



Desempenho diagnóstico do teste Xpert MTB/RIF em amostras de LBA de pacientes com suspeita clínica de tuberculose pulmonar: experiência na atenção terciária em uma área com alta carga de tuberculose

Guilherme Machado Xavier de Brito¹, Thiago Thomaz Mafort²,
Marcelo Ribeiro-Alves³, Larissa Vieira Tavares dos Reis², Janaína Leung²,
Robson Souza Leão⁴, Rogério Rufino², Luciana Silva Rodrigues¹

1. Laboratório de Imunopatologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.
2. Disciplina de Pneumologia e Tisiologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.
3. Laboratório de Pesquisas Clínicas em DST/AIDS, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (RJ) Brasil.
4. Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

Recebido: 21 novembro 2020.
Aprovado: 8 março 2021.

Trabalho realizado na Disciplina de Pneumologia e Tisiologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o desempenho diagnóstico do teste Xpert MTB/RIF — teste molecular rápido para tuberculose, comparando-o com o da pesquisa de BAAR e da cultura, em amostras de LBA de pacientes com suspeita clínica de tuberculose pulmonar (TBP) que apresentam baciloscopia de escarro negativa ou produzem amostras com quantidade insuficiente de escarro. **Métodos:** Estudo retrospectivo de 140 casos suspeitos de TBP em pacientes que apresentaram baciloscopia negativa ou produziram amostras de escarro insuficientes e foram avaliados em um hospital-escola terciário na cidade do Rio de Janeiro (RJ). Todos os pacientes foram submetidos à fibrobroncoscopia com LBA. Os espécimes de LBA foram avaliados por meio da realização de pesquisa de BAAR, cultura para micobactérias e teste Xpert MTB/RIF. **Resultados:** Entre os 140 pacientes, resultados de todos os três exames microbiológicos estavam disponíveis para 73 (52,1%), dos quais 22 apresentaram cultura positiva, 17, pesquisa de BAAR positiva, e 20, teste Xpert MTB/RIF positivo. A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e precisão global da pesquisa de BAAR foram de 68,1%, 96,1%, 88,2%, 87,5% e 87,6%, respectivamente, contra 81,8%, 96,1%, 90,0%, 92,4% e 91,8%, respectivamente, do teste Xpert MTB/RIF. A concordância entre a pesquisa de BAAR e a cultura foi de 82,3% ($\kappa = 0,46$; $p < 0,0001$), enquanto a concordância entre o teste Xpert MTB/RIF e a cultura foi de 91,8% ($\kappa = 0,8$; $p < 0,0001$). **Conclusões:** Em amostras de LBA, o teste Xpert MTB/RIF tem melhor desempenho do que os métodos tradicionais, fornecendo uma alternativa confiável à análise do escarro em casos suspeitos de TBP. No entanto, a taxa de resultados discordantes merece uma reflexão cuidadosa.

Descritores: Tuberculose; Técnicas de diagnóstico molecular; Broncoscopia; Líquido da lavagem broncoalveolar; *Mycobacterium tuberculosis*.

INTRODUÇÃO

A tuberculose, doença causada pela infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis*, continua sendo um alarmante problema de saúde pública, com altas taxas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Estima-se que houve aproximadamente 10,0 milhões de novos casos de tuberculose em 2019, ano em que ocorreram 1,2 milhões e 208 mil óbitos por tuberculose entre indivíduos não infectados e infectados pelo HIV, respectivamente. Embora os esforços realizados tenham salvado milhões de vidas em todo o mundo, reduzindo a mortalidade por tuberculose em 42% desde o ano 2000, uma redução anual de aproximadamente 4-5%, em vez dos atuais 2%, seria necessária para atingir a meta da Estratégia End TB de redução de 95% até 2035. No Brasil, que é um dos 30 países com maior carga de tuberculose,⁽¹⁾

o número estimado de novos casos de tuberculose em 2019 foi de mais de 90 mil.⁽²⁾

Uma grande preocupação com relação ao manejo dos casos de tuberculose é que se obtém confirmação microbiológica em apenas 40-60% dos pacientes com tuberculose pulmonar (TBP), principal manifestação clínica e tipo de tuberculose mais relevante na cadeia de transmissão. Além disso, aproximadamente metade de todos os pacientes com TBP apresenta baciloscopia de escarro negativa para BAAR ou é incapaz de produzir amostras com quantidade suficiente de escarro,^(1,3) tornando o diagnóstico bastante desafiador. Nesses pacientes, a fibrobroncoscopia com LBA é um método rápido e confiável de coleta de espécimes úteis para o diagnóstico de TBP.⁽³⁻⁶⁾ No entanto, métodos convencionais, como a coloração de Ziehl-Neelsen, que detecta BAAR, e

Endereço para correspondência:

Luciana Silva Rodrigues. Avenida Professor Manuel de Abreu, 444, 4º andar, Vila Isabel, CEP 20550-170, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
Tel.: 55 21 2868-8690. E-mail: lrodrigues.uerj@gmail.com
Apoio financeiro: Nenhum.

