

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Análise do Desempenho do Teste Rápido Molecular no  
Diagnóstico da Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar, em  
Hospital de Referência**

Autora: Robéria Mandú da Silva Siqueira

Orientador: Dr. Flávio Ribeiro de Araújo

Co-orientadora: Dr. Alinne Castro.

Campo Grande-  
Mato Grosso do Sul  
Fevereiro - 2019

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Análise do Desempenho do Teste Rápido Molecular no  
Diagnóstico da Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar, em  
Hospital de Referência**

Autora: Robéria Mandú da Silva Siqueira

Orientador: Dr. Flávio Ribeiro de Araújo

Co-orientadora: Dr. Alinne Castro

"Trabalho apresentado, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA, no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco - Área de concentração: Biotecnologia"

Campo Grande  
Mato Grosso do Sul  
Fevereiro – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca da Universidade Católica Dom Bosco - UCDB, Campo Grande, MS, Brasil)

S618a Siqueira, Robéria Mandú da Silva  
Análise do desempenho do teste rápido molecular no  
diagnóstico da tuberculose pulmonar e extrapulmonar,  
em hospital de referência / Robéria Mandú da Silva  
Siqueira; orientador Flávio Ribeiro de Araújo; coorientadora  
Alinne Pereira de Castro.-- 2019.  
82 f.: il.; 30 cm  
  
Dissertação (mestrado em biotecnologia) - Universidade  
Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2019  
Inclui bibliografia  
  
1. Diagnóstico microbiológico. 2. Tuberculose - Diagnósticos.  
3. Mycobacterium tuberculosis. I.Araújo, Flávio Ribeiro  
de. II.Castro, Alinne Pereira de. III. Título.

CDD: 616.0758



UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO  
Inspira o futuro

**Análise do Desempenho do Teste Rápido Molecular no Diagnóstico da  
Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar, em Hospital de Referência**

Autora: Robéria Mandú da Silva Siqueira

Orientador: Prof. Dr. Flávio Ribeiro de Araújo

Coorientadora: Profa. Dra. Alinne Pereira de Castro

TITULAÇÃO: Mestre em Biotecnologia  
Área de concentração: Biotecnologia.

APROVADA em 12 de fevereiro de 2019.

Prof. Dr. Flávio Ribeiro Araújo - EMBRAPA

Prof. Dr. Cristiano Marcelo Espinola Carvalho - UCDB

Profa. Dra. Vanessa Terezinha Gubert de Matos - UFMS

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a eu decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir (Cora Coralina).”

A Deus, que me deu coragem para questionar realidades e propor sempre um novo mundo de possibilidades.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Mãe, seu cuidado e dedicação sempre me deram a esperança para seguir. Pai, sua presença significa segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada. Ao meu amado esposo, sei que não foi fácil, mas o agradeço por sua paciência e apoio nesta jornada.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Dr. Flávio Ribeiro de Araújo e minha co-orientadora Dr.<sup>a</sup> Alinne de Castro que se dedicaram para que este trabalho fosse realizado, obrigada pela acolhida e dedicação.

Agradeço aos profissionais do Hospital São Julião, Claudia Gonçalves Gouveia e Dr. Erivaldo Elias Junior, e aos do laboratório da Embrapa que me apoiaram nessa pesquisa, em especial Gisele Olivas de Campos Leguizamon que se mostraram dispostos a contribuir para a pesquisa. À Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), instituição de ensino que incentiva seus alunos ao desenvolvimento profissional, com professores que desempenham brilhantemente seu papel.

## **BIOGRAFIA**

Robéria Mandú da Silva Siqueira, nascida em 25 de outubro de 1991, em Campo Grande – MS, filha de Cicero Roberto Felix da Silva Siqueira e Elania Claudino Mandú da Silva, a primogênita de seis irmãos.

Graduou-se em Enfermagem pela Universidade Católica Dom Bosco em 2014, em 2015 iniciou a especialização pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul em Residência Multiprofissional em Cuidados Continuados Integrados – área de concentração saúde do idoso, finalizando em 2016, em 2017 iniciou como enfermeira contratada para trabalhar na Clínica Médica do Hospital São Julião e também foi quando iniciou o mestrado em Biotecnologia na UCDB.



## RESUMO

**Introdução:** O Teste Rápido Molecular – Tuberculose, GeneXpert *Mycobacterium tuberculosis*/Rifampicina (GeneXpert MTB/RIF), permite a confirmação do diagnóstico da Tuberculose, identificando a presença do *Complexo Mycobacterium tuberculosis* (CMT) e mutações que conferem resistência à rifampicina. **Objetivo:** Analisar o desempenho do Teste Rápido Molecular (TRM) no diagnóstico da Tuberculose pulmonar (TBP) e extrapulmonar (TBE), de laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil. **Métodos:** Trata-se de uma pesquisa quantitativa, descritiva, retrospectiva com utilização de banco de dados de resultados laboratoriais, no contexto da rotina operacional de um hospital de referência para diagnóstico e tratamento de tuberculose no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, durante o período de agosto de 2015 a junho de 2018. A análise estatística foi realizada com variáveis categóricas de resultados laboratoriais expressas em frequência e o teste não paramétrico do qui-quadrado, com auxílio do programa GraphPad Prisma, considerando um nível de significância de 5%. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos, vinculado a Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (CAAE: 44087215.3.0000.0021). **Resultados:** Foram analisadas 1023 amostras clínicas de pacientes submetidas ao GeneXpert MTB/RIF simultaneamente com a realização do exame de cultura para *M. tuberculosis*. Houve predominância do sexo masculino 719 (70,2%) e a média de idade da população do estudo foi de 47,45 ± 16,52 anos. Os pacientes atendidos em hospitais constituíram a principal origem das amostras testadas, com 902 (88,1%). Obteve-se pouca diferença em soronegativa e soropositiva para o HIV. Já em 26 das amostras a procedência foi de moradores de rua (2,5%). Das amostras pulmonares o escarro foi 576 (82,2%), já as amostras extrapulmonares o líquido cefalorraquidiano foi maior com 168 (52,3%). O GeneXpert MTB/RIF apresentou sensibilidade de 63,0% e a especificidade foi de 98,6% quando comparado a cultura. Não foi significativo o resultado das amostras de resistência à rifampicina (RIF). O Teste Rápido Molecular - Tuberculose demonstrou ser mais sensível em pacientes com HIV soropositivo com 95,2 [76,2-99,8], porém mais específico para HIV negativo com 98,2 [96,3 – 99,3], além disso, demonstrou ser mais sensível em pacientes privados de liberdade com 75,0 [55,1 – 89,3] do que moradores de rua 38,4 [13,8 – 68,4], porém, mais específico para moradores de rua com 100 [75,3 – 100]. **Conclusão:** No campo operacional deste estudo o TRM-TB apresentou menor sensibilidade que a maioria dos relatos para tuberculose pulmonar, porém, com especificidade significativa, sendo uma ferramenta rápida para a triagem de casos novos. Foi identificado entre moradores de rua com baixa sensibilidade do teste molecular. O TRM-TB não elimina a necessidade de métodos diagnósticos tradicionais.

