

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DO TESTE RÁPIDO MOLECULAR (TRM –TB)
PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE PLEURAL.

MÁRIO SÉRGIO MONTEIRO FONSECA

MANAUS

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIO SÉRGIO MONTEIRO FONSECA

AVALIAÇÃO DO TESTE RÁPIDO MOLECULAR (TRM –TB)
PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE PLEURAL.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, área de concentração Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Edson de Oliveira Andrade.

MANAUS

2017

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F676a Fonseca, Mário Sérgio Monteiro
Avaliação do teste rápido molecular (TRM-TB) para diagnóstico de tuberculose pleural / Mário Sérgio Monteiro Fonseca. 2017
41 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Edson de Oliveira Andrade
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Tuberculose pleural. 2. Diagnóstico. 3. PCR. 4. Tuberculose. I. Andrade, Edson de Oliveira II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

MÁRIO SÉRGIO MONTEIRO FONSECA

AVALIAÇÃO DO TESTE RÁPIDO MOLECULAR (TRM –TB)
PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE PLEURAL.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, área de concentração Medicina.

Aprovado em 07/04/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edson de Oliveira Andrade
Universidade Federal do Amazonas

Prof^ª Dr^ª. Maria do Socorro Lucena Duarte
Universidade Federal do Amazonas

Prof^ª. Dr^ª Juliana Puka
Universidade Nilton Lins

Aos meus pais Osório e Idália, por me permitirem estar aqui e, à minha esposa Elanny pelo apoio e paciência, grande ajuda para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, pelo incentivo e acompanhamento constante;

À Policlínica Cardoso Fontes, na figura de sua diretora Dr^a Irineide Assunção, pelo apoio e cessão da infraestrutura do instituto para a realização desta pesquisa;

Aos colegas médicos da Policlínica Cardoso Fontes, por sua colaboração para a realização desta pesquisa;

À Bioquímica Helen Jane Santos de Medeiros, por sua colaboração na pesquisa junto ao laboratório de micobacteriologia e biologia molecular da Policlínica Cardoso Fontes;

Aos funcionários da Fundação CECON, pela colaboração para a realização deste trabalho;

Aos patologistas, pela presteza e disponibilidade ao realizar a leitura das lâminas histopatológicas;

Aos professores das disciplinas do Mestrado em Ciências da Saúde, pelas orientações ministradas no decorrer do curso;

Aos pacientes que entenderam, aceitaram e permitiram a coleta de suas amostras para a realização da pesquisa;

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e incentivo;

AGRADEÇO

“A vida é tão curta, a arte demora tanto a aprender, a oportunidade vai logo embora, a experiência engana e o julgamento é difícil” – Hipócrates.

RESUMO

A tuberculose (TB) ainda é uma das maiores causas infecciosas de mortalidade e morbidade em adultos no mundo. O Brasil se encontra entre os 22 países com maior número de casos, sendo a média nacional de incidência em torno de 30 casos por 100.000 habitantes. A cidade de Manaus apresenta incidência acima de 90 casos/100.000 habitantes. A TB pleural é considerada a forma extrapulmonar mais frequente em adultos. O seu diagnóstico necessita de recursos invasivos, tais como a retirada de fragmentos de pleura, por meio de biópsia percutânea com agulha de Cope ou por videopleuroscopia, além da cultura do líquido pleural em meio convencional, o que retarda a confirmação diagnóstica. O Teste Rápido Molecular para diagnóstico de Tuberculose (TRM-TB – Cepheid Xpert® MTB/RIF) é um método automatizado de reação de cadeia de polimerase (PCR), permitindo o diagnóstico precoce de TB, pois libera o resultado em 2 horas, além de determinar a sensibilidade à rifampicina, sendo validado o seu uso para análise de escarro. O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade do TRM-TB para o diagnóstico da TB pleural por meio da análise do líquido pleural. Foram incluídos 17 pacientes com derrame pleural, 10 do sexo masculino e 7 do feminino. A idade média foi de 44 anos. Todos realizaram toracocentese e biópsia de pleura, sendo enviadas amostras para o TRM-TB, cultura em meio sólido e histopatológico. Destes, 11 confirmaram diagnóstico de TB por meio de parâmetros clínicos, histopatológicos, moleculares ou microbiológicos. O TRM-TB do líquido apresentou sensibilidade de 9% (1/11). Não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra de líquido em cultura. O TRM-TB do fragmento pleural deu resultado não detectável em todas as amostras. A biópsia de pleura apresentou acurácia diagnóstica de 76%, sendo o método com melhor desempenho para o diagnóstico. Conclui-se que o TRM-TB para o diagnóstico de TB pleural, por meio da análise do líquido pleural, tem baixa sensibilidade e, com base nestes dados, não se recomenda a sua utilização como método inicial de investigação de casos suspeitos de derrame pleural tuberculoso.

Palavras chave: Tuberculose pleural; diagnóstico; PCR.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is still one of the biggest infectious causes of mortality and morbidity in adults in the world. The Brazil is among the 22 countries with the highest number of cases, and the national average of around 30 cases per 100,000 habitants. The city of Manaus presents incidence above 90 cases/100,000. The pleural TB is considered the most common extrapulmonary form in adults. The diagnosis requires invasive features, such as the removal of fragments of pleura, through percutaneous needle biopsy of Cope or videopleuroscopy in addition, pleural fluid culture in conventional medium which slows the diagnostic confirmation. Molecular Diagnostic rapid test of tuberculosis (TRM-TB – Cepheid's Xpert® MTB/RIF)) is an automated method of polymerase chain reaction (PCR), enabling early diagnosis of TB and releases the result in 2 hours, plus, determine the sensitivity to rifampicin being validated its use for sputum analysis. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of the TRM-TB for the diagnosis of pleural TB through analysis of pleural fluid. We included 17 patients with pleural effusion. 10 males and 7 females. The average age was 44 years. All performed thoracentesis and biopsy of pleura being sent samples to the TRM-TB, solid medium culture and histopathology. Of these, 11 confirmed diagnosis of TB through clinical, histopathological, molecular or microbiological tools. The TRM-TB liquid presented sensitivity of 9% (1/11). The liquid culture showed no bacterial growth in any sample. The TRM-TB pleural fragment worked not detectable in all samples. The biopsy of pleura presented diagnostic accuracy of 76%, being the best performing method for diagnosis. It is concluded that the TRM-TB for the diagnosis of pleural TB through analysis of pleural fluid has low sensitivity and based on these facts, it is not recommended to be used as the initial method of investigation of suspected cases of tuberculous pleural effusion.

Keywords: Pleural tuberculosis; diagnosis; PCR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Radiografia do tórax de paciente com derrame pleural	pág. 17
Figura 2 – Toracocentese	pág. 18
Figura 3 – Meio de cultura convencional para tuberculose	pág. 19
Figura 4 – Jogo de agulhas de Cope	pág. 20
Figura 5 – Microscopia óptica de biópsia de pleura com granuloma	pág. 20
Figura 6 – Cartucho e plataforma do TRM-TB	pág. 21
Figura 7 – Fluxograma da metodologia	pág. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas descritivas para as variáveis envolvidas no modelo pela variável diagnóstico médico, acompanhadas de frequência Absoluta, frequência relativa e p valor do teste exato de Fisher pág. 29.

