

Artigo Original

Métodos convencionais e moleculares para o diagnóstico da tuberculose pulmonar: um estudo comparativo*

Conventional and molecular techniques in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a comparative study

Stella Sala Soares Lima¹, Wanessa Trindade Clemente², Moisés Palaci³,
Reinaldo Vieira Rosa⁴, Carlos Maurício de Figueiredo Antunes⁵, José Carlos Serufo⁶

Resumo

Objetivo: Comparar quatro métodos laboratoriais no diagnóstico de tuberculose pulmonar. **Métodos:** Foram realizadas pesquisa direta pelas colorações de Ziehl-Neelsen e auramina, cultura para micobactérias em meio Löwenstein-Jensen (LJ) e *polymerase chain reaction* (PCR, reação em cadeia da polimerase) para *Mycobacterium tuberculosis* em 160 amostras de secreção respiratória de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar. As cepas isoladas foram identificadas por método radiométrico utilizando-se p-nitro-alfa-acetilamino-beta-hidroxi-propiofenona (NAP) e métodos clássicos. A sensibilidade dos métodos foi comparada com o padrão ouro para o diagnóstico da tuberculose pulmonar, definido por critérios clínicos, radiológicos e microbiológicos. **Resultados:** Dos 160 pacientes, 142 foram diagnosticados com tuberculose pulmonar de acordo com o padrão ouro. As técnicas de Ziehl-Neelsen e auramina, cultura em meio LJ e PCR apresentaram sensibilidade de 54,2%, 58,4%, 67,6% e 77,5%, respectivamente, quando comparados ao critério diagnóstico adotado. A especificidade dos quatro métodos foi de 100%. A concordância na identificação da micobactéria entre PCR e o método radiométrico utilizando NAP foi alta (96,8%). A sensibilidade da PCR foi de 50,8% nas amostras com baciloscopia negativa e de 98,8% naquelas com baciloscopia positiva. Nas amostras com resultados negativos na baciloscopia e cultura, a sensibilidade da PCR foi menor que nas com resultados positivos (25,6% e 99,0%, respectivamente). **Conclusões:** A PCR é método promissor no diagnóstico da tuberculose pulmonar, mesmo em amostras paucibaciares. Além disso, apresenta a vantagem da identificação simultânea e rapidez do resultado.

Descritores: Tuberculose pulmonar/diagnóstico; Meios de cultura; Reação em cadeia da polimerase; Escarro/microbiologia.

Abstract

Objective: To compare four laboratory methods in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. **Methods:** Respiratory secretion specimens were collected from 160 patients suspected of having pulmonary tuberculosis. Direct testing for *Mycobacterium tuberculosis* was carried out using Ziehl-Neelsen and auramine staining. In addition, culture in Löwenstein-Jensen (LJ) medium and polymerase chain reaction (PCR) were used. The strains isolated were identified by means of a radiometric method using p-nitro-alpha-acetyl-amino-beta-hydroxypropiofenone (NAP) and classical methods. The sensitivity of the methods was compared to the gold standard for the diagnosis of pulmonary tuberculosis, based on clinical, radiological and microbiological criteria. **Results:** Of the 160 patients, 142 were diagnosed with pulmonary tuberculosis according to the gold standard. The sensitivity of Ziehl-Neelsen staining, auramine staining, culture in LJ medium and PCR was 54.2%, 58.4%, 67.6% and 77.5%, respectively, when compared with the diagnostic criterion adopted. All four methods presented 100% specificity. In the identification of mycobacteria, there was high (96.8%) concordance between PCR and the radiometric method using NAP. The sensitivity of PCR was 50.8% in samples with negative sputum smear microscopy results and 98.8% in those with positive results. The sensitivity of PCR was lower in specimens with negative results in sputum smear microscopy and culture than in those with positive results (25.6% and 99.0%, respectively). **Conclusions:** We found PCR to be a promising method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis, even in paucibacillary specimens. Simultaneous identification and faster results are additional advantages of this method.

Keywords: Tuberculosis, pulmonary/diagnosis; Culture media; Polymerase chain reaction; Sputum/microbiology.

* Trabalho realizado no Hospital Júlia Kubitschek, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais – FHEMIG – Belo Horizonte (MG) Brasil; na Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil; no Laboratório Micra Biotecnologia, Belo Horizonte (MG) Brasil; e no Núcleo de Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Vitória (ES) Brasil.