## ABSTRACT

**Introduction:** Laboratory methods identify *M. tuberculosis*, both bacilloscopy and culture or molecular methods can be performed. The WHO recommends the use of TRM-TB (GeneXpert MTB / RIF) as it confirms the presence of *M. tuberculosis* and identifies mutations that confer resistance of the mycobacterium to rifampicin within two hours. **Methods:** This is a quantitative, descriptive, retrospective study using a laboratory results database, in the context of the operational routine of a reference hospital for the diagnosis and treatment of tuberculosis in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil, during the period from August 2015 to June 2018. Statistical analysis was performed with categorical variables of laboratory results expressed in frequencies, using the non-parametric chi-square test with the aid of the GraphPad Prisma program, considering a level of significance of 5%. The present study was approved by the Committee of Ethics in Local Human Research (CAAE: 44087215.3.0000.0021). **Results:** 1023 (84.0%) samples were submitted to GeneXpert MTB / RIF simultaneously with the culture test. There was a predominance of males 719 (70,2%) and the mean age of the study population was  $47.45 \pm 16.52$  years, with the highest age group being 40-59, 409 (39,9% ) cases. Patients attended at hospitals constituted the main origin of the samples tested, with 902 (88.1%). The majority were HIV seronegative, representing 520 (50.8%). In 26 of the samples the origin was of street dwellers (2,5%). Of the pulmonary samples the sputum was more expressive with 576 (82,2%), whereas the extrapulmonary samples the cerebrospinal fluid was higher with 168 (52.3%). GeneXpert MTB / RIF showed a better result compared to culture in the identification of *M. tuberculosis*, but the sensitivity of the test was 63,0% and the specificity was 98,6%. Among the culture results, 19 (2%) samples were found, with results for non - tuberculous mycobacteria (NTM), and of these samples, TRM - TB did not detect *M. tuberculosis* in 17 (89,5%) samples. There were 6 samples (31,6%) of patients coinfecting with HIV and the clinical form of the samples found that 1 (5,3%) sample was extrapulmonary and 18 (94,7%) were pulmonary sites. The results of rifampicin resistance (RIF) samples were not significant. TRM - TB has been shown to be more sensitive in HIV positive patients with 95.2 [76.2-99.8], but more specific to HIV negative with 98.2 [96.3 - 99.3], in addition, showed to be more sensitive in patients deprived of liberty with 75.0 [55.1 - 89.3] than those living in the street 38.4 [13.8-68.4], but more specific for homeless people with 100 [ 75.3 - 100]. **Conclusion:** In the operational field of this study, TRM-TB presented lower sensitivity than most reports for pulmonary tuberculosis but with good specificity, being a rapid tool for the screening of new cases. However, in an extrapulmonary sample, the test was more reliable. A higher degree of vulnerability was identified among homeless people with low molecular test sensitivity. TRM-TB does not eliminate the need for traditional diagnostic methods (eg bacilloscopy, culture and TSA) or other molecular methods.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIDS = Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

BAAR = Bacilos Álcool-Ácido Resistentes

BK = Bacilo de Koch

CMTB = Complexo *Mycobacterium Tuberculose*

HIV = Vírus da Imunodeficiência

MTB/RIF= *Mycobacterium tuberculosis*/Rifampicina

PVHIV = Pessoa vivendo com Vírus da Imunodeficiência

SITETB = Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose

TB = Tuberculose

TB-MDR = Tuberculose Resistente a Multidrogas),

TB-XDR = Tuberculose extensivamente Resistente a drogas

TBP = Tuberculose Pulmonar

TBEP = Tuberculose Extrapulmonar

TRM - TB = Teste Rápido Molecular Tuberculose

PCR = Reação em Cadeia da Polimerase

PNCT = Programa Nacional de Controle da Tuberculose

TSA = Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos

UFC = Unidade Formadora de Colônia

## LISTA DE TABELAS

	Página
<p><b>Tabela 1</b> - Características socioepidemiológicas dos pacientes para Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB), em hospital de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, entre agosto de 2015 a junho de 2018. (N = 1023). .....</p>	44
<p><b>Tabela 2</b> – Distribuição dos sítios de coleta de amostras para Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB), em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, no período de 2015 a junho de 2018. (N = 1023). .....</p>	45
<p><b>Tabela 3</b> – Resultados de Teste Rápido Molecular para tuberculose (TRM-TB) segundo detecção em meio de cultura para <i>M. tuberculosis</i>, em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, no período de agosto de 2015 a junho de 2018. (N = 1023). .....</p>	46
<p><b>Tabela 4</b> – Resultados do Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) segundo identificação em cultura do <i>M. tuberculosis</i> em amostras de diferentes formas clínicas de apresentação da doença, (N = 1023). .....</p>	47

## LISTA DE FIGURAS

Página

<b>Figura 1.</b> Análise dos resultados de Teste rápido molecular para tuberculose e cultura segundo coinfeção pelo HIV .(N = 1023). .....	48
<b>Figura 2.</b> Análise do Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) e cultura segundo situação de risco. (N = 1023). <sup>a</sup> .....	49