Tabela 2 - Medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia para o estudo da eficiência dos testes CulturaL, PCRL, Bx de pleura, Culturabx e PCRBX considerando o diagnóstico médico como o exame padrão ouro pág. 30

Tabela 3 - Resultados da comparação entre o método do TRM-TB (Xpert) e a cultura na detecção do complexo *Mycobacterium tuberculosis* pág. 33

LISTA DE SIGLAS

Siglas	Significado
AAL	Ambulatório Araújo Lima
ADA	Adenosina deaminase
BAAR	Bacilo álcool ácido resistente
DHL	Desidrogenase láctica
DNA	Ácido desoxirribonucléico
FCECON	Fundação Centro de Controle de Oncologia
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HUGV	Hospital Universitário Getúlio Vargas
IMTAM	Instituto de Medicina Tropical do Amazonas
MDR	Multidroga resistente
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PPD	Derivado Proteico Purificado
RX	Radiografia
SBPT	Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia
SUS	Sistema único de saúde
TB	Tuberculose
TC	Tomografia Computadorizada
TRM-TB	Teste Rápido Molecular para Tuberculose
UFAM	Universidade Federal do Amazonas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Aspectos Gerais da Tuberculose	16
2.2 Tuberculose Pleural	17
3. JUSTIFICATIVA	22
4. OBJETIVOS	24
4.1 Principal	24
4.2 Secundários	24
5. MATERIAIS E MÉTODOS	25
6. RESULTADOS	28
7. DISCUSSÃO	32
8. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37
APÊNDICES	41

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das principais causas infecciosas mundiais de mortalidade e morbidade em adultos. Sua coinfeção com o vírus HIV aumentou a sua incidência em países que já apresentavam controle efetivo da doença e aumentou os índices já alarmantes em países cujo controle não era efetivo (STEINGART *et al*, 2013).

O Brasil encontra-se entre os 22 países com maior número de casos, sendo a média nacional de incidência na faixa de 30 casos/100.000 habitantes. A região norte do país apresenta taxa de incidência maior, em média de 50 casos/100.000 habitantes podendo em algumas localidades chegar até o índice de 100 casos/100.000 (COMITÊ DE TUBERCULOSE, 2009).

Somente o diagnóstico e tratamento precoce permitem evitar a transmissão e, conseqüentemente, fazer o controle efetivo da doença. Estudos mostram que, no Brasil, leva-se em média de 10 a 12 semanas entre o início dos sintomas até o início do tratamento de um doente. Tal demora pode ser explicada por vários motivos, dentre os quais a dificuldade de acesso da população ao serviço de saúde e a demora na realização dos exames solicitados para investigação de sintomáticos respiratórios (COMITÊ DE TUBERCULOSE, 2009).

A tuberculose pleural é, no Brasil, a forma mais comum de TB extrapulmonar, em adultos (SEISCENTO *et al.*, 2009). Em média, de acordo com as fontes utilizadas representa 8% dos casos (SEISCENTO; CONDE; DALCOLMO, 2006).

A TB pleural pode ser uma manifestação tanto da primo-infecção quanto uma reativação de uma infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis*. A tuberculose pleural é sabidamente uma manifestação da doença com característica paucibacilar, o que dificulta substancialmente a confirmação diagnóstica.

A TB pleural não pode ser plenamente diagnosticada apenas pela sua apresentação clínica e pelo aspecto radiológico, pois, outras patologias podem apresentar as mesmas características e terem diagnósticos totalmente distintos, tais como, por exemplo, os linfomas e outras neoplasias com comprometimento pleural e a pneumonia com derrame parapneumônico.

Para que ocorra a confirmação etiológica do derrame pleural tuberculoso é necessária a realização de métodos invasivos, tais como, a análise do líquido pleural obtido por toracocentese; a avaliação histológica de fragmentos da pleura obtidos através de biópsia

percutânea com agulha de Cope ou por videopleuroscopia e; a cultura em meio convencional do líquido pleural, sendo que neste último método, o resultado pode demorar de 45 a 60 dias..

A pesquisa de bacilo álcool ácido resistente (BAAR) no líquido pleural é pouco eficiente para ser utilizada como método diagnóstico porque a TB pleural é paucibacilar, sendo este processo mais uma reação de hipersensibilidade tardia aos antígenos do bacilo no espaço pleural, por isso as análises microbiológicas são muitas vezes negativas.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método de ampliação de ácidos nucleicos que permite identificar a presença do material genético em fluídos ou fragmentos orgânicos. Embora este método tenha um custo mais elevado comparado à realização da pesquisa de bacilo álcool ácido resistente (BAAR), na análise do escarro, tem como grande vantagem a detecção do bacilo em pacientes paucibacilares, (BOEHME *et al.*, 2010; STEINGART *et al.*, 2013).

A técnica do teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) se apresenta com grande possibilidade de ampliar a capacidade diagnóstica em uma situação deste tipo. O TRM-TB é uma plataforma automatizada de realização da PCR que permite a identificação do *Mycobacterium tuberculosis* por meio da ampliação de partes do gene *rpoB*, evidenciando desta maneira, não somente a presença ou não do DNA micobacteriano, assim como, a sensibilidade ou não a rifampicina.

As vantagens da utilização desta plataforma são o fato de não se exigir um conhecimento técnico especializado sobre a realização da PCR e a sua agilidade, pois em menos de 2 horas já divulga o resultado obtido e, as amostras com 136 colônias por ml serem sensíveis ao método. (BOEHME *et al.*, 2010).

Diversos trabalhos têm sido realizados usando este método (MAURYA *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2011; ROSSO *et al.*, 2011b; KALANTRI; HEMVANI ; CHITNIS, 2011). A padronização, e por consequência, a possibilidade de diminuição de custo é algo a ser buscado.

Logo, se a utilização da técnica do TRM-TB for plausível para a identificação de pacientes com TB pleural, a partir da análise do líquido pleural, este método além de reduzir o tempo necessário para confirmação diagnóstica, reduzirá também, a necessidade de realização de métodos mais cruentos que podem, em uma porcentagem dos casos, apresentar complicações significativas para os pacientes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – ASPECTOS GERAIS DA TUBERCULOSE

A TB é uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade no mundo em adultos. É causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, tendo como porta de entrada no organismo os pulmões, porém, pode acometer qualquer outro órgão, desde a pele até ossos (SOUZA; BRÍGLIA, 2012).

É uma doença que, quando diagnosticada e tratada, apresenta elevado índice de cura e, conseqüentemente, controle da transmissão. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), somente no ano de 2010 houve no mundo 8.8 milhões de doentes de TB, 13% deste total em pacientes HIV positivos. Neste mesmo ano, houve no mundo 1.1 milhão de mortes por TB, 350.000 em pacientes com HIV (STEINGART *et al.*, 2013).

No Brasil, a taxa de incidência da doença é estimada em 30 casos/100.000 habitantes sendo que na região norte este índice se eleva para em média 50 casos/100.000 habitantes. Segundo dados do Ministério da Saúde a incidência de TB no estado do Amazonas no ano de 2009 foi de 67,6 casos/100.000 habitantes (COMITÊ DE TUBERCULOSE, 2009; SOUZA; BRÍGLIA, 2012).

No Brasil o índice de cura da TB encontra-se em torno de 72,2% com uma taxa de abandono de tratamento em média de 8% e de óbito pela doença de 7% (SOUZA; BRÍGLIA, 2012). A OMS preconiza como meta de cura de 85% dos casos, valor este distante da realidade brasileira (COMITÊ DE TUBERCULOSE, 2009).

Dentre as formas extrapulmonares da TB, a forma pleural é considerada uma das mais frequentes em adultos, responsável por aproximadamente 8% dos casos (SEISCENTO, CONDE, DALCOMO, 2006).

Na cidade de Manaus, de acordo com os indicadores epidemiológicos e operacionais da Tuberculose do Departamento de Vigilância Ambiental e Epidemiológica no ano de 2016, tivemos um total de 1977 casos de tuberculose notificados, sendo 339 casos classificados como forma extrapulmonar e, 177 deles pleurais.

A incidência de TB no município, neste ano, foi de 98,3 casos/100.000 habitantes. (MANAUS, 2016).

2.2 – TUBERCULOSE PLEURAL

A TB pleural pode ocorrer tanto na primo-infecção, quanto na reativação de uma forma latente (infecção secundária) do *Mycobacterium tuberculosis*. (LIGHT, 2007b; SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006).

O derrame pleural tuberculoso, na maioria dos casos, se apresenta como uma doença de evolução subaguda a crônica caracterizada pelos seguintes sintomas: tosse seca, dor torácica pleurítica, dispnéia, febre baixa ou febrícula, adinamia, sudorese noturna e perda de peso (ANDRADE; SOUZA, 2012).

Ao exame físico do tórax é evidenciado abolição do murmúrio vesicular e do frêmito tóraco-vocal e macicez à percussão na região acometida pelo líquido (ONISHI; SALES, 2004).