as culturas para micobactérias, têm baixo rendimento diagnóstico. A baciloscopia de escarro para BAAR é limitada por sua baixa sensibilidade (aproximadamente 40%), enquanto a cultura para micobactérias, considerada o padrão ouro, tem melhor desempenho (com sensibilidade de aproximadamente 86%), embora seja demorada, necessitando de 6-8 semanas para produzir um diagnóstico.^(7,8) Portanto, novos métodos têm sido propostos e, em alguns casos, implementados para melhorar a precisão diagnóstica, o que permitiria a instituição precoce do tratamento adequado, evitando, assim, a disseminação da tuberculose e minimizando os óbitos associados. O teste Xpert MTB/RIF (GeneXpert; Cepheid, Sunnyvale, CA, EUA), teste automatizado e baseado em cartucho, o qual utiliza a PCR quantitativa semianinhada em tempo real, é um teste molecular rápido (≤ 2 h) para a detecção de *M. tuberculosis* e resistência à rifampicina.^(9,10) O teste Xpert MTB/RIF comprovadamente apresenta alta sensibilidade e especificidade, além de ser um teste de baixa complexidade, seguro e custo-efetivo para o diagnóstico e tratamento de casos suspeitos de tuberculose.⁽¹¹⁻¹³⁾ Atualmente, foi demonstrado que uma variedade de espécimes clínicos além do escarro espontâneo ou induzido, como líquido pleural, urina, liquor, aspirado traqueal e LBA, é adequada para análise com o teste Xpert MTB/RIF.^(14,15) No entanto, existem poucos dados na literatura sobre análise de amostras de LBA com o teste Xpert MTB/RIF para o diagnóstico de TBP, especialmente em serviços terciários, bem como sobre sua comparação com métodos microbiológicos convencionais. Portanto, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o desempenho do teste Xpert MTB/RIF em amostras de LBA de pacientes com suspeita de TBP que apresentam baciloscopia de escarro negativa ou produzem amostras de escarro insuficientes. Para isso, avaliamos pacientes com esse perfil em um hospital universitário na cidade do Rio de Janeiro, que ocupa a segunda posição entre as cidades brasileiras em carga de tuberculose.⁽²⁾ Também avaliamos o teste Xpert MTB/RIF em comparação com a pesquisa de BAAR, processando as amostras de LBA em paralelo e utilizando a cultura para micobactérias como referência.

MÉTODOS

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, sob o número de referência 2.013.455. Todos os pacientes participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Desenho e participantes do estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo analítico com 149 pacientes que apresentaram baciloscopia de escarro negativa, apesar dos achados clínicos e radiológicos sugestivos de TBP. Os pacientes foram avaliados no Hospital Universitário Pedro Ernesto,

serviço terciário de referência na cidade do Rio de Janeiro (RJ), entre novembro de 2015 e outubro de 2017. Todos os pacientes foram submetidos a fibrobroncoscopia. As amostras de LBA coletadas foram avaliadas por meio da realização de pesquisa de BAAR, cultura para micobactérias e teste Xpert MTB/RIF. Foram aplicados os seguintes critérios de inclusão: suspeita de TBP com base em achados clínicos, físicos e radiológicos; baciloscopia de escarro negativa, amostras com quantidade insuficiente de escarro ou cultura de escarro negativa para *M. tuberculosis*; e encaminhamento para fibrobroncoscopia. Foram excluídos os pacientes com resultado positivo para *M. tuberculosis* em amostras de escarro (por baciloscopia ou cultura), os pacientes com malignidade, aqueles com infecção fúngica, aqueles em uso de esquema antituberculose há mais de 2 semanas e aqueles com diagnóstico confirmado de infecção por micobactérias não tuberculosas (MNT). Diagnóstico confirmado de TBP foi definido como crescimento de *M. tuberculosis* na cultura para micobactérias em amostra de LBA, que foi considerada o método de referência. Diagnóstico provável de TBP foi definido como o não preenchimento dos critérios para diagnóstico confirmado de TBP, mas com presença de achados clínicos e radiológicos sugestivos de tuberculose e também de resposta clínica ao tratamento antituberculose. As informações referentes a características clínicas e sociodemográficas, como sexo, idade, tabagismo, histórico de tuberculose, sorologia para HIV e presença de doença cavitária, foram extraídas dos prontuários hospitalares. Fumantes foram definidos como indivíduos que haviam fumado pelo menos 100 cigarros (ou equivalente) na vida, e ex-fumantes, como aqueles que haviam parado de fumar há mais de 12 meses.

Avaliação dos pacientes e coleta de amostras

Os investigadores clínicos utilizaram um fibrobroncoscópio para realizar broncoscopia transnasal (com os pacientes sob sedação intravenosa), durante a qual houve monitoramento contínuo da frequência cardíaca, da pressão arterial e da SpO_2 . Resumidamente, após a inspeção da árvore brônquica, foi realizada LBA instilando solução salina estéril (0,9%) em alíquotas seriadas de 20 mL (até um máximo de 200 mL). Pelo menos 50% do volume total de aspirado foi recuperado, sendo então dividido em três partes e enviado ao laboratório para realização de coloração de Ziehl-Neelsen (BAAR), cultura para micobactérias e teste Xpert MTB/RIF.

Baciloscopia

Os espécimes de LBA coletados de todos os pacientes foram centrifugados a $3.000 \times g$ por 15 min e, em seguida, submetidos a testes microbiológicos de acordo com as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.⁽¹⁶⁾ O sobrenadante foi retirado cuidadosamente e, em seguida, processado em paralelo para cada teste subsequente. Para a pesquisa de BAAR, um esfregaço de LBA foi confeccionado em lâmina de

vidro para microscópio e deixado para secar, e, em seguida, foi realizada a coloração. Após a coloração, foram examinados no mínimo 100 campos com uma objetiva de imersão em óleo de 100× e o esfregado foi escaneado sistematicamente. A observação de pelo menos um BAAR foi considerada como resultado positivo.