1. Médica Auditora da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar. Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

2. Professora Assistente do Departamento de Propedêutica Complementar. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

3. Professor Adjunto. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Vitória (ES) Brasil.

4. Chefe do Setor de Microbiologia. Laboratório Micra Biotecnologia, Belo Horizonte (MG) Brasil.

5. Professor Titular. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

6. Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

Endereço para correspondência: Stella Sala Soares Lima. Rua Um, 108, Condomínio Veredas das Geraes, CEP 34000-000, Nova Lima, MG, Brasil.

Tel 55 31 3541-7898. E-mail: stellabhz@yahoo.com.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais; do Laboratório Micra Biotecnologia; e do Núcleo de Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo.

Recebido para publicação em 17/12/2007. Aprovado, após revisão, em 5/5/2008.

Introdução

As estatísticas da ocorrência de tuberculose (TB) no mundo evidenciam uma situação epidemiológica alarmante, considerando-se que cerca da metade da população mundial encontra-se infectada pela *Mycobacterium tuberculosis*, com 8,8 milhões de casos novos da doença e 1,6 milhões de óbitos por ano.⁽¹⁾ No Brasil, é evidente o recrudescimento da enfermidade, relacionado à falta de sistemas públicos de saúde eficazes, déficit nos programas de controle da tuberculose, crises econômicas sucessivas, crescimento da população marginalizada urbana e rural, aumento das migrações e epidemia de AIDS.⁽²⁾ No ano de 2005, a taxa de incidência da TB no Brasil foi de 43,78 casos/100.000 habitantes, mas acredita-se que o número de pacientes infectados seja maior, provavelmente em decorrência da subnotificação.⁽³⁾ Por ser uma doença em que o uso de vacinas não mostrou resultado eficaz, os melhores mecanismos para seu controle são o diagnóstico e o tratamento precoces, o que reduz significativamente sua transmissão. No entanto, apesar da microbiologia convencional persistir como a principal ferramenta para o diagnóstico da TB, a pesquisa direta apresenta baixa sensibilidade, e a cultura demanda longo período para cultivo. Assim, novos métodos diagnósticos vêm sendo desenvolvidos, na intenção de substituírem os métodos diretos e o cultivo, sendo o teste ideal aquele que apresentar elevada sensibilidade e especificidade, rapidez em fornecer o resultado e custo baixo. Técnicas moleculares reduzem o tempo de detecção e identificação de *M. tuberculosis*, a exemplo da *polymerase chain reaction* (PCR, reação em cadeia da polimerase). Contudo, apesar desses métodos serem promissores no diagnóstico da TB, apresentam sensibilidade reduzida nas amostras com baciloscopia negativa e amostras extrapulmonares.⁽⁴⁻⁸⁾ A PCR para *M. tuberculosis* ainda apresenta custo elevado para o sistema de saúde pública brasileiro, e apenas se o seu emprego for vantajoso, em relação aos métodos convencionais atualmente disponíveis, deve ser utilizada.

Este estudo busca avaliar diferentes métodos para o diagnóstico da TB pulmonar, aplicados em pacientes de um centro de referência, onde é freqüente a necessidade de detecção e/ou identificação rápida das micobactérias, visando o

tratamento precoce e um controle mais efetivo da doença.

Métodos

Foram analisadas amostras de escarro de pacientes com TB pulmonar presumida, atendidos no Hospital Júlia Kubitschek, Belo Horizonte, Brasil, entre janeiro de 2001 e janeiro de 2002. Os pacientes foram submetidos à avaliação clínica, radiografia de tórax em incidências póstero-anterior e em perfil, sorologia para HIV e preenchimento da ficha de dados epidemiológicos. Após um período mínimo de 18 meses, reavaliaram-se os prontuários para a confirmação diagnóstica e a determinação da evolução clínica do paciente. A coleta da amostra e os procedimentos laboratoriais seguiram as normas de segurança, e obedeceram-se critérios padronizados de manuseio.