## SUMÁRIO

	Página
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>OBJETIVOS</b> .....	17
GERAL .....	17
ESPECÍFICOS.....	17
<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
Tuberculose: história e os agentes etiológicos .....	18
Epidemiologia da tuberculose .....	20
Clínica, diagnósticos e tratamento da TB .....	21
Tuberculose resistente a antibiótico .....	27
Referências bibliográficas .....	32
<b>Artigo: Acurácia diagnóstica do ensaio GeneXpert MTR/RIF na Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar</b> .....	40
Introdução .....	42
Métodos.....	44
Tipo de estudo.....	44
Materiais .....	44
Análise estatística.....	45
Ética.....	45
Resultados .....	46
Conclusão .....	56
Referências.....	57
<b>Artigo submetido na Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: “Diagnostic accuracy of the GeneXpert MTR / RIF assay in pulmonary and extrapulmonary tuberculosis.”</b> .....	60
Introduction.....	63
Methods.....	64

Study Design.....	64
Materials .....	64
Statistical analysis.....	65
Ethics.....	65
Results .....	66
Discussion .....	68
Conclusion .....	71
Acknowledgments .....	72
References.....	73
Anexo 1: Normas para publicação na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....	80
Anexo 2: comprovante de submissão na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....	83

## INTRODUÇÃO

A Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa de repercussão social e epidemiológica, alertando à saúde pública. Apesar do reconhecimento da evolução histórica e do sucesso do investimento nos programas de saúde voltados ao combate à TB, a incidência no Brasil ainda permanece elevada em relação a outros países.

É necessário abordar o tratamento, mas também estratégias para o diagnóstico. Surgiram ideias de pesquisas na área de investigação para aprimorar técnicas laboratoriais que auxiliem de maneira mais rápida e eficiente a descoberta de *M. tuberculosis*. O Programa Nacional de Controle de TB do Brasil orienta a aplicabilidade de técnicas laboratoriais para auxiliar no diagnóstico precoce.

A cultura é considerada padrão ouro, desta forma amplamente utilizado no meio, mas algumas preocupações são inerentes, tais como: casos extrapulmonares (considerados mais difíceis de serem identificados, devido à carga bacilar), identificação tardia da resistência a antibióticos, tempo de exame prolongado, riscos como ser morador de rua ou coinfestado pelo HIV.

Nesse contexto foi desenvolvido o teste GeneXpert MTB/RIF, já disponível há alguns anos no Brasil, tem se mostrado como uma poderosa arma no combate à doença, tendo a vantagem de fornecer resultados mais rápidos e com a informação adicional de resistência à rifampicina.

Assim, em 2015 o Laboratório de referência em diagnóstico e tratamento de TB do estado Mato Grosso do Sul, implementou na prática clínica o teste GeneXpert MTB/RIF para a identificação de *M. tuberculosis*. Desta forma, surge o presente trabalho como o primeiro estudo com o enfoque nessa tecnologia no estado, sendo pioneiro na avaliação da acurácia do método em amostras clínicas pulmonares e extrapulmonares.



## OBJETIVOS

### GERAL

Analisar o desempenho do Teste Rápido Molecular no diagnóstico da Tuberculose pulmonar e extrapulmonar, de laboratório de referência do Mato Grosso do Sul-Brasil.

### ESPECÍFICOS

Caracterizar a população de estudo em variáveis, tais como: sexo, idade, caso novo, categorias de amostras clínicas, população vulnerável, como: moradores de rua e privados de liberdade, e coinfecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana.

Comparar o desempenho do teste GeneXpert MTB/RIF com o exame padrão ouro, cultura.

Comparar o desempenho do teste GeneXpert MTB/RIF em amostras de pacientes quando apresentam coinfecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana com os soronegativos.

Comparar o desempenho do GeneXpert MTB/RIF em população vulnerável como moradores de rua com os privados de liberdade.

Comparar o resultado do teste GeneXpert MTB/RIF em amostras clínicas pulmonares com as extrapulmonares.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Tuberculose: história e os agentes etiológicos

A Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, crônica, causada por agentes que fazem parte do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) constituído por vários agentes, dentre estes: *M. tuberculosis* (TB humana) ou bacilo de Koch, descoberto e isolado por Robert Koch; *M. bovis* (TB bovina); *M. bovis* – BCG (Bacilo de Calmette Guérin, cepa vacinal); *M. africanum* (TB humana na África); *M. microti* (TB em roedores) e *M. caprae* (TB em caprinos) (NIEMANN; RICHTER; GERDES, 2002). Também fazem parte do CMTB: *M. canettii* (membro mais antigo filogeneticamente, raramente causa doença em humano) e *M. pinnipedii* (TB em leões marinhos e humanos) (COUSINS et al., 2003).

Foram incluídos ao CMTB: *M. mungi* (TB em mamífero da família Herpestidae) (ALEXANDER et al., 2010) e *M. orygis* (TB em animais da família Bovidae, tipo de antílopes, e em humanos na África e sul da Ásia) (INGEN; BROSCHE; SOOLINGEN, 2012). Na África, foi identificada a presença de uma espécie, denominada de *M. suricattae*, causando a TB no mamífero hospedeiro suricato (SVEN et al., 2013).

A TB era conhecida como *tísica*, do grego *phthisis*, derivado do verbo *phthiso*, com o sentido de decair, consumir, definhar. A TB é uma doença relatada há milhares de anos, sendo descritos sinais dessa enfermidade em achados na coluna de esqueletos do período neolítico (7000-3000 a.C.) e em múmias do Egito (BAILLY, 1950). A história refere a TB como uma doença antiga, em 1922, peritos revelaram que o faraó Toutankhamon morreu aos 19 anos por TB (DUARTE et al., 2017).

A partir do século XIV a palavra *phthisis* se torna sinônimo de *consumptio, onis* (consumção), cujo sentido é o mesmo de *tísica* é uma doença que vai enfraquecendo o indivíduo, levando-o à desnutrição progressiva, à debilidade e à inanição, podendo causar-lhe a morte (OXFORD ENGLISH DICTIONARY, 1978).