Cultura sólida

As amostras de LBA foram descontaminadas com hidróxido de sódio na concentração final de 4%. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o material precipitado foi inoculado em tubos contendo o meio sólido de Löwenstein-Jensen. As culturas foram incubadas a 37°C por 60 dias, sendo examinadas semanalmente por até 8 semanas ou até se observar crescimento. O crescimento de *M. tuberculosis* foi identificado utilizando um kit de teste imunocromatográfico rápido que detecta o antígeno MPT64 (SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid test; Standard Diagnostics Inc., Yongin-si, Coreia do Sul), de acordo com as instruções do fabricante.

Teste Xpert MTB/RIF

O sedimento das amostras de LBA foi processado com um protocolo de extração de DNA/RNA, e, em seguida, empregou-se a plataforma Xpert MTB/RIF de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, as amostras foram diluídas com o reagente de amostra fornecido pelo fabricante. A mistura das amostras com o reagente foi agitada no misturador de vórtice por pelo menos 10 s e decantada em temperatura ambiente por 15 min. Como recomendado, todas as soluções foram transferidas para o cartucho Xpert e carregadas no equipamento GeneXpert para análise.

Análise estatística

Na comparação das características sociodemográficas, clínicas e bioquímicas entre os dois grupos (TBP confirmada por cultura e TBP não confirmada por cultura), testamos a hipótese de que as diferentes amostras na comparação foram retiradas da mesma distribuição ou de distribuições com a mesma mediana utilizando testes U de Mann-Whitney para variáveis contínuas. Testes exatos de Fisher foram utilizados para avaliar as frequências entre os dois grupos, testando a hipótese de independência entre os grupos e as variáveis categóricas. O coeficiente kappa foi utilizado nas análises de concordância entre a cultura para micobactérias, o teste Xpert MTB/RIF e a pesquisa de BAAR. Para a detecção do *M. tuberculosis* em amostras de LBA, estimou-se o desempenho do teste Xpert MTB/RIF e da pesquisa de BAAR, bem como de combinações dos dois, em comparação com o padrão ouro (cultura para micobactérias). Utilizamos validação cruzada *leave-one-out* para determinar a precisão, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN), bem como as taxas de resultados falso-positivos e falso-negativos, juntamente com os respectivos intervalos de confiança de 95%. Todas as análises estatísticas foram realizadas

com o programa R, versão 3.5.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria).

RESULTADOS

Desenho do estudo e características dos pacientes

Como ilustrado no fluxograma da Figura 1, incluímos 149 pacientes que apresentaram achados clínicos e radiológicos sugestivos de TBP, apresentaram baciloscopia de escarro negativa ou produziram amostras com quantidade insuficiente de escarro e foram submetidos à fibrobroncoscopia. Depois que as amostras de LBA foram processadas e avaliadas, 9 pacientes foram excluídos por ter recebido o diagnóstico final de infecção por MNT. Portanto, a população final do estudo foi composta por 140 pacientes com resultados disponíveis de testes em LBA. Resultados de cultura para micobactérias estavam disponíveis para 140 pacientes, sendo que *M. tuberculosis* foi identificado em 22 (15,7%) desses pacientes, contra 31 (23,8%) dos 130 pacientes com resultados de pesquisa de BAAR disponíveis e 20 (24,4%) dos 82 pacientes com resultados de Xpert MTB/RIF disponíveis. Os resultados de todos os três exames estavam disponíveis para 73 pacientes, dos quais 22 (30,1%) apresentaram cultura positiva, 17 (23,2%), pesquisa de BAAR positiva, e 20 (27,4%), teste Xpert MTB/RIF positivo. Nenhuma das cepas isoladas apresentou resistência à rifampicina.

A Tabela 1 mostra as características demográficas e clínicas da população estudada, segundo o resultado da cultura para micobactérias nas amostras de LBA. A mediana de idade dos pacientes foi de 56 anos (IIQ = 28,25 anos). Setenta e oito pacientes (55,7%) eram do sexo masculino, e não houve diferenças significativas entre os dois grupos quanto à distribuição por sexo. Todos os pacientes apresentavam pelo menos um sintoma sugestivo de tuberculose, sendo os sintomas mais comuns perda de peso (em 59,3%; $p = 0,008$), tosse (em 57,1%) e dispneia (em 53,6%). Doença cavitária foi observada em 25 pacientes (17,9%). Dos 140 pacientes da população estudada, 31 (22,1%) já haviam tido tuberculose: 28 do grupo cultura de LBA negativa e 3 do grupo cultura de LBA positiva.

