



Acurácia do teste rápido molecular para tuberculose em amostras de escarro, lavado broncoalveolar e aspirado traqueal obtidos de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar em um hospital de referência terciária

Tatiane Maria da Silva^{1,a}, Valéria Martins Soares^{2,b}, Mariana Gontijo Ramos^{1,c}, Adriana dos Santos^{1,d}

1. Faculdade de Biomedicina, Universidade da Fundação Mineira de Educação e Cultura – FUMEC – Belo Horizonte (MG) Brasil.
 2. Setor de Microbiologia, Laboratório do Hospital Júlia Kubitschek, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais – FHEMIG – Belo Horizonte (MG) Brasil.
- a. <http://orcid.org/0000-0002-5108-6006>
b. <http://orcid.org/0000-0002-7976-0592>
c. <http://orcid.org/0000-0002-9232-7857>
d. <http://orcid.org/0000-0001-8109-6777>

Recebido: 11 dezembro 2017.

Aprovado: 12 agosto 2018.

Trabalho realizado no Setor de Microbiologia, Laboratório do Hospital Júlia Kubitschek, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais – FHEMIG – Belo Horizonte (MG) Brasil.

A tuberculose permanece como um grave problema de saúde pública. Em 2016, estima-se que houve 6,3 milhões de casos novos de tuberculose em todo o mundo, com a morte de 1,7 milhão de pessoas, sendo reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a doença infecciosa de maior mortalidade no mundo.⁽¹⁾ Em 2016, foram diagnosticados e registrados 66.796 casos novos de tuberculose no Brasil.⁽²⁾

O diagnóstico e o tratamento precoce da tuberculose pulmonar são essenciais na redução da disseminação, morbidade, mortalidade e custos relacionados à doença.⁽³⁾ No Brasil, 71,6% dos casos novos foram confirmados por critério laboratorial em 2016 e, de acordo com o último relatório da OMS, o Brasil diagnosticou 41% dos casos de tuberculose multirresistente estimados para 2016.^(1,2) Porém, os métodos convencionais têm algumas desvantagens, como a baixa sensibilidade e especificidade da baciloscopia e o tempo prolongado para a obtenção do resultado da cultura e do teste de sensibilidade aos fármacos.⁽⁴⁾ Assim, o diagnóstico por meio de técnicas moleculares tem sido descrito por alguns autores como uma alternativa mais sensível, específica e rápida para o diagnóstico da tuberculose.⁽⁵⁾

Em 2010, a OMS recomendou o uso do Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, EUA), um teste rápido e totalmente automatizado de amplificação de ácidos

nucleicos que detecta simultaneamente *Mycobacterium tuberculosis* e sua resistência à rifampicina.⁽⁶⁾ A maioria dos trabalhos que validaram a tecnologia do Xpert MTB/RIF obteve resultados promissores, com boa acurácia em amostras de escarro,⁽⁷⁾ mas poucos trabalhos evidenciaram uma boa performance em outros tipos de amostra, como lavado broncoalveolar (LBA) e aspirado traqueal (AT).^(3,8-10)

Recentemente, o Ministério da Saúde no Brasil incorporou a utilização do Xpert MTB/RIF na rotina de alguns laboratórios brasileiros, inclusive no Hospital Júlia Kubitschek da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, localizado na cidade de Belo Horizonte (MG), referência terciária no tratamento de tuberculose e tuberculose resistente.⁽¹¹⁾ Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a acurácia do Xpert MTB/RIF em amostras de escarro, LBA e AT para o diagnóstico da tuberculose pulmonar nesse hospital.

