



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina
Programa de Pós Graduação em Clínica Médica
Setor de Ciências Pneumológicas

Detecção de *Mycobacterium tuberculosis* por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

Carlos Leonardo Carvalho Pessôa

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Fernanda Carvalho de Queiroz Mello

**Professora Adjunta – Universidade Federal do Rio de Janeiro
Unidade de Pesquisa em Tuberculose
Complexo Hospitalar Instituto de Doenças do Tórax/Hospital Universitário
Clementino Fraga Filho
Universidade Federal do Rio de Janeiro**

Prof. Dr. Afrânio Lineu Kritski

**Professor Adjunto – Universidade Federal do Rio de Janeiro
Unidade de Pesquisa em Tuberculose
Complexo Hospitalar Instituto de Doenças do Tórax/Hospital Universitário
Clementino Fraga Filho
Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**Rio de Janeiro
Abril 2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Detecção de *Mycobacterium tuberculosis* por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

Carlos Leonardo Carvalho Pessôa

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Fernanda Carvalho de Queiroz Mello

Prof. Dr. Afrânio Lineu Kritski

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Medicina.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Antonio Ruffino Netto

Prof. Dr. Roberto de Andrade Medronho

Prof. Dr. Neio Lucio Fernandes Boechat

Prof^a. Dr^a. Leila Souza Fonseca

Prof. Dr. Paulo Albuquerque da Costa

Rio de Janeiro
Abril 2007

Pessôa, Carlos Leonardo Carvalho

Detecção do crescimento de *Mycobacterium tuberculosis* por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar / Carlos Leonardo Carvalho Pessôa. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2007.

xvii, 150 f. : il. ; 31 cm

Orientadores: Fernanda Carvalho de Queiroz Mello e Afrânio Lineu Kritski

Tese (doutorado) -- UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Pneumologia, 2007.

Referências bibliográficas: f. 97-112

1. Tuberculose pulmonar - diagnóstico. 2. *Mycobacterium tuberculosis* – isolamento e purificação. 3. Sensibilidade e especificidade. 4. Microscopia . 5. Escarro. 6. Humanos. 7. Pneumologia - Tese. I. Mello, Fernanda Carvalho de Queiroz. II. Kritski, Afrânio Lineu. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-graduação em Pneumologia. IV. Título.

“Para Roberta, Auxiliadora e para todos da minha velha, nova e futura família”

AGRADECIMENTOS

Detecção de Mycobacterium tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

Ao Prof. Afrânio Kritski, que me ensinou desde a graduação a amar a pesquisa. Orientador e amigo que esteve sempre presente nos momentos mais difíceis e importantes deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a Fernanda Carvalho de Queiroz Mello, orientadora, exemplo de dedicação, trabalho, solicitude e saber. Jamais conseguirei repetir tais adjetivos com tamanha plenitude, mas ficará o exemplo de que as qualidades acima podem ir além do possível.

À Enf^a Ligia Mayumi Kitada Muniz, pelo profissionalismo, paciência e manutenção perene de seu sorriso, não obstante todos os percalços que trabalhos deste porte sempre geram e a José Henrique Carvalho Drumond no apoio no lidar com banco de dados.

A Prof^a Dr^a Leila Fonseca, Anna Grazia Marsico e Gisele Vieira por terem pacientemente, fornecido resultados e muito além: por me explicaram procedimentos e desfazerem dúvidas sempre no momento desejado e sempre com tolerância e bondade.

Aos meus amigos, em especial companheiros do Programa de Controle de Tuberculose Hospitalar (PCTH) que me incentivaram durante o período de estudo e por me auxiliarem no na busca de recontacto de parte de indivíduos que compuseram a casuística deste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica Daniel, Bruno, Filipe especialmente por terem estado presente em todas as etapas deste processo e a Thais, Pablo e Cassiano. Iniciaram o meu aprendizado no lidar com alunos de graduação e me ajudaram fazer e refazer inúmeras etapas deste trabalho.

À Joseane da Fonseca Costa, bióloga e amiga, que apesar de não atrelada oficialmente ao projeto, esteve inúmeras vezes disposta a auxiliar-me no lidar com a informatização e números, mas principalmente por deixar claro, sem dizer, que ajudaria no que quer que fosse necessário e no momento necessário e a bióloga e amiga Martha Maria Oliveira pelo apoio em momentos importantes e difíceis.

A prezada e atenciosa secretária Teresa Gouda não só pelos inúmeros apoios recebidos durante o curso do Doutorado, mas pela eficiência e paciência.

Aos profissionais da Unidade de Pesquisa em Tuberculose do Instituto de Doenças do Tórax da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial à Claudia Donelate, Sandra Oliveira, Marcelo de Lima Pacheco e Erica Daniel, pela contribuição para a execução do projeto e a administração de recursos.

Aos meus pais, especialmente a minha mãe, que até hoje, com todo o meu avançar científico em relação ao dela, com toda a sua dificuldade de expressão, ensina-me rigorosamente o correto, honesto e fiel, sem direito a justificativas para o inadequado, indelicado ou incorreto, se voluntariamente realizado.

A minha esposa Roberta Pessôa, exemplo de pessoa em todos os aspectos e que me deu tranqüilidade, apoio em todos as etapas do trabalho e que principalmente me dá a certeza documentável aqui, de um futuro de paz e amor eternos.

*"Os grandes navegadores devem suas reputações aos
temporais e às tempestades"*

Epicuro

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2.1	Gênero Mycobacterium.....	9
2.2	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	9
2.2.1	Características gerais do <i>M. tuberculosis</i>	10
2.2.2	Fator Corda.....	12
2.3	Transmissão.....	17
2.4	Patogênese.....	17
2.5	Quadro Clínico.....	19
2.6	Aspectos Radiológicos.....	20
2.7	Diagnóstico de TB.....	22
2.7.1	Espécimes.....	22
2.7.2	Baciloscopia.....	23
2.7.3	Cultura em Meio Löewestein-jensen.....	26
2.7.4	MGIT.....	27
2.7.5	MODS.....	29
3.	HIPÓTESES.....	31
4.	OBJETIVOS.....	32
4.1	Objetivos geral	32

Detecção de Mycobacterium tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

4.2	Objetivos específicos.....	32
5.	PACIENTES E MÉTODOS.....	33
5.1	Estudo experimental.....	33
5.2	Tipo do estudo.....	33
5.3	Período e local do estudo.....	34
5.4	Perfil de pacientes atendidos no estudo.....	34
5.5	Coleta e transporte das amostras.....	35
5.6	Manejo das amostras.....	35
5.7	Crítérios de inclusão.....	35
5.8	Crítérios de exclusão.....	38
5.9	Definição de Termos.....	38
5.10	Telerradiografia de tórax (RXT).....	39
5.11	Tamanho amostral.....	40
5.12	Instrumento de coleta de dados.....	40
5.13	Análise estatística dos resultados.....	41
5.14	Ética de pesquisa em seres humanos.....	42
5.15	Prevenções para os Profissionais.....	43
5.16	Avaliações clínicas e laboratoriais.....	43
5.16.1	Procedimentos clínicos.....	43
5.16.2	Técnicas laboratoriais.....	45
5.16.2.1	Baciloscopia.....	46
5.16.2.2	Descontaminação e digestão dos espécimes.....	46
5.16.2.3	Cultivo em meio de LJ.....	48

5.16.2.4 MODS.....	48
5.16.2.5 MGIT	53
6. RESULTADOS.....	55
7. DISCUSSÃO.....	82
8. CONCLUSÕES.....	93
9. PERSPECTIVAS.....	94
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
11. ANEXOS.....	113
ANEXO 1.....	113
ANEXO 2.....	127
ANEXO 3.....	134
ANEXO 4.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados Obtidos em Baciloscopias e em Culturas MODS, MGIT e LJ Incluindo Amostras Contaminadas

Tabela 2: Resultados Obtidos em Baciloscopias e em Culturas MODS, MGIT e LJ Excluídas Amostras Contaminadas

Tabela 3: Dias Necessários para Positividade em Meios MODS, MGIT e LJ

Tabela 4: Quadro Clínico Referido por Pacientes Submetidos a Coleta de Escarro Induzido

Tabela 5: Características Gerais da Casuística

Tabela 6: Copositividade entre Baciloscopia e Cultura em MODS

Tabela 7: Copositividade entre Baciloscopia e Cultura em MGIT

Tabela 8: Copositividade entre as Culturas em MODS e em MGIT

Tabela 9: Performance da Cultura em LJ em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Tabela 10: Performance da Baciloscopia em Relação a Cultura em LJ

Tabela 11: Performance da Baciloscopia em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Tabela 12: Performance da Cultura em MODS em Relação a Cultura em LJ

Tabela 13: Performance da Cultura em MODS em Relação a Seguimento pós 90 Dias

Tabela 14: Performance da Cultura em MGIT em Relação a Cultura em LJ

Tabela 15: Performance da Cultura em MGIT em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Tabela 16: Performance da Baciloscopia e das Culturas em meio MODS, MGIT com LJ como Padrão Ouro e no Seguimento pós 90 Dias

Tabela 17: Em Baciloscopias Negativas: Performance da Cultura em MODS em Relação a Cultura em LJ

Tabela 18: Em Baciloscopias Negativas: Performance da Cultura em MGIT em Relação a Cultura em LJ

Tabela 19: Cointerpretação entre Telerradiografias de Tórax e MODS

Tabela 20: Cointerpretação entre Telerradiografias de Tórax e MGIT

Tabela 21: Performance de Telerradiografias de Tórax (RXT) Típicas em Relação a Culturas em LJ

Tabela 22: Performance de Telerradiografias de Tórax (RXT) Típicas em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Tabela 23: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MODS Negativas)

Tabela 24: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MGIT Negativas)

Tabela 25: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Negativa)

Tabela 26: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MGIT Negativas)

Tabela 27: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MODS Positivas - Baciloscopias e Culturas em MODS Negativas)

Tabela 28: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MGIT Positivas - Baciloscopias e Culturas em MGIT Negativas)

Tabela 29: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (Baciloscopias Positivas e Cultura em MODS Positivas - Baciloscopias e/ou Culturas em MODS Negativas)

Tabela 30: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (Baciloscopias Positivas e Cultura em MGIT Positivas - Baciloscopias e/ou Culturas em MGIT Negativas)

Tabela 31: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ(RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MODS Negativas)

Tabela 32: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MGIT Negativas)

Tabela 33: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Negativa)

Tabela 34: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e Cultura em MGIT Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Negativa)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Robert Koch

Figura 2: Eletromicrografia de *Mycobacterium tuberculosis*

Figura 3: Fator Corda

Figura 4: Lâmina corada com o método de Ziehl-Neelsen

Figura 5: Métodos utilizados no estudo

Figura 6: Fluxograma da Metodologia

Figura 7: Observação da formação de corda

Figura 8: Ausência de formação de corda

Figura 9 : Observação de corda após três dias de incubação

Figura 10a : Formação de corda com três dias de incubação

Figura 10b: O mesmo inóculo da figura 15a observado dez dias após com maior agrupamento das cordas

Figura 11: Formação de corda com dez dias de incubação

Figura 12: Formação de corda com 17 dias de incubação

Figura 13: Versão automatizada do sistema manual MGIT - Bactec MGIT 960

LISTA DE ABREVIATURAS

BAAR	Bacilos Álcool-Ácido Resistentes
BCG	Bacilo Biliar de Calmette-Guérin
CDC	Centros de Controle de Doenças (<i>Centers for Disease Control</i>)
EE	Escarro espontâneo
EI	Escarro induzido
EUA	Estados Unidos da América do Norte
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HUCFF	Hospital Clementino Fraga Filho
IC	Intervalo de Confiança
ICIDR	<i>International Collaborations in Infectious Disease Research</i>
IDT	Instituto de Doenças do Tórax
IIQ	Intervalo interquartilico
LBA	Lavado Broncoalveolar
LJ	Löwenstein-Jensen
MDR	Resistência a mais de uma droga no tratamento da tuberculose
MGIT	Tube Indicador de Crescimento Micobacteriano (<i>Mycobacteria Growth Indicator tube</i>)
MODS	Deteção e Susceptibilidade por Observação Microscópica
MS	Ministério da Saúde
MOTT	Micobactérias outras que não <i>tuberculosis</i>
<i>M. tb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Razão de Chances (<i>Odds Ratio</i>)
PANTA	Polimixina, Anfotericina B, Ácido nalidíxico, Trimetoprim, Azlocilin
RPC (PCR)	Reação de Polimerização em Cadeia (<i>Polymerase chain reaction</i>)
PCTH	Programa de Controle da Tuberculose Hospitalar
PNB	Ácido para-nitrobenzóico

Deteção de Mycobacterium tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

RV + (LR +)	Razão de verossimilhança positiva (<i>positive likelihood ratio</i>)
RV - (LR -)	Razão de verossimilhança negativa (<i>negative likelihood ratio</i>)
RXT	Telerradiografia do Tórax
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SIM	Sistema de Informação em Mortalidade
TB	Tuberculose
TBMDR	Tuberculose multidrogarresistente.
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UPT	Unidade de Pesquisa em Tuberculose
UITDR (IUATLD)	União Internacional Contra a Tuberculose e Doenças Respiratórias (<i>International Union against Tuberculosis and Lung diseases</i>)
VPP	Valor Preditivo Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo
WHO	World Health Organization
χ^2	Qui-quadrado
ZN	Ziehl-Neelsen

RESUMO

INTRODUÇÃO: O Método de Detecção e Susceptibilidade por Observação Microscópica (MODS), é cultura em meio líquido baseado na detecção de formação de cordas, características de *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*).

OBJETIVOS: Estimar sensibilidade, especificidade, razões de verossimilhanças positiva (RV +) e negativa (RV -) da cultura em MODS, seu tempo de crescimento e índices de contaminação em comparação as culturas em Tubo Indicador de Crescimento Micobacteriano (MGIT) e Löwenstein-Jensen (LJ).

MÉTODOS: Estudo prospectivo com culturas MODS e MGIT realizadas em amostras de escarro induzido (EI) de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar (TB) do Complexo Hospitalar IDT-HUCFF da UFRJ.

RESULTADOS: Em 218 amostras, foram 75 (34,4%) culturas positivas em LJ positivas e utilizando-se este meio de cultura como padrão ouro para o diagnóstico de TB, obteve-se na cultura MODS: sensibilidade do MODS 98,6%, especificidade 94,4%, RV+ 17,6% e RV- 0,014 e em cultura MGIT: sensibilidade 96,2%, especificidade 87,6%, RV+ 7,77% e RV- 0,044. A mediana de número de dias para detecção de *M.tb* foi, em LJ: 22,0 (IQQ: 19 a 27), em MODS 7,0 (3 a 14) e em MGIT 9,0 (7 a 13) dias. Culturas apresentaram-se contaminadas em LJ 9,0 (3,9%), em MODS 7,0 (3,0%) e em MGIT 7,0 (2,3%).

CONCLUSÕES: A performance da cultura em MODS, MGIT e LJ são similares no índice de contaminação e na detecção do *M.tb*. Cultura MODS apresentou tempo de crescimento de *M.tb* inferior a LJ e similar a cultura em MGIT.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The microscopic observation drug susceptibility (MODS) assay is a simple liquid culture method based on *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) growth detection with typical cords formation.

AIMS: Estimate sensitivity, specificity, positive (LR +) negative (LR -) negative valium, detection of *M.tb* in induced sputum specimens, the time to growth for *M.tb* and contamination rates compared to Mycobacteria Growth Indicator tube (MGIT) and Löwenstein-Jensen (LJ).

METHODS: Prospective study evaluated the MODS and MGIT cultures performance for detection of *M.tb* using induced sputum samples, from outpatient and inpatient wards at Hospital Complex IDT-HUCFF/UFRJ, with pulmonary tuberculosis suspect.

RESULTS: Two hundred eighteen respiratory specimens were analyzed. Seventy-five (34.4%) on LJ culture were positive. Using this media as the gold standard, MODS sensitivity was 98.6%, specificity 94.4% , LR+ 17.6% and LR- 0.014 and using MGIT culture, sensitivity was 96.2%, specificity 87.6% , LR+ 7.77% and LR- 0.044. Median times to detection were, for LJ 22.0 (IQI: 19.0 to 27.0), for MODS 7.0 (IQI: 3.0 to 14.0) and for MGIT 9.0 (IQI: 7.0 A 13.0) The proportion of contaminated cultures was for LJ media 9.0 (3.9%), for MODS culture 7.0 (3.0%) and for MGIT culture 7.0 (2.3%).

CONCLUSION: Performance of MODS, MGIT and LJ cultures are similar for *M.Tb* detection and proportion of contamination. MODS culture presented time of growth of *M. Tb* lower than LJ culture and similar to MGIT culture.

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecto-contagiosa que vem assolando a humanidade desde a antiguidade com relatos de até cerca de 5.000 A.C. Uma das primeiras evidências de TB foi observada em 44 múmias que datam de 3.700 a 1.000 a.C., todas em Tebas (Egito). Amenophis IV e sua esposa Nefertiti morreram de TB em 1.300 a.C. (Rosemberg, 1999).

Trata-se de uma das mais antigas doenças transmissíveis. O estudo de fósseis sugeriu que a população pré-histórica não formava comunidades, o que levou à hipótese de que a tuberculose ocorria de forma eventual e sem importância, assim como outras doenças infecciosas (Perzigian e Widmer, 1979).

Uma forma endêmica da doença deve ter ocorrido entre os animais antes dos humanos serem hospedeiros únicos do *M.tb*. O limiar da civilização, com a formação de agrupamentos, em torno do ano 6.000 a.C., provavelmente possibilitou a disseminação da tuberculose (Steele & Ranny, 1958).

Além de fósseis e múmias, que permitiram a constatação da existência da tuberculose há milênios, antropólogos e historiadores notificaram a chamada “peste branca” entre diversos povos em diferentes épocas. Hipócrates no século VI a.C., utilizou a designação de “phtisis”. Galeno, no século I d.C., mencionou as manifestações clínicas da doença (Montenegro, 1971; Rosemberg e Tarantino, 1997).

O Brasil com sua população indígena, antes da descoberta, permanecia incólume a chamada “peste branca” do continente europeu. Entretanto, as viagens frequentes de indivíduos infectados, em conjunto com a colonização das áreas distantes, disseminaram vagarosamente a epidemia em todo o globo terrestre (Montenegro, 1971).

Com a melhoria das condições sócio-econômicas após a revolução industrial em alguns países da Europa, nos séculos XVIII e XIX, observou-se a queda na prevalência de algumas doenças infecto-contagiosas, inclusive a tuberculose, mesmo sem medidas específicas de controle (Murray, 1989). Entretanto, as especulações sobre a possível erradicação da tuberculose começaram somente após várias conquistas científicas, como a descoberta do agente etiológico por Robert Koch em 1882, os avanços científicos e tecnológicos como a descoberta do raio-X por Wilhem C. Roentgen em fins de 1895 e a produção da vacina BCG Albert Calmette e Camille Guérin em fins de 1913. No entanto, após a descoberta da estreptomicina em 1944, o emprego da isoniazida em 1952, a disponibilidade da pirazinamida em 1959 e a descoberta da rifampicina em 1966, foi possível aumentar a expectativa em relação à erradicação da doença, o que não se concretizou (Girling, 1984; Mitchison e Nunn, 1986; Tager, 1987).