A radiografia do tórax (RX) geralmente apresenta um derrame pleural unilateral de pequeno a médio volume, conforme Figura 1. Eventualmente à radiografia do tórax também pode ser observada alteração do parênquima pulmonar concomitante (FUNARI, 2004).

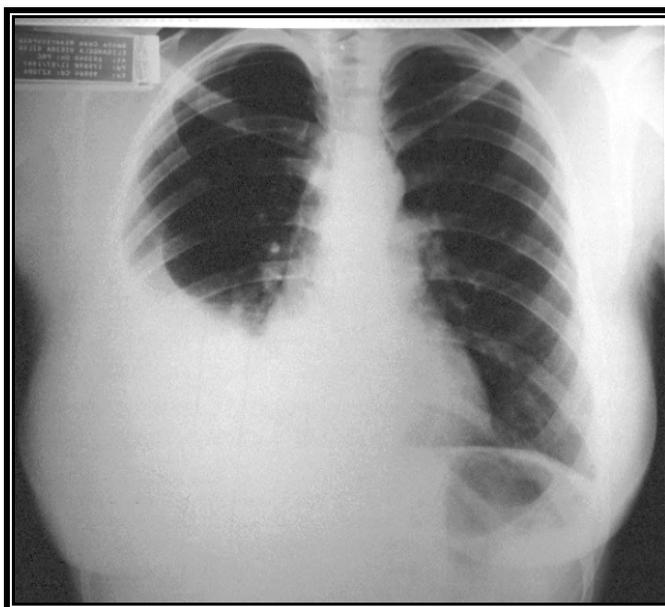


Figura 1: Radiografia de tórax de paciente com derrame pleural em hemitórax direito

Fonte: Radiografia de paciente atendido pelo autor no HUGV.

A TB pleural é uma doença que, em muitos casos, apresenta resolução espontânea, mesmo sem tratamento. Contudo, nesta situação, em um período de 3-5 anos a ocorrência de

TB pulmonar e/ou extrapulmonar é de 65% (ANDRADE; SOUZA, 2012; LIGHT, 2007a; SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006).

O diagnóstico de TB pleural pelo padrão clínico e radiológico é difícil, pois estes mesmos sintomas e alterações radiológicas podem ocorrer também em outras patologias, tais como os linfomas ou outras formas de neoplasia de comprometimento pleural. (ANDRADE *et al.*, 2012; LIGHT, 2007a; SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006).

A realização do teste tuberculínico (PPD) para auxílio diagnóstico é controverso, pois nas fases iniciais da TB pleural ou em pacientes imunossuprimidos este exame pode ser não reator (LIGHT, 2007a).

Outros métodos radiológicos como a tomografia de tórax (TC) podem evidenciar lesões do parênquima pulmonar sugestivas de TB concomitantes à presença do derrame pleural, porém mesmo nesta situação, o diagnóstico é presuntivo e não etiológico (FUNARI, 2004).

Nestes casos a realização de escarro induzido com solução salina hipertônica pode apresentar positividade na pesquisa de BAAR em torno de 50%, contudo, ainda há a necessidade de centro com sala específica para a realização deste tipo de exame, o que pode retardar ou dificultar o diagnóstico (BRÍGLIA; BRÍGLIA; SALÉM, 2000; SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006). Portanto, na maioria dos casos suspeitos, há a necessidade de métodos mais invasivos para confirmação diagnóstica da forma pleural da TB.

Dentre os métodos utilizados encontra-se a toracocentese ou punção torácica, que consiste na introdução de agulha no tórax, para coleta de líquido pleural, conforme Figura 2. Deste modo, o material pode ser enviado para análise citológica e bioquímica, assim como para cultura em meio convencional (ANDRADE; SOUZA, 2012).



Figura 2: Imagem ilustrativa de toracocentese realizada pelo autor no HUGV

Fonte: Foto de toracocentese realizada pelo autor no HUGV.

O líquido pleural tem aspecto amarelo-citrino ou levemente turvo na maioria dos casos (89%); apresenta-se como um exsudato, ou seja, um líquido inflamatório com proteína elevada, em média acima de 4,5g/dl e, desidrogenase láctica (DHL) também elevada, em média acima de 200UI/L (LIGHT, 2007a)

A análise citológica apresenta predomínio de linfócitos, em torno de 60-90%, com redução da presença de células mesoteliais, abaixo de 5%. (ANTONANGELO, 2004; LIGHT, 2007a). A dosagem da adenosina-deaminase (ADA) nos derrames pleurais típicos normalmente se encontram acima de 40UI/L (LIGHT, 2007a).

Ttodas estas características citológicas e bioquímicas relatadas não são exclusivas da TB, pois nos derrames pleurais por linfomas ou pacientes com artrite reumatoide ou lúpus também podem apresentar esses mesmos padrões. (ANTONANGELO, 2004).

A pesquisa de BAAR no líquido pleural geralmente é negativa, já que o derrame pleural tuberculoso é uma doença extremamente paucibacilar. A cultura do líquido em meio convencional leva de 6-8 semanas para fornecer uma resposta e estudos mostram uma positividade baixa, em torno 10-35%. (SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006).



Figura 3: Imagem ilustrativa de meio de cultura convencional para tuberculose – Lowestein-Jensen

Fonte: FIOCRUZ

Outra maneira de obter diagnóstico é a análise anatomopatológica de fragmentos da pleura que podem ser obtidos por biópsia percutânea “às cegas” com agulha de Cope (ver figura 4), ou por cirurgia torácica vídeo-assistida (videopleuroscopia). (ANDRADE; SOUZA, 2012).

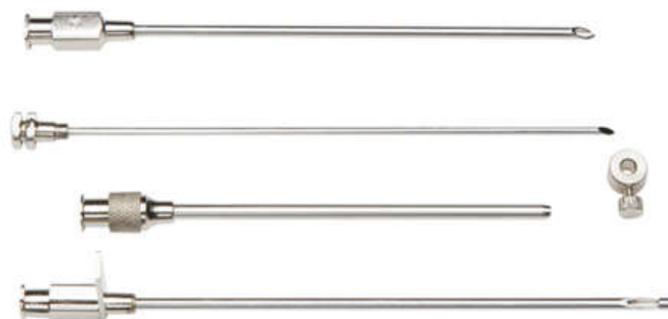


Figura 4: Imagem ilustrativa de jogo de agulha de Cope para biópsia de pleura

Fonte: Imagem de jogo de agulha de Cope do HUGV.

Nesta situação o que se espera obter é a presença, à análise microscópica, de um granuloma ou eventualmente de necrose de caseificação (CAPELOZZI, 2004).

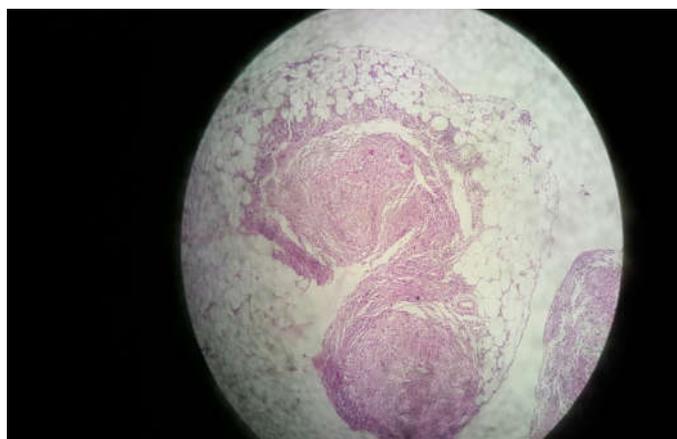


Figura 5: Microscopia óptica de biópsia de pleura com granuloma

Fonte: Foto cedida pelo Dr. Ricardo Alexandre Guimarães, patologista da UFAM.

Também pode ser enviado fragmento da pleura para cultura em meio convencional, cuja positividade ocorre em torno de 39-65%, porém com a inconveniência, do ponto de vista clínico, da demora característica deste método (SEISCENTO; CONDE; DALCOMO, 2006).