As amostras foram descontaminadas utilizando-se fosfato monossódico e fosfato trissódico (método de Corper & Stoner modificado)⁽⁹⁾ e concentradas por centrifugação. A seguir, esfregaços foram confeccionados a partir de uma alíquota do sedimento, corados pelas técnicas de Ziehl-Neelsen e de auramina,^(10,11) e observados ao microscópico. Ainda a partir do sedimento, um volume de 0,1 mL foi adicionado a no mínimo dois tubos contendo meio de cultura Löwenstein-Jensen (LJ), mantidos em estufa a 37°C por um período de até oito semanas, descrevendo os resultados conforme uma escala semiquantitativa.⁽¹²⁾ As cepas isoladas foram identificadas pelo teste de inibição de crescimento com p-nitro-alfa-acetilamino-beta-hidroxiopropiofenona (NAP) no sistema BACTEC 460 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, EUA) e por outros testes fenotípicos (análise morfológica das colônias e testes bioquímicos clássicos).⁽¹³⁾ Utilizou-se o *kit* PCR para *M. tuberculosis* AmpliCor® (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, EUA), com controle interno, segundo as especificações do fabricante.⁽¹⁴⁾

Para a definição do critério final de diagnóstico de TB, utilizou-se a combinação dos dados clínicos, radiológicos e microbiológicos, obtidos por médicos especialistas no Hospital Júlia Kubitschek, bem como a resposta ao uso de medicação antituberculose.^(5,7,8,15-18)

Todos os pacientes incluídos na investigação assinaram o termo de consentimento livre e esclare-

Tabela 1 – Caracterização dos 160 pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar.

Características	Pacientes	
	n	%
Sexo		
Masculino	116	72,5
Feminino	44	27,5
História de contato prévio com tuberculose		
Domiciliar	22	13,8
Ocupacional	6	3,8
Hospitalar	3	1,9
Sem contato	47	29,3
Ignorado	82	51,2
Co-morbidades		
Alcoolismo	86	53,8
Tabagismo	84	52,5
Sorologia positiva para HIV	20	12,5
Diabetes	12	7,5
Neoplasia	6	3,8
Silicose	3	1,9
História prévia de tuberculose pulmonar	77	48,1
Abandono de tratamento prévio de tuberculose pulmonar	44	27,5
Sintomas		
Tosse	148	92,5
Emagrecimento	127	79,4
Febre	107	66,9
Sudorese noturna	94	58,8
Dispneia	78	48,8
Astenia	72	45,0
Dor torácica	61	38,1
Hemoptise	34	21,3
Radiologia do tórax		
Cavitações	85	53,1
Pulmão destruído	20	12,5
Consolidação	38	23,8
Outras alterações	6	3,8
Normal	2	1,3
Ignorada	9	5,6

cido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais.

Os dados inicialmente coletados na forma de questionários foram transferidos para um banco de dados e analisados no programa Epi Info 2002, versão 3.2.2. Utilizou-se o coeficiente kappa para

comparação dos métodos. A avaliação das variáveis categóricas foi feita através do teste do qui-quadrado com correção de Yates. No caso de ocorrência de menos de cinco eventos ou valor nulo, empregou-se o teste exato de Fisher. Em todos os testes fixou-se em 5% o nível para a rejeição da hipótese de nulidade ($p \leq 0,05$).

Resultados

No período entre janeiro de 2001 e janeiro de 2002 foram avaliados 161 pacientes com suspeita de TB pulmonar e coletada uma amostra de escarro por paciente. Ocorreu uma perda devido à amostra com volume insuficiente. A idade média dos 160 pacientes incluídos foi de $40,0 \pm 12,8$ anos (variação, 19-78 anos). As características gerais dos mesmos encontram-se descritas na Tabela 1.

Dos 160 pacientes incluídos, 142 (88,8%) apresentaram TB pulmonar pelos critérios adotados no Hospital Júlia Kubitschek; entre esses, 3 portadores de silicotuberculose e 12 de TB pulmonar multidroga resistente (MDR), segundo critérios da Organização Mundial de Saúde.⁽¹⁵⁾ Após a reavaliação dos prontuários, a evolução clínica da TB pulmonar foi estabelecida em 106 pacientes (74,6%), sendo que 35 (24,6%) melhoraram com o tratamento com o esquema I (rifampicina + isoniazida + pirazinamida); 19 (13,4%) com o esquema IR (esquema I + etambutol); 10 (7,0%) com o esquema III (estreptomina + etionamida + etambutol + pirazinamida) e 10 (7,0%) com esquema para TB MDR (etambutol + ofloxacina + clofazimina + terizidona + ampicilina). Dos 106 pacientes, 18 (12,7%) abandonaram o tratamento, 13 (9,1%) evoluíram para o óbito e 1 paciente (0,7%) não apresentou melhora com o esquema para TB MDR. Do total de 142 pacientes com TB pulmonar, 36 foram encaminhados para tratamento em centros de referência próximos ao domicílio, não sendo possível obtenção da evolução clínica dos mesmos.