Devido à gravidade e facilidade de propagação, a TB foi considerada nos últimos dois séculos um sério problema de saúde pública, principalmente no período da supracitada, revolução industrial iniciada na Inglaterra. Nesta época, era uma das causas mais comuns de morte entre adultos (Bates e Stead, 1993).

A rede de sanatórios implantada, mundo afora, a partir do final do século XIX, visava, essencialmente, o tratamento do paciente tuberculoso, mas trazia entranhado o

Detecção de Mycobacterium tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

propósito de confinar o inimigo. Muitos países adotaram medidas coercitivas como as de internação obrigatória dos casos bacilíferos até sua negativação. Dos recomendáveis cuidados com a tosse e o escarro caminhou-se até o exagero da destruição ou desinfecção de tudo que fosse tocado pelo doente (Teixeira, 2001).

No final da década de 50 a internação eletiva e prolongada do paciente com TB em sanatório tornou-se medida desnecessária por ter se verificado que: a) o isolamento do paciente com Tuberculose pulmonar (TB) ativa não modificava o percentual de infecção e/ou adoecimento dos contatos intradomiciliares, pois o contágio muito freqüentemente ocorria antes do diagnóstico; b) o período de contagiosidade tornou-se menor após o início do tratamento antimicrobiano efetivo, geralmente não ultrapassando duas ou três semanas. A partir disso, recomendou-se que o tratamento da TB deveria ser ambulatorial e a internação quando realizada em hospitais gerais, deveria ficar restrita apenas a condições intercorrentes tais como meningite tuberculosa, situações clínicas graves e/ou necessidade de intervenção cirúrgica relacionada ou não a tuberculose (Kritski e cols, 1993; Ministério da Saúde (MS), 1987).

A partir de 1970, com a introdução de esquemas terapêuticos encurtados contendo rifampicina, em razão da sua elevada eficácia, acreditava-se efetivamente na erradicação da TB e a mesma deixou de receber a merecida importância nas políticas de saúde e de ciência e tecnologia dos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Nos anos 80, contudo, em nível mundial, ocorreu um aumento da incidência de TB devido à piora das condições sócio-econômicas, desestruturação do sistema de saúde e o aparecimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), decorrente da infecção com o Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) (Rodrigues e Smith, 1990; Kochi, 1991). Nesta mesma

Detecção de Mycobacterium tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

época, iniciou-se a implantação da Reforma no Setor Saúde em diferentes países, passando-se de uma estrutura vertical para horizontal na área assistencial (Kritski e Ruffino-Netto, 2000). Em decorrência destas modificações de modo desordenado, ocorreu o não cumprimento das metas assistenciais estabelecidas pelos Programas de Controle de TB, principalmente em países em desenvolvimento, em seus diferentes níveis, federal, estadual e municipal. Houve um aumento nas taxas de abandono ao tratamento bem como o aparecimento da TB-multidroga-resistência (TB-MDR). Este cenário levou a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1993, a considerar a TB como um problema de saúde pública a nível mundial (Raviglione, 1995; Kritski e Ruffino-Netto, 2000). Além disso, nas últimas duas décadas, ocorreu um aumento crescente de casos de TB sem confirmação diagnóstica em diferentes países, principalmente em regiões onde é elevada a prevalência da infecção pelo HIV, pois nestes pacientes é mais comum a forma de TB paucibacilar (Raviglione, 1992; Gordin e Slutkin, 1990).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considerou que os principais fatores que contribuíram para o agravamento do problema da tuberculose no mundo foram à desigualdade social, o advento da SIDA, o envelhecimento da população e os grandes movimentos migratórios. Alguns chegaram a considerar a tuberculose como um problema reemergente no mundo. Essa afirmativa pareceu ser válida para alguns países de primeiro mundo, contudo, não era adequada e verdadeira para o Brasil, onde a tuberculose nunca nos abandonou (Ruffino-Netto, 2002).

A OMS, apesar da disponibilidade de um tratamento com elevada taxa de cura, estimou que entre 2000 e 2020, um bilhão de pessoas terão sido infectadas por *M. Tb*,

cerca de 200 milhões terão desenvolvido a doença ativa e 35 milhões de mortes terão ocorrido se não tiverem sido identificados novos métodos diagnósticos, novas vacinas, novos medicamentos e desenvolvidas atividades mais apropriadas para um controle eficaz do paciente com TB ativa e seus contatos (World Health Organization (WHO), 2000).

Aproximadamente um terço da população mundial está infectada por *M.Tb*. Em 1997 foram estimados 8 milhões de casos novos de tuberculose no mundo, já em 1999, foram 8,4 milhões e a estimativa era que fossem 10,2 milhões, em 2005. Do número de casos mundiais de tuberculose notificados de 1995 a 1999, 40% representa a forma pulmonar, com baciloscopia positiva (WHO, 2001).

Em todo o mundo, cerca de 9 milhões de pessoas foram acometidas anualmente por TB, uma doença com cura disponível. Aproximadamente 80% dessas pessoas vivem em 22 países. O Brasil ocupa 16º lugar entre esses países. Cerca de 80 mil brasileiros contraem tuberculose a cada ano, e, em alguns estados, a incidência chega a mais de 100 casos por 100 mil pessoas (MS, 2006).

A TB é um grave problema de saúde pública. Em 2001, a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) do MS relatou 71.060 casos confirmados, sendo 33.250 (46,8%) destes oriundos da Região Sudeste. Além da alta incidência da TB, principalmente em grandes centros urbanos, a multidroga-resistência é um outro fator que vem contribuindo bastante para o agravamento da panorâmica geral da TB no país. No final da década de 90, em estudos realizados na cidade do Rio de Janeiro foi observada uma taxa de TBMDR

primária de 7% em hospitais gerais e somente 1% nos centros municipais de Saúde (Fandinho e cols., 1999; Brito e cols, 1998; Barreto e cols, 1998).

Um dos maiores problemas referentes à TB é a relativa dificuldade diagnóstica, especialmente em casos de TB paucibacilar e as formas extrapulmonares. Tais situações clínico-radiológicas e laboratoriais dificultam sobremaneira o diagnóstico da TB ativa pelo médico assistente, bem como retardam o início de uma investigação apropriada (Kritski e Ruffino-Neto, 2000).

Confirmação precoce do diagnóstico de TB é um desafio. Métodos convencionais disponíveis como: prova tuberculínica, radiografias, outros métodos de imagem e baciloscopias tem suas limitações. O estudo histopatológico é característico, mas não específico e há, por vezes, problemas na obtenção de amostras representativas para estudo adequado. A imunologia frequentemente não é conclusiva visto que anticorpos e resposta por hipersensibilidade tardia persistem por um longo tempo após doença. A baciloscopia requer 10.000 a 100.000 microorganismos/mL para que seja auxiliar ao diagnóstico. Além disso, bacilos álcool-ácido resistentes não necessariamente são patogênicos (Katoch, 2004).

De acordo com o primeiro consenso brasileiro de tuberculose (1997), deve-se dar prioridade a baciloscopia como método diagnóstico. Além de sua elevada especificidade, este método permite a detecção de indivíduos infectados pelo bacilo. Estes constituem a principal fonte de infecção.

A radiografia apresenta elevada sensibilidade, mas baixa especificidade (Afiune e Ide Neto, 1994; Hlawatsch e cols., 2000; Kwong e cols., 1996; Scott e cols., 1994).

Detecção de Mycobacterim tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

Identificação de *M.tb* através da cultura é considerado o padrão ouro para o diagnóstico, mas o tempo requerido e a frequência de resultados negativos em espécimes paucibacilares são limitações importantes (Katoch, 2004).

O diagnóstico molecular vem se mostrando muito promissor. É um teste rápido (comparado com a cultura) e sensível (Richeldi e cols., 1995). Entretanto, além dos preços elevados, os estudos que avaliam a real aplicabilidade dos kits comerciais em nosso meio são escassos e foram principalmente realizados em hospitais gerais, onde se encontram pacientes com condições clínicas que usualmente estão associadas a maior taxa de resultados falso-positivos pela Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) (Kritski e cols, 2000).

O *Mycobacteria growth indicator tube* (MGIT) detecta crescimento do bacilo por um sistema sem utilização de radioatividade, mas sim de fluorocromos com as desvantagens da experiência limitada com o método e seu preço. Com as vantagens no entanto da automatização e rapidez no diagnóstico (Katoch, 2004).

Há ainda outros métodos não citados e com relativa importância, contudo sempre com suas respectivas limitações.

Reconhece-se que a estratégia de controle da tuberculose é baseada no diagnóstico rápido e no tratamento adequado do doente, objetivando a interrupção da cadeia de transmissão. Por este motivo, esforços intensivos e grandes recursos devem ser dirigidos a

pesquisar novos métodos rápidos de diagnóstico de *M.tb* que se adaptem as condições e a realidade sócio-econômicas dos países em desenvolvimento.

Para a OMS em 2001, o desenvolvimento de novos métodos que aperfeiçoem o diagnóstico de TB, especialmente nos casos com baciloscopia negativa, é uma das principais prioridades atuais.

Nos países desenvolvidos, laboratórios adequadamente equipados são capazes de fornecer o diagnóstico de *M.tb* entre sete e quatorze dias, utilizando sistemas sofisticados de meios de cultura líquidos e sondas moleculares, porém a utilização desses métodos possui um custo elevado, não sendo viável o seu emprego nos países em desenvolvimento.

Um estudo que porventura apresentasse um método simples, de baixo custo, com elevada sensibilidade e especificidade, e que, por conseguinte, colaborasse com o diagnóstico e tratamento efetivos dos pacientes e o controle da doença, demonstraria por si só a sua utilidade e importância.

Assim, se faz necessária a realização de estudos em busca de métodos diagnósticos com as características acima. Este estudo visa, então, apresentação de um método relativamente novo: O Método de Detecção e Susceptibilidade por Observação Microscópica (MODS) de *M.tb*, bem como avaliar sensibilidade e especificidade na detecção de *M. tb* em amostras de escarro induzido, demonstrar o tempo de crescimento de *M. tb* por tal método e seus índices de contaminação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1) Gênero Mycobacterium

As micobactérias fazem parte do grupo das Eubactérias. Estão posicionadas taxonomicamente na Ordem *Actinomycetales*, Família *Mycobacteriaceae* sendo *Mycobacterium tuberculosis* a espécie-tipo do gênero *Mycobacterium* e constituído por bacilos imóveis, não esporulados, não encapsulados, medindo de 1 μ a 10 μ de comprimento por 0,2 μ a 0,6 μ de largura. Muito próximas aos membros dos gêneros *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Corynebacterium*, sua principal característica tintorial é a álcool-ácido-resistência, pois resistem à descoloração pelo álcool e ácido, normalmente utilizados na coloração de Ziehl-Neelsen. São aeróbias, não apresentam motilidade, não formam esporos e nem cápsula (Wayne e Kubica, 1986). Sua distribuição na natureza é ampla, podendo ser encontradas em ambientes aquáticos, no solo como espécie saprófita ou em ambiente intracelular de vertebrados superiores (Hermans e Bont, 1996).

2.2) *M.Tb*

Robert Koch (figura 1), em 1882, descobriu que o agente etiológico causador da TB era *M.Tb*. A partir deste momento, muitos esforços foram realizados a fim de elucidar os mecanismos de transmissão e as características principais desta micobactéria.



Figura 1: Robert Koch.

(Fonte: http://www.higiene-educ.com/en/learn/history/sci_data/frame1.htm)

2.2.1) Características gerais de *M. tuberculosis*

São bastonetes retos e finos, medindo entre 0,3-0,6 x 1-4 μ m (Figura 2), com o crescimento em forma de corda (Fator corda), e uma disposição em serpentina. Tal característica só demonstrou-se presente em micobactérias virulentas. Na maioria dos meios sólidos, as colônias apresentaram-se ásperas, espessas e com superfície enrugada ou nodular e uma margem irregular fina. O tempo de geração, *in vitro*, sob condições ótimas, variava de 14 a 15 horas. São aeróbios estritos e intracelulares facultativos (Wayne e Kubica, 1986).

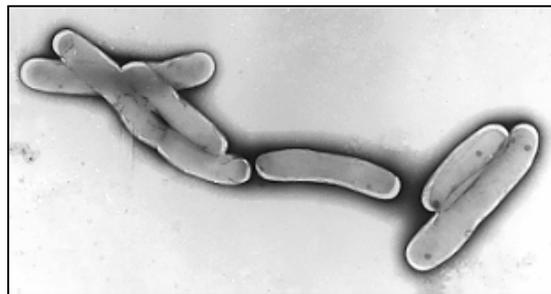
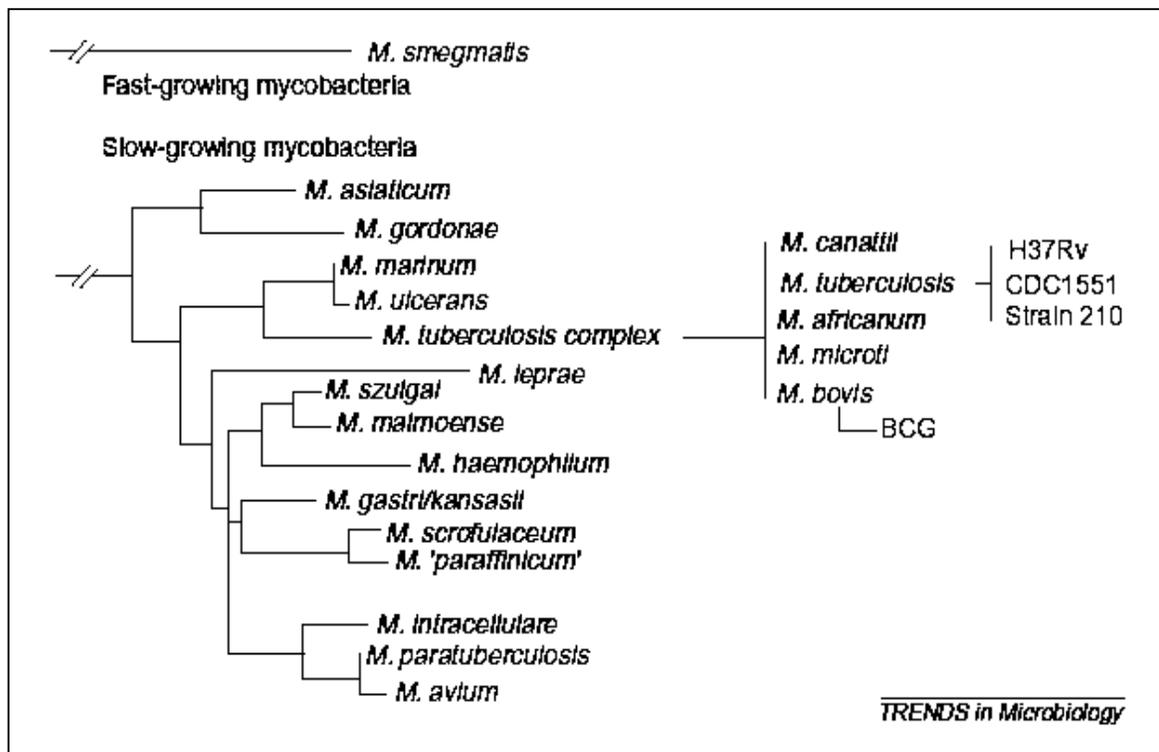


Figura 2: Eletromicrografia de *Mycobacterium tuberculosis*.

(Fonte: <http://www.sghms.ac.uk/depts/medmicro/bugs/Mtuberculosis/mtuberculosis.htm>)

M. tb pertence ao complexo *M. tuberculosis* composto também por *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* e o *M. canettii*, recentemente incorporado ao complexo (Soolingen e cols., 1997) (Esquema 1). O complexo *M. tuberculosis* foi classificado com base em estudos de hibridização, Análise dos Polimorfismos de Fragmentos de Restrição (RFLP) e análise da seqüência da subunidade 16S do RNA ribossomal (rRNA), a qual é conservada nestas espécies (Brosch e cols., 2001; Collins e Lisle, 1985; Sreevatsan e cols., 1997).

Esquema 1: Árvore filogenética de algumas micobactérias, baseada na seqüência 16S rRNA.



(Fonte: Brosch e col., 2001)

2.2.2. Fator Corda

M.tb apresentou uma morfologia característica quando cresceu em meio de cultura líquido, o que gerou “cordas serpentiformes” microscópicas, nas quais os bacilos estavam dispostos em cadeias paralelas (Yagupsky e cols, 1990; Rosemberg e Tarantino, 1997).

Essa morfologia distinta já havia sido observada por Robert Koch em 1884, quando o pesquisador descreveu, após investigação meticulosa, o padrão de crescimento das amostras virulentas de *M.tb* que cresciam na profundidade ou na superfície de meio de cultura líquido, de uma maneira distinta, formando feixes apertados ou cordas, constituídos de bacilos em arranjos paralelos. O pesquisador documentou o fenômeno morfológico curioso do crescimento de *M.tb* em cordões com aspecto de serpentinhas. (Bloch, 1950; Goren, 1975; Yagupsky, 1990; Rosemberg e Tarantino, 1997).

Entretanto, tais observações não foram compreendidas e permaneceram inadequadamente valorizadas, até que se demonstrou que a formação de cordas era característica das amostras virulentas e que cepas atenuadas ou avirulentas cresciam de forma aleatória sem orientação e não formavam cordas. Observou-se também que as cepas virulentas formadoras de corda absorviam o corante vermelho neutro e as cepas avirulentas, assim como a maioria das saprófitas, não o absorvia (Middlebrook e cols., 1947).

No início da década de 50 confirmou-se as avaliações prévias de que o crescimento característico em cordas era uma indicação de virulência, porém observou-se a formação

de cordas também em amostras saprófitas de micobactéria, deixando claro a necessidade de maiores estudos sobre o assunto, pois fazia pensar que a formação de corda e a virulência das micobactérias não eram associações invariáveis (Szulga, 1965). Estudos adicionais observaram o crescimento em serpentina de amostras avirulentas de *Mycobacterium phlei* e H₃₇Ra. Logo, poder-se-ia afirmar que, enquanto todas as cepas formadoras de corda não eram necessariamente virulentas, todas as cepas virulentas eram formadoras de corda (Richmond e Cumming, 1950; Yegin e Kurung, 1951; Darzins e Fahr, 1956).

Deu-se prosseguimento aos estudos e Hubert Bloch em 1950, sugeriu o termo fator corda, ao arranjo característico de crescimento de *M.tb*, que ficou estabelecido. Explicou-se na época que a sugestão do nome se devia ao fato do material em questão ter sido extraído de cordas já formadas de amostras de *M.tb* e demonstrava-se ser o responsável pelo arranjo em paralelo dos microorganismos (Goren, 1975). Esse grupo de pesquisadores constatou que após a extração do fator corda com éter de petróleo, os bacilos ainda se mantinham viáveis, porém, tinham a sua virulência prejudicada e perdiam a capacidade de se agregarem e formarem a corda. No final da década de 50, Hubert Bloch identificou o glicolípideo na superfície de amostras virulentas do *M.tb* e estabeleceu a estrutura purificada do fator corda como sendo a trealose 6,6'- dimicolato (C₁₈₆ H₃₆₆ O₁₇ +/- CH₂). A partir desta descoberta, passou-se a utilizar como sinônimos os termos fator corda e trealose 6,6'-dimicolato.