Um problema inerente aos métodos mais invasivos para confirmação diagnóstica é que os mesmos podem apresentar complicações significativas para os pacientes, isto é, tanto a toracocentese, como a biópsia de pleura, podem eventualmente cursar com pneumotórax, hemotórax, edema pulmonar de reexpansão e, até mesmo, infecção da cavidade pleural com formação de empiema.

No Brasil, devido a entraves como a necessidade de ida a centros especializados para realização dos procedimentos invasivos e ao envio de material, tanto para laboratório

especializado para cultivo de micobactéria, quanto para laboratório de patologia para realização de lâminas histopatológicas e leitura das mesmas, com sua respectiva demora, além da alta incidência de TB, faz com que muitos pacientes sejam tratados de forma empírica, ou seja, presuntiva, o que pode acarretar erros diagnósticos.

O ideal seria que o diagnóstico da TB pleural ocorresse de forma mais rápida, dinâmica, com confirmação etiológica por métodos minimamente invasivos.

A utilização de marcadores genéticos por meio da ampliação de ácidos nucleicos, principalmente pelo teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) tem apresentado alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de TB em escarro.



Figura 6: Imagem ilustrativa do cartucho e da plataforma do TRM-TB.

Fonte: BOHEME (ORG.), 2010.

O uso do TRM-TB para outros materiais orgânicos, tais como líquido, líquido pleural e fragmentos de tecidos, ainda se encontra limitado, não validado e com número de casos reduzidos (FRIEDRICH; VON GROOTE-BIDLINGMAIER ; DIACON, 2011; HILLEMANN *et al*, 2011; VADWAI *et al.*, 2011; ROSSO *et al.*, 2011a; ALVAREZ-URIA *et al.*, 2012).

Logo, há a necessidade de se elucidar esta dúvida e avaliar, dentro da realidade brasileira, a viabilidade do uso deste método para o diagnóstico precoce da TB pleural.

3. JUSTIFICATIVA

A tuberculose pleural é, no Brasil, a forma extrapulmonar de TB mais frequente em adultos. Em média 8% dos casos de TB são de comprometimento pleural.

A TB pleural pode ocorrer tanto por primo-infecção, quanto por reativação de uma forma latente do *Mycobacterium tuberculosis*. Normalmente trata-se de uma forma paucibacilar de tuberculose, o que dificulta o seu diagnóstico por meio da coleta e análise simples de escarro.

Alguns trabalhos mostram que, em indivíduos com comprometimento do parênquima pulmonar concomitante ao derrame pleural e com a técnica de escarro induzido por solução salina hipertônica, é possível obter positividade diagnóstica na pesquisa de BAAR do escarro em torno de 50%. Contudo, a maioria dos pacientes com suspeita de tuberculose pleural necessita de procedimentos invasivos para confirmação diagnóstica.

Os procedimentos geralmente realizados nestes casos são a punção torácica (toracocentese) para obtenção de líquido pleural que, em parte, será encaminhado para análise citológica e bioquímica, cujos resultados podem ser sugestivos de comprometimento pleural pela TB, porém não conclusivos, além de envio de alíquota para cultura em meio convencional, que demora em média de 6 a 8 semanas para fornecer um resultado.

Outro procedimento é a coleta de fragmentos de pleura, que podem ser obtidos por biópsia percutânea “às cegas” com agulha de Cope ou por cirurgia videoassistida (videopleuroscopia) com o objetivo de realizar a análise anatomopatológica e, desta maneira, evidenciar a presença de granulomas, alguns com a típica necrose de caseificação, o que confirmaria o diagnóstico de TB.

Entretanto, como todo ato médico invasivo, estes procedimentos podem cursar com complicações inerentes ao exame e independente da perícia do profissional, como pneumotórax, hemotórax, edema pulmonar de reexpansão ou contaminação da cavidade pleural com formação de empiema.

É possível até iniciar o tratamento empírico para TB em um paciente com suspeita de TB pleural baseando-se apenas em dados clínicos e radiológicos sugestivos da doença, mas, as mesmas características clinico-radiológicas também podem ocorrer em outras doenças, tais como os linfomas ou outras neoplasias com comprometimento pleural, cujo retardo no diagnóstico e início de tratamento também podem trazer resultados catastróficos para o pacientes.

O ideal é que o diagnóstico da TB pleural pudesse ser realizado de modo confiável e o mais rápido e minimamente invasivo possível, agilizando, desta forma, o início do tratamento e o controle da doença.

Infelizmente, esta ainda não é a realidade brasileira. Estes pacientes geralmente são encaminhados para centros especializados para a realização dos procedimentos acima citados, o que por si já retarda o diagnóstico. Além disso, os fragmentos de biópsia de pleura são direcionados para serviços de patologia para elaboração de lâminas histológicas, o que também retarda a elucidação diagnóstica.

A utilização da técnica do TRM-TB pode ajudar tanto no diagnóstico, quanto na introdução precoce do tratamento para TB com confirmação etiológica. Já existem alguns estudos sobre a possibilidade de uso da técnica do TRM-TB em fluídos ou tecidos orgânicos para elucidação diagnóstica de formas extrapulmonares de tuberculose, porém são estudos preliminares e com um número ainda reduzido de casos.

Se for possível a realização, na prática clínica diária, do TRM-TB para confirmação diagnóstica da TB pleural, por meio da análise do líquido pleural e consequente validação deste método diagnóstico, pode-se reduzir o tempo para confirmação diagnóstica e início do tratamento, bem como, a necessidade de realização de procedimentos mais cruentos, tais como as biópsias de pleura que poderiam, eventualmente, cursar com complicações.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal:

Avaliar a efetividade da técnica do TRM-TB para o diagnóstico de TB pleural por meio da análise do líquido pleural de pacientes suspeitos.

4.2 Objetivos secundários:

- 4.2.1 Determinar a acurácia do TRM-TB no diagnóstico de TB pleural, a partir da análise do líquido pleural e fragmento de biópsia;
- 4.2.2 Comparar a acurácia do TRM-TB com a da análise histopatológica e o cultivo em meio convencional para TB.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo prospectivo em que o planejamento inicial foi estudar 20 pacientes adultos, de ambos os sexos, com 18 anos ou mais de idade, com suspeita clínica e radiológica de TB pleural. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Fundação CECON por meio da Plataforma Brasil e foram iniciadas as coletas de amostras em janeiro de 2016 com previsão de 6 meses para o término. Esta amostra foi estimada por cálculo estatístico. Os pacientes foram, na sua maioria, provenientes da Policlínica Cardoso Fontes, por ser um centro de referência para tratamento de tuberculose na cidade de Manaus. Alguns pacientes foram referenciados de outros serviços, tais como o Ambulatório Araújo Lima (AAL) e o Instituto de Medicina Tropical do Amazonas (IMTAM).

Todos os pacientes encaminhados para o estudo foram avaliados quanto a sua história clínica (anamnese e exame físico), e ao seu exame radiológico (ver figura 1).

Foram excluídos os pacientes que apresentaram, na avaliação clínica, outro diagnóstico plausível para o derrame pleural, como, por exemplo, aqueles com insuficiência cardíaca descompensada, bem como aqueles que não se enquadraram na faixa etária prevista para o estudo e os que apresentaram contra-indicação para a realização dos procedimentos necessários para investigação etiológica do derrame pleural.

Após a leitura e aprovação dos pacientes do termo de consentimento, aqueles que concordaram com a inclusão no estudo, foram submetidos à toracocentese diagnóstica com retirada mínima de 20ml de líquido e também a biópsia pleural percutânea com agulha de Cope, com retirada de 4 fragmentos de pleura.

Estes procedimentos – toracocentese e biópsia de pleura - foram realizados na Fundação CECON, por já ser um centro de referência para a realização dos mesmos. Os procedimentos seguiram as normas e rotinas previstas pela Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia.

O líquido pleural foi dividido em 3 alíquotas em frascos de vidro estéreis, sem soluções conservantes, sendo enviado 1 parte para análise citológica e bioquímica no laboratório de análises da FCECON e 2 partes para cultura para TB em meio convencional sólido (Ogawa-Kudoh) e para realização do TRM-TB, respectivamente no laboratório de micobacteriologia e de biologia molecular da Policlínica Cardoso Fontes.