Trata-se de um estudo descritivo de caráter retrospectivo. Foram incluídas 534 amostras com resultado de culturas para o bacilo da tuberculose e do teste molecular Xpert MTB/RIF no período entre dezembro de 2014 e novembro de 2015. Dessas amostras, 238 eram de escarro, 199 amostras eram de LBA, e 97 eram de AT. A cultura foi considerada como o método padrão. Para a resistência à rifampicina considerou-se como método padrão o teste

RESUMO

A tuberculose permanece como um grave problema de saúde pública. O objetivo deste estudo foi avaliar a acurácia do teste rápido molecular Xpert MTB/RIF em amostras pulmonares no Hospital Júlia Kubitschek, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, localizado em Belo Horizonte (MG). Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo, considerando-se como método padrão a cultura para o bacilo da tuberculose e o teste de sensibilidade fenotípico. O teste Xpert MTB/RIF apresentou ótima acurácia para a detecção da tuberculose e resistência à rifampicina, mas é necessária a atenção a dados clínicos do paciente em relação ao resultado do exame e às limitações dos testes moleculares.

Descritores: Tuberculose/diagnóstico; Técnicas de diagnóstico molecular; Escarro; Líquido da lavagem broncoalveolar.

Endereço para correspondência:

Tatiane Maria da Silva. Rua das Canoas, 555, apto. 204/01, CEP 30580-040, Belo Horizonte, MG, Brasil.
Tel.: 55 31 3643-2529 ou 55 31 99913-1731. E-mail: tatiane.msbio@gmail.com
Apoio financeiro: Nenhum.

de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA). Foram excluídas as amostras com crescimento insuficiente para a realização da identificação da espécie de micobactéria, amostras contaminadas e as com crescimento de micobactéria não tuberculosa.

A cultura foi realizada em meio Löwenstein-Jensen após descontaminação pelo método do lauril sulfato de sódio.⁽¹²⁾ A identificação das espécies e o TSA pelo método das proporções^(13,14) ou pelo sistema automatizado BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, Sparks, MD, EUA) foram realizados no Laboratório de Referência Estadual da Fundação Ezequiel Dias. O Xpert MTB/RIF foi realizado seguindo as instruções do fabricante.⁽¹⁵⁾

As medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, acurácia e concordância foram calculadas utilizando-se os softwares Minitab, versão 17 (Minitab Inc., State College, PA, EUA) e GraphPad Prism, versão 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, parecer técnico no. 1.764.672.

A cultura foi positiva para *M. tuberculosis* em 15,2% das amostras (81/534), e o Xpert MTB/RIF foi positivo em 19,9% das amostras (106/534). A performance diagnóstica do teste para detecção de *M. tuberculosis* está demonstrada de maneira geral na Tabela 1 e separadamente para cada tipo de amostra na Tabela 2.

Das 81 culturas positivas para *M. tuberculosis*, o TSA foi realizado em 60 isolados. Desses 60, foi detectada resistência à rifampicina em 9, tanto por TSA como por Xpert MTB/RIF. Houve concordância de sensibilidade à rifampicina em 49/60 isolados e dois resultados discordantes, sendo um deles com resistência detectada por Xpert MTB/RIF e sensibilidade por TSA e o outro sensível por Xpert MTB/RIF e resistente por TSA. A performance diagnóstica do teste Xpert MTB/RIF para a detecção de resistência à rifampicina está demonstrada na Tabela 1.

Em 25 pacientes o resultado do Xpert MTB/RIF foi positivo; porém, a cultura foi negativa. Desses, 9 tinham história de tuberculose, 4 já estavam em tratamento no momento do teste e, em 1, o teste foi solicitado, de maneira equivocada, para o controle de cura. Em 4 pacientes, não havia história de tuberculose

no passado e não foi iniciado o tratamento, sendo o desfecho classificado como não tuberculose. Nos 7 pacientes restantes não foi possível avaliar a história clínica progressa.

A sensibilidade encontrada no presente estudo foi superior às observadas em outros trabalhos realizados, que variaram de 82-93%, e a especificidade foi semelhante aos valores relatados por outros autores (96-100%).^(3,7-9) É interessante notar o alto valor preditivo negativo apresentado pelo teste, o que pode trazer o benefício de exclusão da tuberculose em casos suspeitos com muita rapidez.

Quando se avalia a performance do teste para cada tipo de amostra separadamente, os resultados são próximos, exceto para os valores mais baixos de valor preditivo positivo para as amostras de escarro e LBA, devido ao maior número de resultados discordantes (falso-positivos) entre esses.