A hidrólise alcalina do fator corda (Fig 34), fornece duas moléculas de ácido micólico e uma molécula do dissacarídeo trealose. (Noll e cols., 1956; Goren, 1979; Behling e cols., 1993)

Detecção de Mycobacterim tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

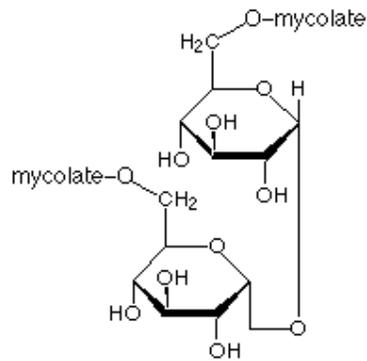


Fig. 3 Fator Corda

A trealose 6,6'-dimicolato demonstrou-se presente em quase todas as espécies do gênero *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Corynebacteria*. Grande quantidade de trealose 6,6'-dimicolato foi encontrada em espécies avirulentas o que mostrou que não existia relação entre a quantidade de micolato de trealose e a virulência da espécie, porém, a morfologia peculiar (corda) não foi encontrada nas avirulentas. (Goren, 1979; Behling e cols.,1993). Estudos recentes a respeito do mecanismo da formação de cordas do crescimento de *M.tb* sugeriram, fortemente, a necessidade da presença do fator corda (trealose 6,6'-dimicolato), tendo sido este o responsável pela virulência *in vivo* do microorganismo e pela sua proliferação (Silva e cols., 1985; Behling e cols., 1993). Vários estudos foram realizados visando o entendimento do mecanismo de formação da corda e se os achados eram similares à formação da corda nas micobactérias (Behling e cols.,1993) cobriram pérolas de vidro com trealose 6,6'-dimicolato (fator corda) e observaram que as pérolas se agregavam formando cordas, porém, havia a quebra das cordas com a adição de álcool ou surfactantes não iônicos, o que confirmou que a agregação das pérolas era induzida pelo fator corda e mediada por interações hidrofóbicas. Bloch em 1950, já havia

demonstrado que as cordas de *M.tb* se rompiam com agentes similares ao do estudo de Behling et al, o que levou a conclusão que os critérios para a formação de cordas pelas pérolas encobertas pela trealose 6,6'-dimicolato, era similar ao critério de formação de cordas pelas micobactérias. Esse experimento demonstrou aos estudiosos a mais intrigante propriedade: as pérolas revestidas com a trealose 6,6'-dimicolato, formavam uma rede de agregados de cordas na parede inclinada do tubo, e mesmo após serem agitadas, as pérolas possuíam a capacidade de reorganização. A adesão hidrofóbica foi à única fonte de energia disponível para a adesão. As leis da fisico-química determinaram que uma vez estabelecido o contato entre as pérolas, as forças de interação agissem para minimizar a superfície livre de energia e determinasse aumento da área de contato entre os comandos hidrofóbicos e as pérolas adjacentes (Bloch, 1950; Behling e cols., 1993).

No final da década de 60, vários estudos foram realizados em meio de cultura sólida 7H10, incubada em estufa a 37⁰C com uma tensão de CO₂ a 5% , para avaliar o valor do diagnóstico de *M.tb* através da leitura direta da corda em microscópio, demonstrando a observação de corda em 90,8% das amostras identificadas como *M.tb*. Esses estudos já sugeriam e confirmavam que a observação de corda era uma evidência bastante forte para a detecção presuntiva do *M.Tb* (Lorian, 1966; Lorian 1968; Lorian, 1969).

Os testes para verificação da formação de corda em laboratórios com alta prevalência de isolamento de *M.tb*, mostraram-se confiáveis e úteis na orientação dos testes de identificação com diminuição dos custos naqueles casos positivos em que ocorreu a formação de corda (Köksalan et cols., 2002).

Os laboratórios bem estabelecidos e equipados com sistemas automatizados de detecção de *M.tb* e com a utilização da tecnologia molecular para sua identificação também se beneficiaram deste recurso como estratégia para minimização dos custos. A avaliação morfológica do crescimento de *M.tb* em meio líquido, a partir dos sistemas automatizados de detecção, tem sido utilizada como um método rápido para o diagnóstico presuntivo e guia de seleção de sonda nas provas moleculares, com boa relação custo efetividade. (Tu e cols., 2003).

Os testes para verificação da formação de corda em laboratórios com alta prevalência de isolamento do complexo *M.tb*, mostraram-se confiáveis na orientação do rastreamento dos casos positivos (em que ocorre a formação de corda) (Köksalan e cols., 2002).

Na década de 90, demonstram que em esfregaços feitos dos meios líquidos originados dos sistemas automatizados de detecção, cerca de 93% a 98% das cepas positivas identificadas como pertencentes ao complexo *M.tb* apresentaram a morfologia característica da corda (Moreno e cols., 1994; Köksalan e cols, 2002; Tu e cols., 2003).

Kokasalan e cols. em 2002 e Tu e cols. em 2003, relataram em seus estudos que no pequeno percentual de cepas de *M.tb*, em que não foi observada a corda, talvez , o tempo de crescimento tenha sido pequeno e com isso não permitido a formação da corda. Esses estudos sugeriram que se fizesse a leitura da corda no período superior a quatro dias.

2.3) Transmissão

Gotículas de Phlügger eliminadas por um indivíduo com TB, demonstraram no seu interior, de dois a três bacilos (núcleo de Wells). Essas gotículas conservavam-se no ar por longos períodos de tempo, em seguida sofriam ressecamento e devido ao seu pequeno tamanho (inferior a 5µm), alcançavam o ambiente alveolar do hospedeiro e promoviam a infecção por *M. tb* (Riley, 1974).

Cinco fatores influenciavam o grau de transmissão de *M. tb*: 1) o número de organismos expelidos; 2) a concentração do organismo presente no ar por volume de espaço e grau de ventilação ambiental; 3) o tempo de exposição do indivíduo ao ar contaminado; 4) estado imunológico do hospedeiro exposto e 5) A virulência do microorganismo (American Thoracic Society, 2000).

2.4) Patogênese

Demonstrou-se que após a inalação, as partículas infectantes (núcleos de Wells) que continham *M. tb* e eram carregadas até a árvore brônquica, implantavam-se nos bronquíolos ou nos alvéolos respiratórios. O estabelecimento da infecção causada pelo bacilo dependia da virulência de *M. tb* e da capacidade do sistema imune do hospedeiro na inibição de sua multiplicação ou na eliminação do bacilo. Nas primeiras semanas de invasão bacilar aos alvéolos, quando o microorganismo sobrevivia, multiplicava-se no interior dos macrófagos. A lenta divisão do bacilo, (entre 25 e 32 h) e a não produção de entero e exotoxinas, culminava com uma resposta imunológica também lenta, que aumentava entre 2ª e 12ª semana de infecção, quando já tinha também início a resposta

celular específica, mais efetiva. Mesmo em indivíduo com uma resposta imunológica normal, com células T e macrófagos para formação do granuloma e conseqüente impedimento da multiplicação e a expansão do bacilo, comumente, observou-se neste granuloma a ocorrência de um processo de necrose com bacilos viáveis. Assim se estabelecia o foco de Gohn e com a disseminação locoregional, através do sistema linfático e vascular, sobrevinham o complexo primário, complexo bipolar de Ranke. Nesta fase, o indivíduo apresentava uma infecção latente, mas que não era considerada como doença ativa e não infectava outros indivíduos. (Dannenberg, 1989).

Foi demonstrado que adquirida a infecção por *M.Tb* esta mantinha-se freqüentemente latente por anos antes de reativação futura. Enquanto latente, o indivíduo mantinha-se sem sinais ou sintomas da doença, exceto pela prova tuberculínica que podia ser positiva. Em países com elevadas incidências de TB, mais da metade da população adulta apresentou-se infectada por TB (Menzies e cols., 1992).

Demonstrou-se que cerca de 10% dos indivíduos infectados por *M. tb* desenvolviam TB ativa. O risco de ocorrência de TB foi mais elevado nos dois primeiros anos logo após a infecção e nos últimos anos de vida, quando havia uma queda da imunidade natural do hospedeiro. Entretanto, a partir da década de 80, com o surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA - AIDS), estas características tem sido menos respeitadas, pois os indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV+) e infectados pelo bacilo da TB desenvolviam TB ativa em cerca de 5 a 10% ao ano e aqueles indivíduos em fase mais avançada da imunodeficiência, com contagem de CD4 baixas, após exposição a um paciente bacilífero, fosse em nível domiciliar ou hospitalar,

desenvolviam TB ativa mais rapidamente (50% nos primeiros dois anos de infecção) (American Thoracic Society, 2000).

2.5 Quadro Clínico

Foi demonstrado que a manifestação clínica da TB variava na dependência de alguns fatores do hospedeiro, do bacilo e de sua interação. Com relação ao hospedeiro, os fatores foram a idade, o status imunológico, outras comorbidades, a imunização prévia pelo BCG e ainda fatores genéticos. Quanto ao bacilo, pesavam a virulência e seu tropismo por tecidos específicos. Os fatores relacionados à interação bacilo-hospedeiro foram os sítios envolvidos e a gravidade da doença. A tosse mostrou-se o sintoma mais comum de TB pulmonar e no início da doença, caracterizava-se por não produção de expectoração, mas com a inflamação e a necrose do tecido, a produção de escarro passava a ser freqüente e auxiliava sobremaneira o diagnóstico bacteriológico (American Thoracic Society, 2000).

Em relação a sintomatologia prévia ao diagnóstico, 44 (88%) doentes referiram tosse, 43 (86%) febre, 37 (74%) sudorese noturna, 34 (68%) expectoração, emagrecimento em 33 (66%), dispnéia em 28 (56%), dor torácica em 25 (50%) e hemoptise em 16 (32%), (Job, 1986). A percentagem de doentes com tosse e expectoração (90%) assemelhou-se a encontrada em 1982 por Méndez Aguilera. A grande freqüência do sintoma tosse reforçou a indicação do estudo bacilosκόpio de escarro para todos os indivíduos sintomáticos respiratórios de acordo com propostas do Programa Nacional para o Controle da Tuberculose em 1979 e a Organização Pan Americana de Saúde (OPAS) em 1978 .

Herrera Contrera e Villegas Bobadilla em 1982 e Mendez Aguilera no mesmo ano, propuseram tal pesquisa prioritariamente para aqueles enfermos com tosse e expectoração por mais de 15 dias, especialmente naqueles com mais de 15 anos de idade.

2.6 Aspectos Radiológicos

A telerradiografia de tórax (RXT) mostrou-se um exame complementar útil como ferramenta auxiliar ao diagnóstico de TB, no entanto, em razão de sua baixa especificidade, quando o diagnóstico de tuberculose, entre suspeitos da doença, foi baseado somente neste recurso, um percentual significativo (37%) de indivíduos obtiveram diagnóstico de TB doença equivocadamente (Toman K, 1979). Mesmo quando a utilização da RXT era restrito a suspeitos de TB com baciloscopia negativa, o percentual de diagnósticos equivocados (23%) ainda assim mostrou-se elevado (Van Cleeff e cols., 2003).

Outro fator que demonstrou-se importante foi a experiência do avaliador da RXT. Estudos mostraram que avaliadores tiveram mais freqüentemente a tendência de classificarem RXT como falsos negativos (21 a 39%) do que como falsos positivos (2 a 19%) com menos discrepâncias quando avaliadores eram mais experientes (Toman K , 1979).

Em estudo realizado em 1968 pela União Internacional Contra a Tuberculose e Doenças Respiratórias - *International Union against Tuberculosis and Lung Diseases* – IUATLD) foi proposto que 1100 RXT fossem avaliadas por 90 médicos radiologistas ou

Detecção de Mycobacterim tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar

não de 9 países e detectou-se 34% de discordâncias quando a questionou-se se um dado RXT era normal?” e 28% de discordâncias quando a questão era se havia cavidade em dado RXT?

Ficou evidente a não existência de uma imagem radiográfica considerada específica de TB, por outro lado o RXT mostrou elevada sensibilidade para o diagnóstico da referida doença (Afiune e Ide Neto, 1994) . Considerado método inicial ideal devido a sua simplicidade e por não ser invasivo (Morrone e cols., 1980).

Entre as alterações radiológicas, infiltrado pulmonar demonstrou-se como mais comum. Apesar de infiltrados (como alterações exclusivas) terem sido vistos em apenas 36,6%. Quando imagens sugestivas de cavidade apresentavam-se associadas ao infiltrado, este número subiu para 68,6% e alcançou 86,6% quando excluídos indivíduos com comprometimento torácico mas sem alterações pulmonares (Gomes e cols., 2003).

Aktogu e cols. em 1996 também relataram que infiltrado pulmonar foi a alteração radiográfica mais comum, tendo sido visto em 99% de 5094 pacientes.

Cavidade, a mais importante alteração radiográfica vista em TB, considerada “a marca” da doença entre os adultos , revelou-se presente em 40 a 87% dos casos de TB em adultos (Buckner e Walker, 1990; Christensen e cols., 1981). Segundo Macedo e cols. tal alteração foi detectada em 74,7%, segundo Gomes e cols. (2003), cavidade foi vista em 45,5% dos casos.

Mais de um estudo comprovou que pacientes sintomáticos, com hipótese diagnóstica de TB e com RXT normais, em 3 a 5% dos indivíduos obtinham diagnóstico final de TB (Hadlock e cols., 1980; Miller e Macgregor, 1978). Wilcke e cols em 1998, diagnosticaram TB em 3 (0,5%) de 548 pacientes.

Verificou-se correlação entre baciloscopia positiva e o tipo de alteração radiológica, com resultados positivos vistos mais freqüentemente quando RXT demonstrava cavidade (s) do que quando tal alteração não estava presente. Wilcke et cols. (1998) detectaram 89% das baciloscopias positivas.

2.7 Diagnóstico de TB

2.7.1. Espécimes

A aquisição de escarro, material muito utilizado na investigação de TB pulmonar, pode ser obtido de forma induzida. Outro recurso utilizado é a broncoscopia com coleta de lavado broncoalveolar (LBA). Demonstrou-se que escarro induzido (EI) foi mais sensível que broncoscopia para detecção de TB pulmonar ativa em indivíduos com EE negativos ou incapazes de expectorar, com sensibilidade de 96,3% (com 3 amostras analisadas por paciente) contra 51,9% obtida via LBA . No procedimento para coleta de EI o paciente submetido a inalação de solução hipertônica (3%) tinha suas vias aéreas irritadas e em consequência tosse. A solução salina mudou a osmolaridade dos pulmões e produziu secreções, que eram então expectoradas. O exame demorou cerca de 30 minutos e ocasionalmente causava efeitos colaterais, incluindo náuseas, vômitos e broncoespasmo, mas geralmente era bem tolerado (McWilliams e cols., 2002).

Sensibilidade da cultura em LJ com espécimes obtidos via broncoscopia foi 73,0% comparada com 87,0% , quando material foi obtido via escarro induzido (Anderson e cols., 1995).

Em 2000, Conde e cols., obtiveram Kappa de 0,92 em baciloscopias e 0,78 em culturas em LJ na comparação entre EI e LBA.

Em 2001, Al Zahrani e cols. demonstrou que uma amostra escarro induzido estudada é uma ferramenta auxiliar ao diagnóstico de TB tão boa quanto a broncoscopia e que os resultados melhoram se houver repetidas induções de escarro .

2.7.2. Baciloscopia

O diagnóstico de probabilidade de TB através de dados clínicos e achados radiológicos mostrou-se útil, porém, para o diagnóstico definitivo da TB, foi necessário o isolamento e identificação do organismo causador da doença através de métodos laboratoriais. Por mais de cem anos, o único teste diagnóstico presuntivo para tuberculose foi o exame direto de esfregaço do espécime clínico dos pacientes. A microscopia mais de uma vez mostrou-se o procedimento mais simples e mais rápido capaz de detectar bacilos álcool ácido resistentes nos espécimes. O exame direto considerado básico para o diagnóstico bacteriológico da tuberculose, especialmente na forma pulmonar. De execução rápida, preparo fácil e de baixo custo, favoreceu a ampla cobertura diagnóstica e identificou a principal fonte de infecção, o doente bacilífero. No entanto, não permitiu

identificação do agente etiológico e realização de testes de sensibilidade aos fármacos. (MS, 1994). O método mostrou limitações na detecção por exigir o mínimo de 5×10^3 bacilos por mL. Vários fatores influenciaram o resultado do exame direto como a experiência técnica de quem realizou leitura dos esfregaços, o tipo de espécime analisado, técnica de coloração, espessura e extensão do esfregaço (Christe e Callihan, 1995; Venkataraman e Paramasivan, 2003).

O método de coloração mais usado para as micobactérias é o Ziehl-Neelsen (Figura 4). Este método está baseado na capacidade das micobactérias na retenção da fucsina após a coloração e não se deixar descorar pela ação da mistura álcool-ácido. As micobactérias, após coloração por esse método, apresentavam-se como bastonetes delgados, ligeiramente curvos, aos pares ou em grupos, corados em vermelho e sendo referidos como bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR). Outro método de coloração empregado é o de fluorescência (auramina-rodamina) o qual utilizou substâncias orgânicas chamadas de fluorocromos que quando excitados emitiam luz. Devido à característica de álcool-ácido resistência das micobactérias, uma vez coradas pelos fluorocromos, elas não se deixavam descorar. A microscopia de fluorescência foi mais rápida se comparada à microscopia que usou a coloração por Ziehl-Neelsen, pois utilizava objetiva menor que a de imersão. Esta técnica, porém, requereu um microscópio de fluorescência, um profissional treinado para este fim e teve um custo foi mais elevado. Apesar do baixo custo da baciloscopia, no Brasil tal procedimento não foi executado em 16% dos pacientes que tiveram tratamento de TB realizado. Em 22% dos casos optou-se por início de tratamento para TB, não obstante baciloscopia negativa, o que resultou em 38% dos casos de TB pulmonar tratados sem confirmação bacteriológica. (I Consenso Brasileiro de Tuberculose, 1997).

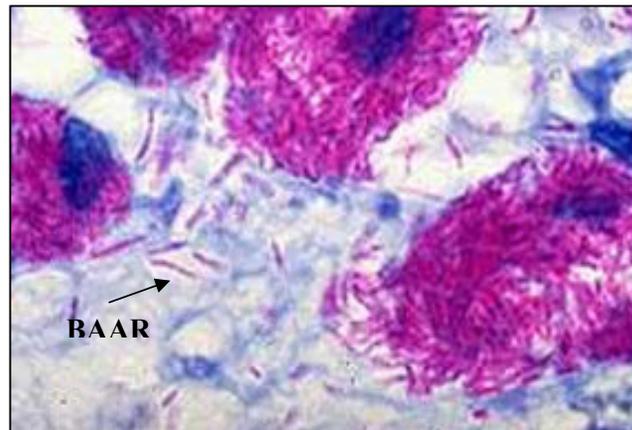


Figura 4: Lâmina corada com o método de Ziehl-Neelsen.