Já a palavra Tuberculose (TB), tornou ultrapassados os termos *tísica* e *consumção*, surgiu após a descrição da presença de tubérculos no pulmão e

em outros locais afetados. Francisco La Boe (Sylvius), em 1679, descreveu pela primeira vez, os tubérculos no parênquima pulmonar causados pela TB (LE BOE, 1983).

Outros relatos sobre a doença foram feitos em 1418, no qual o Valesco de Taranta em Montpellier, refere-se à TB como uma úlcera “*pulmonaris et comsuptio toti corpis*”, dedicando a terceira parte de sua obra às doenças do peito e aconselhando o seu tratamento com uma dieta adequada e uma “mezinha” de múltiplos compostos vegetais. No século XVIII, a mortalidade por TB acometia de 300 a 400 pessoas por ano na Europa, por 100.000 habitantes (DUARTE et al., 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde – OMS (2012), a TB é uma das doenças negligenciadas, conhecida como doença tropical, causada por agentes infecciosos, sendo endêmicas em populações de baixa renda, ocasionado pelos baixos investimentos em saneamento básico e informação à população.

Em 1855, estimava-se que a morte por TB no Brasil era de 1/150 habitantes, assim o setor público começou a prestar mais atenção à doença. No ano 1870, foram implementadas ações para questões sanitárias e habitacionais, levando em consideração as condições ambientais, sociais, econômicas epidemiológicas, porém, foram insuficientes para a erradicação da doença (MACIEL et al., 2012).

Em 1993, a TB foi considerada como uma doença em estado de emergência mundial, isso devido aos altos índices de incidência e mortalidades existentes, principalmente nos países com piores condições socioeconômicas, um problema para saúde pública (HIJJAR et al., 2005).

Nas Américas, 1992, registrava-se anualmente quase que 8000 casos de infecção por *M. bovis*, (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE, 1992; RITAACCO, KANTOR, 1992). A TB zoonótica está associada a TBE, na Argentina, 1904, foram descritos os primeiros casos de TB por *M. bovis*, encontrada em lesões intestinais de crianças que morreram pela doença (COMISION NACIONAL DE ZOONOSIS, 1982.; FELDMAN, 1955).

Os primeiros casos de TB no Brasil foram descritos em meados do século XIX, quando era conhecida como “a praga dos pobres”, devido à relação com moradias insalubres, falta de higiene e alimentação deficiente da população que era mais acometida com a doença (MACIEL et al., 2012).

No Brasil, os primeiros casos de TB foram descritos durante a colonização portuguesa, tendo o contato direto dos doentes com os índios, causando a morte de muitos nativos. Infere-se que o Padre Manuel de Nóbrega, ao chegar ao Brasil em 1492, foi o primeiro portador da TB no país (MACIEL et al., 2012).

A condição de pobreza gera vulnerabilidade ao contágio, não só em caso de TB como todas as doenças classificadas como negligenciadas. Tal desproporção social permite elevada incidência, por situações que são favoráveis para a reprodução e contaminação do meio (ROCHA, 2012). O número de casos de TB está relacionado a fatores sociais, econômicos e culturais daquela região, baixos níveis de renda, escolaridade e moradia inadequada poderiam ser uma das causas para a vulnerabilidade do indivíduo (PEDRO, OLIVEIRA; 2013).

#### Epidemiologia da tuberculose

No ano 2013, houve nove milhões de casos novos de TB e um milhão de óbitos relacionados à enfermidade no mundo (OMS, 2014). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou ainda que, no ano 2016, houve 10,4 milhões de novos casos de TB, e que, nesse mesmo ano, a TB causou a morte de 1,3 milhão de indivíduos não infectados pelo HIV. Outro dado importante no ano 2016 em relação à TB foi que a mesma esteve entre as dez principais causas de morte no mundo, ultrapassando os casos de HIV/AIDS como principal causa de morte por um único agente infeccioso (OMS, 2017).

Mediante a epidemia da TB no mundo, a OMS tornou prioridade em 2015 a erradicação da doença, assim foi lançada a estratégia “Fim da TB” pela Organização Mundial de Saúde, cujas metas são: 95% de redução na mortalidade por TB; e 90% de redução de incidência de TB no período 2015 a 2035 (OMS, 2015, OMS, 2016).

Em 2015, foram notificados 69.000 casos de TB, no Brasil, sendo que 4.500 desses casos de TB resultaram em morte; relacionado ao diagnóstico com HIV foram 6.800 casos, e 1.000 indivíduos chegaram a desenvolver a TB multirresistente (TB-MDR, do inglês *multidrug - resistant*), ou TB extensivamente resistente (TB-XDR, do inglês *extensively drug-resistant*) (BRASIL, 2017).

Cerca de dois bilhões de pessoas, correspondendo a um terço da população mundial, esteve infectada com *M. tuberculosis*, sendo que dessas, oito milhões desenvolverão a doença e dois milhões morrerão a cada ano. Foram confirmados

no Brasil mais de um milhão de novos casos entre os anos de 2001 e 2014; desses casos, cerca de 70.000 evoluíram para o óbito (BRASIL, 2015).

Ocorreram muitos avanços no controle da TB, no entanto, o Brasil ainda está entre aqueles países com a maior incidência de TB no mundo. Na nova classificação da OMS de países considerados como prioritários no controle da TB no mundo (sendo composta por três listas com 30 países em cada), o Brasil foi o 20º em prevalência da doença e o 19º em coinfeção TB/HIV (OMS, 2016; BRASIL, 2017).

No Brasil, 2017, foram notificados 69.569 casos novos de TB. Nesse mesmo ano, o coeficiente de incidência foi de 33,5 casos/100 mil habitantes, esse coeficiente apresentou queda média anual de 1,6%, no período de 2008 a 2017. Em 2016, foram registrados 4.426 óbitos por tuberculose, resultando em um coeficiente de mortalidade igual a 2,1 óbitos/100 mil habitantes, que apresentou queda média anual de 2,0% de 2007 a 2016 (BRASIL, 2018).

Entre os anos de 2006 e 2013, no estado de São Paulo – Brasil, a taxa de incidência de TB por 100 mil habitantes/ano passou de 52,6 em 2006 para 49,5 em 2013, ocorreu aumento em alguns grupos no contexto da doença, em especial no que tange às crianças e moradores de rua (PINTO et al., 2017).