Desempenho da pesquisa de BAAR e do teste Xpert MTB/RIF em amostras de LBA

Entre os pacientes da população estudada, os três métodos para detecção do *M. tuberculosis* foram utilizados de forma heterogênea (Figura 1). Primeiramente, os resultados dos testes foram analisados em diferentes combinações (pares) para avaliar a concordância global entre o teste Xpert MTB/RIF, a pesquisa de BAAR e a cultura para micobactérias em amostras de LBA de casos suspeitos de TBP. Como mostrado na Tabela 2, o teste Xpert MTB/RIF apresentou 91,78% de concordância com a cultura ($\kappa = 0,8$; $p < 0,0001$), contra 82,31% da pesquisa de BAAR ($\kappa = 0,46$; $p < 0,0001$), independentemente da análise da amostra total ($n = 140$) ou daqueles

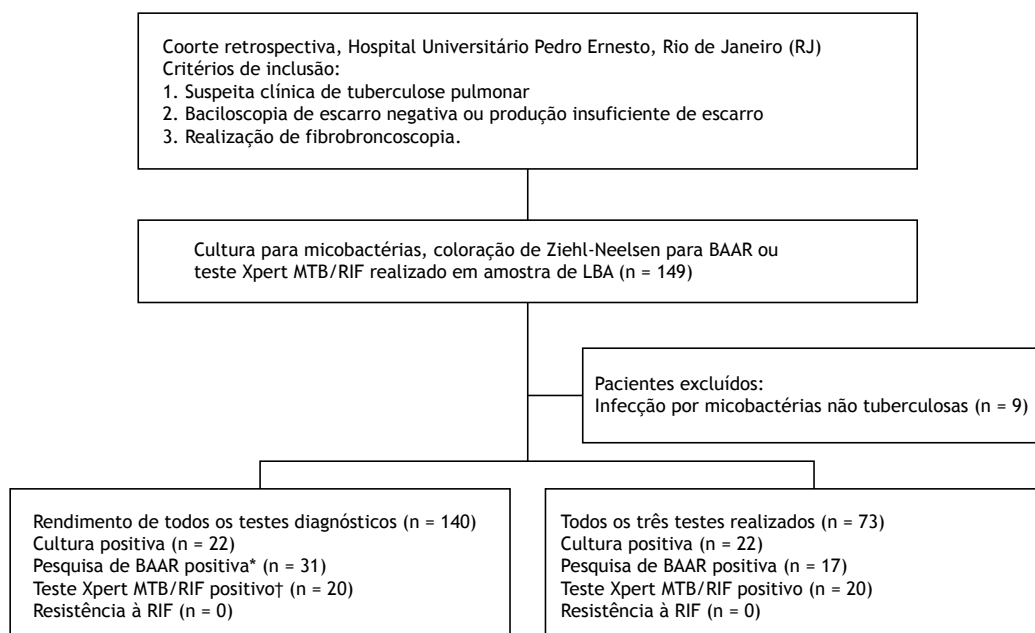


Figura 1. Fluxograma do desenho do estudo e do rendimento dos testes diagnósticos para tuberculose realizados em amostras de LBA. *Realizada em apenas 130 dos 140 pacientes. †Realizado em apenas 82 dos 140 pacientes.

Tabela 1. Características sociodemográficas e clínicas da população estudada, segundo os resultados de cultura para micobactérias em amostras de LBA.^a

Características	Resultado da cultura de LBA		Total (N = 140)	p
	Negativo (n = 118)	Positivo (n = 22)		
Sexo				
Masculino	69 (49,3)	9 (6,4)	78 (55,7)	0,162
Feminino	49 (35,0)	13 (9,3)	62 (44,3)	
Idade em anos, mediana (IIQ)	56 (26,25)	50 (30,00)	56 (28,25)	0,6002
Tabagismo				
Nunca fumou	60 (42,9)	16 (11,4)	76 (54,3)	0,2018
Ex-fumante	33 (23,6)	4 (2,9)	37 (26,4)	
Fumante	25 (17,9)	2 (1,4)	27 (19,3)	
Características clínicas				
Infectado pelo HIV	7 (5,0)	4 (2,9)	11 (7,9)	0,0718
Tuberculose prévia	28 (20,0)	3 (2,1)	31 (22,1)	0,406
Sintomas				
Dor torácica	46 (32,9)	8 (5,7)	54 (38,6)	1,00
Dispneia	66 (47,1)	9 (6,4)	75 (53,6)	0,246
Febre	45 (32,1)	6 (4,3)	51 (36,4)	0,4698
Hemoptise	49 (35,0)	4 (2,9)	53 (37,9)	0,054
Tosse	67 (47,9)	13 (9,3)	80 (57,1)	1,00
Perda de peso	76 (54,3)	7 (5,0)	83 (59,3)	0,0081
Doença cavitária^b				
Sim	19 (13,6)	6 (4,3)	25 (17,9)	0,229
Não	99 (70,7)	16 (11,4)	115 (82,1)	

^aValores expressos em n (%), exceto onde indicado. ^bDeterminada por radiografia de tórax.

pacientes cujos resultados estavam disponíveis para todos os três exames (n = 73). A concordância entre o teste Xpert MTB/RIF e a pesquisa de BAAR foi de 82,2% (kappa = 0,53; p < 0,0001).