(Fonte: <http://medlib.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/AIDS/AIDS030.html>)

A sensibilidade da baciloscopia direta variou de 22% a 78% nos pacientes com tuberculose pulmonar e a especificidade de 89% a 100%. As vantagens da baciloscopia foram comprovadas mais de uma vez: baixo custo, elevada especificidade em regiões com alta prevalência de TB, por estas razões permaneceu com papel primordial na detecção da doença até os dias atuais (Perkins, 2000). Entretanto, o isolamento na cultura permaneceu como o diagnóstico bacteriológico final para a tuberculose (Lipsky e cols., 1984; Gordin e Slutkin, 1990; Christie e Callihan, 1995; Heifts, 1997; Warren e cols., 2000).

2.7.3. Cultura em Meio Löewestein-jensen

Com a cultura em meio Löewestein-jensen pode-se obter o diagnóstico de TB através da cultura a partir de 10 bacilos/mL de espécime. A cultura permitiu diagnóstico em casos de tuberculose nos quais a presença do bacilo não foi detectada via baciloscopia, identificou o agente etiológico e propiciou a realização de teste de sensibilidade (MS, 1994).

Freqüentemente considerada o padrão-ouro para o diagnóstico bacteriológico da TB, mais sensível que a baciloscopia e mais barata, em comparação aos métodos modernos, o maior problema desta técnica sempre foi o longo tempo de geração de *M.Tb*, 15-20 horas (Marks, 1993). A sensibilidade da cultura variou de 80% a 85% e a especificidade é 98% (Morgan, 1983; Ichiyama, 1993), contudo *M.Tb* demandou um período de três a oito semanas de incubação para detecção em meios sólidos (Hale e cols., 2001; Soini e Musser, 2001; López e cols., 2003).

Especialmente para pacientes imunodeprimidos, a demora da cultura já demonstrou-se fatal. Além disso, mesmo em hospitais gerais, da cidade do Rio de Janeiro, apenas 30% de seus laboratórios realizavam a cultura para micobactéria de rotina, o que constitui importante problema a ser resolvido para um diagnóstico ideal e efetivo tratamento da doença (Boletim Eletrônico, 2000).

2.7.4. Tubo Indicador de Crescimento Micobacteriano (MGIT 960)

O MGIT mostrou-se um método de leitura fácil e diferente do sistema radiométrico, sem utilização de agulhas e seringas para inoculação, o que diminuiu a possibilidade de contaminação cruzada e propiciou melhores condições de biossegurança durante o manuseio ao operador (Togneri e Cimalando, 2000).

Vários estudos descritos na literatura compararam BACTEC MGIT 960, BACTEC 460 e meio de Löwenstein-Jensen. Em 1999, Hanna e cols. e Tortoloi e cols., encontraram via cultura em MGIT, sensibilidade de 80%, em relação ao meio de Löwenstein-Jensen (LJ) onde detectou-se no primeiro estudo, sensibilidade de 71% e de 69% no segundo estudo. Quanto ao tempo médio de detecção de *M. Tb*, em relação ao primeiro estudo obteve-se em cultura MGIT, mediana de 13,3 dias e no segundo estudo 14,4 dias. Já em LJ detectou-se 25,6 e 24,1 dias respectivamente.

Em 1997, Pfyffer e cols., compararam o MGIT 960 com o sistema radiométrico BACTEC 460 e encontraram respectivamente sensibilidade de 76,1% com tempo médio de crescimento de 14 dias e 87,8% com média de crescimento de 13,5 dias.

Sistema totalmente automatizado, o Bactec MGIT 960 utiliza um tubo indicador de crescimento de micobactérias (MGIT, Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.) com 7 mL de meio de cultura líquido 7H9 aditivado com OADC e um Kit PANTA (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.) com fármacos *Detecção de Mycobacterim tuberculosis por observação microscópica em amostras de escarro induzido para diagnóstico rápido da tuberculose pulmonar*

lioofilizados e que se baseia no método das proporções, versão modificada, para realização do teste de sensibilidade (Manual Bactec MGIT, 1998).

Algumas vantagens do método: não utilização de substâncias radioativas no meio de cultura, incubação, monitoramento e informação de resultados contínuos o que com conseqüente aumento de biossegurança, além da não invasibilidade do mecanismo, o que diminui a contaminação cruzada (Ardito et al, 2001). Um método fluorimétrico com auto-calibração, com aumento da qualidade dos resultados. O método no Bactec 960 baseia-se no consumo de O₂ pelos microorganismos metabolicamente ativos. O MGIT possui meio líquido na base do tubo e um botão de silicone impregnado com um sensor químico de oxigênio, o cloridrato pentahidratado de fenantrolina de rutênio. Este composto emite luz laranja quando na ocorrência de consumo de oxigênio dissolvido no meio de cultura e esta é detectada quando incide uma luz ultravioleta 365 nm.

A fluorescência captada pelo fotodetector e transformada pelo sistema do aparelho em unidades de crescimento (G. U) por monitoramento contínuo dos tubos incubados no próprio aparelho, não exige manuseio e transferência dos tubos da estufa para o aparelho para incubação e realização de leitura.

Os testes são considerados positivos quando alcançam leitura de 400 G. U e são identificados pelo aparelho através de sinal luminoso e sonoro (Manual BACTEC MGIT 960, 1998).

2.7.5. Método de Detecção e Susceptibilidade por Observação Microscópica (MODS)

O MODS é baseado nas observações feitas ao longo do tempo de que *Mycobacterium tuberculosis* cresce com maior exuberância nos meios de cultura líquidos quando comparado com os meios sólidos, nos quais a sensibilidade é menor e o tempo requerido para detecção maior (CHENG e cols., 1994, CAVIEDES e cols, 2000).

O novo método de cultura micobacteriano em meio líquido, foi recentemente descrito por um grupo de pesquisadores em tuberculose do Departamento de Patologia da Universidade Cayetano Heredia, Perú. A análise preliminar do MODS neste estudo mostrou que a técnica foi adequada para detecção do crescimento micobacteriano e teste de sensibilidade, este último recurso não especificamente abordado nesta tese. Trata-se de um método de fácil execução, sem necessidade de sistemas de detecção radiométrico ou de fluorescência. A metodologia não requereu tratamento adicional dos espécimes além dos métodos convencionais de digestão e descontaminação (CAVIEDES e cols., 2000).

MODS, método fundamentado em três princípios: Rápido crescimento de *M.Tb* em meio líquido em relação ao meio sólido, crescimento característico de *M.Tb* (em forma de cordas) detectável precocemente e finalmente, a adição de drogas, com viabilização de realização rápida de teste de sensibilidade, quase concomitantemente à detecção de crescimento do bacilo (Moore e cols., 2006).

No MODS, o espécime, após ser digerido e descontaminado e semeado em placa descartável contendo meio de cultura líquido, o crescimento micobacteriano é detectado pela leitura da placa no microscópio de luz invertida. As espécies desenvolvem crescimento característico e a identificação presuntiva de *M.Tb* se faz pela observação de cordas (CAVIEDES e cols, 2000).

Caviedes e cols compararam a sensibilidade e o tempo de detecção de *M.Tb* pelo MODS, sistema MGIT (que foi considerado padrão ouro) e cultivo em meio de Löwenstein-Jensen, observaram sensibilidades de 92% , 93% e 76%, respectivamente. O tempo necessário para a detecção foi em mediana de nove dias para o MODS, dez dias para o MGIT e vinte e quatro dias para o Löwenstein-Jensen. A estimativa de custos por método diagnóstico feito pelos pesquisadores para cada amostra foi US\$ 0,77 para o MODS, US\$ 7,00 para o sistema MGIT, US\$ 0,14 para o cultivo em meio de LJ.

Em 2006, Moore e cols. detectaram via MODS e via LJ, respectivamente: sensibilidade de 97,8% e 84%, especificidade de 99,6% e 100%, valor preditivo positivo de 97% e 99,7% e valor preditivo negativo de 98,7% e 98,1%. Tempo médio para detecção do microorganismo foi de 7 dias para MODS e 26 em LJ. Tempo médio, diferente do obtido por Park e cols. em 2004, que foi de 9,5 dias. Neste estudo utilizaram como padrão ouro a positividade em cultura em LJ ou em método automatizado (Bactec).

3. HIPÓTESES

Hipótese nula (H_0) : A performance da cultura em MODS para detecção do crescimento de *M.tb* em amostras respiratórias de EI em relação ao meio de cultura sólido LJ são iguais.

Hipótese alternativa (H_1) : A performance das culturas em MODS para detecção do crescimento de *M.tb* em amostras respiratórias de EI em relação ao meio de cultura sólido LJ são diferentes.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

- Avaliar a sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhanças em cultura em meio MODS, para detecção do crescimento de *M.tuberculosis* em amostras respiratórias de escarro induzido (EI).

4.2 Específicos

- Avaliar a sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhanças da cultura em meio MGIT, para detecção do crescimento de *M.tuberculosis* em amostras respiratórias de escarro induzido (EI) e comparar os resultados aos obtidos em meio de cultura MODS.

- Comparar o tempo necessário para a positividade nos meios de cultura MODS, MGIT e LJ.

- Comparar número de amostras contaminadas nos meios de cultura MODS, MGIT e LJ.

5. PACIENTES E MÉTODOS

5.1 Estudo experimental

No período que antecedeu um mês o início do estudo, foi realizado um projeto piloto em 130 amostras selecionadas aleatoriamente da rotina diagnóstica do Laboratório de Micobacteriologia do complexo Hospitalar IDT/HUCFF-UFRJ, no qual realizou-se os mesmos procedimentos abaixo descritos. Os resultados não foram incluídos na análise final do estudo, pois a finalidade foi de treinamento para domínio da técnica do método MODS, detecção e avaliação de possíveis dificuldades que poderiam ocorrer durante o estudo. Ao final de tal período logrou-se incluir 130 amostras respiratórias. Por meio da técnica MODS, 28 foram positivas, 82 negativas e 19 contaminadas (1 perda) e com LJ, 37 foram positivas, 79 negativas e 12 contaminadas (2 perdas). A concordância entre MODS e LJ foi 0,73 (Kappa). A mediana para positividade em MODS foi 14,0 com intervalo interquartil (IIQ) de 7 a 17 e em LJ de 21,0 dias com IIQ de 20 a 26.

5.2 Tipo do estudo

Trata-se de uma fração de um estudo prospectivo e multicêntrico para avaliação de um teste diagnóstico no qual os pacientes foram encaminhados para a Unidade Hospitalar com suspeita de TB pulmonar.

Realizado no complexo hospitalar Instituto de Doenças do Tórax - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de

Janeiro, Brasil), Instituto Nacional del Torax (Tegucigalpa, Honduras), Johns Hopkins Center for Tuberculosis Research, Johns Hopkins Medical Institutions (Baltimore, Maryland, USA) e financiado por: USAID / Gorgas Tuberculosis Initiative/ICIDR.

5.3 Período e local do estudo

O estudo foi realizado no Complexo Hospitalar – Instituto de Doenças do Tórax (IDT) - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Amostras de escarro induzido foram fornecidas por pacientes encaminhados ao HUCFF no período compreendido entre agosto de 2003 e outubro de 2004. O material clínico foi encaminhado ao Laboratório de Micobacteriologia do complexo hospitalar IDT/HUCFF da UFRJ. O laboratório possui uma rotina com demanda de cerca de 5500 espécimes clínicos ao ano, dos quais 65% (cerca de 3575) são amostras respiratórias e destas cerca de 30% (1054 amostras) são amostras de escarros induzidos. O estudo foi avaliado e aceito pela comissão de ética do HUCFF sob o número 060/99.

5.4 Perfil de pacientes atendidos no estudo.

Foram analisados os espécimes clínicos de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar recebidos para coleta de EI, de forma consecutiva, nas segundas, terças e sextas no complexo hospitalar HUCFF-IDT -UFRJ, respectivamente hospital geral e especializado em doenças pulmonares. Foram considerados elegíveis para o estudo: indivíduos que não conseguiam expectorar espontaneamente, ou o faziam, mas apresentavam 2 baciloscopias negativas, e perdurava a hipótese diagnóstica de TB. Entre os pacientes incluídos, foi selecionada apenas uma

amostra por paciente (a primeira, quando o paciente forneceu mais amostras) que aceitou participar do estudo mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 2).

5.5 Coleta e transporte das amostras

Os espécimes clínicos foram remetidos ao Laboratório de Micobacteriologia imediatamente após a sua coleta e término de preenchimento de questionário e armazenados em refrigeração a 4⁰ C por no máximo 48h até o seu processamento.

5.6 Manejo das amostras

O estudo foi realizado de maneira cega por técnicos treinados que não tiveram acesso aos resultados das baciloscopias e das informações clinico-radiológicas. O técnico responsável pela realização do teste MODS não tinha acesso a inoculação, ao cultivo ou ao resultado em cultura em LJ e vice-versa.

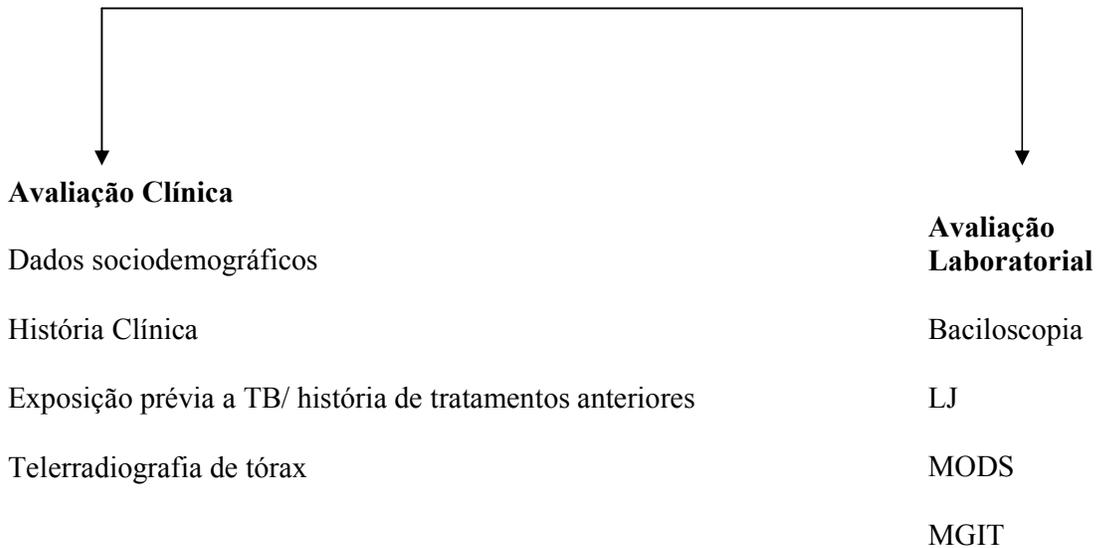
5.7 Critérios de inclusão

Vê-se no esquema 2, um resumo dos critérios de inclusão e exclusão.

Esquema 2: Critérios de Inclusão e Exclusão / Avaliações Clínicas e Laboratoriais

Critérios de Inclusão

- a) Idade \geq 12 anos.
- b) Tosse por \geq 3 semanas.
- c) Sem expectoração espontânea ou 2 baciloscopias negativas.
- d) TCLE
- e) Um dos seguintes critérios:
 - 1. Caso Novo
 - 2. Tratamento Anterior
 - 2.1 Susneita de TB recidivante



Critérios de Exclusão

- Não assinatura de TCLE
- Espécime contaminado em MODS ou LJ
- Comparecimento em dias diferentes dos dias previstos para inclusão no estudo

Pacientes com idade igual ou superior a 12 anos com tosse há pelo menos 3 semanas e que concordaram em assinar termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). A participação no estudo foi oferecida a todos os pacientes que atenderam aos critérios de inclusão. Comunicou-se a todos os pacientes que a participação seria voluntária e a não participação não influenciaria em seu tratamento. Os riscos e benefícios do estudo foram explicados aos pacientes (conforme TCLE).

Todo paciente teria que estar incluído em um dos seguintes critérios:

1. Novo caso de suspeita de TB (sem tratamento prévio ou tratamento por < 1 mês).
2. Tratamento anterior:
 - Suspeita de TB recidivante (tratamento anterior completo de TB com aparente cura).
 - Suspeita de falha de tratamento (sob tratamento para TB com escarro baciloscopia positiva após 4 meses de tratamento).
 - Abandono ao tratamento (interrupção da terapia anti-TB antes da data prevista, tendo ocorrido tal interrupção pelo menos 2 meses antes da inclusão no projeto MODS).

Foram considerados elegíveis os pacientes com as características acima e que se dirigiram ao SME para coleta de EI nos dias em que a enfermeira entrevistadora encontrava-se presente no setor.

5.8 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo os pacientes cujas amostras não tiveram os critérios adequados de coleta, armazenamento e transporte aplicados, assim como as amostras que tiveram a sua cultura contaminada em pelo menos um dos métodos, os que tiveram seus espécimes contaminados em meio MODS e/ou em LJ e os que compareceram em dias diferentes dos dias específicos de entrevista e inclusão.

5.9 Definição de termos

Foram considerados casos de TB, todos os pacientes que na primeira etapa do estudo, apresentaram resultado de cultura em LJ positiva e aqueles que apresentaram resultados discrepantes (cultura MODS positiva e LJ negativa) se no seguimento de 90 dias (S90) pacientes deste segundo grupo apresentassem uma das três características a seguir:

Foram considerados “Caso confirmado de TB” pacientes com uma ou mais dos seguintes características:

- a. Resposta clínica ao tratamento (definido como melhora ao RXT, diminuição da tosse e ganho de peso de 3% em relação ao início do tratamento) e ausência de diagnóstico alternativo.
- b. Baciloscopia ou cultura positiva para *M. tb* em LJ no seguimento.

c. Óbito registrado no Sistema de Informação em Mortalidade (SIM) como causa mortis: tuberculose.

Pacientes que não atingiram nenhum dos critérios a, b, ou c acima foram considerados “Caso não confirmado de TB”.

Considerou-se performance de um teste: sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhança do mesmo.

5.10. Telerradiografia de tórax (RXT)

A RXT de cada paciente foi interpretada pelo pneumologista (C.L.C.P.) com 9 anos de experiência, sem informações do quadro clínico do participante. A análise da RXT classificou as imagens como: Normal, típica de TB ativa, compatível ou sugestiva de seqüela de TB ou de outra doença pulmonar (não TB).

O padrão utilizado para classificar uma radiografia como típica de TB era a apresentação de cavidade, ou forma infiltrado no (s) lobo(s) superior (es) e/ou no segmento apical do (s) lobo(s) inferior (es); RXT compatível com TB eram imagens de adenomegalia hilar, mediastinal, padrão miliar e/ou derrame pleural, e forma atípica, qualquer outra imagem que as não supracitadas, incluindo seqüela de TB (Mello, 2006).

No seguimento de (90 dias) em pacientes que apresentassem resultados discordantes, nova RXT seria avaliada e seria comparada com o exame realizado no

início do estudo, pelo mesmo pneumologista. Desta vez, a RXT deveria ser classificada simplesmente como apresentar-se melhor, igual ou pior que a do período de inclusão no estudo.