Os resultados obtidos com os métodos laboratoriais avaliados encontram-se na Figura 1. As pesquisas diretas pelas técnicas de Ziehl-Neelsen e auramina, a cultura e a PCR apresentaram sensibilidade de 54,2%, 58,4%, 67,6% e 77,5%, respectivamente. Em todos os métodos, a especificidade foi de 100%. O coeficiente kappa das comparações dos métodos empregados encontra-se descrito na Tabela 2.

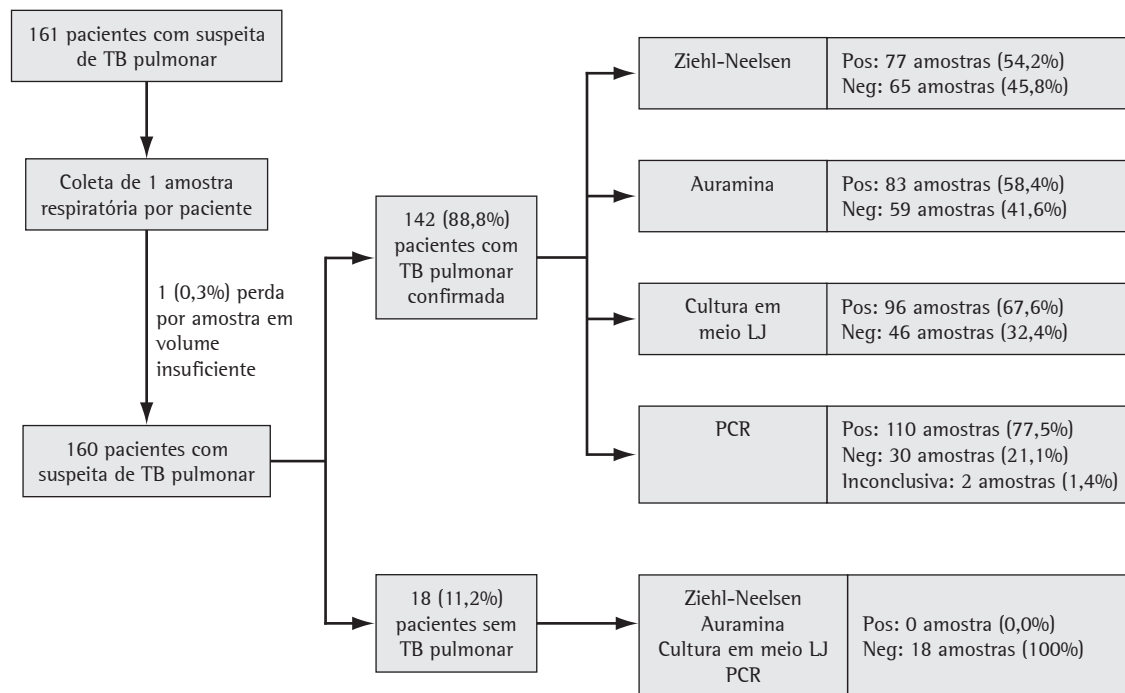


Figura 1 – Fluxograma de diagnóstico e resultados dos exames avaliados. TB: tuberculose; LJ: Löwenstein-Jensen; PCR: *polymerase chain reaction* (reação em cadeia da polimerase) para *Mycobacterium tuberculosis*, Pos: positivo; Neg: negativo.

A identificação de *M. tuberculosis*, através da técnica radiométrica com NAP, foi realizada em 95 das 96 culturas positivas em meio LJ (em uma cultura ocorreu contaminação, não sendo possível o isolamento da cepa em subcultivos sucessivos). Das 95 cepas isoladas em meio LJ e identificadas pelo sistema BACTEC, a PCR identificou 92 (96,8%).