No estado do Piauí - Brasil, entre 2007 a 2016 foram constatados 10.154 casos notificados de TB, sendo coinfectados com HIV 619 (6,1%) (OLIVEIRA, et al., 2018). No estado do Pernambuco - Brasil, entre o período 2001 e 2014, foram registrados 57.015 casos novos de TB e o abandono ao tratamento foi de 6.473 (SOARES et al., 2017).

Já no estado do Mato Grosso do Sul - Brasil - foram notificados 813 casos novos de TB em 2017, sendo 30 casos novos/100 mil habitantes, e a mortalidade foi de 2,3 casos/100 mil habitantes. Os casos novos de TB pulmonar confirmados por critérios laboratoriais foram de 66,6% (BRASIL, 2018).

### Clínica, diagnósticos e tratamento da TB

A TB é a principal doença infecciosa, de etiologia bacteriana, no mundo. A disseminação da TB ocorre por meio de material biológico contaminado, principalmente aerossóis provenientes de tosse (RICHARD et al., 2015).

Os principais “marcadores clínicos da TB” são: tosse, expectoração, febre vespertina, sudorese noturna abundante, emagrecimento acentuado, fraqueza, anorexia, hemoptise, dor torácica moderada de evolução não aguda, imunodepressão por qualquer causa, alcoolismo ou diabetes, contato recente com caso bacilífero e história de TB (SIQUEIRA, 2012).

A presença dos marcadores clínicos associados a uma radiografia de tórax “típica de TB” permite o diagnóstico presuntivo da doença, mesmo que a pesquisa de Bacilos Álcool-Ácido Resistentes (BAAR) no escarro seja negativa (COELHO et al., 2009; BRASIL, 2010).

O sinal mais precoce da TBP é a tosse, mas geralmente a pessoa não associa o sintoma e não procura atendimento, normalmente ele é atribuído a uma gripe mal curada, bronquite tabágica ou outra situação clínica qualquer (CONDE et al., 2009). Somente quando surgem os outros sintomas é que o indivíduo percebe necessidade de procurar ajuda médica, isso aumenta o tempo entre o primeiro sintoma e o diagnóstico da doença (STORLA; YIMER; BJUNE, 2008).

A febre não elevada é um dos sintomas da TB, ocorre à tarde ou no início da noite, sendo que na madrugada, normalmente apresenta sudorese profusa. O emagrecimento é rápido e intenso, com relatos de casos de perda de 4 a 6 kg em dois meses, causando quadro comum de anorexia. Além disso, escarros com sangue e hemoptise, embora sejam menos frequentes, são os sintomas que mais alertam o paciente à consulta médica (SIQUEIRA, 2012).

Na rede do Programa de Saúde da Família ocorre busca ativa por casos suspeito de TB, realizada pelos agentes comunitários de saúde, os quais procuram pacientes “sintomáticos respiratórios”, sendo submetidos à realização de pesquisa de BAAR em duas ou três amostras de escarro (FAÇANHA et al., 2009; GOLUB et al., 2005).

No entanto, apenas metade dos pacientes com TBP apresentam positividade na pesquisa de BAAR e cerca de 30% não conseguem ter expectoração espontânea nas formas iniciais da doença. Além disso, as mulheres têm dificuldade para expectorar, nesses casos o escarro induzido auxilia, mas todo paciente com suspeita de TBP tem de passar por radiografia de tórax, para que seja possível eliminar os casos paucibacilares (MORRONE, 2005; SIDIQI, LAMBERT e WALLEY, 2003). Uma radiografia de tórax, acompanhada de exames

bacteriológicos, pode elucidar a causa dos sintomas respiratórios, e permitir melhor condução do caso (SIQUEIRA, 2012).

Considerando que a multiplicação de *M. tuberculosis* ocorre a cada 12 - 20 horas, e os sintomas da TB iniciam lentamente, muitas vezes, o doente só se convence de que está enfermo no período de 30 a 60 dias depois dos sintomas iniciais, dificultando o diagnóstico e início ao tratamento (BORGDORFF, FLOYD e BROEKMANS, 2002).

Quanto à suscetibilidade para desenvolver a TB, alguns grupos de pessoas possuem maiores chances. Uma pessoa com TB bacilífera infecta 5 a 10% das pessoas que tenham contato e que não tenham comorbidades ao longo de toda a sua vida (PRADO et al., 2011). Já os diabéticos, principalmente descompensados ou pessoas com uso de imunossupressores têm maior probabilidade de contrair TB. Além disso, o hábito de vida, como o etilismo está associado a aumento da suscetibilidade da TB, além de abandono ao tratamento e até mesmo ao óbito (LIOTÉ, 2008; SILVA et al., 2010).

O diagnóstico da TB é obtido por meio de investigação de sinais clínicos e exames radiológicos, no entanto o caso é confirmado a partir da realização dos exames laboratoriais, como a baciloscopia e a cultura. Contudo, esses métodos apresentam limitações, como a baixa sensibilidade da baciloscopia e a demora no resultado da cultura devido à multiplicação lenta do bacilo. Assim, para a detecção de *M. tuberculosis* em uma amostra biológica, estudos utilizam de técnicas como a baciloscopia, a cultura e mais recente os testes que envolvem métodos moleculares (OMS, 2012; DELOGU, SALI, FADDA; 2013; AGRAWAL et al., 2016; . BALCHA et al., 2014; OLIVEIRA, et al., 2016).

A pesquisa de BAAR, baciloscopia, consiste em realizar um esfregaço em lâmina do material biológico, com posterior coloração de Ziehl-Neelsen, Kinyoun modificada ou auramina-O e rodamina. A coloração mais utilizada para o diagnóstico de TB é a de Ziehl-Neelsen e o escarro é encaminhado para a realização da pesquisa de BAAR (PALOMINO, 2005).

As amostras que são encaminhadas para pesquisa de BK são: escarro, lavado brônquico, lavado broncoalveolar e outras relacionadas com o trato respiratório, além de amostras não pulmonares para identificação de TB extrapulmonar (TBEP) (FERRI et al., 2014).