5.11 Tamanho amostral

Durante o período do estudo 1281 espécimes de EI, de 1281 pacientes foram encaminhados ao laboratório de Micobacteriologia do complexo hospitalar IDT/HUCFF da UFRJ. Quinhentos e sete pacientes, poderiam ter participado do estudo (elegíveis). Foram excluídos e não contabilizados, aqueles que não aceitaram participar do estudo, os que terminaram a coleta de escarro antes que a entrevistadora pudesse encerrar a entrevista anterior, os que tinham menos de 12 anos de idade e os que não apresentavam tosse por pelo menos 3 semanas. Ainda entre os excluídos mas contabilizados, houve 13 amostras que apresentaram contaminação em pelo menos um dos métodos: MODS ou LJ (três amostras apresentaram-se contaminadas em ambos os métodos). No total foram 289 amostras excluídas, restando então as 218 pacientes/amostras estudadas.

5.12 Instrumento de coleta de dados

Todos os formulários foram criados em Word (ANEXO 1). Todos os dados foram preenchidos de acordo com as instruções que foram definidas e detalhadas num manual específico (ANEXO 3).

Os nomes dos pacientes foram coletados apenas uma vez e esta informação foi guardada separadamente em formulário que não continha dados clínicos ou

laboratoriais. Cada paciente recebeu um número de identificação do paciente que foi usado em todos os formulários que continham resultados e espécimes clínicos para facilitar o cruzamento de dados. Nomes e outras identificações foram usados nas culturas e esfregaços para microscopia. Estes dados foram usados para a rotina clínica. Entretanto nomes ou outras identificações óbvias não foram usados nos formulários do teste MODS. Uma pasta com todos os formulários, resultados de laboratório e outras informações pertinentes, foi aberta para cada paciente. Todas as pastas foram guardadas em arquivo fechado em sala própria quando não usadas e apenas a equipe do estudo teve acesso a elas.

5.13 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram analisados através da utilização dos programas Epi-info 2002. Comparação entre os grupos foi realizada para a comparação das diferenças nas frequências de resultados positivos e negativos nos grupos estudados foi empregado o teste do qui-quadrado, utilizando-se o teste McNemar (χ^2) quando em amostras pareadas. Este foi calculado através da metodologia fornecida pelo endereço eletrônico: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/McNemar1.cfm> que se baseia no livro *Intuitive Biostatistics* de Harrey Motulsky. Teste exato de Fisher foi usado quando em uma das caselas que compunham a tabela 2 x 2 observou-se valores iguais ou abaixo de 5 e foi calculado através do pacote estatístico Epi-info 2002. Resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Para comparação dos tempos médios de detecção foram utilizados testes não paramétricos: o teste de Wilconxon e o teste de Mann-Whitney.

O teste de kappa foi utilizado para avaliar o grau de concordância entre os testes e foi calculado através da metodologia encontrado no endereço eletrônico: <http://www.chestx-ray.com/Statistics/kappa.html> que se baseia em inúmeras referências bibliográficas, entre elas. Byrt T, Bishop J, Carlin JB. *Bias, prevalence and kappa*. J Clin Epidemiol 1993; 46:423-429.

A interpretação do Kappa foi realizada da seguinte forma: se 0, não há concordância, entre 0 e 1,9 concordância insignificante, entre 2,0 e 3,9 baixa, entre 4,0 e 5,9 moderada, entre 6,0 e 7,9 substancial e finalmente entre 8,0 e 10,0 a concordância é quase perfeita (Landis e cols., 1977).

A performance: sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhanças e intervalos de confiança foram calculados através do endereço eletrônico: <http://www.intmed.mcw.edu/clincalc/bayes.html>. A razão de verossimilhança é definida como a razão entre a probabilidade de um determinado resultado de um teste diagnóstico em indivíduos portadores da doença e a probabilidade do mesmo resultado em indivíduos sem a a doença.

Usou-se a copositividade, quando realizou-se comparações entre dois métodos ainda em teste e que portanto não deveriam ser considerados padrão ouro.

5.14 Ética de pesquisa em seres humanos

O protocolo do estudo e o consentimento escrito foram revisados e aprovados pelo respectivos comitês de ética das instituições participantes do estudo multicêntrico que

deu origem a esta tese. Os riscos e benefícios foram descritos no TCLE e explicados aos participantes.

5.15 Prevenções para os profissionais

Metodologias laboratoriais com *M.tb* e espécimes respiratórios que potencialmente continham *M. tb* foram realizadas de acordo com as regras e padrões locais de biossegurança. As metodologias laboratoriais foram executadas de acordo com os Manuais Institucionais. Os técnicos usaram máscara respiratória N95, luvas e jaleco. O descarte de material contaminado ou potencialmente contaminado foi realizado de acordo com os regulamentos das instituições locais.

5.16 Avaliações clínicas e laboratoriais

5.16.1 Procedimentos clínicos

A abordagem e convite ao paciente para participação no estudo eram feitos na recepção do Setor de Métodos Especiais (SME) da Pneumologia. Os pacientes chegavam no horário previamente agendado para realização de coleta de escarro induzido. Análise quanto a possibilidade de inclusão do mesmo era feita através do formulário de solicitação do exame e em casos que suscitavam dúvidas através de rápida revisão dos critérios de inclusão. Caso indivíduo preenchesse critérios de inclusão necessários, este recebia explicações a respeito da pesquisa e termo de consentimento que era solicitado a assinar, se de acordo e passava a responder perguntas do questionário (ANEXO 1) . A enfermeira (L.M.K.M) procedia as perguntas segundo

manual de orientações (ANEXO 3) confeccionado previamente ao início do estudo. A inclusão de todos os pacientes aconteceu às segundas, terças e sextas nos turnos da manhã e tarde.

No momento da entrada no estudo, os dados clínicos foram coletados e anotados em formulário padronizado incluindo as seguintes informações:

- Dados sociodemográficos
- Revisão dos órgãos e sistemas do corpo humano
- Exposição à TB, doença e história de tratamento
- História patológica pregressa
- Exame físico
- Resultado telerradiografia de tórax
- Resultado do teste de HIV (se tiver sido realizado no passado).

Para os pacientes incluídos no estudo, nos quais ocorreu discrepância na análise (Esquema 3), as seguintes informações foram obtidas quando possível, até 3 meses (90 dias) após a data da entrada no estudo:

- Resultado do tratamento
- Revisão de sintomas mais associados com o evento em estudo
- Telerradiografia de tórax (RXT)
- Diagnóstico alternativo de doença pulmonar
- Baciloscopia e cultura em LJ.

Decorridos 90 dias (seguimento pós 90 dias – S90), se os dados coletados no início do estudo mostraram resultados discordantes (MODS positivo e LJ negativo), realizou-se revisão do exame clínico, radiológico e resultados das culturas em LJ para determinar a classificação do paciente.

Os pacientes foram de forma dirigida questionados quanto a presença ou não dos seguintes sintomas: tosse, expectoração, hemoptise, sudorese noturna, febre, dispnéia, perda de peso, adenopatia e diarreia. Foram também argüidos quanto ao tempo de sintomas.

5.16.2 Técnicas laboratoriais

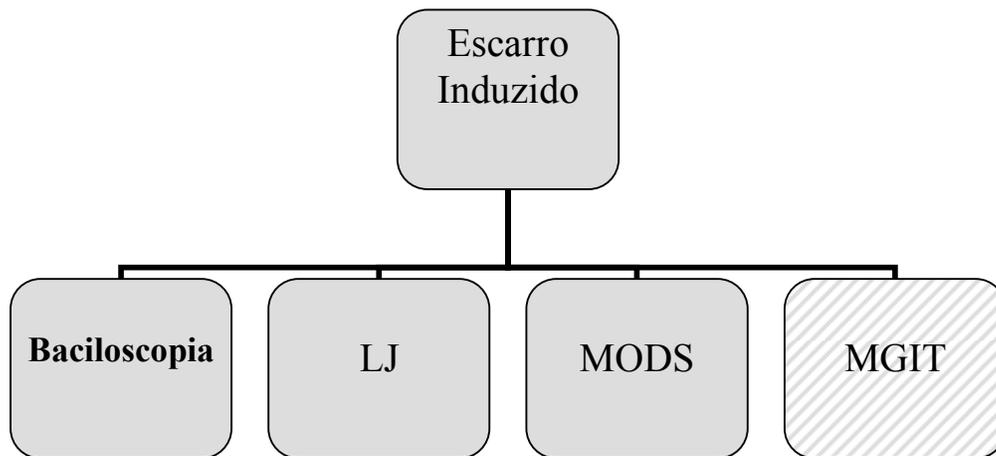
As leituras MODS para detecção do crescimento de *M.tb* e de LJ, foram realizadas em dias estipulados para que não houvesse necessidade de realização de leituras nos finais de semana. Foram selecionadas as segundas-feiras, terças-feiras e sextas-feiras para o processamento dos espécimes e realização da baciloscopia, cultura em meio MODS, MGIT e no meio de LJ (Figura 5). O método MGIT foi testado em apenas 156 espécimes tendo-se iniciado tais procedimentos mais tardiamente por retardamento na chegada de insumos necessários a realização da cultura.

5.16.2.1 Baciloscopia

Os espécimes após serem identificados e transferidos para um tubo descartável de polietileno estéril de 50mL, foram centrifugados a 3000 x g por quinze minutos. A partir do sedimento realizou-se um esfregaço em lâmina virgem

que foi corado pela técnica de Ziehl-Neelsen (ZN). A leitura das lâminas seguiu a escala semi-quantitativa, de acordo com o Manual de Bacteriologia de Ministério da Saúde (1994).

Figura 5: Métodos de cultura utilizados no estudo.



5.16.2.2 Descontaminação e digestão dos espécimes

Os espécimes foram submetidos ao processo de fluidificação e descontaminação pelo método de Kubica. Do sedimento homogeneizado em 2 mL de solução tampão fosfato pH 7.0 foram retirados os inóculos para a semeadura em meios de cultura de LJ, MGIT e MODS.

5.16.2.3 Cultivo em meio de LJ

Do sedimento homogeneizado em 2 ml de solução tampão fosfato pH 7, foram retirados dois inóculos de 0,2 mL cada um e semeados em dois tubos contendo meio de cultura de LJ. Em seguida os tubos inoculados foram incubados em estufa a 37°C e o crescimento, após a semeadura, foram analisado nos dias: 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 38, 42, 45, 49, 52, 56 e 59. O resultado da cultura em meio de LJ foi informado de acordo com a escala semi-quantitativa do Manual de Bacteriologia do Ministério da Saúde (1994).

5.16.2.4 MODS

Com intervalos máximos de 14 dias foi preparado o meio de cultura líquido MODS constituído de Middlebrook 7H9 (Middlebrook 7H9 Broth Dehydrated Difco Laboratories) aditivado com ácido oleico, albumina, dextrose e catalase (OADC - BBL MGIT - Becton Dickinson Microbiology System USA), glicerol a 0,31% (Vetec Glicerina P.A.), Bacto Casitone 0,125% (Becton & Dickinson) e coquetel de antibióticos PANTA contendo Polimixina 200U/mL, Anfotericin B 10mg/L, Ácido nalidíxico 20µg/mL, Trimetoprin 10mg/L, Azlocilin 1200U/mL (BBL MGIT PANTA- Becton Dickinson Microbiology System USA) e armazenado em geladeira.

A metodologia (figura 6) para a semeadura dos espécimes em meio líquido MODS foi desenvolvida em placas descartáveis estéreis com 24 poços. Em 12 poços foi adicionado 1 mL do meio de cultura líquido MODS. Do sedimento homogeneizado em tampão fosfato foram retirados dois inóculos de 0,2 mL cada um e semeados em um poço contendo o meio de cultura líquido MODS. As placas foram seladas com plástico permeável transparente e incubadas a temperatura de 37°C em estufa com 10% de tensão de CO₂.

As leituras foram realizadas em microscópio de luz invertida com objetiva de 40X, nos dias: 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 38, 42, 45, 49, 52, 56, e 59. A morfologia característica do *Mycobacterium tuberculosis* foi observada nos poços com meio de cultura MODS e a sua identificação presuntiva foi feita de acordo com a observação do crescimento típico em forma de cordas no meio líquido. O resultado foi considerado positivo quando microscopicamente foi observada a morfologia característica da corda e, negativo, quando a corda não foi observada (Figuras 7 a 12).

Todas as cepas utilizadas no estudo do MODS, para detecção de *M.tb* foram estocadas a -20⁰ C em um banco de cepas no Laboratório de Micobacteriologia do IDT-UFRJ.

Erro!

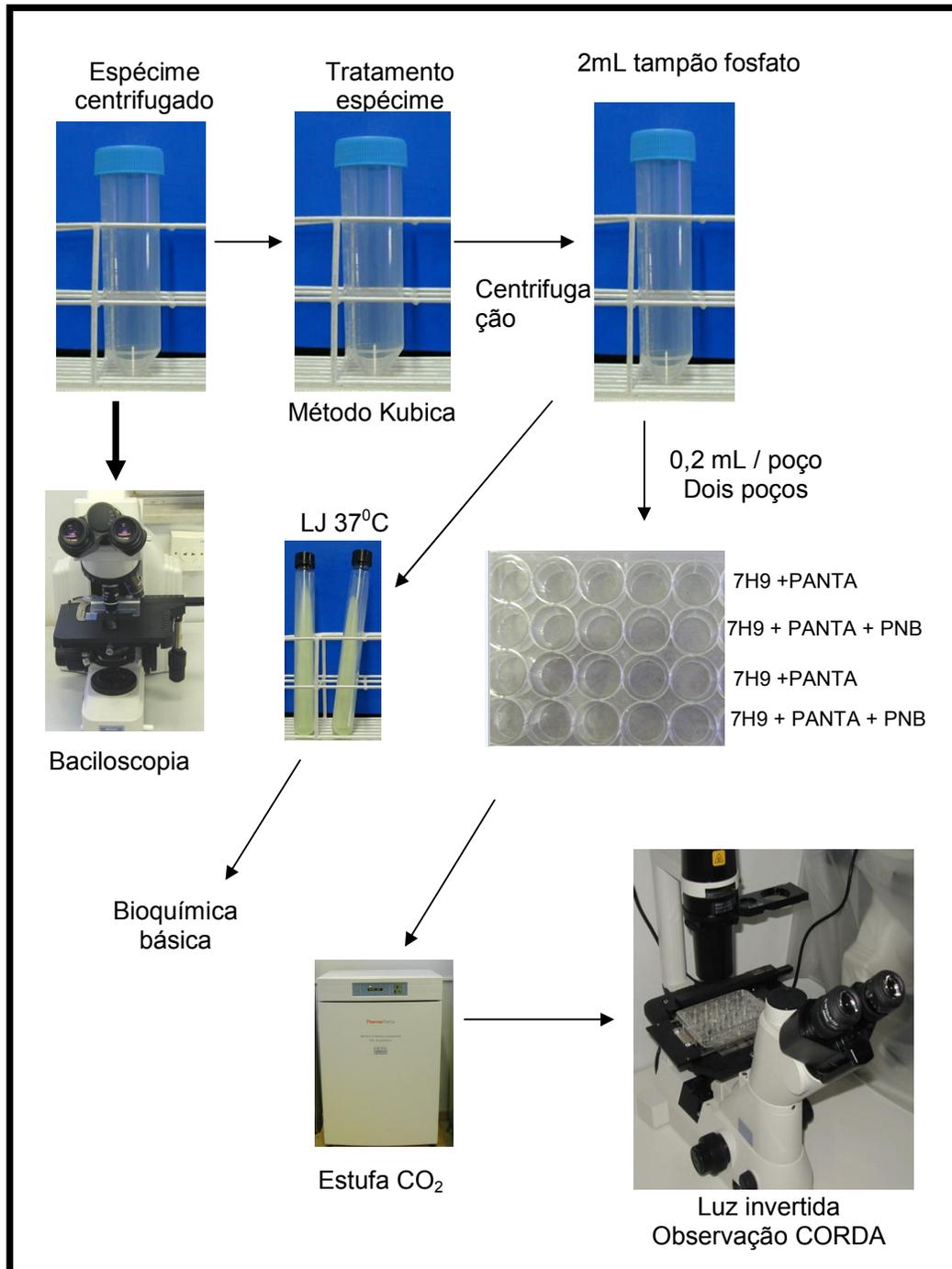


Figura 6: Fluxograma da Metodologia.

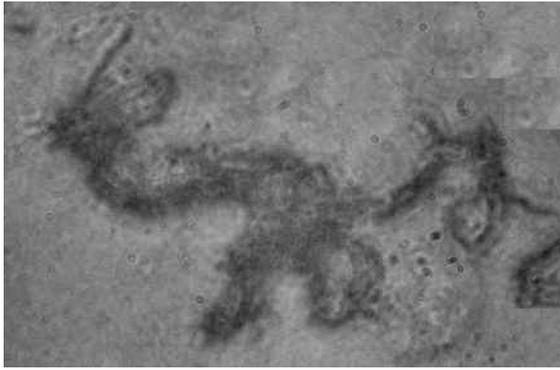


Figura7: Observa-se a formação de corda.

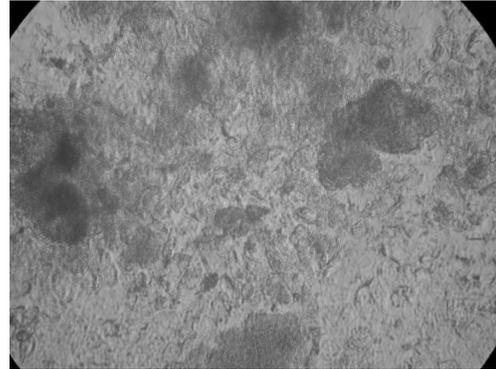


Figura 8: Ausência de formação de corda.

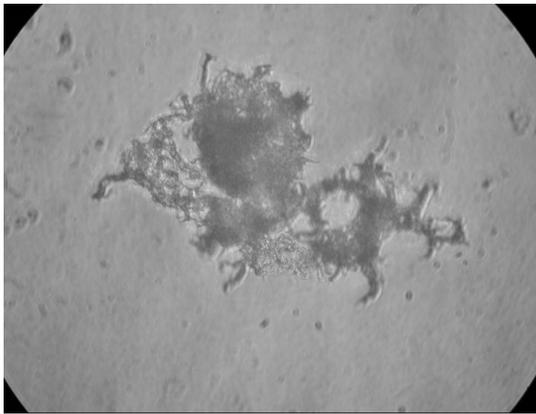


Figura 9: Observação de corda após três dias de incubação.

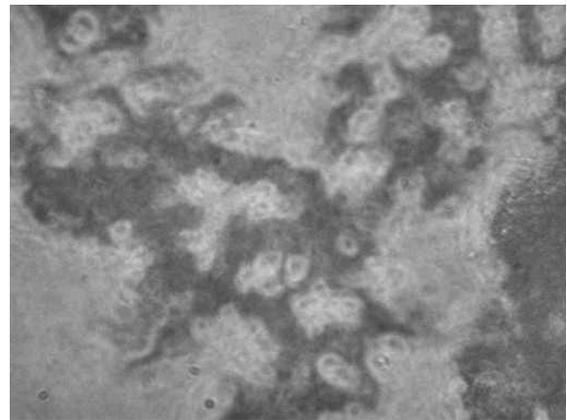


Figura 10: Observação de corda após três dias de incubação.