Dos 4 fragmentos de pleura obtidos, 2 foram enviados em formalina para o laboratório de anatomopatologia do HUGV para a confecção de lâminas histopatológicas e análise por patologista. Os outros 2 fragmentos foram enviados em solução salina para o laboratório de

micobacteriologia e de biologia molecular da Policlínica Cardoso Fontes para a realização do TRM-TB e para cultura em meio convencional sólido (Ogawa-Kudof)

As culturas, em meio convencional sólido para micobactéria, tanto do líquido pleural quanto do fragmento de biópsia de pleural seguiram as normas preconizadas pelo laboratório de micobacteriologia da Policlínica Cardoso Fontes.

O Teste rápido molecular para diagnóstico de tuberculose foi realizado conforme as normas previstas para a sua elaboração, de acordo com o relatório nº49 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2012). Da alíquota de líquido pleural enviada para o laboratório, foram retirados 2ml transferidos para o cartucho teste, que foi inserido na plataforma teste TRM-TB (aparelho – Cepheid Xpert® MTB/RIF), que fez toda a análise automatizada. O resultado obtido saiu impresso em 105 minutos, demonstrando a presença ou não do bacilo e a resistência ou não a rifampicina.

Para as biópsias de pleura, inicialmente os fragmentos foram macerados em solução salina estéril, para depois serem misturados à solução reagente, que deixa o material mais fluido na proporção de 2:1. Foram agitados em temperatura ambiente numa média de 10 agitações e depois ficaram em repouso por 15 minutos. Enfim, foram retirados 2ml deste material liquefeito, inseridos no cartucho teste e analisados pela plataforma teste TRM-TB em aproximadamente 105 minutos, demonstrando se havia a presença ou não do DNA do bacilo e a resistência ou não à rifampicina.

Inicialmente foi realizada uma análise descritiva dos dados obtidos, depois foram calculados sensibilidade, especificidade e intervalo de confiança para cada um dos procedimentos empregados e realizadas comparações com testes como o Qui-quadrado de Pearson e Teste Exato de Fisher. O nível de significância utilizado foi de 5%.

FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA

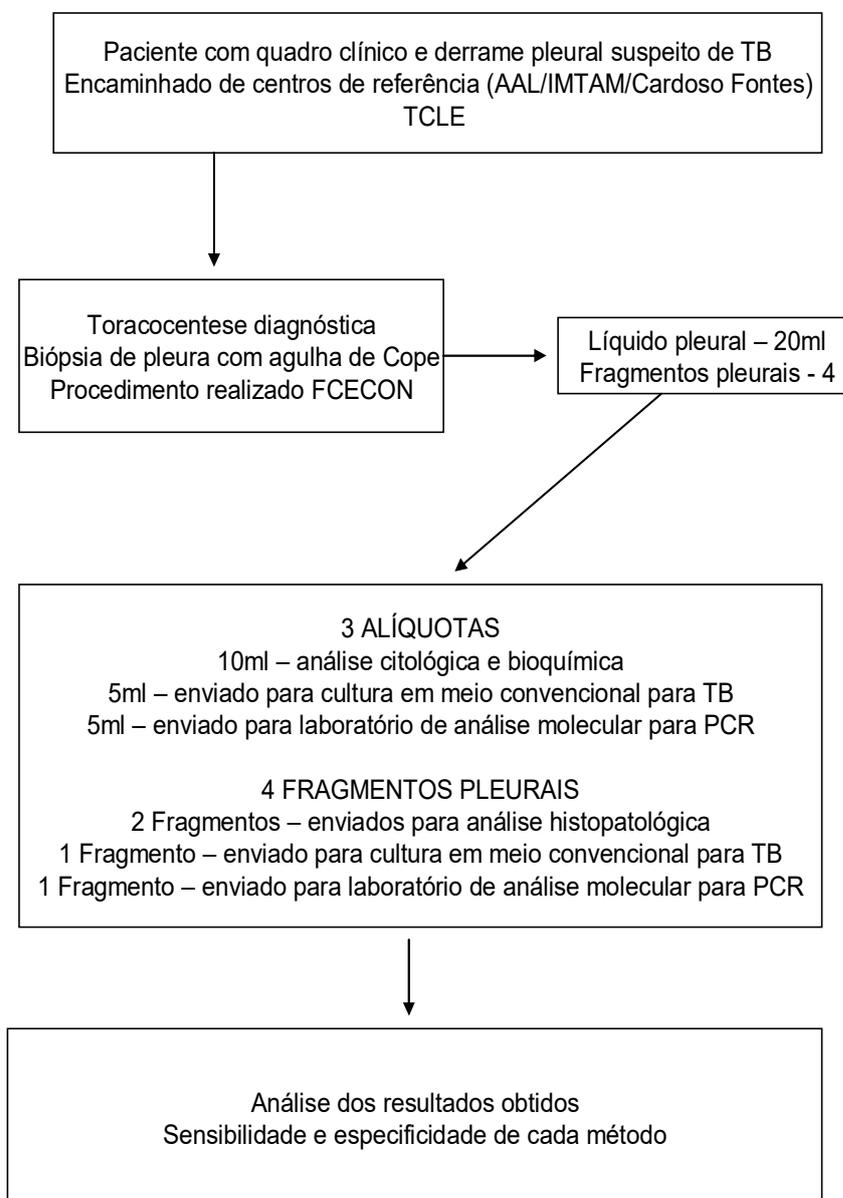


Figura 7: Fluxograma da metodologia aplicada na pesquisa

6. RESULTADOS

Foram incluídos 17 pacientes, de 20 inicialmente planejados. Este fato deu-se em virtude da suspensão em todo território nacional da oferta do exame TRM-TB pelo sistema único de saúde (SUS), durante o tempo previsto para a execução desta pesquisa.

Destes 17 pacientes, 10 foram do sexo masculino e 7 do feminino. A faixa etária obtida foi de 19 – 86 anos com uma idade média de 44 anos.

Quinze pacientes apresentaram derrame pleural unilateral e, 2 casos, tinham derrame pleural bilateral. Dos derrames pleurais unilaterais 10 foram à direita e 5 à esquerda.

A análise do líquido pleural mostrou que 16 eram exsudatos e 1 era um transudato. O aspecto do líquido evidenciou 11 derrames amarelo-citrinos, 2 sero-hemáticos, 1 francamente hemorrágico e 3 com aspecto purulento (empiema).

A análise histopatológica dos fragmentos pleurais evidenciou 7 casos com padrão histológico compatível com tuberculose, 2 casos com neoplasia e 8 casos cujo laudo era de pleurite inespecífica.

O resultado do TRM-TB na análise do líquido pleural detectou o bacilo em apenas 1 caso. Nos demais não foi evidenciada a presença do bacilo.

O resultado do TRM-TB nos fragmentos de biópsia de pleura não detectou a presença do bacilo em nenhuma amostra.

A cultura para TB em meio convencional do líquido pleural não evidenciou crescimento em nenhuma amostra das 17 enviadas.

Por outro lado, a cultura para TB em meio convencional do fragmento de biópsia de pleura teve crescimento em 1 amostra de paciente. Todas as demais não apresentaram presença do bacilo, mesmo naquelas em que a análise histopatológica do fragmento foi compatível com tuberculose pleural.

Do total de 17 pacientes incluídos no trabalho, 11 tiveram o diagnóstico confirmado de tuberculose por meio de parâmetros clínicos, histopatológicos, microbiológicos (cultura) ou moleculares (TRM-TB).

O caso com TRM-TB positivo no líquido pleural e a cultura em meio convencional do fragmento de biópsia de pleura com crescimento bacteriano foram de pacientes diferentes.

O exame do ADA não foi realizado por não dispormos do kit para o exame neste trabalho.

Segue abaixo tabela descritiva da amostra incluída neste estudo.

Tabela 1: Tabela de medidas descritivas para as variáveis envolvidas no modelo pela variável diagnóstico médico, acompanhadas de frequência Absoluta, frequência relativa e p valor do teste exato de Fisher.

