

## Tuberculose Pulmonar: Diagnóstico - Novas Técnicas

*Autoria: Sociedade Brasileira de Pneumologia e  
Tisiologia*

---

**Elaboração Final:** 31 de janeiro de 2011

**Participantes:** Conde MB, Mello F, Lima MA, Guerra RL, Miranda  
SS, Galvão TS, Pinheiro VG, Carvalho NB

---

---

*As Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar, iniciativa conjunta Associação Médica Brasileira e Agência Nacional de Saúde Suplementar, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.*

## **DESCRIÇÃO DO MÉTODO DE COLETA DE EVIDÊNCIA:**

Foi realizada revisão da literatura publicada, baseada em artigos científicos na base de dados MEDLINE. Os principais descritores utilizados foram: *pulmonary tuberculosis; smear-negative tuberculosis; smear microscopy; diagnosis; acid-fast bacillus; sputum induction; mycobacterium infections/diagnosis/\*microbiology; sensitivity and specificity; anti-infective agents/\*therapeutic use; culture media; prospective studies; \*tomography; X-ray computed; tuberculosis, pulmonary/\*radiography; microbial sensitivity tests/\*methods; Mycobacterium tuberculosis/\*drug effects; costs and cost analysis; sputum/\*microbiology; tuberculosis/diagnosis/economics/\*radiography; tuberculosis, pulmonary/\*diagnosis/ drug therapy.*

Os artigos foram selecionados após avaliação crítica da força de evidência.

## **GRAU DE RECOMENDAÇÃO E FORÇA DE EVIDÊNCIA:**

- A:** Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.
- B:** Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.
- C:** Relatos de casos (estudos não controlados).
- D:** Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

## **OBJETIVO:**

Discutir novas técnicas diagnósticas para tuberculose pulmonar e sua aplicabilidade.

## **CONFLITO DE INTERESSE:**

Os conflitos de interesse declarados pelos participantes da elaboração desta diretriz estão detalhados na página 6.

## 1. NOS SUSPEITOS DE TUBERCULOSE PULMONAR, EM QUAIS SITUAÇÕES ESTÃO INDICADAS AS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR?

O diagnóstico da tuberculose (TB) em laboratórios de micobactérias tem sido realizado por meio da baciloscopia, cujo resultado pode ser entregue em até 4 horas, o que contrasta com a cultura, que pode demorar de 2 a 8 semanas. Embora rápida e de baixo custo, a baciloscopia tem baixa sensibilidade e baixo valor preditivo positivo em locais onde micobactérias não tuberculosas (MNT) são comumente isoladas. A amplificação de ácidos nucleicos (AAN) pode fornecer um resultado dentro de 2 a 48 h e apresenta maior valor preditivo positivo do que a baciloscopia, e pode confirmar rapidamente a presença de *M. tuberculosis* em amostras com baciloscopia negativa, mas com cultura positiva<sup>1-5</sup>(A). Além do diagnóstico rápido, os testes moleculares podem ajudar na identificação do complexo *M. tuberculosis*, diferenciando-o de outras espécies de micobactérias não-tuberculosas; e na determinação de cepas de *M. tuberculosis* resistentes à rifampicina e à isoniazida.

Existem vários kits comerciais que realizam a AAN para o diagnóstico de TB em amostras respiratórias. A comparação dos testes “in-house” com kits comerciais demonstra melhor desempenho dos primeiros (maior sensibilidade), porém estes apresentam menor especificidade. Além disso, quando avaliado o teste “in house” entre laboratórios, existe maior variabilidade e baixa reprodutibilidade.

A AAN tem uma acurácia superior quando realizada em amostras respiratórias do que em outros líquidos corporais<sup>1-7</sup>(A)<sup>8</sup>(D). A sensibilidade pode variar de 95-96% e a especificidade é de 100%, em espécimes respiratórias com baciloscopia positiva.