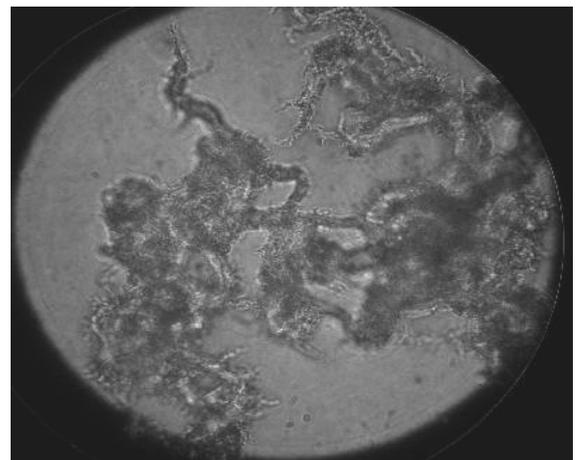
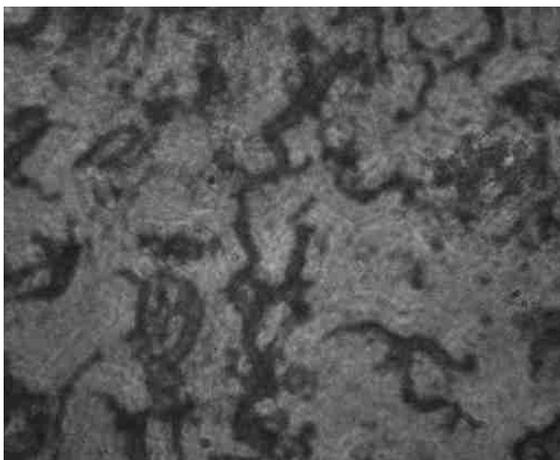


Figura 11: a) Formação de corda com três dias de incubação. b) O mesmo inóculo observado dez dias após com maior agrupamento das cordas.

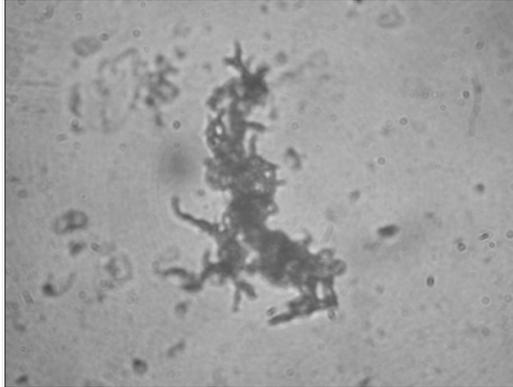


Figura 12: Formação de corda com dez dias de incubação.

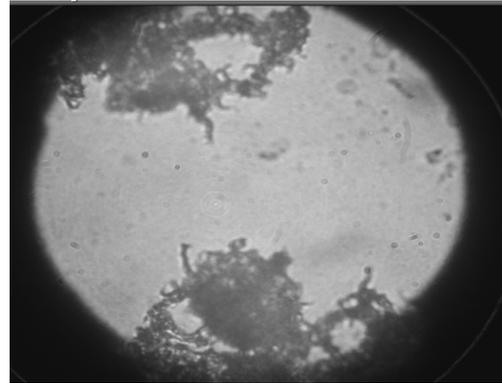


Figura 13: Formação de corda com 17 dias de incubação.

5.16.2.5 MGIT 960 (Becton e Dickinson-BD): O Bactec MGIT 960 é um sistema totalmente automatizado (figura 14) que utiliza um tubo indicador de crescimento de micobactérias (MGIT, Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.) com 7 mL de meio de cultura líquido 7H9 aditivado com OADC e um Kit SIRE (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.) com fármacos liofilizados e que se baseia no método das proporções, versão modificada, para realização do teste de sensibilidade (Manual Bactec MGIT, 1998).

É um método fluorimétrico com auto-calibração, aumentando a qualidade dos resultados. O método no Bactec 960 baseia-se no consumo de O₂ pelos microorganismos metabolicamente ativos. O MGIT contendo meio líquido tem na base do tubo um botão de silicone impregnado com um sensor químico de oxigênio, o cloridrato pentahidratado de fenantrolina de rutênio. Este composto emite luz laranja quando ocorre consumo de oxigênio dissolvido no meio de cultura e esta é detectada quando incide uma luz ultravioleta 365 nm.

A fluorescência é captada pelo fotodetector e transformada pelo sistema do aparelho em unidades de crescimento (G. U) por monitoramento contínuo dos tubos incubados no próprio aparelho, não sendo preciso manuseio e transferência dos tubos da estufa para o aparelho para incubação e realização de leitura.

Os testes são considerados positivos quando alcançam leitura de 400 G. U e são identificados pelo aparelho através de sinal luminoso e sonoro.



Figura 14: Versão automatizada do sistema manual MGIT - Bactec MGIT 960

É um sistema que pode ser utilizado em laboratórios com grande volume de trabalho, pois tem espaço para 960 tubos.

6. RESULTADOS

Entre os 231 pacientes/amostras estudados, 13 apresentaram espécimes contaminados em MODS ou LJ e portanto foram excluídos do estudo. Nove espécimes contaminados em culturas em LJ, três tiveram resultados positivos, três negativos e três também contaminados em MODS, já em MGIT foram três positivos, três negativos, dois contaminados e um não teve cultura realizada neste meio. Em sete espécimes contaminadas com a técnica MODS, dois tiveram resultados positivos, dois negativos e três contaminados em LJ, enquanto em MGIT foram quatro negativos e dois contaminados. Em sete amostras contaminadas em MGIT, os resultados foram negativos em cinco e contaminados em dois em LJ tendo sido os mesmos resultados obtidos em cultura em meio MODS (tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Resultados Obtidos em Baciloscopias e em Culturas MODS, MGIT e LJ Incluindo Amostras Contaminadas

	BACILOSCOPIA (n-%)	MODS (n-%)	MGIT (n-%)	LJ (n-%)
Positivo	45 (19,5)	85 (36,8)	62 (39,7)	77 (33,3)
Negativo	186 (80,5)	139 (60,2)	87 (55,8)	145 (62,8)
Contaminado	-	7 (3,0)	7 (2,3)	9 (3,9)
Total	231 (100,0)	231(100,0)	156 (100,0)	231(100,0)

Ao analisarmos o resultado da cultura e baciloscopia dos 218 espécimes na tabela 2, observamos que 75 (34,4 %) foram positivos em LJ, 82 (37,6%) foram positivos em MODS, 62 (41,6%) em MGIT e 41 (18,8%) baciloscopias tiveram resultados positivos.

Tabela 2: Resultados Obtidos em Baciloscopias e em Culturas MODS, MGIT e LJ Excluídas Amostras Contaminadas

	BACILOSCOPIA		MODS		MGIT		LJ	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Positivo	41	(18,8)	82	(37,6)	62	(41,6)	75	(34,4)
Negativo	177	(81,2)	136	(62,4)	87	(58,4)	143	(65,6)
Total	218	(100,0)	218	(100,0)	149	(100,0)	218	(100,0)

A mediana do tempo necessário para positividade no método MODS foi de 7,0 dias (IQQ: 3 a 14), em LJ 22,0 (IQQ:19 a 27) e em MGIT 9,0 (IQQ: 7 a 13). Na tabela 3 observa-se o tempo necessário para positividade em ambos os métodos.

Tabela 3: Dias Necessários para Positividade em Meios MODS, MGIT e LJ

Meios utilizados	Período de incubação em dias para positividade das culturas												Total
	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35	38	≥42	
MODS	23	19	18	12	7	2	1	-	-	-	-	-	82
MGIT	1	19	16	16	5	-	2	1	1	-	-	1	62
LJ	-	-	-	3	4	28	6	23	1	2	1	7	75

Quanto ao quadro clínico questionado, 218 (100,0%) dos indivíduos referiram tosse, 58 (77,3%) perda ponderal, 48 (64,0%) expectoração, 41 (54,7%) dispnéia, 36 (48,0%) sudorese noturna, 35 (46,7%) com febre. Detalhes do quadro clínico estão descritos na tabela 4.

Na tabela 5, observa-se que a idade variou de 15 a 91 anos (mediana: 43, IIQ 30 a 55), 132 (60,6%) pacientes eram do sexo masculino, 50 (22,9%) negros, 113 (51,8%) brancos e 55 (25,2%) pardos e 162 (74,3%) negaram história prévia de TB. Dentre os 56 pacientes com história prévia de TB, 40 (18,3%) relataram cura, 2 (0,9%) encerramento do

tratamento sem cura comprovada, 2 referiram falência terapêutica, 10 revelaram abandono e 2 (0,9%) não sabiam informar desfecho em relação ao episódio anterior de TB.

Sessenta e quatro pacientes referiram testagem anti-HIV, dos quais 16 (7,3%) se disseram soropositivos. No que diz respeito a apresentação radiológica realizada em 203 pacientes, em 100 (49,3%) casos foram identificados aspectos sugestivos ou compatíveis com TB ativa. Entre as 80 imagens classificadas como tendo aspecto típico de TB ativa: 32 apresentavam cavidade (s), 48 foram descritas como infiltrado no lobo(s) superior e/ou no segmento apical do lobo(s) inferior. Nos 15 casos em que não foi possível a análise radiológica, em relação aos pacientes incluídos no estudo, não houve discordâncias nos resultados de MODS e LJ e tampouco se observou diferença significativa em relação as características sócio-demográficas (dados não mostrados).

Entre os 75 pacientes com cultura em LJ positiva, 51 tinham RXT sugestivo de TB ativa, a maioria (28), com infiltrado no lobo(s) superior e/ou no segmento apical do lobo(s) inferior. Entre os 29 pacientes com RXT considerados normais, 2 obtiveram o diagnóstico final de TB. Entre os pacientes com cultura em LJ negativas 9 tinham cavidade a RXT.

Quanto à distribuição da casuística de acordo com os fatores de risco para tuberculose multirresistente a drogas (TB-MDR): 58 (26,6%) possuíam fatores predisponentes a TB-MDR, sendo 49 (22, 5%) classificados como tendo quadro atual recidivante, 1 (0,5%) como falência, 2 (0,9%) tiveram contato com paciente com TB-MDR no passado e 6 (2,8%) abandonaram tratamento prévio.

Tabela 4: Quadro Clínico Referido por Pacientes Submetidos a Coleta de Escarro Induzido

		LJ POSITIVO n(%)	LJ NEGATIVO n(%)	SUB TOTAL n (%)
tosse	Presente	75 (100,0)	143 (100,0)	218 (100,0)
	Ausente	0 (-)	0 (-)	0
perda ponderal	Presente	58 (77,3)	102 (71,3)	160 (73,4)
	Ausente	17 (23,7)	41 (28,7)	58 (26,6)
expectoração	Presente	48 (64,0)	85 (59,4)	133 (61,0)
	Ausente	27 (36,0)	58 (40,6)	85 (39,0)
dispnéia	Presente	41 (60,3)	91 (63,3)	132 (62,5)
	Ausente	27 (39,7)	52 (36,7)	79 (37,5)
sudorese	Presente	36 (48,0)	73 (51,0)	109 (50,0)
	Ausente	39 (52,0)	70 (49,)	109 (50,0)
febre	Presente	35 (46,6)	68 (47,5)	103 (49,5)
	Ausente	40 (53,4)	75 (52,5)	115 (50,5)
hemoptise	Presente	5 (6,6)	14 (9,8)	19 (9,3)
	Ausente	70 (94,4)	129 (90,2)	199 (8,7)
diarréia	Presente	1 (1,3)	4 (2,8)	5 (2,3)
	Ausente	74 (98,7)	137 (97,2)	211 (97,7)
adenomegalia periférica	Presente	0 (-)	0 (-)	0 (-)
	Ausente	75 (100,0)	142 (100,0)	217 (100,0)

*, 211 casos, ** 216 casos, e *** 217 casos incluídos,

Tabela 5: Características Gerais da Casuística

Característica	Número	% do Total
Pacientes (n=218)		
Idade (anos)		
< 19	05	6,6
20-39	37	49,3
40-59	27	36,0
> 60	06	8,0
Sexo		
Homens	132	60,6
Mulheres	86	39,4
Cor		
Branços	113	22,9
Negros	50	51,8
Pardos	55	25,2
Tipo de Paciente		
Caso Novo	162	74,3
Tratamento anterior	56	25,7
HIV		
Positivo	16	7,3
Negativo	48	22
Não testado	154	70,7
Apresentação Radiológica		
Normal	29	14,3
Típica de TB ativa	80	39,4
Compatível com TB ativa	20	9,9
Seqüela ou sugestiva de outra doença	74	36,4
Apresentações Radiológicas Típicas e Compatíveis		
Cavidade	32	32
Infiltrado no lobo(s) superior e/ou no segmento apical do lobo(s) inferior	48	48
Adenomegalia hilar, mediastinal, padrão miliar e/ou derrame pleural	20	20

RXT analisados: 203

Entre as 75 culturas positivas em LJ, quatro (5,3%) cepas foram consideradas atípicas. Os 143 pacientes com amostras negativas em LJ, tiveram seus nomes pesquisados e não encontrados no SINAN (Serviço de Informação de Agravos e Notificação).

Realizando-se a análise da copositividade MODS e MGIT com a baciloscopia, observou-se uma baixa concordância (Kappa de 0,49 e 0,42) (tabelas 6 e 7). Os pacientes que tiveram baciloskopias positiva e tiveram as cultura negativas em MODS ou em MGIT, eram casos novos, com aspectos radiológicos não sugestivos de TB e tiveram cultura em LJ também negativas.

Tabela 6: Copositividade entre Baciloscopia e Cultura em MODS

MODS			
Baciloscopia	Positivo	Negativo	Total
Positivo	38	3	41
Negativo	44	133	177
Total	82	136	218

Kappa de 0,49; χ^2 :34,0 e $p < 0,01$;

Tabela 7: Copositividade entre Baciloscopia e Cultura em MGIT

MGIT			
Baciloscopia	Positivo	Negativo	Total
Positivo	26	4	30
Negativo	36	83	119
Total	62	87	149

Kappa:0,42; χ^2 1,78 e $p < 0,01$;

Na análise da copositividade entre MODS e MGIT observou-se elevada concordância (tabela 8). Três pacientes tiveram resultados positivos no MODS e negativos em MGIT. Destes, dois tinham critérios para estar no grupo dos pacientes que deveriam ser reavaliados 90 dias após inclusão inicial. Um deles havia sido submetido a tratamento para tuberculose, mas ao final diagnosticou-se toxoplasmose e outro foi considerado perda. Dentre os 6 pacientes que tiveram resultados positivos em MGIT e negativo em MODS, nenhum tinha critério para estar no grupo para seguimento pós 90 dias.

Tabela 8: Copositividade entre as Culturas em MODS e em MGIT

Cultura MODS			
MGIT	Positivo	Negativo	Total
Positivo	56	6	62
Negativo	3	84	87
Total	59	90	149

Kappa: 0,88; χ^2 : 0,4; McNemar: 0,05

Na tabela 9, ao utilizarmos o seguimento realizado 90 dias após inclusão no estudo, a sensibilidade da cultura por LJ foi de 96,0%, a especificidade de 100,0% e a razão de verossimilhança para o teste positivo (RV +) foi indefinida e para o teste negativo (RV -) foi de 0,04.

Tabela 9: Performance da Cultura em LJ em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Crescimento em Meio LJ	S90 +	S90 -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
LJ +	75	0	96,2	100,0	Indefinida	0,04
LJ -	3	140	93,4-98,6	-	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 100,0% e valor preditivo negativo: 97,9% (IC 95%: 96,0-98,8).

Tabela 10: Performance da Baciloscopia em Relação a Cultura em LJ

Resultado de Baciloscopias	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
Baciloscopia +	38	3	50,7	97,9	24,1	0,5
Baciloscopia -	37	140	44,1 - 57,3	95,9 - 99,8	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 92,7% (IC 95%: 89,2- 96,1) e valor preditivo negativo: 79,1% (IC 95%: 73,7- 84,5).

Tabela 11: Performance da Baciloscopia em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Resultado de Baciloscopias	S90 +	S90 -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
Baciloscopia +	38	3	48,7	97,8	22,7	0,524
Baciloscopia -	40	137	42,0 - 55,3	95,8 - 99,7	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 92,6% (IC 95%: 89,1-96,1) e valor preditivo negativo: 77,4% (IC 95%: 71,9 - 82,9).

Na tabela 10 e 11, é avaliada o performance da baciloscopia na fase inicial e seguimento pós 90 dias. Não houve diferença da sensibilidade e especificidade da baciloscopia nos dois momentos. Os três pacientes que tiveram baciloscopias positiva e cultura em LJ negativas, também tiveram as culturas em MGIT e MODS negativas, eram casos novos, com aspectos radiológicos não sugestivos de TB.

Na tabela 12, pode-se observar que ao utilizar a cultura por LJ como padrão ouro para a detecção de *M.tb*, a sensibilidade do MODS foi de 98,6%, a especificidade de 94,4% e a razão de verossimilhança para o teste positivo (RV +) foi 17,6 e para o teste negativo (RV -) foi de 0,014. Assumindo a prevalência de TB ativa no estudo (34,4%), os valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) foram respectivamente de 90,2% e 99,2%.

Na tabela 13, ao utilizarmos o seguimento pós 90 dias (S90) como padrão áureo para o diagnóstico de TB, verificou-se a sensibilidade do MODS foi de 98,7%, a especificidade de 96,4% e a razão de verossimilhança para o teste positivo (RV +) foi 27,6 e para o teste negativo (RV -) foi de 0,013. Assumindo a prevalência de TB ativa no estudo, os valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) foram respectivamente de 93,9% e 99,2%.

Tabela 12: Performance da Cultura em MODS em Relação a Cultura em LJ

Crescimento em Meio MODS	LJ +	LJ -	Sensibilidade	Especificidade	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
			% (IC 95%)	% (IC 95%)		
MODS +	74	8	98,6	94,4	17,6	0,014
MODS -	1	135	97,0-100,0	91,3-97,4	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 90,2% (IC 95%: 86,2-94,1) e valor preditivo negativo: 99,2% (IC 95%: 98,0-100,0).

Na avaliação da concordância entre os métodos de cultivo obteve-se: Kappa: 0,91, χ^2 : 4,0; McNemar: 0,046.

Os oito pacientes que apresentaram resultados de MODS positivos e LJ negativos, foram agrupados e reavaliados 90 dias após. Nem todos os pacientes foram recontactados e entre os que foram, alguns tardaram mais que 90 dias para retorno ao HUCFF e nova entrevista e avaliação. Em 3 casos não foi possível realizar contato. Dois pacientes parecem ter modificado seus endereços e números telefônicos, um faleceu por parada cardio respiratória (que constava em atestado de óbito, segundo informação de parente) e não por TB. Três foram considerados casos de tuberculose (1 tratado por probabilidade com melhora clínica e radiológica significativa, 1 com TB confirmada por escarro espontâneo e 1 com cultura positiva em escarro induzido) e 2 não (1 com DPOC e 1 não obstante ter iniciado e encerrado tratamento de TB por probabilidade, permaneceu com febre e obteve o diagnóstico final de toxoplasmose). De qualquer forma na montagem da tabela de contingência no S90, dos oito pacientes com indicação de participar desta segunda fase do estudo, cinco foram considerados não casos de TB e três casos de TB.