Análise descritiva da amostra				
Variável	NÃO TB (%)	SIM TB (%)	TOTAL	PVALOR
Sexo				1
F	2 (33,33%)	5 (45,45%)	7	
M	4 (66,66%)	6 (54,54%)	10	
Pulmão Doente				
Bilateral	2 (33,33%)	0 (0%)	2	
HTD	2 (33,33%)	8 (72,72%)	10	
HTE	2 (33,33%)	3 (27,27%)	5	
Aspecto do líquido				0,1
Amarelo	3 (50%)	8 (72,72%)	11	
Empiema	0 (0%)	3 (27,27%)	3	
Hemático	2 (33,33%)	0 (0%)	2	
Hemorrágico	1 (16,66%)	0 (0%)	1	
Caract. do líquido				0,07
Exsudato	5 (83,33%)	11 (100%)	16	
Transudato	1 (16,66%)	0 (0%)	1	
Citologia do líquido				0,51
Linfocitário	6 (100%)	8 (72,72%)	14	
Neutrofilico	0 (0%)	3 (27,27%)	3	
CulturaL				-
Não	6 (100%)	11 (100%)	17	
PCRL				1
Não	6 (100%)	10(90,90%)	16	
Sim	0 (0%)	1 (9,09%)	1	
BX de pleura				0,03
Não	6 (100%)	4 (36,36%)	10	
Sim	0 (0%)	7 (63,63%)	7	
Culturabx				1
Não	6 (100%)	10 (90,90%)	16	
Sim	0 (0%)	1 (9,09%)	1	
PCR BX				-
Não	6 (100%)	11 (100%)	17	

Legenda: CulturaL (cultura do líquido pleural)/PCRL (TRM-TB para o líquido pleural)/BX de pleura (Biópsia de fragmento pleural)/Culturabx (cultura do fragmento de biópsia de pleura)/PCR BX (TRM-TB do fragmento de biópsia de pleura) – Fonte: Pesquisa de campo, 2016.

A sensibilidade do TRM-TB para o líquido pleural como método para diagnóstico de TB pleural, na amostra do trabalho, foi extremamente baixa (9%). Não foi possível estimar a

sensibilidade da cultura em meio sólido do líquido pleural, porque não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra.

A sensibilidade do TRM-TB para o fragmento de biópsia de pleura não pode ser estimada por não apresentar detecção do DNA da micobactéria em nenhuma amostra. A cultura em meio convencional sólido dos fragmentos de biópsia de pleura apresentou crescimento em 1 amostra, evidenciado, neste trabalho, uma sensibilidade de 9%.

A análise histopatológica dos fragmentos de biópsia de pleura foi, sem sombra de dúvida, o método com melhor desempenho para o diagnóstico de derrame pleural tuberculoso, apresentando uma sensibilidade, na amostra avaliada, de 63% e uma acurácia como método diagnóstico de 76%.

Segue abaixo tabela que mostra a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia para o estudo da eficiência dos testes avaliados neste trabalho.

Tabela 2: Medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia para o estudo da eficiência dos testes CulturaL, PCRL, Bx de pleura, Culturabx e PCRBX considerando o diagnóstico médico como o exame padrão ouro.

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Acurácia
CulturaL	0	1	0	0,352941	0,352941
PCRL	0,090909	1	1	0,375	0,411765
BX de pleura	0,636364	1	1	0,6	0,764706
Culturabx	0,090909	1	1	0,375	0,411765
PCR BX	0	1	0	0,352941	0,352941

Fonte: Pesquisa de campo, 2016.

Podemos notar pela Tabela 2 que a biópsia do fragmento da pleura foi o exame que, em geral, demonstrou a melhor sensibilidade enquanto os demais apresentaram um péssimo comportamento nesse quesito, incluindo o TRM-TB do fragmento de pleura e a cultura para o líquido pleural.

A tabela mostra, porém, um alto nível de especificidade resguardando o médico do pior erro a ser cometido, que é: diagnosticar um paciente como saudável quando na verdade ele tem tuberculose.

Entretanto, o valor preditivo positivo dos testes – ou a probabilidade de ser tuberculose, caso o teste tenha sido positivo – quando feito pelo PCRL, BX de pleura e Culturabx foi alto, enquanto o da CulturaL e principalmente PCR BX foi baixíssimo. Isso certamente traduziu o pouco poder de detecção dos testes.

Por outro lado, o valor preditivo negativo – ou probabilidade de não ser tuberculose, para um resultado negativo dos testes, foi alta para biópsia de pleura e baixa para os demais, reflexo direto da sensibilidade mais elevada desse teste.

7. DISCUSSÃO

O diagnóstico etiológico da tuberculose pleural ainda é um desafio, não somente para o Brasil, quanto para outros países com elevada incidência de tuberculose e grande número de casos suspeitos de derrame pleural em investigação.

A necessidade de realização de procedimentos invasivos, infelizmente, na prática clínica, leva a retardo diagnóstico, embora seja fundamental para o esclarecimento e confirmação diagnóstica.

A tentativa de se obter um método que, mesmo com a necessidade de realização de procedimento invasivo, fosse efetivo, ágil e confirmatório do ponto de vista etiológico, é fundamental, pois, desta forma, possibilitaria o início precoce do tratamento e um controle mais efetivo da doença.

A expectativa quanto à validade do uso de uma técnica de amplificação genética como o TRM-TB, capaz não apenas de confirmar o diagnóstico etiológico para tuberculose, como também de liberar um resultado em menos de 2 horas é extremamente elevada.

Vários estudos tentaram avaliar a efetividade do TRM-TB para o diagnóstico de formas extrapulmonares de tuberculose, sendo selecionados aqueles com similaridade metodológica ao presente trabalho e com ênfase ao diagnóstico da TB pleural.

Infelizmente os levantamentos realizados ratificam os resultados obtidos neste trabalho, pois mostram que a sensibilidade do método para a investigação de derrame pleural tuberculoso é baixa.

Hilleman *et al.* (2011) realizaram um trabalho para avaliar a detecção de tuberculose extrapulmonar por meio do TRM-TB. Eles incluíram 521 amostras de espécimes não respiratórios, 113 destas de líquido pleural de casos suspeitos de tuberculose pleural. Apenas 3 tiveram positividade pelo TRM-TB. 103 foram negativas e 7 foram indeterminadas pelo método. Foram também realizadas as culturas em meio convencional, sendo todas negativas, inclusive as 3 que foram positivas no PCR. O trabalho evidenciou que a sensibilidade do método para o líquido pleural era extremamente baixa, embora a sua especificidade fosse alta. (Tabela 3)

Tabela 3: Resultados da comparação entre o método do TRM-TB (Xpert) e a cultura na detecção do complexo *Mycobacterium tuberculosis*.

Amostra	Nº (%) espécimes						
	TRM-TB (Xpert)			Cultura			Cont.
	Ind.	Neg.	Posit.	Neg.	Posit. MTB	Posit. NTM	
Tecido (245)	6 (2,4%)	216	23	195	30	17	3
Liquor (19)	0	19	0	19	0	0	0
Líquido Gástrico (30)	0	22	8	19	8	0	3
Líquido Pleural (113)	7 (6,2%)	103	3	111	0	0	2
Fezes (23)	3 (13%)	15	5	14	2	0	7
Urina (91)	4 (4,4%)	81	6	75	5	0	11

Legenda: Ind. (Indeterminado); Neg (negativo); Posit (positivo); Posit MTB (positivo para *Mycobacterium tuberculosis*); Posit. NTM (positivo para outras micobactérias); Cont. (Contaminado). Fonte: Hillemann et al (2011).

Em outro estudo com o objetivo de determinar o diagnóstico de TB tanto em amostras pulmonares quanto em extrapulmonares, foi comparado o resultado obtido pela técnica do TRM-TB com a cultura em meio convencional. Em 8 amostras de líquido pleural de casos confirmados de TB pleural, todas foram negativas no TRM-TB, embora 4 delas tenham tido cultura com crescimento da micobactéria. Estes resultados levaram os autores a concluir que, para o líquido pleural, os resultados não positivos podem ser decorrentes do fato da doença ser extremamente paucibacilar ou por talvez apresentar alguma substância inibidora que impede a amplificação pelo teste molecular (ZEKA; TASBACAN; CAVUSOGLU, 2011).