Quando comparamos o teste Xpert MTB/RIF e a pesquisa de BAAR quanto ao desempenho diagnóstico em amostras de LBA, utilizando a cultura para micobactérias como referência, constatamos que

Tabela 2. Concordância entre os resultados do teste Xpert MTB/RIF, da pesquisa de BAAR e da cultura para micobactérias em amostras de LBA.^a

Métodos comparados	Resultados dos métodos comparados	Método comparado e resultados		Concordância	kappa	p
Cultura						
		Negativa	Positiva			
		118 (84,3)	22 (15,7)			
Teste Xpert MTB/RIF	Negativo	49 (35,0)	4 (2,9)	91,78%	0,79963	< 0,0001
	Positivo	2 (1,4)	18 (12,9)			
Pesquisa de BAAR	Negativa	92 (65,7)	7 (5,0)	82,31%	0,45892	< 0,0001
	Positiva	16 (11,4)	15 (10,7)			
Pesquisa de BAAR						
		Negativa	Positiva			
		99 (70,7)	31 (22,1)			
Cultura	Negativa	92 (65,7)	16 (11,4)	82,31%	0,45892	< 0,0001
	Positiva	7 (5,0)	15 (10,7)			
Teste Xpert MTB/RIF	Negativo	48 (34,3)	5 (3,6)	82,19%	0,53043	< 0,0001
	Positivo	8 (5,7)	12 (8,6)			
Teste Xpert MTB/RIF						
		Negativo	Positivo			
		53 (37,9)	20 (14,3)			
Cultura	Negativa	49 (35,0)	2 (1,4)	91,78%	0,79963	< 0,0001
	Positiva	4 (2,9)	18 (12,9)			
Pesquisa de BAAR	Negativa	48 (34,3)	8 (5,7)	82,19%	0,53043	< 0,0001
	Positiva	5 (3,6)	12 (8,6)			

^aOs resultados dos testes são apresentados em n (%).

Tabela 3. Desempenho diagnóstico do teste Xpert MTB/RIF e da pesquisa de BAAR em amostras de LBA, em comparação com o método de referência (cultura para micobactérias).

Medidas	Xpert MTB/RIF	Pesquisa de BAAR	Xpert MTB/RIF OU pesquisa de BAAR	Xpert MTB/RIF E pesquisa de BAAR
	% (IC95%)	% (IC95%)	% (IC95%)	% (IC95%)
Precisão	91,78 (87,35 a 96,21)	87,67 (82,37 a 92,97)	93,15 (89,08 a 97,22)	86,3 (80,76 a 91,85)
Sensibilidade	81,82 (70,11 a 93,52)	68,18 (54,05 a 82,32)	95,45 (89,13 a 101,78)	54,55 (39,43 a 69,66)
Especificidade	96,08 (92,31 a 99,85)	96,08 (92,31 a 99,85)	92,16 (86,94 a 97,37)	100,00 (100,00 a 100,00)
VPP	90,00 (80,4 a 99,6)	88,24 (76,95 a 99,52)	84,00 (73,62 a 94,38)	100,00 (100,00 a 100,00)
VPN	92,45 (87,43 a 97,48)	87,50 (81,39 a 93,61)	97,92 (95,06 a 100,78)	83,61 (77,06 a 90,16)
TFP	3,92 (0,15 a 7,69)	3,92 (0,15 a 7,69)	7,84 (2,63 a 13,06)	0,00 (0,00 a 0,00)
TFN	18,18 (6,48 a 29,89)	31,82 (17,68 a 45,95)	4,55 (-1,78 a 10,87)	45,45 (30,34 a 60,57)

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; TFP: taxa de falso-positivos; e TFN: taxa de falso-negativos.

o teste Xpert MTB/RIF apresentou precisão global de 92%, sensibilidade de 81%, VPP de 90% e VPN de 92%, contra apenas 87%, 68%, 88% e 87%, respectivamente, em relação à pesquisa de BAAR. Também foram analisadas duas diferentes condições ("OU" e "E"). Quando os dois métodos foram utilizados de forma associada (teste Xpert MTB/RIF E pesquisa de BAAR) a especificidade e o VPP aumentaram para 100%. No entanto, a taxa de falso-positivos foi maior quando um ou outro método foi utilizado (teste Xpert MTB/RIF OU pesquisa de BAAR) do que quando os dois métodos foram utilizados de forma associada (Tabela 3).

Para promover uma melhor identificação e visualização do desempenho global dos métodos avaliados, criamos um diagrama de Venn para ilustrar os resultados do teste Xpert MTB/RIF, da pesquisa de BAAR e da cultura para micobactérias nas amostras de LBA dos

73 pacientes cujos resultados estavam disponíveis para os três exames (Figura 2). A distribuição de resultados positivos (+) e negativos (-) foi a seguinte: teste Xpert MTB/RIF+/cultura+/pesquisa de BAAR+ = 12 pacientes; teste Xpert MTB/RIF-/cultura+/pesquisa de BAAR- = 1 paciente; teste Xpert MTB/RIF+/cultura+/pesquisa de BAAR- = 6 pacientes; teste Xpert MTB/RIF+/cultura-/pesquisa de BAAR- = 2 pacientes; teste Xpert MTB/RIF-/cultura+/pesquisa de BAAR+ = 3 pacientes; teste Xpert MTB/RIF-/cultura-/pesquisa de BAAR+ = 2 pacientes. Ao todo, o teste Xpert MTB/RIF identificou três casos a mais do que a pesquisa de BAAR.