Quando se utiliza o método de coloração de Ziehl - Neelsen a amostra é corada com fucsina de Ziehl-Neelsen, depois descora com álcool-ácido e, posteriormente, contracora com azul de metileno. Os bacilos ficam corados com cor rosa, isso ocorre devido à parede celular das micobactérias, com elevado teor em lipídeos, confere resistência à descoloração por álcool-ácido (BRASIL, 2008).

Considerando, para a leitura dos bacilos corados com cor rosa, os critérios de leitura e interpretação, segundo Brasil (2008), no Manual de vigilância laboratorial da TB e outras micobactérias, os resultados são: quando não se encontra BAAR em 100 campos examinados o resultado é negativo; quando são encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos analisados é somente positivo; já positivo (+): quando são encontrados 10 a 99 BAAR em 100 campos; aumentando as cruzes quando são encontrados em média 1 a 10 BAAR por campo nos primeiros 50 campos, positivo (++); e por último se em média mais de 10 BAAR por campo nos primeiros 20 campos, relata-se “positivo (+++)”. Para as demais amostras biológicas, reporta-se apenas “positivo” ao encontrar BAAR ou “negativo” na ausência de BAAR.

O exame de cultura permite o isolamento e o crescimento dos bacilos de amostras clínicas em meio específicos. Este exame é padrão – ouro, com uma alta sensibilidade e especificidade para a detecção de TB pulmonar e extrapulmonar (BRASIL, 2008).

Segundo o Manual de vigilância laboratorial da Tuberculose e outras micobactérias, para a realização da cultura, as amostras são pré-tratadas, fluidificada-descontaminadas. Estas últimas, apenas necessárias para amostras oriundas de sítios não estéreis, como escarro, urina, secreções, lavado brônquico, lavado gástrico e fragmento de tecido cutâneo (BRASIL, 2008).

O método cultural mais utilizado é a semeadura em meio sólido à base ovo ou agar. Os mais empregados são Löwenstein-Jensen (LJ) e Ogawa-Kudoh (OK) que são à base de ovo e contêm o corante verde malaquita, que inibe a microbiota contaminante. Os meios à base de agar são o Middlebrook 7H10 e Middlebrook 7H11, são transparentes e permitem a visualização precoce das colônias (BRASIL, 2008).

Os tubos semeados são lidos, avaliando-se as colônias, suas características morfológicas, presença de pigmento, aspecto (lisa ou rugosa) e a contaminação do tubo. Os tubos devem ser examinados a cada semana. A leitura em meios sólidos segue os seguintes critérios: quando houver menos de 20 colônias a cultura é



positiva; se houver de 20 a 100 colônias a cultura é positiva (+); já quando houver mais de 100 colônias separadas a cultura é positiva (++); se encontrar colônias confluentes, formando uma espécie de tapete tem-se cultura positiva (+++) e se não houver crescimento de colônias a cultura negativa (BRASIL, 2008).

Foram desenvolvidos testes de amplificação de ácidos nucleicos, métodos rápidos, com alta especificidade e sensibilidade, dentre as metodologias mais empregadas a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*), que pode ser aplicada diretamente na amostra biológica, como no escarro ou na colônia suspeita (DROBNIEWSKI et al., 2013).

A Organização Mundial da Saúde recomenda o uso do Teste Rápido Molecular, Expert® MTB/RIF (GeneXpert MTB/RIF), o mesmo permite confirmar a presença de *M. tuberculosis* e identificar mutações que conferem resistência da micobactéria à rifampicina, antibiótico utilizado no tratamento da TB, em até duas horas (HOOG et al., 2013; NAKIYINGI; NANKABIRWA; LAMORDE, 2013).

O teste GeneXpert MTB/RIF realiza a purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos por PCR em tempo real, com o benefício de integrar e automatizar esses três processos. O método detecta, por meio de fluorescência, *M. tuberculosis* e a resistência à rifampicina, com a utilização de cinco sondas complementares à região do gene *rpoβ* (DELOCCO et al., 2011).

O gene *rpoβ* possui 3516pb e as mutações ocorrem da 1288 a 1356pb. Três pequenas regiões são definidas por mutações no meio da subunidade  $\beta$ : Cluster I (a.a de 512 a 534) HEEP et al (2001), cluster II (a.a de 563 a 574) e cluster III (a.a 687), sendo as mais comuns as do cluster I, especificamente no a.a. 531 e em seguida no 526.

O teste GeneXpert MTB/RIF foi desenvolvido para ter riscos biológicos mínimos, sendo considerados como menores do que os apresentados na microscopia, pois a única etapa manual é a preparação da mistura de um tampão bactericida com uma amostra, sendo adicionada ao cartucho (IOANNIDIS et al., 2011; TADESSE et al., 2015). O teste GeneXpert MTB/RIF é uma técnica simples, que tem a vantagem de fornecer resultados em um curto período de tempo (ARMAND et al., 2011; BOEHME et al., 2011; HUF; KRITSKI, 2012).

O método GeneXpert MTB/RIF, ao mesmo tempo em que identifica o complexo *M. tuberculosis* (MTB), a partir da sequência específica do gene *rpoβ* na região 81bp, também identifica a resistência à rifampicina (RIF) por meio das

mutações do gene. O ensaio GeneXpert MTB/RIF é constituído de um cartucho plástico para o processamento das amostras líquidas, contendo tampões e reagentes liofilizados de PCR, uma máquina automática e um *software*. O método apresenta um limite de detecção em torno de 131 Unidades de Formação de Colônias (UFC)/mL da amostra (PATEL et al., 2013; MARLOWE et al., 2011).

Na África Subsaariana, foi realizado um estudo para avaliar o desempenho do GeneXpert MTB/RIF com 456 pacientes suspeitos de TB, sendo comparado o método com a coloração de Ziehl-Neelsen. Encontraram que a positividade foi significativamente maior para o GeneXpert MTB/RIF do que para Ziehl-Neelsen em todo o grupo (15,9% / 9,3%,  $p = 0,3$ ) e para soropositividade para o HIV (52,0% / 24,0%;  $p = 0,7$ ). Além disso, o GeneXpert MTB/RIF detectou 20,8% de resistência à rifampicina (LUPANDE et al., 2017).