Em estudo com igual objetivo e metodologia, foi evidenciado sensibilidade de 29% para o derrame pleural, o que foi considerado uma “pobre sensibilidade”. Justificou-se esta ocorrência pelo fato de serem as amostras paucibacilares. (VADWAI et al., 2011).

Outro estudo em que foram incluídos 25 pacientes com derrame pleural em investigação diagnóstica, todos foram submetidos a toracocentese e biópsia de pleura sendo enviado o líquido pleural para cultura e para o TRM-TB e o fragmento de biópsia para análise histopatológica. Foram confirmados 20 casos de tuberculose pleural. O TRM-TB do líquido pleural apresentou sensibilidade de 25% (5/20) e a cultura do líquido apresentou sensibilidade de 45% (9/20), sendo ambas consideradas baixas e com provável explicação pelo fato de ser uma forma paucibacilar da doença. O método com melhor acurácia diagnóstica foi a biópsia de pleura com análise histopatológica com sensibilidade de 94,7% (18/20) (FRIEDRICH; VON GROOTE-BIDLINGMAIER; DIACON, 2011).

Christopher *et al.* (2013) avaliaram 33 pacientes com TB pleural. Destes casos apenas 4 tiveram positividade na análise do líquido pleural pelo TRM-TB. 8 dos casos tiveram cultura do fragmento em meio convencional positiva, enquanto, como o nosso trabalho, nenhuma cultura do líquido pleural foi positiva. O exame que mais contribuiu para a confirmação diagnóstica foi o histopatológico com 25 casos com padrão compatível com tuberculose na amostra de tecido examinada. A sensibilidade deste trabalho para o TRM-TB, no diagnóstico por meio da avaliação do líquido pleural, foi de 13%, concluindo que o uso desta plataforma para o diagnóstico de TB pleural é limitado.

Lusiba *et al.* (2014) realizaram um estudo em que foram incluídos 116 pacientes com derrame pleural em investigação. Destes, 87 tiveram diagnóstico confirmado de tuberculose pleural, sendo considerado o padrão de referência a cultura do fragmento de pleura e/ou o resultado histopatológico da biópsia. O TRM-TB foi realizado por meio da análise do líquido pleural sendo positivo em 25 casos, o que determinou uma sensibilidade de 28,7% que foi considerada baixa. O estudo concluiu que o diagnóstico de TB pleural por meio do uso do TRM-TB pela análise do líquido pleural tem reduzida acurácia diagnóstica e não deve ser utilizado como teste inicial para a avaliação de casos suspeitos de derrame pleural tuberculoso.

Em outro estudo comparando o diagnóstico de derrame pleural por tuberculose utilizando o TRM-TB para a análise do líquido pleural com a biópsia de pleura por agulha por meio da avaliação histopatológica, foram incluídos 25 pacientes sendo evidenciado positividade do teste de PCR em apenas 2 casos, enquanto a biópsia de pleura evidenciou 14 casos compatíveis com tuberculose. Neste trabalho a conclusão obtida foi que o método do TRM-TB é limitado para o diagnóstico do derrame pleural tuberculoso por meio da análise do líquido, sendo considerado o melhor método para o diagnóstico a avaliação histopatológica do fragmento de pleura. (JAVED *et al.*, 2014).

Em uma revisão e meta-análise da performance do TRM-TB para o diagnóstico do derrame pleural tuberculoso foram avaliados 24 estudos que totalizaram 2486 pacientes. O resultado desta meta-análise foi que a sensibilidade do TRM-TB para o diagnóstico de TB pleural foi de 22,7% utilizando uma composição de referência como o padrão diagnóstico. Neste trabalho não foi possível estabelecer a comparação com a biópsia de pleura. A conclusão do mesmo foi que o TRM-TB tem uma baixa sensibilidade para o diagnóstico de TB pleural, por meio da avaliação do líquido pleural, mas, potencialmente, pode evitar a necessidade de procedimentos mais invasivos em aproximadamente $\frac{1}{4}$ dos pacientes com derrame pleural por TB (SEHGAL *et al.*, 2016).

Como pode ser observado os resultados encontrados na literatura são bastante semelhantes com os alcançados neste trabalho em que a potencial utilização do TRM-TB não encontra o respaldo fático, sendo em todos, incluso este estudo, a sensibilidade do método muito baixa.

8. CONCLUSÃO

O TRM-TB tem validação pela OMS para o seu uso em amostras de escarro com elevada sensibilidade e especificidade. Vários trabalhos também tem demonstrado a utilidade desta plataforma para o diagnóstico de formas extrapulmonares de tuberculose com valores de sensibilidade que variam de acordo com o espécime analisado.

Neste estudo, o diagnóstico do derrame pleural tuberculoso, com a utilização do TRM-TB para avaliação do líquido pleural, mostrou baixa sensibilidade e reduzida acurácia, enquanto a avaliação do fragmento de biópsia de pleura, pelo mesmo método, não evidenciou sensibilidade, pois não houve detecção do DNA bacteriano em nenhuma amostra.

A cultura em meio convencional sólido do líquido pleural não evidenciou sensibilidade, porque não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra, enquanto a cultura do fragmento de biópsia mostrou baixa sensibilidade e reduzida acurácia.

A análise histopatológica do fragmento de biópsia de pleura teve uma acurácia elevada para a confirmação diagnóstica da TB pleural, sendo, portanto, o procedimento que melhor desempenho apresentou para o diagnóstico.

O exame histopatológico da biópsia de pleura foi o método diagnóstico com maior sensibilidade e acurácia para o diagnóstico da TB pleural, superando, neste estudo, tanto a investigação microbiológica (cultura), quanto o teste genético (TRM-TB).

É possível que esses resultados se devam ao fato da apresentação desta forma da doença ser extremamente paucibacilar, com consequente distribuição desigual dos bacilos pelo material obtido e também pelo fato do líquido pleural, à medida que se torna predominantemente linfocítico, com o avançar do tempo de evolução da doença, diminuir a positividade da cultura por tornar os bacilos remanescentes inviáveis.

Portanto, devido à baixa sensibilidade e a reduzida acurácia do método do TRM-TB, por meio da análise do líquido pleural, para o diagnóstico da TB pleural, não se recomenda a sua utilização como método inicial de investigação de casos suspeitos de derrame pleural tuberculoso.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-URIA, Geraldo *et al.* Rapid Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in HIV-Infected Patients. Comparison of LED Fluorescent Microscopy and the GeneXpert MTB/RIF Assay in a District Hospital in India. *Tuberc.Res.Treat.*, v. 2012, p. 932862, 2012.

ANDRADE, Edson O; SOUZA Jonas S. Derrame pleural. In: ANDRADE Edson O.; WESTPHAL, Fernando L. Doenças do tórax. Manaus: EDUA, 2012. Cap. 7, p. 101-111.

ANTONANGELO, Leila. Citologia. In: VARGAS, Francisco S; TEIXEIRA, Lisete R, MARCHI, Evaldo. Derrame Pleural. São Paulo: ROCA, 2004. Cap. 18, p. 125-142.

BOEHME, Catharina C. *et al.* Rapid molecular detection for tuberculosis and rifampicin resistance. *New England Journal of Medicine*, Boston, v. Sep, n. 1, p. 1005-1015, 2010.

BOEHME, Catharina C. *et al.* Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet*, London, v. 377, p. 1495-1505, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relatório nº49. Proposta de incorporação do Xpert MTB/RIF como teste de diagnóstico de tuberculose e para indicação de resistência a Rifampicina. 2012

BRÍGLIA, Maria Francisca; BRÍGLIA, Cristina; SALÉM, Júlia. Escarro induzido: maior rendimento com menor custo na tuberculose provável. *J.Bras Pneumol.*, São Paulo, v. 26, n. 3, p. S8-S8, 2000.

CAPELOZZI, Vera L. Contribuição da biópsia pleural. In: VARGAS, Francisco S.; TEIXEIRA, Lisete R.; MARCHI, Evaldo. Derrame Pleural. São Paulo: ROCA, 2004. Cap. 19, p. 143-152.