Nas amostras com pesquisa direta negativa, a sensibilidade da PCR foi de 50,8%, enquanto que nos espécimes com baciloscopia positiva, a sensibilidade foi de 98,8% ($p < 0,0001$).

Tabela 2 – Coeficiente kappa da comparação dos métodos diagnósticos.

Métodos diagnósticos	kappa (IC95%)
Ziehl-Neelsen e auramina	0,93 (0,87-0,98)
Ziehl-Neelsen e cultura em meio LJ	0,62 (0,49-0,74)
Ziehl-Neelsen e PCR	0,54 (0,40-0,68)
Auramina e cultura em meio LJ	0,66 (0,54-0,78)
Auramina e PCR	0,60 (0,46-0,75)
Cultura em meio LJ e PCR	0,78 (0,63-0,93)

LJ: Löwenstein-Jensen; e PCR: *polymerase chain reaction* (reação em cadeia da polimerase) para *Mycobacterium tuberculosis*.

Nas amostras com pesquisa direta e cultura negativas, a sensibilidade da PCR foi de 25,6%, sendo que nos espécimes com pesquisa direta e cultura positivas, a PCR apresentou sensibilidade de 99,0% ($p < 0,0001$).

No total, 77 pacientes relataram história prévia de TB pulmonar (mediana de diagnóstico, 36 meses), sendo que 44 (57,1%) abandonaram o tratamento. A sensibilidade da PCR nos pacientes com história prévia de TB pulmonar foi de 78,6% e naqueles sem passado de TB pulmonar, 77,6% ($p = 0,94$). Não ocorreu nenhum resultado falso-positivo nos pacientes com história prévia de tuberculose, sem TB pulmonar ativa na ocasião do estudo.

Discussão

O estudo foi desenvolvido em um centro de referência no tratamento da TB pulmonar, com elevada proporção de pacientes sintomáticos, portadores de co-morbidades, com história prévia de tuberculose e relato de abandono de tratamento, além da considerável frequência de TB MDR e óbitos. Nesta casuística, 18 pacientes (11,2%) abandonaram o

Tabela 3 – Sensibilidade e especificidade dos testes de ampliação do ácido nucléico no diagnóstico de tuberculose pulmonar.

Testes ^a	Secreção respiratória			
	Baciloscopia positiva		Baciloscopia negativa	
	Sensibilidade, %	Especificidade, %	Sensibilidade, %	Especificidade, %
Amplicor	97	>95	65,5-85,3	99,4
Cobas Amplicor	73,6-93,3	80-100	56,5-75	99,7-100
AMTD	92-100	>95	40-93	99,6-99,8
EMTD	83,8-99,9	99	50,6-87,9	96,1-100
Real-time PCR system	78	100	78	100

^aAmplicor e Cobas Amplicor: fabricados por Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, EUA; *Amplified Mycobacterium tuberculosis direct test* (AMTD) e *Enhanced Amplified Mycobacterium tuberculosis direct test* (EMTD): fabricados por Gen-Probe Inc, San Diego, CA, EUA; e *Real-time PCR system*: fabricado por Shanghai Hongshi Medical Tech. Co., Shanghai, China.

tratamento, o que aponta para a necessidade de medidas mais eficazes de adesão à terapia, que é fundamental no controle da disseminação da doença.

O melhor método de diagnóstico de TB pulmonar é a combinação de características clínicas, radiológicas e microbiológicas.^(5,7,8,16-18) Baseado na comparação com esse critério, observou-se que a baciloscopia realizada pelas técnicas de Ziehl-Neelsen e auramina apresentaram sensibilidade de 54,2% e 58,4%, respectivamente, resultados similares a outros estudos, que descrevem a sensibilidade da baciloscopia variando de 50% a 80%.^(8,19) A maior sensibilidade da pesquisa direta pela técnica da auramina em relação à de Ziehl-Neelsen não teve significância estatística. Estes dois métodos apresentaram excelente concordância de resultados, expressado por um coeficiente kappa de 0,93, além de equivalência na prática clínica, embora alguns autores sugiram que a pesquisa direta pela auramina apresente sensibilidade mais elevada.⁽²⁰⁾ Assim, a escolha do método fundamenta-se nas características e recursos do laboratório, já que o tempo para análise dos esfregaços pela técnica da auramina é inferior ao tempo de execução da baciloscopia pela técnica de Ziehl-Neelsen (1-2 min vs. 10-15 min).^(20,21) A técnica da auramina apresenta acurácia semelhante à coloração de Ziehl-Neelsen, com menor tempo de leitura, apesar do emprego de equipamentos dispendiosos, estando recomendada apenas em laboratórios com realização de mais de 100 lâminas por dia, e sua utilização não dispensa a realização de colorações baseadas em fucsina para o estudo da morfologia do bacilo.⁽⁸⁾