A especificidade e a sensibilidade dos testes de AAN dependem da amostra ser respiratória ou não, da baciloscopia e/ou cultura para *M. tuberculosis* ser negativa ou positiva, do tipo de teste utilizado (kits comerciais ou “in-house”), da prevalência da doença, suspeita clínica e das condições de trabalho no laboratório<sup>1,9,10</sup>(A)<sup>11</sup>(D).

## Recomendação

A utilização da biologia molecular para diagnóstico de TB, até o momento, somente está indicada em TB pulmonar- espécimes respiratórias, com técnicas “*m-house*” ou por kits comerciais em laboratórios validados e regulamentados por órgãos competentes. A baciloscopia e a cultura devem ser realizadas rotineiramente e não devem ser postergadas em virtude da realização da AAN.

## 2. A SOLICITAÇÃO DE REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) EM SECREÇÕES BRONCOPULMONARES (ESCARRO, LBA, ASPIRADO) TEM INDICAÇÃO PARA O DIAGNÓSTICO DE PACIENTES COM SUSPEITA DE TUBERCULOSE PULMONAR NEGATIVA À BACILOSCOPIA?

A PCR tem alta especificidade e elevado valor preditivo positivo, quando a baciloscopia é positiva, mas apresenta grande variabilidade em relação à sensibilidade quando a baciloscopia é negativa, com sensibilidade variável de 48-53% e especificidade de 96-99% nesta última situação. A baixa sensibilidade em pacientes com baciloscopia negativa dificulta o uso dos testes de amplificação de ácidos nucleicos para excluir o diagnóstico de tuberculose. Sua alta especificidade neste grupo de pacientes, entretanto, é útil na confirmação do diagnóstico<sup>2-5,9</sup>(A).

Outro estudo demonstrou uma sensibilidade do PCR de 50,8%, para amostras de secreção respiratória com baciloscopia negativa, e de 98,8%, naquelas com baciloscopia positiva no escarro. Já para amostras com resultados negativos tanto pela baciloscopia como cultura, a sensibilidade do PCR foi reduzida para 25,6%<sup>12</sup>(B).

Devemos lembrar que a técnica de PCR-AMPLICOR ainda não está aprovada para uso

em amostras de escarro com baciloscopia negativa, devido à variação de sensibilidade<sup>12</sup>(B) e que a técnica de PCR não está indicada para controle e seguimento de tratamento até o momento, uma vez que os resultados podem permanecer positivos por um tempo variável após o diagnóstico e início do tratamento da tuberculose.

## Recomendação

Os métodos moleculares podem ser utilizados em pacientes com sinais e sintomas de TB pulmonar, no qual o diagnóstico de TB tenha sido considerado, porém não tenha sido confirmado, e quando o resultado de um teste puder resultar na alteração do tratamento.

## 3. O ACHADO DE BACILOSCOPIA POSITIVA E PCR NEGATIVO NO ESCARRO, EM PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR, SUGERE O DIAGNÓSTICO DE MICOBACTERIOSE NÃO TUBERCULOSA?

Nas reações de PCR em que se utiliza o escarro, devida atenção deve ser dada aos inibidores que podem existir neste espécime (3% a 7%), que podem impedir a amplificação e determinar um resultado falso-negativo. O julgamento clínico deve determinar se o tratamento anti-TB deve ser iniciado ou não, enquanto aguarda-se a cultura padrão-ouro para o diagnóstico. Porém, se inibidores são descartados e duas ou mais amostras permanecem negativas na PCR, em paciente com baciloscopia positiva, deve-se estar atento para a possibilidade de micobactérias não-tuberculosas<sup>1-4,9</sup>(A).

## Recomendação

No caso de duas ou mais amostras de escarro permanecerem negativas na PCR em pacientes com baciloscopia positiva, deve-se estar atento

para a possibilidade do diagnóstico de infecção por micobactérias não-tuberculosas. Os laboratórios que realizam a AAN devem ter seus testes validados e regulamentados por órgãos competentes.