CHANG, Kai *et al.* Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: A meta-analysis. *Journal of Infection*, England, v. 64, n. Fev, p. 580-588, 2012.

COMITÊ DE TUBERCULOSE. III Diretriz para Tuberculose da SBPT. *J.Bras.Pneumologia*, São Paulo, v. 35, n. 10, 2009.

CHRISTOPHER, Devasahayam. J. *et al.* Performance of Xpert MTB/RIF on pleural tissue for the diagnosis of pleural tuberculosis. *European Respiratory Journal*, V 42, p. 1427-1429, 2013.

FRIEDRICH, Sven. O.; VON GROOTE-BIDLINGMAIER, Florian; DIACON, Andreas H. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pleural tuberculosis. *J.Clin.Microbiol.*, v. 49, n. 12, p. 4341-4342, 2011.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Descoberto genótipo da bactéria prevalente nos casos de tuberculose no Rio. 14/03/2008. Disponível: < <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=329&sid=32> > Acesso em: 16/12/2015.

FUNARI, Marcelo Buarque Gusmão. Radiografia e Tomografia Computadorizada. In: VARGAS, Francisco S; TEIXEIRA, Lisete R, MARCHI, Evaldo. Derrame Pleural. São Paulo: ROCA, 2004. Cap. 8 , p. 53-64.

HILLEMANN, Doris *et al.* Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. *J.Clin.Microbiol.*, v. 49, n. 4, p. 1202-1205, 2011.

JAVED, Nasir *et al.* Role of gene Xpert in diagnosis of tuberculous pleural effusion: comparison with pleural biopsy. *European Respiratory Journal*, V 44, p. 2655-2656, 2014.

KALANTRI, Yatiraj; HEMVANI, Nanda; CHITNIS, D. S. Evaluation of real-time polymerase chain reaction, interferon-gamma, adenosine deaminase, and immunoglobulin A for the efficient diagnosis of pleural tuberculosis. *Int.J.Infect.Dis.*, v. 15, n. 4, p. e226-e231, 2011.

LAWN, Stephen D. *et al.* Screening for HIV-Associated tuberculosis and rifampicin resistance before antiretroviral therapy using the Xpert MTB/RIF assay: A prospective study. *PLOS Medicine*, v. 8, n. 7, p. 1-10, 2011.

LIGHT, Richard W. Clinical manifestations and useful tests. In: _____. *Pleural Diseases*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007a. Cap. 7 , p. 73-108.

_____. Tuberculous pleural effusions. In: _____. *Pleural Diseases*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2007b. Cap. 13 , p. 211-224.

LUSIBA, John K. *et al.* Evolution of Cepheid's Xpert MTB/RIF test on Pleural Fluid in the Diagnosis of Pleural Tuberculosis in a High Prevalence HIV/TB setting. *Journal Plos one*, 2014.

MAURYA, A. K. The advantage of using IS6110-PCR vs. BACTEC culture for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* from pleural fluid in northern India. *Biosci. Trends*, v. 5, n. 4, p. 159-164, 2011.

ONISHI, Roberto; SALES, Roberta Karla Barbosa. Semiologia. In: VARGAS, Francisco S.; TEIXEIRA, Lisete R.; MARCHI, Evaldo. Derrame Pleural. São Paulo: ROCA, 2004. Cap. 7 , p. 47-52.

ROSSO, Franciele *et al.* Evaluation of real-time PCR of patient pleural effusion for diagnosis of tuberculosis. BMC.Res.Notes, v. 4, p. 2792011a.

SCOTT, Lesley Erica *et al.* Diagnosis accuracy of Xpert MTB/RIF for extrapulmonary tuberculosis specimens; establishing a laboratory testing algorithm for South Africa. Journal of clinical microbiology, v. 52, n. 6, p. 1818-1823, 2014.

MANAUS (Município). Secretaria Municipal de Saúde de Manaus. Departamento de Vigilância Ambiental e Epidemiológica. Programa de Controle da Tuberculose. Dezembro 2016.

SEHGAL, Inderpaul Singh *et al.* Diagnostic Performance of Xpert MTB/RIF in Tuberculous Pleural Effusion: Systematic Review and Meta-analysis. Journal of clinical microbiology, v. 54, n. 4, p. 1133-6, 2016

SEISCENTO, Márcia; CONDE, Marcus Barreto; DALCOLMO, Margareth Maria Pretti. Tuberculous pleural effusions. J. Bras. Pneumol., v. 32 Suppl 4, p. S174-S181, 2006.

SEISCENTO, Márcia *et al.* Epidemiological aspects of pleural tuberculosis in the state of Sao Paulo, Brazil (1998-2005). J.Bras Pneumol., v. 35, n. 6, p. 548-554, 2009.

SOUZA, Jonas Silva; BRÍGLIA, Maria Francisca Siqueira. Tuberculose. In: ANDRADE, Edson O; WESTPHAL Fernando L. Doenças do Tórax. Manaus: EDUA, 2012. Cap. 4, p. 66-75.

STEINGART, Karen R. *et al.* Xpert MTB/RIF Assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. Cochrane Database of Systematic Review, n. 1, p. 1-38, 2013.

VADWAI, Viral *et al.* Xpert MTB/RIF: a new pillar in diagnosis of extrapulmonary tuberculosis? J.Clin.Microbiol., v. 49, n. 7, p. 2540-2545, 2011.

VORSTER, Morne J. *et al.* Tuberculous pleural effusions: advances and controversies. Journal of Thoracic Disease, v 7, n 6, p. 981-991, 2015.

YANG, B. *et al.* Comparison of loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR for the diagnosis of tuberculous pleurisy. Lett.Appl.Microbiol., v. 53, n. 5, p. 525-531, 2011.

YEBOAH-MANU, D.; YATES, M. D.; WILSON, S. M. Application of a simple multiplex PCR to aid in routine work of the mycobacterium reference laboratory. *Journal of clinical microbiology*, v. 39, n. 11, p. 4166-8, 2001. ISSN 0095-1137 (Print) 0095-1137 (Linking).

ZEKA, Arzu N.; TASBAKAN, Sezai; CAVUSOGLU, Cengiz. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *Journal of clinical microbiology*, v 49, n 12, p.4138-4141, 2011.

APÊNDICE – Termo de consentimento livre e esclarecido

FUNDAÇÃO CENTRO DE CONTROLE EM ONCOLOGIA DO AMAZONAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE.

Convidamos o (a) senhor (a) para participar da pesquisa Avaliação da técnica do TRM-TB para diagnóstico de tuberculose pleural, através da análise do líquido pleural, de pacientes com derrame pleural tuberculoso provável, sob responsabilidade do pesquisador Mário Sérgio Monteiro Fonseca.

Sua participação é voluntária e se dará por meio do fornecimento do líquido pleural e de fragmentos de pleura, obtidos, através da realização de toracocentese (punção torácica) e de biópsia de pleura por agulha de Cope. Tais procedimentos são realizados rotineiramente para auxílio diagnóstico de pacientes com derrame pleural sem etiologia definida. Contudo, a sua participação permitirá o uso destes materiais biológicos para pesquisa genética que pode confirmar ou não a presença do bacilo da tuberculose nos mesmos.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são os inerentes aos procedimentos realizados, que podem ser listados a seguir: pneumotórax (presença de ar no tórax); hemotórax (presença de sangue no tórax); edema agudo de reperfusão; infecção do local da punção e; síndrome vagal (sensação de desmaio, sudorese e náusea). Caso algum desses efeitos colaterais ocorram, os mesmos serão evidenciados e realizado as condutas necessárias para a sua reversão ou controle.

Se você aceitar participar estará contribuindo para o avanço na pesquisa clínica, além de, poder proporcionar a viabilidade de um novo método de auxílio diagnóstico para a tuberculose pleural.

Se depois de consentir em sua participação o Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois das coletas das amostras, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas, sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer outra informação o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço avenida Francisco Orellana 215, bairro D. Pedro, pelo telefone 092 36554 600 ou 092 99982 1672 (celular pessoal do pesquisador)

Consentimento pós-informação

Eu, _____
fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisada minha colaboração e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Assinatura do participante

Data: ____/____/____

Assinatura do pesquisador responsável