A cultura em meio LJ, que permite o diagnóstico de certeza da TB pulmonar, apresentou, no presente

estudo, uma sensibilidade de 67,6%, inferior ao índice entre 80% e 100% habitualmente descrito,⁽¹⁹⁾ devendo-se considerar a influência da coleta de uma única amostra. Outros meios de cultura e métodos de detecção automatizados ou semi-automatizados trazem como principal vantagem a redução no tempo de detecção da micobactéria (de 3 a 8 semanas para cerca de 15 dias). Contudo, o meio LJ, aprovado pela Organização Mundial de Saúde, permanece como o mais utilizado no Brasil, com o adicional benefício do armazenamento da cepa para estudos posteriores, além do fato de que algumas cepas crescem apenas neste meio. Por estas razões, o emprego de novos métodos não prescinde da realização da cultura convencional.⁽⁸⁾

A PCR, em relação aos outros métodos, apresentou a maior sensibilidade (77,5%), com índice dentro dos valores estabelecidos pela literatura (entre 42% e 90,9%), cuja variação depende principalmente das características da amostra.^(4-6,8,15-17,22-24) A PCR mostrou sensibilidade semelhante à cultura ($p = 0,09$), assim como usualmente descrito nos estudos de comparação entre esses métodos,^(6,25) e boa concordância de resultados, expresso pelo coeficiente kappa de 0,78. A cultura e a PCR foram superiores aos métodos de pesquisa direta ($p = 0,048$ e $p = 0,00007$, respectivamente), muito provavelmente devido à maior capacidade da cultura e da PCR de detecção em amostras paucibacilares. A pesquisa direta detecta amostras contendo, no mínimo, 5.000-10.000 bacilos, ao passo que a cultura requer 10-100 bacilos e a PCR, 1-20 bacilos.^(8,26,27) A técnica de Ziehl-Neelsen e da auramina apresentaram boa concordância de resultados com a cultura e a PCR (coeficiente kappa entre 0,54 e 0,66; Tabela 2).

A coleta de mais de uma amostra por paciente provavelmente elevaria a sensibilidade de todos os métodos avaliados no presente estudo. Entretanto, a comparação dos métodos em única amostra retrata situações freqüentes na prática clínica, a exemplo do que ocorre em unidades de pronto atendimento.

Nas amostras com baciloscopia negativa, a sensibilidade da PCR foi estatisticamente inferior que nas amostras com pesquisa direta positiva (50,8% e 98,8% respectivamente), em concordância com vários outros estudos (Tabela 3).^(4,5,8,17,22,28) Nas amostras com pesquisa direta e cultura negativas, a sensibilidade da PCR foi ainda menor (25,6%), estatisticamente inferior à sensibilidade nas amostras com exames convencionais positivos (99,0%). A redução da sensibilidade nas amostras com baciloscopia negativa resulta da presença de número reduzido de bacilos, da falta de homogeneidade da amostra e da utilização, na PCR, de volume menor que o empregado na cultura.^(5,29,30) Ressalta-se que a técnica de PCR utilizada (Amplicor®) não foi aprovada pela *Food and Drug Administration* para utilização em amostras com baciloscopia negativa até o momento, já que a sensibilidade neste tipo de amostra é variável.⁽⁸⁾ Não obstante a redução da sensibilidade da PCR nas amostras com pesquisa direta negativa ser uma das maiores limitações do método, destaca-se que, neste estudo, a PCR foi capaz de detectar o bacilo em cerca de metade dos pacientes com baciloscopia negativa e em cerca de um quarto dos pacientes que não teriam o diagnóstico esclarecido pela pesquisa direta e pela cultura. Nas amostras com pesquisa direta negativa, a PCR foi estatisticamente superior à cultura (sensibilidade de 50,8% e 34,0%, respectivamente), ponderando-se que a sensibilidade da cultura neste estudo foi menor do que comumente relatado. A PCR fornece resultados rápidos, apesar do seu custo mais elevado, e apresenta como vantagens a detecção e a identificação simultâneas da micobactéria, o que é desejável em algumas situações, mesmo em pacientes com pesquisa direta positiva.⁽⁶⁾