DISCUSSÃO

Como mencionado anteriormente, embora a cultura para micobactérias seja longamente considerada o método padrão ouro para o diagnóstico de TBP,

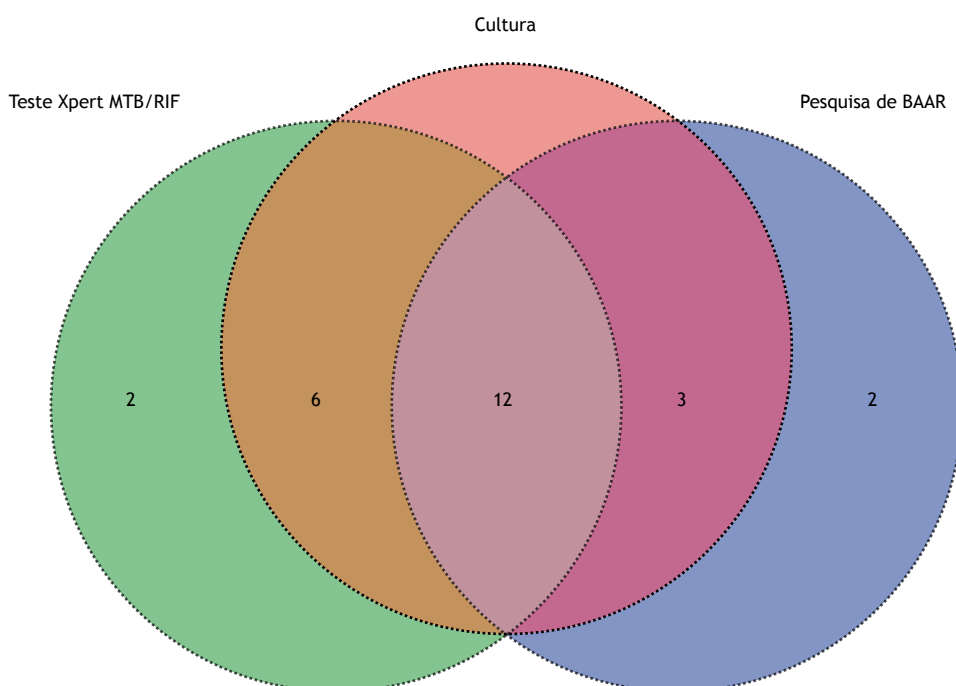


Figura 2. Diagrama de Venn dos resultados positivos dos testes diagnósticos para tuberculose realizados em amostras de LBA: teste Xpert MTB/RIF (verde), pesquisa de BAAR (azul) e cultura para micobactérias (rosa). Observação: os numerais indicam o número de casos em que *Mycobacterium tuberculosis* foi identificado.

40-50% dos casos não são detectados por métodos microbiológicos.⁽¹⁾ A baciloscopia de escarro apresenta sensibilidade baixa e especificidade limitada, esta última evidenciada pela incapacidade de diferenciar *M. tuberculosis* das espécies de MNT. Além disso, alguns pacientes não produzem quantidades significativas de escarro espontâneo ou induzido,^(1,3) o que dificulta a obtenção de espécimes clínicos suficientes para a análise microbiológica. Nesse cenário, o tratamento antituberculose empírico surge como uma possível estratégia para interromper a disseminação da doença e minimizar a mortalidade associada. No presente estudo, constatamos que o teste Xpert MTB/RIF — teste molecular rápido para tuberculose — teve melhor desempenho do que a pesquisa de BAAR em amostras de LBA de pacientes com suspeita de TBP que apresentaram baciloscopia de escarro negativa ou produziram amostras com quantidade insuficiente de escarro, em uma área com alta carga de tuberculose.

Recentemente, o Ministério da Saúde recomendou o uso do teste Xpert MTB/RIF em espécimes clínicos além do escarro, como o LBA, que é obtido por fibrobroncoscopia, como uma forma alternativa de investigar casos suspeitos de tuberculose.⁽²⁾ O teste Xpert MTB/RIF oferece muitas vantagens, como resultados em 2 h, permitindo, assim, que o tratamento antituberculose seja iniciado mais cedo; alta sensibilidade, especificidade e precisão geral; detecção de cepas de *M. tuberculosis* resistentes à rifampicina; e alta sensibilidade e especificidade para a detecção de tuberculose em pacientes infectados pelo HIV.^(11,13,17) Apesar de limitações, que incluem uma alta taxa de

falso-positivos e os altos custos de manutenção dos equipamentos e também dos reagentes/componentes, o Xpert MTB/RIF trouxe uma contribuição fundamental para a prática clínica como um teste de inclusão ou exclusão do diagnóstico de tuberculose.^(18,19)

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF em amostras de escarro já está bem documentado,^(13,20,21) assim como o valor das amostras de LBA no diagnóstico de tuberculose, especialmente em pacientes com baciloscopia de escarro negativa ou incapazes de produzir amostras de escarro suficientes^(4,22-24); no entanto, existem poucos estudos que analisaram e validaram a utilidade dos testes moleculares para o diagnóstico de tuberculose em espécimes de LBA. Khalil & Butt⁽²⁵⁾ demonstraram que, em comparação com a cultura, o teste Xpert MTB/RIF foi superior na detecção de *M. tuberculosis* e resistência à rifampicina, apresentando alta sensibilidade (91,86%) e VPP (97,53%) em pacientes com TBP com baciloscopia de escarro negativa ou incapazes de produzir amostras de escarro suficientes. Em um estudo retrospectivo, Agrawal et al.⁽²⁶⁾ também mostraram que o teste Xpert MTB/RIF teve melhor desempenho em amostras respiratórias (escarro e LBA) do que a pesquisa de BAAR. Por fim, um estudo recente⁽²⁷⁾ conduzido em um serviço terciário na Índia comparou o teste Xpert MTB/RIF, a pesquisa de BAAR, e a cultura para micobactérias em amostras de LBA de casos suspeitos de TBP, de forma semelhante à do presente estudo. Bashir et al.⁽²⁷⁾ observaram que, embora o teste Xpert MTB/RIF e a pesquisa de BAAR tenham apresentado especificidade global semelhante, a sensibilidade do teste Xpert MTB/RIF foi muito maior

do que a da baciloscopia em amostras de LBA (97,1% vs. 36,7%). Juntamente com todas essas evidências, nossos dados apoiam o uso do teste Xpert MTB/RIF em amostras de LBA como uma ferramenta interessante e adequada para melhorar o diagnóstico da tuberculose.