Em uma área semirural ainda na África foi investigado o impacto da implantação do GeneXpert MTB/RIF para o diagnóstico e tempo de início de tratamento. Foram rastreados 15 629 indivíduos com suspeita de TB entre maio e novembro de 2012 (período de lançamento do pré - GeneXpert MTB/RIF) e 10 741 entre maio e novembro de 2014 (período pós-lançamento). Esse estudo demonstrou que houve mais propensão para serem diagnosticados após a implantação do teste GeneXpert MTB/RIF, e o teste foi associado a uma melhora marginal no tempo de iniciação de tratamento (SCHMIDT, et al., 2017).

Em um grande hospital da África do Sul, todos os pacientes submeteram - se a uma biópsia osteomuscular do tecido para a TB suspeitada de junho 2013 a março 2015. Foram avaliadas 206 biópsias de 201 pacientes (23% infectados pelo HIV). A sensibilidade e especificidade de GeneXpert MTB/RIF foram de 92,3% (84/91) e 99,1% (114/115), respectivamente. O teste detectou 8,8% mais casos do que a cultura, com 84/91 (92,3%) e 76/91 (83,5%), sensibilidade e especificidade respectivamente. O GeneXpert MTB/RIF também detectou todos os quatro casos de TB multirresistentes e outros dois casos de resistência à rifampicina em amostras cultura-negativas. A sensibilidade de GeneXpert MTB/RIF em pacientes infectados pelo HIV foi de 96,9% (31/32) e 89,6% (43/48) em pacientes não infectados pelo HIV (M HELD et al., 2017).

No Brasil, em 2014, foi implantado o método GeneXpert MTB/RIF, principalmente para a detecção de TB resistente à rifampicina, mas também devido ao fato de este método ter a vantagem do tempo de processamento da amostra e

do fácil manuseio da máquina (BRASIL, 2015). Contudo, esse novo método ainda não abrange todo o território nacional, pois foi priorizado em municípios de maior incidência de TB, além disso, não é considerado como um substituto para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (BRASIL, 2014).

Para o tratamento da TB, os fármacos usados nos esquemas padronizados na TB sensível são isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol na fase intensiva de tratamento (dois primeiros meses), e isoniazida e rifampicina na fase de manutenção (em geral, quatro últimos meses). Com foco na prevenção da resistência a antibióticos, desde 2009 essas drogas se apresentam no Brasil em comprimidos de doses fixas combinadas para pessoas maiores de 10 anos. Para crianças abaixo de 10 anos, o etambutol não está recomendado. O tratamento dura no mínimo seis meses, a medicação é de uso diário e deve ser administrada em uma única tomada (BRASIL, 2014).

Nos casos de TB resistentes a antibióticos, os esquemas de tratamento podem incluir medicamentos orais de primeira linha (isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida), medicamentos orais de segunda linha (terizidona, cicloserina, etionamida, protionamida e ácido paraminossalisílico), medicamentos injetáveis de primeira e segunda linha (estreptomicina, amicacina, canamicina e capreomicina), fluoroquinolonas (ofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina), e outros não recomendados para uso na rotina, mas disponíveis para casos especiais (clofazimina, linezolida, amoxicilina com clavulanato, tiacetazona, imipenem, isoniazida em altas doses e claritromicina) (FARGA; CAMINERO, 2011).

#### Tuberculose resistente a antibiótico

Os bacilos podem se tornar resistentes aos fármacos por meio de mutações, desta forma em meio a grandes populações bacíferas há grande probabilidade de cepas resistentes, a presença desses bacilos ganha significado clínico quando dominante na colônia, caracterizando a TB resistente a antibiótico. Bacilos mutantes resistentes às drogas utilizadas no tratamento da TB podem ser causados pelo uso de monoterapias e tratamentos interrompidos ou intermitentes, aumentando as cepas resistentes (FARGA; CAMINEIRO, 2011). As cepas de MTB resistente à RIF usam estratégia comum, a mutação na região do gene *rpoβ* (PAVAN, 2003)

Existem muitos padrões de resistência definidos: monorresistência, polirresistência, multirresistência (TB-MDR) e a resistência extensiva (TB-XDR). A primeira refere-se à resistência a apenas uma droga; a polirresistência é a resistência a mais de uma droga; a TB-MDR é uma forma de polirresistência e é caracterizada pela resistência a, ao menos, isoniazida e rifampicina; quando somada a esta última à resistência a uma fluoroquinolona e ao menos uma droga injetável de segunda linha (amicacina, canamicina ou capreomicina) tem-se a TB-XDR (BRASIL, 2011a; CAMINERO, 2013).

Quando o paciente previamente tratado é diagnosticado com TB resistente a antibiótico, refere-se à resistência adquirida à TB. Já pessoas que nunca antes foram tratadas podem ter TB resistente a antibiótico se forem infectadas por doente com a forma resistente a antibiótico da TB, nomeando-se resistência primária (FARGA; CAMINERO, 2011).

Para identificar a resistência ao antibiótico na TB é realizado exame de cultura seguido de teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Os métodos disponíveis para a população brasileira são: método das proporções que utiliza de cultura em meio sólido e tem seu resultado após 42 dias; e os métodos que utilizam o meio líquido, com resultados disponíveis entre 5 e 13 dias. Os medicamentos testados são estreptomicina, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida, na iminente constatação de resistência a alguma dessas drogas é verificada a sensibilidade à canamicina, à amicacina, à capreomicina e à ofloxacina, que são drogas de segunda linha (BRASIL, 2014).

O Ministério da Saúde preconiza que o tratamento dos casos de TB resistente a antibiótico seja realizado em serviços de referência terciários, com o uso do Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose (SITETB) para registro, acompanhamento e encerramento dos casos (BRASIL, 2014). Os tratamentos podem levar até 24 meses, de acordo com a curva de negatificação bacteriológica, com a evolução clínica e radiológica (BRASIL, 2011a).