Nesses casos em que houve discordância entre o Xpert MTB/RIF e o método padrão (ou seja, Xpert MTB/RIF positivo e cultura negativa), nota-se que, dentre os 25 casos identificados, 14 tinham história de tuberculose, sendo que 4 estavam em tratamento no momento do teste, mostrando a importância de uma efetiva comunicação entre o laboratório e o corpo clínico, uma vez que a metodologia do Xpert MTB/RIF amplia qualquer DNA originado tanto de bacilos vivos ou de bacilos mortos.⁽³⁾ Segundo o relatório de um ano de implementação do teste no Brasil, 50% dos monitores relataram que as fichas de solicitação de exames utilizadas nos seus Estados não apresentavam todas as informações completas, como a que identifica se o indivíduo em investigação para tuberculose apresenta alguma vulnerabilidade para a doença, dificultando a seleção de ferramentas mais adequadas para o diagnóstico.⁽¹⁶⁾

É possível que o teste permaneça positivo por até cinco anos em pacientes sem doença ativa, mas que ainda tenham bacilos mortos em seus pulmões derivados de um episódio previamente tratado de tuberculose ativa; portanto, a conversão do teste para negativo não é um marcador adequado para o sucesso do tratamento, e o diagnóstico de tuberculose nesses casos deverá ser feito exclusivamente por baciloscopia e cultura de escarro, podendo-se utilizar o Xpert MTB/RIF apenas para identificar precocemente a resistência à rifampicina.^(17,18) Estudos futuros são

Tabela 1. Performance diagnóstica do teste Xpert MTB/RIF para detecção de *Mycobacterium tuberculosis* e resistência à rifampicina.^a

Variáveis	Detecção de MTB	Detecção de resistência à RIF
Sensibilidade (%)	100 (100-100)	100 (100-100)
Especificidade (%)	94,5 (92,4-96,6)	98,0 (94,2-101,8)
VPP (%)	76,4 (68,3-84, 5)	90,0 (76,0-103,1)
VPN (%)	100 (100-100)	100 (100-100)
Acurácia (%)	95,3 (93,5-97,1)	98,3 (95,1-101,6)
Kappa*	0,84 (0,78-0,90)	0,94 (0,82-1,06)

MTB: *Mycobacterium tuberculosis*; RIF: rifampicina; VPP: valor preditivo positivo; e VPN: valor preditivo negativo.

^aValores expressos em n (IC95%). *Os critérios aplicados para kappa foram os seguintes: < 0,20 = pobre; 0,21-0,40 = fraca; 0,41-0,60 = moderada; 0,61-0,80 = boa; e > 0,80-1,00 = muito boa.

Tabela 2. Performance diagnóstica do teste Xpert MTB/RIF em diferentes tipos de amostras pulmonares.

Variáveis	Escarro (n = 238)	Lavado broncoalveolar (n = 199)	Aspirado traqueal (n = 97)
Sensibilidade (%)	100 (100-100)	100 (100-100)	100 (100-100)
Especificidade (%)	92,8 (89,1-96,4)	95 (91,8-98,2)	97,5 (94,0-100,9)
VPP (%)	75,9 (64,9-86,9)	67,9 (50,6-85,2)	90,0 (76,0-103,1)
VPN (%)	100 (100-100)	100 (100-100)	100 (100-100)
Acurácia (%)	94,1 (91,1-97,1)	95,5 (92,6-98,4)	97,9 (95,1-100,8)
Kappa*	0,83 (0,74-0,91)	0,78 (0,65-0,92)	0,93 (0,84-1,02)

VPP: valor preditivo positivo; e VPN: valor preditivo negativo. ^aValores expressos em n (IC95%). *Os critérios aplicados para kappa foram os seguintes: < 0,20 = pobre; 0,21-0,40 = fraca; 0,41-0,60 = moderada; 0,61-0,80 = boa; e > 0,80-1,00 = muito boa.

necessários para melhor quantificar esse fenômeno e quais fatores predisõem a isso.⁽¹⁷⁾