#### **4. HÁ INDICAÇÃO DE SOLICITAÇÃO DE AVALIAÇÃO SOROLÓGICA PARA O DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE PULMONAR?**

Os testes sorológicos têm sido estudados por décadas para o diagnóstico da TB pulmonar, mas até o momento não há estudos que evidenciem uma boa acurácia destes testes, além de mostrarem utilidade clínica limitada<sup>1,13,14</sup>(A)<sup>11</sup>(D).

##### **Recomendação**

Não estão recomendados testes sorológicos para o diagnóstico de TB em atividade.

#### **5. A CULTURA PARA O DIAGNÓSTICO DE TB PULMONAR EM MÉTODO AUTOMATIZADO E SEMI-AUTOMATIZADO (MGIT, MB/BACT, SEPTI-CHEK) ESTÁ INDICADA?**

A cultura de micobactéria em meio seletivo é o método mais sensível para detecção de *M. tuberculosis* em amostras clínicas, sendo considerada padrão-ouro para o diagnóstico da TB. Com os métodos convencionais à base de ovo (Lowenstein-Jensen), o tempo do diagnóstico pode levar de 2 a 8 semanas (dependendo da concentração de bactéria inoculada). Os meios líquidos automatizados ou semi-automatizados têm reduzido para apenas alguns dias (5 a 12 dias) o tempo para diagnóstico da tuberculose. Existe evidência de que a cultura em meio líquido seja mais sensível e rápida que aquela em meio sólido (sensibilidade de 93% para meio líquido e 79% para meio de LJ); porém seus custos são elevados<sup>9</sup>(A)<sup>15-20</sup>(B)<sup>21</sup>(D).

Um estudo de custo-efetividade em país de limitados recursos econômicos comparou quatro meios de cultivo: LJ manufaturado e LJ feito manualmente no laboratório, com o MGIT manual e o MGIT automatizado. Os autores demonstraram que os custos das quatro alternativas foram comparáveis, mas que ambas as estratégias com o MGIT foram superiores que o LJ em termos de custo-efetividade, devido à maior detecção de amostras positivas, em particular de amostras BAAR negativas e culturas positivas. Quando os rendimentos do LJ e do MGIT foram similares, a redução do tempo para a obtenção do resultado no MGIT foi mais custo-efetivo<sup>22</sup>(B).

No que diz respeito aos pacientes co-infectados pelo HIV, estudo de custo-efetividade realizado no Brasil, no município do Rio de Janeiro, demonstrou que a cultura, utilizando o MGIT, para o diagnóstico de TBPA foi custo-efetivo nos portadores da coinfeção<sup>23</sup>(B).

##### **Recomendação**

Os meios de cultura líquidos automatizados ou semi-automatizados diminuem o tempo do diagnóstico da TB.

#### **6. HÁ INDICAÇÃO DE SOLICITAÇÃO DE TESTE DE SENSIBILIDADE UTILIZANDO PRIMERS ESPECÍFICOS PARA DETECÇÃO DE GENE DE RESISTÊNCIA À ISONIAZIDA E À RIFAMPICINA EM PACIENTES COM TB?**

Existem dados promissores para uma rápida detecção de genes de mutações, principalmente para TB multidroga resistente/MDR (cepas do *M. tuberculosis* resistente à rifampicina e à isoniazida), e especialmente em locais de alta prevalência de MDR e XDR (resistência de *M. tuberculosis* à rifampicina (R), à isoniazida (H),

à amicacina, à canamicina ou à capreomicina e uma quinolona).

A maioria dos isolados resistentes à rifampicina apresenta mutação no gene *rpoB*, sendo este um bom alvo para métodos diagnósticos moleculares genotípicos.