Tabela 13: Performance da Cultura em MODS em Relação a Seguimento pós 90 Dias

Crescimento em meio MODS	S90 +	S90 -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
MODS +	77	5	98,7	96,4	27,6	0,013
MODS -	1	135	97,2-100,0	93,9-98,8	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 93,9% (IC 95%: 90,7-97,7) e valor preditivo negativo: 99,2% (IC 95%: 98,0-100,0).

Na tabela 14 observam-se os resultados obtidos com a cultura em MGIT na fase inicial do estudo. Na primeira fase do estudo, a sensibilidade e especificidade do MGIT foram respectivamente de 96,2%, e 87,6%.

Na tabela 15, no seguimento pós 90 dias obteve-se sensibilidade de 96,4% e especificidade de 90,4%. Dentre os 12 pacientes que apresentaram resultados positivos em MGIT e negativos em LJ, apenas 3 foram incluídos no seguimento de 90 dias após a fase inicial: 1 não foi recontactado (perda), 1 obteve diagnóstico posterior de TB e 1 obteve diagnóstico final de DPOC, o que modificou o resultado acima quando considerou-se como padrão ouro o seguimento pós 90 dias de evolução do paciente. Não houve diferença significativa na sensibilidade e especificidade do MGIT obtida na segunda fase do estudo em relação ao a fase inicial.

Tabela 14: Performance da Cultura em MGIT em Relação a Cultura em LJ

Crescimento em Meio MGIT	LJ +	LJ -	Sensibilidade	Especificidade	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
			%	%		
			(IC 95%)	(IC 95%)		
MGIT +	50	12	96,2	87,6	7,77	0,044
MGIT -	2	85	93,1-99,2	82,4-92,9	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 80,6% (IC 95%: 75,8-86,2) e valor preditivo negativo: 97,7% (IC 95%: 95,3-100,0).

Tabela 15: Performance da Cultura em MGIT em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Crescimento em Meio MGIT	S90 +	S90 -	Sensibilidade	Especificidade	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
			%	%		
			(IC 95%)	(IC 95%)		
MGIT +	53	9	96,4	90,4	10,0	0,040
MGIT -	2	85	93,4-99,4	85,8-95,2	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 85,5% (IC 95%: 80,1-91,3) e valor preditivo negativo: 97,7% (IC 95%: 95,3-100,0).

Na tabela 16 observa-se:

1. Especificidade e RV + da baciloscopia são superiores aos da cultura MGIT nas duas fases e superiores a do MODS apenas na primeira fase do estudo.

2. Ainda que nem sempre com significância estatística, os resultados foram sempre superiores no S 90 em relação a primeira fase do estudo.

Tabela 16: Performance da Baciloscopia e das Cultura em meio MODS, MGIT com LJ como Padrão Ouro e no Seguimento pós 90 Dias

	S (%)	S 90(%)	E %	E 90(%)	RV +	RV+ 90	RV-	RV - 90
Baciloscopia	50,7	48,7	97,9	97,8	24,1	22,7	0,5	0,524
MODS	98,6	98,7	94,4	96,4	17,6	27,6	0,014	0,013
MGIT	96,2	96,4	87,6	90,4	7,7	10,0	0,044	0,040
LJ	-	96,0	-	96,0	-	Infini to	-	0,04

Ao compararmos a sensibilidade e especificidade das técnicas fenotípicas nas duas fases do estudo, houve apenas um discreto aumento na especificidade do MODS e MGIT quando se utilizou o seguimento pos 90 como padrão ouro.

Nas tabela 17 e 18, é descrito o rendimento dos testes MODS e MGIT nas amostras cujas baciloscopias foram negativas, obtendo-se respectivamente sensibilidades de : 97,3% e 96,% e especificidades de: 94,3% e 87,2%.

Na tabela 19 foi analisado o rendimento das imagens radiológicas no diagnóstico de TB. A análise foi realizada alocando-se em um grupo as RXT caracterizadas como típicas e no outro as demais RXT. Na tabela 20, realizou-se o mesmo procedimento, mas o padrão ouro foi o seguimento pos 90 dias. Não se observou diferença no rendimento diagnóstico das imagens radiológicas em relação ao padrão ouro utilizado.

Tabela 17: Em Baciloscopias Negativas: Performance da Cultura em MODS em Relação a Cultura em LJ

Crescimento em Meio MODS	LJ +	LJ -	Sensibilidade	Especificidade	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
			% (IC 95%)	% (IC 95%)		
MODS +	36	8	97,3	94,3	17,0	0,03
MODS -	1	132	94,9-99,7	90,8-97,7	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 81,8% (IC 95%: 76,1-87,5) e valor preditivo negativo: 99,3% (IC 95%: 94,1-100,0).

Tabela 18: Em Baciloscopias Negativas: Performance da Cultura em MGIT em Relação a Cultura em LJ

Crescimento em Meio MGIT	LJ +	LJ -	Sensibilidade	Especificidade	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
			% (IC 95%)	% (IC 95%)		
MGIT +	24	12	96,0	87,2	7,5	0,46
MGIT -	1	82	92,5-99,5	81,2-93,2	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 66,6% (IC 95%: 58,1-73,1) e valor preditivo negativo: 98,9% (IC 95%: 97,0-100,0).

Tabela 19: Copositividade entre Telerradiografias de Tórax e MODS

Cultura MODS			
RXT	Positivo	Negativo	Total
Típica	60	40	100
Não Típica	17	86	103
Total	77	126	203

Kappa: 0,44; χ^2 :8,5; Mcnemar: 0,003

Tabela 20: Copositividade entre Telerradiografias de Tórax e MGIT

Cultura MODS			
RXT	Positivo	Negativo	Total
Típica	38	18	56
Não Típica	20	62	82
Total	77	126	138

Kappa: 0,43; χ^2 :0,03; Mcnemar: 0,8

Nas tabelas 19 e 20 pode-se ver as copositividades entre as RXT em relação as culturas em meio MODS e MGIT, demonstrando-se resultados semelhantes entre os dois métodos.

Tabela 21: Performance de Telerradiografias de Tórax (RXT) em Relação a Culturas em LJ

Tipos de RXT	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade	ficidade	verossimi	verossimi
			%	%	lhança +	lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
Típicas de TB	51	29	72,9	78,2	3,34	0,347
Não Típicas de TB	19	104	(66,7-79,0)	(72,5 - 83,8)	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 63,7% (IC 95%: 57,1 -70,30), valor preditivo negativo: 84,5% (IC 95%: 79,5 -89,5).

Tabela 22: Performance de Telerradiografias de Tórax (RXT) em Relação ao Seguimento pós 90 Dias

Tipos de RXT	S90+	S90-	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade	ficidade	verossimi	verossimi
			%	%	lhança +	lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
Típicas de TB	52	28	71,2	78,5	3,30	0,366
Não Típicas de TB	21	102	65,0-77,4	70,2-86,8	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 65,0% (IC 95%: 58,4-71,5) e valor preditivo negativo: 82,9% (IC 95%: 77,7-88,1).

Tabela 23: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MODS Negativas)

Associação RXT e MODS	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
RXT Típicas de TB e/ou MODS +	70	35	100,0	73,7	3,8	0
RXT Não Típicas de TB e MODS -	0	98	-	59,5-72,5	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 66,0% (IC 95%: 59,5 –72,5); valor preditivo negativo: 100,0%.

Na tabela 23, observa-se o rendimento diagnóstico da presença da imagem radiológica típica e/ou de resultado positivo no teste MODS, utilizando-se a cultura para LJ. A sensibilidade desta abordagem diagnóstica foi de 100,0% e menor especificidade de 73,7%.

Tabela 24 Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MGIT Negativas)

Associação RXT e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
RXT Típicas de TB e/ou MGIT +	48	28	98,0	68,9	3,1	0,03
RXT Não Típicas de TB e MGIT -	1	62	95,2-100,0	61,2-76,6	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 63,2% (IC 95%: 55,2 –71,2); valor preditivo negativo: 98,2% (IC 95%: 96,0-100,0).

Na tabela 24, observa-se o rendimento diagnóstico da presença da imagem radiológica típica e/ou de resultado positivo no teste MGIT, utilizando-se a cultura para LJ. A sensibilidade desta abordagem diagnóstica foi elevada (98,0%) e menor especificidade (68,9%).

Tabela 25: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Negativa)

Associação RXT e MODS	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positivas	51	3	72,8	97,7	32,3	0,272
RXT Não Típicas de TB e /ou Cultura em MODS Negativas	19	130	66,6-78,9	95,6-99,7	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 94,4% (IC 95%: 91,2 –97,6); valor preditivo negativo: 87,2% (IC95%: 82,6-91,8).

Na tabela 25, é descrito o rendimento diagnóstico da presença da imagem radiológica típica e de resultado positivo no teste MODS, utilizando-se a cultura para LJ. A sensibilidade desta abordagem diagnóstica foi baixa (72,8%) e elevada especificidade (97,7%).

Tabela 26: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ (RXT Típicas de TB e Cultura em MGIT Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Negativa)

Associação RXT e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
RXT Típicas de TB e Cultura em MGIT Positiva	34	4	69,4	95,5	15,6	0,32
RXT Não Típicas de TB e /ou Cultura em MGIT Negativa	15	86	61,7-77,1	92,1-98,9	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 89,5% (IC 95%: 84,4 –94,6); valor preditivo negativo: 85,1% (IC 95%: 79,2-91,0)

Na tabela 26, é descrito o rendimento diagnóstico da presença da imagem radiológica típica e de resultado positivo no teste MGIT, utilizando-se a cultura para LJ e seguimento pós 90 dias como padrão ouro. A sensibilidade desta abordagem diagnóstica foi baixa (69,4%) e elevada especificidade (95,5%).

Tabela 27: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ
(Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MODS Positivas - Baciloscopias e Culturas em MODS Negativas)

Associação Baciloscopias e MODS	LJ +	LJ -	Sensibi lidade % (IC 95%)	Especi ficidade % (IC 95%)	Razão de verossimi lhança +	Razão de verossimi lhança -
Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MODS Positivas	74	11	98,7	92,3	12,8	0,014
Baciloscopias e Culturas em MODS Negativas	1	132	97,2-100,0	88,8-95,8	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 87,1% (IC 95%: 82,7 –91,5); valor preditivo negativo: 99,2% (IC95%: 98,0-100,0)

Na tabela 27, pode-se observar o rendimento da baciloscopia e/ou a presença de teste MODS positivo. Detectou-se elevadas sensibilidade (98,7%) e especificidade (92,3%).

Tabela 28: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ

(Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MGIT Positivas - Baciloscopias e Culturas em MGIT Negativas)

Associação Baciloscopias e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade	ficidade	verossimi	verossimi
			%	%	lhança +	lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
Baciloscopias Positivas e/ou Cultura em MGIT Positivas	31	7	59,6	92,8	8,3	0,435
Baciloscopias e Culturas em MGIT Negativas	21	90	51,7-67,5	88,6-96,9	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 81,6% (IC 95%: 75,4-87,8, valor preditivo negativo: 81,1% (IC 95%: 74,8-7,4)

Na tabela 28, é apresentado o rendimento da baciloscopia e/ou a presença de teste MGIT positivo. Obteve-se neste caso, sensibilidade baixa de 59,6% e especificidade de 92,8%.

Tabela 29: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ

(Baciloscopias Positivas e Cultura em MODS Positivas - Baciloscopias e/ou Culturas em MODS Negativas)

Associação Baciloscopias e MODS	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade %	ficidade %	verossimi	verossimi
			(IC 95%)	(IC 95%)	lhança +	lhança -
Baciloscopias Positivas e Culturas em MODS Positivas	38	0	50,7	100,0	Infinito	0,493
Baciloscopias e/ou Culturas em MODS Negativas	37	143	44,0-57,3	-	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 100,0%, valor preditivo negativo : 79,4% (IC 95%: 74,0-84,7)

Na tabela 29, é apresentado o rendimento da baciloscopia e a presença de teste MODS positivos. Obteve-se neste caso, sensibilidade baixa de 50,7% e a especificidade de 100,0%.

Tabela 30: Performance das Associações de Baciloscopias e Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ

(Baciloscopias Positivas e Cultura em MGIT Positivas - Baciloscopias e/ou Culturas em MGIT Negativas)

Associação Baciloscopias e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade	ficidade	verossimi	verossimi
			%	%	lhança +	lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
Baciloscopias Positivas e Cultura em MGIT Positivas	46	9	88,5	90,7	9,5	0,127
Baciloscopias e/ou Culturas em MGIT Negativas	6	88	83,3-93,6	86,0-93,6	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 83,6% (IC 95%: 77,7-89,5), valor preditivo negativo: 93,6% (IC 95%: 89,5-97,5).

Na tabela 30, Nos casos de baciloscopia positiva e teste MGIT positivo, a sensibilidade de 88,5% e especificidade de 90,7%.

Tabela 31: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ
(RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MODS Negativas)

Associação RXT e MODS	LJ +	LJ -	Sensibi- lidade % (IC 95%)	Especi- ficidade % (IC 95%)	Razão de verossimi- lhança +	Razão de verossimi- lhança -
RXT Típicas de TB e/ou MODS +	34	33	100,0	75,0	4,0	0
RXT Não Típicas de TB e MODS -	0	99	-	68,4-81,6	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 50,7 % (IC 95%: 43,1-58,3); valor preditivo negativo: 100,0%.

Na tabela 31, é descrito o rendimento diagnóstico das imagens radiológicas típicas e/ou presença de teste MODS positivo em pacientes cuja baciloscopia foi negativa. Assumindo a prevalência de TB nesta casuística de 20,9%, a sensibilidade foi de 100,0% e o valor preditivo negativo também.

Tabela 32: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ
(RXT Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Positivas - RXT Não Típicas de TB e Cultura em MGIT Negativas)

Associação RXT e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade %	ficidade %	verossimi lhança +	verossimi lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
RXT Típicas de TB e/ou MGIT +	22	28	100,0	67,8	3,1	0
RXT Não Típicas de TB e MGIT -	0	59	-	59,0-76,6	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 44,0 % (IC 95%: 34,7-53,3, valor preditivo negativo: 100,0%.

Na tabela 32 é descrito, o rendimento diagnóstico das imagens radiológicas típicas e/ou presença de teste MGIT positivo em pacientes cuja baciloscopia foi negativa. Assumindo a prevalência de TB nesta casuística de 20,7%, a sensibilidade e o valor preditivo negativo foi de 100,0%.

Tabela 33: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MODS em Relação a Culturas em LJ
(RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MODS Negativa)

Associação RXT e MODS	LJ +	LJ -	Sensibi	Especi	Razão de	Razão de
			lidade %	ficidade %	verossimi lhança +	verossimi lhança -
			(IC 95%)	(IC 95%)		
RXT Típicas de TB e Cultura em MODS Positivas	23	3	67,6	97,7	29,7	0,331
RXT Não Típicas de TB e /ou Cultura em MODS Negativas	11	129	60,5-74,7	95,4-100,0	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 88,5% (IC 95%: 83,6–93,4); valor preditivo negativo: 92,1% (IC 95%: 88,0–96,2).

Na tabela 33, é descrito, o rendimento diagnóstico das imagens radiológicas típicas e presença de teste MODS positivo em pacientes cuja baciloscopia foi negativa. Assumindo a prevalência de TB nesta casuística de 20,9%, a especificidade foi de 97,7% e os valor preditivo positivo de 88,5%.

Tabela 34: Em Baciloscopias Negativas: Performance das Associações de Telerradiografias de Tórax (RXT) e Resultados Obtidos nas Culturas em MGIT em Relação a Culturas em LJ
(RXT Típicas de TB e Cultura em MGIT Positiva - RXT Não Típicas de TB e/ou Cultura em MGIT Negativa)

Associação RXT e MGIT	LJ +	LJ -	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Razão de verossimilhança +	Razão de verossimilhança -
RXT Típicas de TB e Culturas em MGIT Positivas	16	4	72,7	95,4	15,8	0,286
RXT Não Típicas de TB e/ou Culturas em MGIT Negativas	6	83	64,3-81,1	91,5-99,3	-	-

Assumindo-se a prevalência da amostra obteve-se: valor preditivo positivo: 80,0% (IC 95%: 72,5-87,5), valor preditivo negativo: 93,3% (IC 95%: 88,6-98,0).

Na tabela 34, é descrito o rendimento diagnóstico das imagens radiológicas típicas e presença de teste MGIT positivo em pacientes cuja baciloscopia foi negativa. Assumindo a prevalência de TB nesta casuística de 20,7%, a especificidade foi de 95,4% com sensibilidade de 72,7%.

7. DISCUSSÃO

Em países em desenvolvimento, onde a carência econômica é comum na população e também é freqüente a desestruturação dos sistemas de saúde como um todo, torna-se fundamental a contínua investigação de recursos diagnósticos que possam auxiliar na identificação de doenças que atinjam a esta população e que se caracterizem por praticidade e menor custo.

Nas últimas duas décadas, foram desenvolvidos inúmeros recursos auxiliares ao diagnóstico de TB, contudo, apesar de não raramente terem a sua importância reconhecida não só na identificação da doença, mas também na realização precoce desta detecção, estes são comumente dispendiosos e não aplicáveis a populações menos favorecidas economicamente.

Neste estudo pesquisou-se se de alguma forma a cultura em meio MODS, poderia preencher alguma lacuna existente dentre os métodos diagnósticos disponíveis.

Dentre os 1281 espécimes de escarros induzidos recebidos no laboratório, justificase o fato de apenas 507 serem elegíveis, pelas coletas terem sido realizadas inicialmente 3 dias por semana (segundas, terças e sextas nos turnos da manhã e da tarde) e na segunda metade do período de coleta de espécimes, realizadas 1 a 2 vezes por semana apenas, em razão desta análise resultar de um sub-projeto dentro de um estudo multicêntrico sobre a performance do MODS realizado no Brasil e Honduras, e a enfermeira entrevistadora ter sido deslocada nesta segunda metade em outra instituição de saúde, a fim de realizar o mesmo trabalho naquele local, com pacientes que forneciam escarros espontâneos e não

induzidos. Assim, contabilizando-se todos os dias em que a referida enfermeira esteve no HUCFF realizando o seu trabalho e portanto, habilitada a entrevistar a casuística deste local, considerou-se como elegíveis o total de 507 pacientes e espécimes, dentre estes 231 indivíduos foram entrevistados e 218 amostras estudadas.

Dentre os excluídos, apenas pôde-se contabilizar e comparar aos incluídos aqueles que apresentaram resultados contaminados em pelo menos uma das culturas MODS ou LJ. Os que se recusaram a participar não prestavam informações suficientes (como a idade, por exemplo) que nos permitisse ao final compará-los como grupo, aos incluídos. Poder-se-ia supor que ao menos contá-los gradativamente para somá-los como perda ao final, fosse viável. No entanto, não foi raro o caso em que, por exemplo, durante a realização de uma entrevista mais demorada, perdeu-se oportunidade de realizar outras (que foram não passíveis de controle e contagem com critérios científicos adequados). Podemos assumir que ao final, nossa amostra de pacientes incluídos caracterizou-se como sendo de conveniência, devido a questões operacionais e tornou-se reduzida a possibilidade de generalizar os resultados obtidos.

