCLUSÕES

Atualmente ainda existem algumas limitações quanto ao diagnóstico da TB, ligadas principalmente a custos e realização adequada dos exames laboratoriais. A semelhança dos resultados emitidos pelos testes analisados neste estudo defende que a baciloscopia, mesmo quando confrontada a um teste molecular, ainda está entre os métodos convencionais mais confiáveis e de fácil acesso para diagnóstico laboratorial da TB, entretanto, é importante desta-

car a necessidade dos profissionais que a façam passar por constante atualização e educação permanente. O diagnóstico por meio do GeneXpert representa um ganho expressivo quando levado em conta sua sensibilidade, rapidez e confiabilidade dos resultados; em contrapartida, os custos para realização deste teste ainda são elevados. Este fato reforça a importância das metodologias convencionais de baciloscopia e cultura quando utilizadas dentro dos parâmetros de controle de qualidade adequados.

Abstract

Objective: Considering that currently there are still some limitations regarding the choice of the ideal test for diagnosis of TB, related mainly to costs and adequate performance of the techniques, the present study aimed to verify the efficacy of the bacilloscopy test in the diagnosis of pulmonary tuberculosis, based on the comparison of the results obtained through the bacilloscopy and GeneXpert tests of patients from the city of Recife-PE. **Methods:** Sputum samples with already positive results for TB were analyzed in this study through the microbiological culture. The specimens were also submitted to bacilloscopy and GeneXpert tests for a comparative analysis of the results. **Results:** A total of 100 samples were analyzed, with positivity for all tests performed in the study (microbiological culture, GeneXpert and smear microscopy). **Conclusion:** The diagnosis through GeneXpert represents an expressive gain when taking into account its sensitivity, speed and reliability of results, in contrast, the costs to perform this test are still high. This fact reinforces the importance of conventional bacilloscopy and culture methodologies when used within the appropriate quality control parameters.

Keywords

Tuberculosis; diagnosis; bacterial growth

REFERÊNCIAS

1. Silva PF, Moura GS, Caldas AJM. Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose pulmonar no Maranhão, Brasil, no período de 2001 a 2010. *Cad Saude Pub.* 2014;30(8):1745-54.
2. Silva CCAV, Andrade MS, Cardoso MD. Fatores associados ao abandono do tratamento de tuberculose em indivíduos acompanhados em unidades de saúde de referência na cidade do Recife, Estado de Pernambuco, Brasil, entre 2005 e 2010. *Epidemiol e Serv Saúde.* 2013;22(1):77-85.
3. Freire DN, Bonametti AM, Matsuo T. Diagnóstico precoce e progressão da tuberculose em contatos. *Epidemiol e Serv Saúde.* 2007; 16(3):155-63.
4. Ferreira AAA, Queiroz KCS, Torres KP, Ferreira MÂF, Accioli H, Alves MSCF. Os fatores associados à tuberculose pulmonar e a baciloscopia: uma contribuição ao diagnóstico nos serviços de saúde pública. *Rev Bras Epidemiol.* 2005;8(2):142-9.
5. Miranda GK. Avaliação de duas técnicas de reação em cadeia da polimerase na detecção do *Mycobacterium tuberculosis* em diferentes amostras biológicas [dissertação]. Recife: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/CPqAM; 2015.
6. Salazar MP. Avaliação da Nested PCR em único tubo como ferramenta diagnóstica da tuberculose [monografia]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE; 2012.
7. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane database Syst Rev.* 2014; (1).
8. Acosta CD, Rusovich V, Harries AD, Ahmedov S, van den Boom M, Dara M. A new roadmap for childhood tuberculosis. *Lancet Glob Health.* 2014 Jan;2(1):e15-7

9. Barreira D. Os desafios para a eliminação da tuberculose no Brasil. *Epidemiol e Serv Saúde*. 2018;27(1):1-4.
10. Ferri AO, Aguiar B, Wilhelm CM, Schmidt D, Fussieger F, Picoli SU. Diagnóstico da tuberculose: uma revisão. *Rev Lib*. 2014;15(24):105-212.
11. Talbot EA, Raffa BJ. *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Med Microbiol*. 2010;3(80):1635-54.
12. Oputa O, Senn L, Prod'hom G, Mazza-Stalder J, Tissot F, Greub G, et al. Added value of molecular assay Xpert MTB/RIF compared to sputum smear microscopy to assess the risk of tuberculosis transmission in a low-prevalence country. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(7):613-9.
13. Huf G, Kritski A. Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos. *J Bras Pneumol*. 2012;38(2):237-45.
14. Scatena LM, Villa TCS, Ruffino-Netto A, Kritski AL, Figueiredo TMRM, Vendramini SHF, et al. Dificuldades de acesso a serviços de saúde para diagnóstico de tuberculose em municípios do Brasil. *Rev. Saúde Pública* [Internet]. 2009 June;43(3):389-397. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102009000300001&lng=en.
15. Nogueira AF, Facchinetti V, Vinícius M, De Souza N, Rocha T, Vasconcelos A. Tuberculosis: a general approach of the main aspects. *Rev Bras Farm*. 2012;93(1):3-9.
16. Cepheid. Xpert MTB / RIF Brochure. Gene. 2010: 1-4. Available from: www.cephheid.com.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. Brasília: 2008.

Correspondência

Natally dos Santos Silva
Av. Portugal, 584, Bairro Universitário
Caruaru - PE, Brasil