Nos 4 pacientes sem história de tuberculose prévia, classificados como não tuberculose, os resultados devem ser interpretados dentro de um contexto clínico. Vale ressaltar que o Xpert MTB/RIF pode ser mais sensível que a cultura convencional em algumas situações. A alta sensibilidade do Xpert MTB/RIF pode ser explicada pelo limite analítico de detecção, que é de 131 unidades formadoras de colônias/ml, chegando até 10 unidades formadoras de colônias/ml em algumas amostras.⁽⁹⁾

Alguns autores levantam a hipótese de que os resultados falso-positivos podem estar relacionados à presença de DNA de bacilos da tuberculose mortos que persistiram no tecido pulmonar e que foram expectorados devido à ocorrência de outra patologia pulmonar, levando então a falsa positividade com relação ao diagnóstico de tuberculose ativa.⁽¹⁷⁾

Foi observado que 12 de 25 resultados de Xpert MTB/RIF positivos e culturas negativas apresentaram *cycle threshold values* categorizados como nível de detecção muito baixo (> 28 ciclos) e 11 de 25 como nível de detecção baixo (23-28 ciclos). Esses valores representam uma baixa concentração de DNA do complexo *M. tuberculosis* na amostra.⁽³⁾ Estudos futuros são necessários na interpretação desses resultados, em conjunto com a avaliação clínica do paciente e a presença de outras patologias.

Há que se considerar também que resultados de Xpert MTB/RIF positivos e de cultura negativos podem estar relacionados com questões técnicas de manipulação, como procedimentos de descontaminação drásticos, oscilações de temperatura na estufa incubadora e acondicionamento incorreto das amostras clínicas.⁽¹²⁾

Com relação à detecção da resistência à rifampicina, 2 amostras apresentaram discrepância entre o teste molecular e o convencional, sendo 1 demonstrando resistência pelo Xpert MTB/RIF e sensibilidade pelo TSA e outra demonstrando sensibilidade pelo Xpert MTB/RIF e resistência pelo TSA. As principais mutações que conferem resistência à rifampicina estão relacionadas ao gene *rpoB*; porém, mutações raras podem ocorrer fora da região alvo do teste, e a detecção da

resistência à rifampicina requer que de 65% a 100% da população de DNA na amostra seja mutante.^(4,19) Além disso, infecções mistas podem ser responsáveis por resultados falso-negativos ou falso-positivos pelo método. A heteroresistência é definida pela presença de populações do bacilo da tuberculose sensíveis e resistentes e é indicada como uma possível causa de resultados de TSA discordantes.⁽²⁰⁾

Uma das limitações do presente estudo foi a não realização da baciloscopia em paralelo ao teste molecular por se tratar de amostras avaliadas em condições de rotina dentro do laboratório. Além disso, não foi possível realizar a análise dos dados sociodemográficos, clínicos e de imagem, tampouco o estudo do impacto do Xpert MTB/RIF quanto ao tempo entre o diagnóstico e o tratamento do paciente.

Os resultados obtidos no presente estudo são relevantes para o aprimoramento do diagnóstico laboratorial da tuberculose em amostras de escarro, LBA e AT; porém, é necessária a atenção aos dados clínicos do paciente em relação ao resultado do exame e às limitações dos testes moleculares.^(3,17,18) Há de se ressaltar a importância do preenchimento correto da solicitação médica, contendo informações mínimas, como finalidade do exame (diagnóstico ou controle), história de tratamento (já tratou ou nunca tratou tuberculose) e a presença de situações de vulnerabilidade à tuberculose.⁽¹⁶⁾

Conclui-se que o Xpert MTB/RIF apresentou ótima acurácia para a detecção de tuberculose e resistência à rifampicina, mas é necessária a atenção aos dados clínicos do paciente em relação ao resultado do exame e às limitações dos testes moleculares.^(3,17,18) Estudos adicionais são necessários para a avaliação do impacto dessa tecnologia para o paciente e para a sociedade nos diferentes cenários (referência primária, secundária e terciária) em diferentes regiões do Brasil.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais a permissão do acesso aos dados e à coordenação e à equipe técnica do laboratório do Hospital Júlia Kubitschek o apoio durante a coleta de dados.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional

- po fim da tuberculose como problema de saúde pública no Brasil. *Boletim Epidemiológico*. 2017;48(8):1-11.
3. Ssengooba W, Respeito D, Mambuque E, Blanco S, Bulo H, Mandomando I, et al. Do Xpert MTB/RIF Cycle Threshold Values Provide Information about Patient Delays for Tuberculosis Diagnosis? *PLoS One*. 2016;11(9):e0162833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162833>
 4. Xpert® MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar. *Bol Bras Avaliação de Tecnologias em Saúde*. 2011;16:1-13.
 5. Aurin TH, Munshi SK, Kamal SM, Rahman MM, Hossain MS, Marma T, et al. Molecular approaches for detection of multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) in Bangladesh. *PLoS One*. 2014;9(6):e99810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099810>
 6. World Health Organization [homepage on the Internet]. Geneva: World Health Organization; c2016 [updated 2010 Dec 8; cited 2016 Oct 15]. WHO endorses new rapid tuberculosis test. Available from: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/tb_test_20101208/en/index.html
 7. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(1):CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
 8. Theron G, Peter J, Meldau R, Khalfey H, Gina P, Matinyena B, et al. Accuracy and impact of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax*. 2013;68(11):1043-51. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2013-203485>
 9. Lee HY, Seong MW, Park SS, Hwang SS, Lee J, Park YS, et al. Diagnostic accuracy of Xpert® MTB/RIF on bronchoscopy specimens in patients with suspected pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013;17(7):917-21. <https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0885>
 10. Le Palud P, Cattoir V, Malbrun B, Magnier R, Campbell K, Oulhouir Y, et al. Retrospective observational study of diagnostic accuracy of the Xpert® MTB/RIF assay on fiberoptic bronchoscopy sampling for early diagnosis of smear-negative or sputum-scarce patients with suspected tuberculosis. *BMC Pulm Med*. 2014;14:137. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-14-137>
 11. Pinto M, Entringer AP, Steffen R, Trajman A. Cost analysis of nucleic acid amplification for diagnosing pulmonary tuberculosis, within the context of the Brazilian Unified Health Care System. *J Bras Pneumol*. 2015;41(6):536-8. <https://doi.org/10.1590/s1806-3756201500004524>
 12. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Centro de Referência Professor Hélio Fraga. Manual de Bacteriologia da Tuberculose. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2005.
 13. Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler HT, Menon MK, Mitchison DA, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull World Health Organ*. 1969;41(1):21-43.
 14. Martins Soares V, Da Silva Carvalho W, Spindola De Miranda S. Utilization of bacteriological culture for increased diagnostic performance at a tuberculosis reference center hospital. *Rev Argent Microbiol*. 2012;44(3):173-6.
 15. Cepheid.com [homepage on the Internet]. Sunnyvale (CA): Cepheid; [updated 2010 Dec 8; cited 2016 Jan 26]. Cepheid Xpert MTB/RIF Brochure. Available from: <http://www.cephheid.com/us/search?searchword=MTB+rif>
 16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Rede de Teste Rápido para tuberculose no Brasil: primeiro ano da implantação. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.
 17. Boyles TH, Hughes J, Cox V, Burton R, Meintjes G, Mendelson M. False-positive Xpert®MTB/RIF assays in previously treated patients: need for caution in interpreting results. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18(7):876-8. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0853>
 18. Metcalfe JZ, Makumbirofa S, Makamure B, Mutetwa R, Peñaloza RA, Sandy C, et al. Suboptimal specificity of Xpert MTB/RIF among treatment-experienced patients. *Eur Resp J*. 2015;45(5):1504-6. <https://doi.org/10.1183/09031936.00214114>
 19. Blakemore R, Story E, Helb D, Kop J, Banada P, Owens MR, et al. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*. 2010;48(7):2495-501. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128-10>
 20. Singh UB, Pandey P, Mehta G, Bhatnagar AK, Mohan A, Goyal V, et al. Genotypic, Phenotypic and Clinical Validation of GeneXpert in Extra-Pulmonary and Pulmonary Tuberculosis in India. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149258>