Quanto ao quadro clínico descrito na tabela 4, excetuando-se a tosse (que era critério de inclusão) os sinais e sintomas mais comuns em pacientes com cultura positiva em LJ foram a perda ponderal e a presença a expectoração referidos respectivamente em 77,3% e 64,0% dos pacientes. Nestes pacientes, assumindo a prevalência de 34,4% observada nesta casuística, os valores preditivos negativos da perda ponderal e presença de expectoração foram respectivamente de 70,7% e de 68,2%, sinalizando a menor relevância do uso de tais informações na investigação diagnóstica de pacientes com TB paucibacilar, conforme mencionado por outros autores (American Thoracic Society, 2000).

A intenção inicial era estudar a cultura em meio MODS e compará-la com a cultura em LJ e o S90. Por atraso na chegada dos insumos necessários a sua realização, apenas parte da mesma casuística entrevistada, teve também suas amostras cultivadas em MGIT. Optou-se por realizar comparações também com este meio de cultura por haver respeito aos padrões pré determinados no projeto do estudo específico do MODS e por não existir diferenças de características entre o grupo que teve amostra cultivada em MGIT e o que não teve, interpretou-se como factível analisar os três meios de cultura, ressaltando-se contudo o foco neste estudo da cultura MODS em relação ao LJ e o S90.

Culturas contaminadas ocorreram em 9 (3,9%) em LJ, 7 (3,0%) em MODS e 7 (2,3%) em MGIT. Não houve diferença significativa do ponto de vista estatístico, quanto aos níveis de contaminação comparando-se os meios de cultura e os três meios aos pares. Os resultados de contaminação obtidos em nossa casuística foram similares aos relatados por outros autores, pois nestes estudos a proporção de contaminação no meio LJ variou de 1,0% a 14,2%, no teste MODS de 4,0% a 8,0%, e no teste MGIT de 1,0% a 15,1% ** (Caviedes e cols., 2000; Chien e cols., 2000; Lee JJ, 2003; Apears e cols., em 2003; Moore e cols.,2006).

Retirando-se então as amostras contaminadas contou-se com 218 amostras para análise cultivadas em MODS e LJ e 149 em MGIT.

A mediana de tempo para positividade em meio em LJ foi de $22,0 \pm 9$ dias, MODS de $7,0 \pm 5$ dias e em MGIT de $9,0 \pm 6$ dias. Estes resultados em amostras de escarro induzido paucibacilares são similares aos descritos na literatura em estudos que avaliaram

pacientes com expectoração espontânea, onde a mediana de tempo para positividade para LJ variou de 20,0 a 30,7 dias, para MODS de 9,0 a 9,9 dias e para MGIT de 10,7 a 11,0 dias (Caviedes e cols., 2000; Moore e cols., 2003; Park e cols., 2004, Chien e cols., 2000, Lee cols, 2003).

Em nossa casuística, a positividade do teste MODS foi mais precoce que com meio de LJ, visto que os intervalos interquartílicos (IQQ) não se sobrepuseram, respectivamente de 3 a 14 dias e 19 a 27 dias. Por outro lado, não houve diferença no tempo de positividade do teste MODS e meio MGIT, pois o IQQ deste foi de 7 a 13 dias. Contudo, é interessante observar que o IQQ do MGIT inicia-se no sétimo dia, isto é, 25% dos pacientes tiveram o resultado positivo antes do 7º dia do início do cultivo, o que aconteceu no 3º dia de cultivo por meio do teste MODS. Moore e cols, 2003. relataram que no 12º dia, dentre as amostras positivas, 98,0% delas já tinham resultado em MODS enquanto em LJ apenas 18,0%. No atual estudo, no 12º dia, não havia ocorrido nenhum resultado positivo em LJ, mas tal resultado já havia ocorrido com teste MODS em mais de 70% e com MGIT em 58,0% das amostras. Por outro lado, até o 17 dia, 96,3% das culturas foram positivas em MODS, 91,9% em MGIT enquanto que apenas 9,3% em LJ.

No que diz respeito aos meios líquidos como o empregado no MODS, é reconhecido de longa data o fato de que esses possuem maior sensibilidade que os meios sólidos para isolamento bacteriano, devido a melhor dispersão da bactéria nesse meio. Além disso, os estudos que compararam a utilização de meios líquidos com meios sólidos tem confirmado que o tempo de crescimento de *M.tb* em meio líquido é menor (BADAK et al., 1996; SHARP et al., 2000).

A positividade da baciloscopia (tabela 2) em amostras de escarro induzido de 54,6% (41/75) foi similar ao descrito em outras séries, onde ela variou de 34% a 64% (Al Zahrani e cols, 2000, Conde e cols, 2000). Assumindo o seguimento pos 90 dias como padrão ouro, o rendimento da cultura pelo LJ de 96,2% foi superior ao relatado por outros autores (67% a 77%) Al Zahrani e cols, 2000, Conde et al, 2000 e Anderson e cols, 1995). Estes resultados podem decorrer de diferentes definições de padrão ouro para o diagnóstico definitivo de TB.

No que diz respeito a classificação das micobactérias isoladas, utilizando-se o método bioquímico tradicional, dentre as 75 culturas positivas em LJ, quatro (5,3%) cepas foram consideradas atípicas, com testes de redução de nitrato e produção de niacina negativos.

Como esperado, a concordância entre os resultados da baciloscopia e MODS ou MGIT (tabelas 6 e 7) foi baixa (respectivamente Kappa 0,42 e 0,49), confirmando a menor sensibilidade da baciloscopia. Os 3 pacientes com resultados falso positivo à baciloscopia, não tinham critérios para participação do S90. Apesar da ausência de seguimento clínico adequado, provavelmente estes resultados ocorreram por contaminação laboratorial pois as características clínicas e radiológicas não eram compatíveis com TB ativa. Dados similares, associando os resultados falso positivo da baciloscopia ao abandono do tratamento e contaminação laboratorial, foram relatados em outro estudo ao se analisar a performance do teste MGIT (Lee e cols. 2003). Os resultados discordantes entre baciloscopia e teste MODS ocorreram em menor frequência nas amostras com maior riqueza de bacilos, similar ao descrito por Marsico, em 2004.

Os níveis de concordância (Kappa) entre o rendimento diagnóstico dos testes MODS e MGIT nas duas fases do estudo foram elevados (tabelas 6 e 7), especialmente na segunda fase. Nestas duas fases do estudo, que utilizaram diferentes padrões ouro, ** observaram-se elevadas sensibilidades do teste MODS e MGIT, respectivamente, 98,6% e 96,2% na primeira fase do estudo e de 98,7%, 96,4% na segunda fase. Estes resultados foram superiores aos relatados por Caviedes e cols. (2000), que utilizaram o MGIT como padrão ouro e obtiveram uma sensibilidade do teste MODS de 92%. Por outro lado, a sensibilidade observada em nosso estudo foi similar àquela relatada (97,8%) recentemente por Moore e cols (2006) que utilizaram como padrão ouro a positividade em cultura em LJ ou em método automatizado (Bactec).

A cultura positiva em LJ foi considerada padrão ouro na primeira fase do estudo, mas na segunda fase não mais. Ao avaliarmos a performance da cultura em LJ no S 90 para o diagnóstico de TB pulmonar (tabela 9), a especificidade e VPP alcançaram valores de 100% e sensibilidade e VPN de 96,0% e 97,9, respectivamente. Estes resultados foram similares ao descrito por Moore e cols em 2006, onde comparou-se o rendimento do teste MODS e cultura em LJ, obtendo-se em cultura em LJ, sensibilidade de 84,0%, especificidade de 100%, VPP de 99,7% e VPN de 98,1%.

Interessante enfatizar que em nossa casuística, nas duas fases do estudo, não houve modificação na sensibilidade e especificidade da baciloscopia, entretanto, foi elevada a sua especificidade, superior a 97,8% (tabelas 10 e 11).

O método de cultura MODS apresentou elevada especificidade (94,4% a 96,4%) próxima àquela considerada pela OMS como mínima para a análise de novos métodos

diagnósticos, isto é 95%, tendo melhores resultados no período S90 (tabelas 12 e 13). Estes resultados foram similares ao descrito por Moore e cols (2006) ao relatarem uma especificidade de 99,6% para o teste MODS e de 100% para LJ.

Ao avaliarmos a performance do MGIT nas duas fases do estudo (tabelas 14 e 15), a sensibilidade manteve-se elevada (96,2% a 96,4%), contudo, a especificidade foi inferior a 95%, mesmo na segunda fase do estudo (90,4%). A limitação desta análise reside no fato de que o critério para participar da segunda fase (S 90) era, obtenção de resultado positivo em MODS e negativo em LJ. O ideal para esta análise seria que todos os 12 pacientes com resultados positivos em MGIT e negativos em LJ fossem avaliados na segunda fase. O que ocorreu na prática foi que respeitando-se o critério oficial do estudo apenas 6 deste 12 foram recontactados, ainda assim (com estas limitações), avaliando-se o S 90 o MGIT detectou-se resultados melhores nesta fase em relação a fase inicial do estudo. A sensibilidade do MGIT relatada por outros autores foi inferior (76,1% a 81,5%) ao observado em nossa casuística (Pfyffer, 1997; Hanna e cols, 1999; Tortoli e cols, 1999; Curciani e cols. 2004). A especificidade da cultura MGIT em nosso estudo foi de 87,6% inferior a observada no estudo de Cruciani em 2004 (99,6%) e de Casal M. e cols em 1997 (100%).

Em relação a apresentação radiológica, a proporção de exame radiológico do tórax normal e cultura positiva em LJ (2,6%) foi similar ao relatado em outras séries (0,5% a 5%) (Marciniuk e col. 1999; Hadlock, 1980; Miller, 1978; Wilcke e cols, 1998).

Como esperado, houve uma proporção elevada (68%) de imagens sugestivas de TB e resultado de cultura em LJ positiva, similar ao relatado por outros autores (Aktogu e cols., 1996; Castelo Filho e cols, 2004). Além disso, em pacientes submetidos ao exame de escarro induzido, a proporção de imagem cavitária (45%) nos pacientes cuja amostra clínica foi positiva na cultura em LJ foi semelhante aos resultados descritos nas series que avaliaram pacientes com TB pulmonar paucibacilar e inferior ao relatado em outras séries que incluíram amostras respiratórias expectoradas ou induzidas (Macedo e col, 1992; Costa e cols., 1999; Castello Filho e cols. 2004).

A análise das radiografias do tórax estimula a estratégia de utilização de imagens típicas como diagnóstico de TB para abordagem diagnóstica de triagem, pela elevada sensibilidade. Por outro lado, utilizar as RXT como recurso diagnóstico mostrou uma baixa especificidade, conforme relatado por outros autores (Toman K, 1979; Van Cleeff, 2003).

Quando associou-se RXT típicas de TB e/ou cultura em MGIT positiva na tabela 24, observou-se sensibilidade e VPN iguais ou pouco superiores a 98%. Resultados muito superiores aos vistos com RXT isoladamente e pouco superiores aos da cultura em MGIT (sensibilidade: 96,2% e VPN: 97,7%) isoladamente. Associando-se RXT típicas às culturas em MGIT positivas (tabela 26), os melhores resultados encontrados foram a especificidade de 95,5%, VPP de 89,5%, resultados superiores aos vistos com RXT e MGIT (especificidade: 87,6% e VPP: 80,6%) quando analisados separadamente. Inferiores, por outro lado, foram os resultados desta associação quando comparados à associação RXT e cultura em MODS (tabelas 23 e 25), que alcançou 100% em sensibilidade e VPN (RXT não típicas e cultura em MODS negativa – tabela 23), resultados acima dos vistos com MODS isoladamente. A superioridade da associação RXT típicas e cultura em MODS

positivas (tabela 25), também foi evidente com especificidade: 97,7% e VPP: 94,4% contra especificidade: 95,5% e VPP: 89,5% em culturas em MGIT positivas associadas ao RXT típico. Resultados também foram superiores quando comparados aos detectados em MODS isoladamente, especificidade: 94,4% e VPP: 90,2% na primeira fase e especificidade: 96,4% e VPP: 93,9% no S 90.

Comparando as tabelas 27 e 29 (a associação MODS e baciloscopia) às tabelas 28 e 30 (a associação MGIT e baciloscopia), a primeira associação demonstrou resultados superiores em todos os quesitos em relação a segunda, alcançando 100% de especificidade e VPP (cultura em MODS positiva e baciloscopia positiva).

Nas tabelas 31 e 33, realizou-se a associação RXT e cultura em MODS, mas desta vez apenas em baciloskopias negativas. os melhores resultados foram alcançados na associação de RXT não típicas e cultura MODS negativa, obtendo-se sensibilidade e VPN de 100%. A associação demonstrou-se então superior a análise de MODS ou RXT isoladamente. A associação RXT não típica e cultura em MGIT (tabela 32) também teve sensibilidade e VPN de 100%. Resultado também superior a análise de MGIT e RXT separadamente. A associação de RXT típicas e culturas em MODS positivas (tabela 33), quando comparadas com a RXT típicas e culturas em MGIT positivas (tabela 34) mostraram-se semelhantes com sensibilidades de 67,6% e 72,7% e especificidades de 97,7% e 95,4% respectivamente.

Nas tabelas 32 e 34, realizou-se a associação RXT e cultura em MGIT, ainda em baciloscopias negativas. Demonstrou-se sensibilidade e VPP de 100%, resultado semelhante ao visto na tabela 33 (com MODS) alcançando-se novamente sensibilidade e VPN de 100% no S 90 quando se associou com RXT não típicas e cultura MGIT negativa. A associação demonstrou-se então superior a análise de MGIT ou RXT isoladamente.

Interessante enfatizar que em nossa casuística, não houve modificação na sensibilidade e especificidade da baciloscopia nas duas fases do estudo, entretanto, foi sempre elevada a sua especificidade, superior a 97,8%. Por outro lado, nas amostras com resultado negativo à baciloscopia com prevalência de 20,9%, a sensibilidade do teste MODS e imagens radiológicas típicas para o diagnóstico de TB variou de 97,1% a 100,0% e os valores preditivos negativos foram superiores a 98,8%. Nestas situações, tais testes diagnósticos passam a ser úteis para afastar a presença da TB e otimizar os recursos humanos e financeiros na abordagem diagnóstica.

Detectou-se no entanto algumas limitações no método em estudo.

Apesar de não ter sido avaliado como teste de sensibilidade em nosso estudo, sabe-se que quando utilizado com este intuito, os resultados obtidos com o método MODS não são tão bons quanto os observados quando se utiliza tal método para detecção do *M. tuberculosis*

O método é laborioso, quando comparado com os métodos automatizados, o que determina maior manipulação da placa utilizada no método e maior risco aos profissionais do laboratório. Há também, em razão das placas conterem material de mais de um paciente, necessidade de significativo treinamento de pessoal de laboratório e melhor seria se

houvesse alguma forma de aperfeiçoamento de tais placas, sem onerar no entanto o método.

Finalmente, pode-se especular que se a prevalência de bacilos atípicos for mais elevada em outros locais, talvez não se obtenha resultados tão significativos quanto os vistos neste estudo.

Para vários métodos diagnósticos há necessidade de equipamentos sofisticados e, automatizados (MGIT, por exemplo), enquanto MODS requer apenas um microscópio de luz invertida, porém este método é mais laborioso que os automatizados, porém menos caro, US\$ 2,00 em comparação com US\$6,00 com a cultura em meio automatizado -MBBact- (Moore e cols. 2006). Análise preliminar em nosso estudo mostra que o custo da cultura pelo teste MODS foi R\$5,00, cinco vezes mais barato que a cultura em MGIT. A estimativa de custos por método diagnóstico feito por Caviedes em 2000, para cada amostra foi US\$ 0,77 para o MODS, US\$ 7,00 para o sistema MGIT, US\$ 0,14 para o cultivo em meio de Lowenstein-Jensen. Apers e cols. também estimaram em US\$7,00 a cultura em MGIT. Apesar do presente estudo não ter sido desenhado para análise de custo-efetividade estas técnicas são mais caras que a microscopia. Uma análise adequada de custo-efetividade no entanto torna-se necessária para se avaliar se, economicamente, a redução de diagnósticos e tratamentos equivocados fariam a utilização destes métodos, se justificarem (Apear e cols. 2003).

8. CONCLUSÕES

- Sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhanças da cultura em meio MODS são similares aos de Löwenstein-Jensen, para a detecção de *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de escarro induzido.

- Sensibilidade da cultura em meio MGIT é similar ao de Löwenstein-Jensen e MODS, para a detecção de *Mycobacterium Tuberculosis*, porém, especificidade e as razões de verossimilhanças são inferiores aos de Löwenstein-Jensen e MODS.

- A cultura em meio MODS apresentou tempo de crescimento de *Mycobacterium Tuberculosis* inferior ao da cultura em Löwenstein-Jensen e similar ao da cultura em MGIT .

- A cultura em meio MODS apresentou índice de contaminação similar aos das culturas em Löwenstein-Jensen e em MGIT.

9. PERSPECTIVAS

O MODS parece o início da realização de um sonho meu e de muitos. A cultura em meio MODS traz na minha opinião uma perspectiva de solução menos dispendiosa para sanar um problema antigo de médicos e pacientes. A questão que parece eterna e que diariamente aflige milhões de médicos. Quantos de nós já não se surpreendeu (se é que ainda é surpresa) com a situação de ter um paciente com quadro típico, compatível ou sugestivo de TB sob nossa responsabilidade e por este apresentar suas baciloscopias continuamente negativas, termos que eleger o futuro deste paciente (dividindo ou não a responsabilidade com ele) determinando início de tratamento empiricamente ou não.

Quem não se arrependeu de ter iniciado um tratamento? Quem não se arrependeu de não tê-lo iniciado antes? A cultura em LJ é demorada e as demais caras. Há a broncoscopia alguns dirão. Respeito mais a opinião de quem já se submeteu a este exame. Além disso se a baciloscopia no BAL for negativa, caímos na armadilha da cultura em LJ de novo.

A realização do exame de EI é mais acessível atualmente e em associação ao MODS pode contribuir para o diagnóstico mais rápido da TB, especialmente nos casos de TB paucibacilar.

O exame também pode ser talvez, utilizado como recurso para triagem e a associação do mesmo com RXT, baciloscopias e outros recursos pode fazê-lo ainda mais importante não só para triagem mas também para o diagnóstico de TB em geral.

Apesar das limitações, ter a perspectiva de um diagnóstico rápido (em 3 dias não raramente), sem muitos gastos, ter um recurso diagnóstico deste porte a mão, seria sem dúvida de extrema importância, especialmente para os menos favorecidos, mas não nos esqueçamos: a maioria no mundo.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afiune J, Ide Neto J. Diagnóstico da tuberculose pulmonar escarro negativo. *Jornal de Pneumologia* 1994; 19: 37-41.

Aktogu S, Yorgancioglu A, Çirak K, Kose T, Dereli SM - Clinical spectrum of pulmonary and pleural tuberculosis: a report of 5480 cases. *Europ. resp. J.* 1996; 9: 2031-2035.

Al Zahrani K, Al Jahdali H, René P, *et al.* Yield of smear, culture and amplification tests from repeated sputum induction for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:855–60

American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2000; 161: 1376-1395.

Anderson C, Inhaber N, Menzies D. Comparison of sputum induction with fiber-optic bronchoscopy in the diagnosis of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;52:1570–4.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)