A PCR identificou o *M. tuberculosis* em concordância com 96,8% das amostras identificadas pelo método radiométrico com NAP. A identificação da micobactéria utilizando cultura convencional demanda entre 6 e 8 semanas, ao passo que, com cultura pelo método radiométrico, esse tempo é reduzido para aproximadamente 15 dias. As técnicas moleculares exigem cerca de 2 h.⁽⁸⁾ A redução do

tempo para a identificação do portador é importante no controle da disseminação da doença, tornando possível a instituição de tratamento precoce, com impacto na saúde pública.

Todavia, a PCR pode permanecer positiva por mais de 12 meses após o diagnóstico e o início do tratamento, inclusive após 6 meses da negatização da pesquisa direta e da cultura.^(17,30) Este fato impede a utilização da PCR no acompanhamento do tratamento.⁽⁸⁾ No presente estudo, não se observou diferença com significância estatística na sensibilidade da PCR entre os pacientes com e sem história prévia de TB pulmonar (78,6% e 77,6%, respectivamente). Na casuística avaliada, a maioria dos pacientes com história de TB apresentou elevado índice de abandono do tratamento anterior (44 de 77 pacientes; 57,1%) e persistia com doença ativa na ocasião do estudo, o que pode ter contribuído para a ausência de diferença entre a sensibilidade da PCR naqueles com e sem história prévia de TB pulmonar. Nos pacientes com história prévia de TB, sem doença ativa, a mediana de tempo de diagnóstico prévio foi de 36 meses, superior a 6 e 12 meses descritos na literatura como necessários para a persistência da detecção bacilar pela PCR.^(16,29)

Devido ao pequeno número de pacientes sem TB pulmonar e ausência de infecção por outros patógenos, este estudo não é adequado para a avaliação da especificidade, apesar de não se ter observado nenhum resultado falso-positivo, e outros estudos confirmarem a elevada especificidade dos testes de amplificação do ácido nucléico (Tabela 3).^(8,30)

No presente estudo, observa-se que a pesquisa direta permanece como a técnica de escolha para a avaliação inicial dos pacientes com suspeita de TB, considerando-se sua elevada sensibilidade, mesmo em uma única amostra, baixo custo e reduzida complexidade requerida para sua execução. A PCR mostrou-se o método mais sensível para o diagnóstico da doença, equivalente à cultura, com as vantagens da rapidez e identificação simultânea do *M. tuberculosis*, mas a desvantagem do maior custo. Comenta-se que, embora a PCR apresente sensibilidade inferior à desejável em amostras com baciloscopia negativa, esta técnica pode ser ainda vantajosa, quando comparada com os métodos convencionais no diagnóstico rápido da TB pulmonar paucibacilar. Até o presente momento, não se dispõe de outro método mais efetivo quando a combinação de achados clínicos, radiológicos e

microbiológicos convencionais não estabelece o diagnóstico.