No presente estudo, houve alguns resultados discordantes entre o teste Xpert MTB/RIF, a pesquisa de BAAR e a cultura para micobactérias, particularmente entre os 73 pacientes cujos resultados estavam disponíveis para os três exames. Houve dois pacientes cujas amostras de LBA apresentaram resultado positivo no teste Xpert MTB/RIF, mas resultado negativo na pesquisa de BAAR e na cultura. Vale ressaltar que essas amostras apresentaram valores de limiar do ciclo mais elevados (26,6-30,9; sondas A-E), o que implica baixas concentrações de DNA de *M. tuberculosis*.⁽²⁸⁾ Isso pode explicar os resultados negativos obtidos na cultura para micobactérias e na pesquisa de BAAR. Em outros dois pacientes, *M. tuberculosis* foi identificado apenas pela pesquisa de BAAR, sendo que um desses pacientes, uma mulher, estava infectada pelo HIV. A imunossupressão pode favorecer a coinfeção com outros patógenos, como as MNT.^(29,30) No entanto, nesse caso, não houve crescimento na cultura para micobactérias, o que atrasou o diagnóstico. Além disso, houve um caso em que *M. tuberculosis* foi identificado apenas na cultura. Nenhum desses 5 pacientes relatou ter tido tuberculose anteriormente. Portanto, com base em critérios clínicos e radiológicos, eles foram tratados com um esquema antituberculose. Após seis meses, todos apresentaram melhora dos sinais e sintomas. Todas essas discrepâncias devem ser interpretadas com cautela, levando em consideração as limitações de cada método e o estado clínico dos pacientes.

Nosso estudo apresenta algumas limitações. Em primeiro lugar, trata-se de um estudo unicêntrico, o que limita a generalização dos dados. Em segundo lugar, como se trata de um estudo retrospectivo, os dados clínicos se limitaram aos disponíveis nos prontuários médicos. Em terceiro lugar, houve um número relativamente pequeno de casos cujos resultados

estavam disponíveis para todos os três métodos avaliados. No entanto, o estudo foi realizado em um hospital-escola terciário, especializado e de referência em uma área com alta carga de tuberculose, onde inúmeras ferramentas estão disponíveis para a investigação e o diagnóstico preciso de casos de tuberculose. Além disso, resultados de cultura para micobactérias estavam disponíveis para todos os casos, e excluímos casos de infecção por MNT para evitar vieses.

Em suma, em amostras de LBA, o Xpert MTB/RIF teve melhor desempenho do que a pesquisa de BAAR para o diagnóstico de casos de TBP em pacientes com baciloscopia de escarro negativa ou incapazes de produzir espécimes com quantidade suficiente de escarro. Isso pode ter um impacto significativo na prática clínica e no manejo desses casos, particularmente daqueles em que o diagnóstico é desafiador. Quando o teste Xpert MTB/RIF produz resultados discordantes dos de outras ferramentas diagnósticas, essas discrepâncias devem ser analisadas cuidadosamente, já que a tuberculose continua sendo um importante problema de saúde pública em todo o mundo.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à administração, aos funcionários, aos residentes e aos pacientes do Hospital Universitário Pedro Ernesto a participação neste estudo.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

TTM e LSR: concepção e desenho do estudo. GMXB e RSL: realização dos experimentos. GMXB, MRA e LSR: análise dos dados. RR e LSR: contribuição com ferramentas de análise. GMXB, TTM, RSL, MRA e LSR: redação e revisão do manuscrito. RR e JL: supervisão da inclusão dos pacientes. LVT e TTM: realização das broncoscopias. LSR: coordenação do estudo. Todos os autores contribuíram para a discussão dos dados e aprovaram a versão final do manuscrito.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization [homepage on the Internet]. Geneva: World Health Organization [cited 2020 Nov 01]. Global tuberculosis report 2019. [Adobe Acrobat document, 297p.]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf?ua=1>
- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de para o Controle da Tuberculose. Brasília: Ministério da Saúde; 2019. 364 p.
- Shin JA, Chang YS, Kim TH, Kim HJ, Ahn CM, Byun MK. Fiberoptic bronchoscopy for the rapid diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2012;12:141. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-141>
- Nikbakhsh N, Bayani M, Siadati S. The Value of Bronchoalveolar Lavage in the Diagnosis of Sputum Smear-Negative Pulmonary Tuberculosis. *Iran J Pathol.* 2015;10(1):35-40.
- Kalawat U, Sharma KK, Reddy PN, Kumar AG. Study of bronchoalveolar lavage in clinically and radiologically suspected cases of pulmonary tuberculosis. *Lung India.* 2010;27(3):122-124. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.68307>
- Saglam L, Akgun M, Aktas E. Usefulness of induced sputum and fiberoptic bronchoscopy specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Int Med Res.* 2005;33(2):260-265. <https://doi.org/10.1177/147323000503300215>
- Steingart KR, Ng V, Henry M, Hopewell PC, Ramsay A, Cunningham J, et al. Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(10):664-674. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70602-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70602-8)
- Lange C, Mori T. Advances in the diagnosis of tuberculosis. *Respirology.* 2010;15(2):220-240. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2009.01692.x>
- Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol.* 2010;48(1):229-237. <https://doi.org/10.1128/JCM.01463-09>
- Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med.* 2010;363(11):1005-1015. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907847>