A metodologia “*Gene Type MTBDRplus*”, que identifica mutações de genes responsáveis pela resistência à R e H, tem mostrado uma alta concordância com métodos moleculares “*in house*”, porém próximos, mas não completamente concordantes, com os métodos convencionais de teste de sensibilidade (Lowenstein-Jensen e MGIT)<sup>15,24-28</sup>(B). Os estudos foram realizados somente em isolados de cultura ou em espécimes clínicos com baciloscopia positiva.

Estas técnicas podem não detectar algumas mutações ou deleções encontradas nos genes responsáveis pela resistência ao *M.tuberculosis*. Ainda é necessário utilizar os testes convencionais para isolar o *M.tuberculosis* de espécimes negativos à baciloscopia<sup>29</sup>(A)<sup>15,28,30,31</sup>(B).

Estudo comparativo com métodos convencionais para identificação do *M.tuberculosis* e teste de suscetibilidade constatou concordância diagnóstica molecular e da resistência à rifampicina em 94,5% e 91,7%, respectivamente, para amostras de escarro baciloscopia positiva. Por outro lado, a concordância entre o método molecular com os métodos convencionais para diagnóstico de TB em amostras de escarro baciloscopia negativa foi de 70%; e para diagnóstico da resistência à rifampicina foi somente de 50%<sup>26</sup>(B).

## Recomendação

Teste de sensibilidade utilizando *primers* específicos para detecção de gene de resistência é confiável, mas não é recomendado para substituir os testes de sensibilidade convencionais com meio sólidos ou líquidos.

## CONFLITO DE INTERESSE

Miranda SS: recebeu honorários da empresa Bibliomed para consultoria.

## REFERÊNCIAS

1. Pai M, Ramsay A, O'Brien R. Evidence-based tuberculosis diagnosis. *PloS Med* 2008;5:e156.
2. Flores LL, Pai M, Colford JM Jr, Riley LW. In-house acid amplification test for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens: meta-analysis and meta-regression. *BMC Microbiol* 2005;5:55.
3. Greco S, Girardi E, Navarra S. The current evidence on diagnostic accuracy of commercial based nucleic acid amplification test for the diagnosis of pulmonary of tuberculosis. *Thorax* 2006;61:783-90.
4. Ling DI, Flores LL, Riley LW, Pai M. Commercial nucleic-acid amplification test for diagnosis of pulmonary tuberculosis in respiratory specimens: meta-analysis and meta-regression. *PLoS One* 2008;3:e1536.
5. Sarmiento OL, Weigle KA, Alexander J, Weber DJ, Miller WC. Assessment by meta-analysis of PCR for diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2003;41:3233-40.
6. Pai M, Flores LL, Hubbard A, Riley LW, Colford JM Jr. Nucleic acid amplification test in the diagnosis of tuberculous pleuritis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2004;4:6.
7. Daley P, Thomas S, Pai M. Nucleic acid amplification test for the diagnosis of tuberculous lymphadenitis: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:1166-76.
8. Woods GL. Molecular techniques in mycobacterial detection. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:122-6.
9. Dinnes J, Deeks J, Kunst H, Gibson A, Cummins E, Waugh N, et al. A systematic review of rapid diagnosis test for the detection of tuberculosis infection. *Health Technology Assessment* 2007;11:1-196.
10. Pai M, Flores LL, Pai N, Hubbard A, Riley LW, Colford JM Jr. Diagnostic accuracy nucleic acid amplification for tuberculous meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2003;6:33-43.
11. Palomino JC. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *Eur Respir J* 2005;26:339-50.
12. Lima SS, Clemente WT, Palaci M, Rosa RV, Antunes CM, Serufo JC. Conventional and molecular techniques in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a comparative study. *J Bras Pneumol* 2008;34:1056-62.
13. Steingart KR, Henry M, Laal S, Hopewell PC, Ramsay A, et al. A systematic review of commercial serological antibody detection test for the diagnosis of extra-pulmonary tuberculosis. *Thorax* 2007;62:911-8.
14. Steingart KR, Henry M, Laal S, Hopewell PC, Ramsay A, Menzies D, et al. Commercial serological antibody detection test for the

- diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. *PLoS Med* 2007;4:e202.
15. Balabanova Y, Drobniewski F, Nikolayevskyy V, Kruuner A, Malamanova N, Simak T, et al. An integrated approach to rapid diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance using liquid culture na molecular methods in Rússia. *PLoS One* 2009;4:e7129.
  16. Roberts GD, Goodman NL, Heifets L, Larsh HW, Lindner TH, McClatchy JK, et al. Evaluation of the BACTEC radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smears-positive specimens. *J Clin Microbiol* 1983;18:689-96.
  17. Morgan MA, Horstmeier CD, DeYoung DR, Robert GD. Comparison of a radiometric method (BACTEC) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens. *J Clin Microbiol* 1983;18:384-8.
  18. Tortoli E, Cichero P, Chirillo MG, Gismondo MR, Bono L, Gesu G, et al. Multicenter comparison of ESP Culture System II with BACTEC 460TB and Lowenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from different clinical specimens, including blood. *J Clin Microbiol* 1998;36:1378-81.
  19. Gill-Setas A, Torroba L, Fernancez JL, Martinez-Artola V, Olite J. Evaluation of the MB/BacT system compared with Middlebrook 7H11 and Lowenstein-Jensen media for detection of recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:224-8.
  20. Chien HP, Yu MC, Wu MH, Lin TP, Luh KT. Comparison of the BACTEC MGIT 960 with Lowenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:866-70.
  21. Perkins MD, Cunningham J. Facing the crisis: improving the diagnosis of tuberculosis in the HIV era. *JID* 2007;196:S15-7.
  22. Mueller DH, Mwenge L, Muyoyeta M, Muvwimi MW, Tembwe R, McNerney R, et al. Costs and cost-effectiveness of tuberculosis cultures using solid and liquid media in a developing country. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008;12:1196-202.
  23. Dowdy DW, Lourenço MC, Cavalcante SC, Saraceni V, King B, Golub JE, et al. Impact and cost-effectiveness of culture for diagnosis of tuberculosis in HIV-infected Brazilian adults. *PLoS One* 2008;3:e4057.
  24. Al-Mutairi N, Ahmad S, Mokaddas E. Performance of the Genotype MTDR assay for molecular detection of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Ann Saud Med* 2008;28:203-6.
  25. Mokrousov I, Bhanu NV, Suffys PN, Kadival GV, Yap SF, Cho SN, et al. Multicenter evaluation of reverse line blot assay for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *J Microbiol Methods* 2004;57:323-35.



26. Drobniewski FA, Watterson SA, Wilson SM, Harris GS. A clinical, microbiological and economic analysis of a national service for the rapid molecular diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol 2000;49:271-8.
27. Somoskovi A, Dormandy J, Mitsani D, Rivenburg J, Salfinger M. Use of smear-positive samples to assess the PCR-based genotype MTBDR assay for rapid, direct detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex as well as its resistance to isoniazid and rifampin. J Clin Microbiol 2006;44:4459-63.
28. Seagar AL, Prendergast C, Emmanuel FX, Rayner A, Thomson S, Laurenson IF, et al. Evaluation of the GenoType Mycobacteria Direct assay for the simultaneous detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex and four atypical mycobacterial species in smear-positive respiratory specimens. J Med Microbiol 2008;57:605-11.
29. Hillemann D, Rusch-Gerdes S, Richter E. Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. J Clin Microbiol 2007;45:2635-40.
30. Somoskovi A, Song Q, Mester J, Tanner C, Hale YM, Parsons LM, et al. Use of molecular methods to identify the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and other mycobacterial species and to detect rifampin resistance in MTBC isolates following growth detection with the BACTEC MGIT 960 system. J Clin Microbiol 2003;41:2822-6.
31. Watterson SA, Wilson SM, Yates MD, Drobniewski FA. Comparison of three molecular assays for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1998;36:1969-73.