Referências

- World Health Organization. Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing. Geneva: World Health Organization; 2007.
- Kritski AL, Conde MB, Souza GR. Tuberculose: Do Ambulatório à Enfermaria. 3rd ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2005.
- Departamento de Informática do SUS – DATASUS [homepage on the Internet]. Brasília: Ministério da Saúde. [cited 2007 Dec 17]. Indicadores e dados básicos 2006. Taxa de incidência de tuberculose. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2006/d0202.def>
- Rapid diagnostic tests for tuberculosis: what is the appropriate use? American Thoracic Society Workshop. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155(5):1804-14.
- Palomino JC. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *Eur Respir J.* 2005;26(2):339-50.
- Iinuma Y, Ichiyama S, Yamori S, Oohama J, Takagi N, Hasegawa Y, et al. Diagnostic value of the Amplicor PCR assay for initial diagnosis and assessment of treatment response for pulmonary tuberculosis. *Microbiol Immunol.* 1998;42(4):281-7.
- 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(7):3233-40.
- Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro de Tuberculose. Diretrizes brasileiras para tuberculose 2004. *J Pneumol.* 2004;30(Supl 1):S2-S56.
- Centro Panamericano de Zoonosis. Manual de normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis: Parte I. La muestra, El examen microscópico. CEPANZO. Notas Técnicas, no.26/Rev. 1. Buenos Aires: CEPANZO; 1988.
- Smithwick RW. Laboratory manual acid-fast microscopy. Atlanta (GA): Public Health Service, Center for Disease Control, Bureau of Laboratories; 1976.
- Union International Contra la Tuberculosis. Guia técnico para recolección, conservación y transporte de las muestras de esputo y examen por microscopia direct para la tuberculosis. *Bol Un Int Tuberc.* 1978;53(Supl 2):1-21
- Fundação Nacional de Saúde. Centro de Referência Professor Helio Fraga. Manual de Bacteriologia da Tuberculose. 2nd ed. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1994.
- Siddiqi SH. BACTEC 460 TB system. Product and procedure manual, revision D. Sparks (MD): Becton Dickinson Diagnostic Systems; 1995.
- Roche Molecular Diagnostics. [homepage on the Internet], Basel, Switzerland: AMPLICOR® Mycobacterium tuberculosis (MTB) Test. 2007 [cited 2007 Dec 17]. Available from: http://molecular.roche.com/diagnostics/mycobacteria/products_mycobacteria_2.html
- Espinal MA. The global situation of MDR-TB. *Tuberculosis (Edinb).* 2003;83(1-3):44-51.
- Bennedsen J, Thomsen VO, Pfyffer GE, Funke G, Feldmann K, Beneke A, et al. Utility of PCR in diagnosing pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1996;34(6):1407-11.
- Eing BR, Becker A, Sohns A, Ringelmann R. Comparison of Roche Cobas Amplicor Mycobacterium tuberculosis assay with in-house PCR and culture for detection of M. tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1998;36(7):2023-9.
- Moore DF, Curry JI. Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis directly from sputum sediments by Amplicor PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33(10):2686-91.
- Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(4 Pt 1):1376-95.
- Salfinger M, Morris AJ. The role of the microbiology laboratory in diagnosing mycobacterial diseases. *Am J Clin Pathol.* 1994;101(4 Suppl 1):S6-13.
- Singh NP, Parija SC. The value of fluorescence microscopy of auramine stained sputum smears for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1998;29(4):860-3.
- Cohen RA, Muzaffar S, Schwartz D, Bashir S, Luke S, McGartland LP, et al. Diagnosis of pulmonary tuberculosis using PCR assays on sputum collected within 24 hours of hospital admission. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157(1):156-61.
- Schirm J, Oostendorp LA, Mulder JG. Comparison of Amplicor, in-house PCR, and conventional culture for detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 1995;33(12):3221-4.
- Al Zahrani K, Al Jahdali H, Poirier L, René P, Gennaro ML, Menzies D. Accuracy and utility of commercially available amplification and serologic tests for the diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(4 Pt 1):1323-9.
- Chin DP, Yajko DM, Hadley WK, Sanders CA, Nassos PS, Madej JJ, et al. Clinical utility of a commercial test based on the polymerase chain reaction for detecting Mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(6):1872-7.
- Hobby GL, Holman AP, Iseman MD, Jones JM. Enumeration of tubercle bacilli in sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1973;4(2):94-104.
- Yeager H Jr, Lacy J, Smith LR, LeMaistre CA. Quantitative studies of mycobacterial populations in sputum and saliva. *Am Rev Respir Dis.* 1967;95(6):998-1004.
- Yuen KY, Chan KS, Chan CM, Ho BS, Dai LK, Chau PY, et al. Use of PCR in routine diagnosis of treated and untreated pulmonary tuberculosis. *J Clin Pathol.* 1993;46(4):318-22.
- Andersen AB, Thybo S, Godfrey-Faussett P, Stoker NG. Polymerase chain reaction for detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1993;12(12):922-7.
- Ieven M, Goossens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(2):242-56.