11. Sharma SK, Kohli M, Yadav RN, Chaubey J, Bhasin D, Sreenivas V, et al. Evaluating the Diagnostic Accuracy of Xpert MTB/RIF Assay in Pulmonary Tuberculosis. *PLoS One*. 2015;10(10):e0141011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141011>
12. Castro AZ, Moreira AR, Oliveira J, Costa PA, Graça CLALD, Pérez MA, et al. Clinical impact and cost analysis of the use of either the Xpert MTB Rif test or sputum smear microscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018;51(5):631-637. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0082-2018>
13. 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;2014(1):CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
14. Theron G, Peter J, Calligaro G, Meldau R, Hanrahan C, Khalfey H, et al. Determinants of PCR performance (Xpert MTB/RIF), including bacterial load and inhibition, for TB diagnosis using specimens from different body compartments. *Sci Rep*. 2014;4:5658. <https://doi.org/10.1038/srep05658>
15. Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4138-4141. <https://doi.org/10.1128/JCM.05434-11>
16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Brasília: a Agência; 2013.
17. Lawn SD, Brooks SV, Kranzer K, Nicol MP, Whitelaw A, Vogt M, et al. Screening for HIV-associated tuberculosis and rifampicin resistance before antiretroviral therapy using the Xpert MTB/RIF assay: a prospective study. *PLoS Med*. 2011;8(7):e1001067. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001067>
18. Hermans S, Caldwell J, Kaplan R, Cobelens F, Wood R. The impact of the roll-out of rapid molecular diagnostic testing for tuberculosis on empirical treatment in Cape Town, South Africa. *Bull World Health Organ*. 2017;95(8):554-563. <https://doi.org/10.2471/BLT.16.185314>
19. Deggim V, Somoskovi A, Voit A, Böttger EC, Bloemberg GV. Integrating the Xpert MTB/RIF assay into a diagnostic workflow for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a low-prevalence area. *J Clin Microbiol*. 2013;51(7):2396-2399. <https://doi.org/10.1128/JCM.00151-13>
20. Meyer AJ, Atuheire C, Worodria W, Kizito S, Katamba A, Sanyu I, et al. Sputum quality and diagnostic performance of GeneXpert MTB/RIF among smear-negative adults with presumed tuberculosis in Uganda. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180572. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180572>
21. Rasool G, Khan AM, Mohy-Ud-Din R, Riaz M. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in AFB smear-negative sputum specimens through MTB culture and GeneXpert® MTB/RIF assay. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2019;33:2058738419827174. <https://doi.org/10.1177/2058738419827174>
22. Boonsamguk V, Suwannaphong S, Laohavich C. Combination of adenosine deaminase activity and polymerase chain reaction in bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of smear-negative active pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis*. 2012;16(9):e663-e668. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.05.006>
23. Altaf Bachh A, Gupta R, Haq I, Varudkar HG. Diagnosing sputum/smear-negative pulmonary tuberculosis: Does fibre-optic bronchoscopy play a significant role?. *Lung India*. 2010;27(2):58-62. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.63607>
24. Chandra TJ, Dash S, Srinivas G, Rao PV. A study on rapid confirmation of pulmonary tuberculosis in smear-negative acid fast bacilli cases by using fiberoptic bronchoscopy, done through a trans oro pharyngeal spacer. *J Family Community Med*. 2012;19(1):43-46. <https://doi.org/10.4103/2230-8229.94014>
25. Khalil KF, Butt T. Diagnostic yield of Bronchoalveolar Lavage gene Xpert in smear-negative and sputum-scarce pulmonary tuberculosis. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2015;25(2):115-118.
26. Agrawal M, Bajaj A, Bhatia V, Dutt S. Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(5):DC09-DC12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18837.7755>
27. Bashir YUI, Nahvi N, Khan S, Jahan T. Diagnostic Utility of Bronchoalveolar Lavage Xpert MTB/RIF Assay in Suspected Cases of Pulmonary Tuberculosis. *Int J Contemp Med Res*. 2019;6(6):F8-F11. <https://doi.org/10.21276/ijcmr.2019.6.6.29>
28. Ssengooba W, Respeito D, Mambuque E, Blanco S, Bulo H, Mandomando I, et al. Do Xpert MTB/RIF Cycle Threshold Values Provide Information about Patient Delays for Tuberculosis Diagnosis?. *PLoS One*. 2016;11(9):e0162833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162833>
29. Lan R, Yang C, Lan L, Ou J, Qiao K, Liu F, et al. *Mycobacterium tuberculosis* and non-tuberculous mycobacteria isolates from HIV-infected patients in Guangxi, China. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15(12):1669-1675. <https://doi.org/10.5588/ijtld.11.0036>
30. Akanbi MO, Achenbach C, Taiwo B, Idoko J, Ani A, Isa Y, et al. Evaluation of gene xpert for routine diagnosis of HIV-associated tuberculosis in Nigeria: A prospective cohort study. *BMC Pulm Med*. 2017;17(1):87. <https://doi.org/10.1186/s12890-017-0430-6>