A resistência às drogas para TB emergiu em regiões específicas a partir dos anos 1960. Entre os anos 1970 e 1990, com o uso extensivo da rifampicina, descoberta em 1966, a ocorrência da multirresistência cresceu e atingiu proporções epidêmicas em alguns países (CAMINERO, 2010).

Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), em 2015 3,9% dos casos novos e 21% dos casos com tratamento prévio tiveram

TBMDR ou resistência à rifampicina no mundo. Entretanto, dos 580 mil casos estimados para o ano, estima-se que apenas 340 mil foram diagnosticados e notificados. Quanto à TB-XDR, 117 países notificaram casos em 2015, com estimativa média de 9,5% de casos de TB-XDR entre os casos de TB-MDR.

No período de 1995 a 1997, foi realizado, no Brasil, o Inquérito epidemiológico da resistência às drogas da TB quando foram encontrados que 10,6% dos casos de TB pulmonar bacilífera tinham TB resistente a antibiótico. Entre os casos nunca antes tratados 8,6% eram TB resistente a antibiótico e entre os retratamentos, eram 22,1% casos (BRAGA; BARRETO; HIJJAR, 2003).

O panorama mundial sobre a resistência está relacionado ao desempenho pobre dos sistemas de saúde e Programas Nacionais de TB nos últimos 20 anos. A incorreta prescrição, dispensação e adesão ao tratamento, associada à necessidade de compra pelo doente do esquema para TB sensível, contribuíram para o cenário atual. Em muitos países houve insuficiência de profissionais ou treinamento, falta de regulação do fornecimento das drogas e permissão de sua venda sem prescrição (GANDHI et al., 2010).

O desenvolvimento de TB resistente a antibiótico e a geração de TB-MDR em comunidades no mundo estão associados ao uso de tratamentos não padronizados; frequente escassez dos medicamentos ou sua baixa qualidade no país; erro em sua dose, combinação ou má absorção dos fármacos; regimes terapêuticos inapropriados como monoterapia (inclusive o uso de drogas associadas quando já há resistência a alguma delas), baixa adesão ao tratamento, casos com comorbidades associadas, e, em alguns países, com coinfeção TB-HIV (CAMINERO, 2013).

No Brasil, um estudo transversal realizado em São Paulo, incluindo todas as culturas e testes de sensibilidade realizados entre 2009 e 2013, apontou que coinfeção TB-HIV e tratamentos prévios para TB estão associados à TB resistente a antibiótico (PEDRO et al., 2015).

Em Minas Gerais, um estudo do tipo caso-controle em um hospital de referência encontrou que um ou mais tratamentos anteriores estiveram associados à TB-MDR (SOUZA; ANTUNES; GARCIA, 2006). Retratamentos também foram associados à TB-MDR no estudo transversal em Porto Alegre (MICHELETTI et al., 2014). Quanto à resistência primária, em estudo do tipo transversal realizado no

Instituto de Doenças do Tórax da Universidade Federal do Rio de Janeiro, não foram encontrados fatores de risco associados (BASTOS et al., 2012).

Entre os 22 países de alta prevalência de TB no mundo, foram estudadas as alocações de recursos pelos Programas Nacionais de TB e desfechos a ela associados. Encontrou-se que o aumento do investimento em drogas de primeira linha, no cuidado à TB-MDR e melhora dos processos de gestão foram associados ao declínio de óbitos de pacientes bacilíferos (CHAPPLE; KATZ; LI, 2012).

Em estudo de coorte que incluiu 1292 casos em um Distrito de Lima no Peru, a análise múltipla indicou que a monorresistência à isoniazida estava associada ao uso de drogas ilícitas, enquanto a monorresistência à rifampicina esteve associada à infecção por HIV. Em inquérito nacional no México, entre 2008 e 2009 a prevalência de TBMDR foi estimada em 2,8%. O único fator associado à TB-MDR foi tratamento prévio (VILLEGAS et al., 2016).

Já nos Estados Unidos, um estudo com dados de 38 jurisdições entre 1999 e 2009, encontrou 2,7% dos casos com a resistência à pirazinamida. A monorresistência à pirazinamida esteve associada à idade entre 0 e 24 anos, origem hispânica, infecção pelo HIV, forma clínica extrapulmonar, radiografia de tórax normal e inversamente associada à origem asiática e raça/cor negra. Além disso, a resistência à pirazinamida em casos de TB-MDR esteve associada ao sexo feminino e diagnóstico anterior de TB (KURBATOVA et al., 2013).

Nos Países Bálticos, um estudo multicêntrico caso-controle apontou como fortemente associado ao risco de TB-MDR primária ter contato com alguém com TBMDR, ser jovem entre 40 - 49 comparados ou <30 e sexo masculino; já o histórico de tratamento anterior e abuso de álcool estiveram fortemente associados ao desenvolvimento de TB-MDR, ou seja, resistência adquirida (IGNATYEVA et al., 2015).

Na Tailândia, um estudo caso-controle conduzido no *Central Chest Institute of Thailand* de 2007 a 2013 com 290 casos adultos pulmonares, foram identificados como fatores de risco independentes para TB-MDR dois ou mais episódios anteriores de TB, duração da doença por mais de 60 dias, baciloscopia três cruces, presença de cavidades pulmonares e de derrame pleural (CHUCHOTTAWORN et al., 2015).

Um estudo de coorte realizado em 14 distritos de Hanoi, no Vietnã, encontrou os seguintes fatores associados à resistência primária à isoniazida de forma

independente: morar em antigas áreas urbanas, presença do genótipo Beijing e aglomerados de cepas. Adicionalmente, o genótipo Beijing foi associado à resistência primária à estreptomicina; e a coinfeção com HIV foi associada à resistência primária à rifampicina e TB-MDR (HANG et al., 2013).

Na Índia, um estudo de coorte realizado em 18 unidades subdistritais de programa de TB, entre 2012 e 2013, demonstrou os seguintes fatores associados à resistência à rifampicina, quando comparado às pessoas com TB sensível: tratamento prévio; idade superior a 65 anos e o sexo feminino (NAIR et al., 2016).

Na China, país que tem o maior número de casos de TB-MDR anualmente, com cerca de um quarto do total de casos do mundo, um inquérito nacional realizado em 2007 encontrou resistência em um terço dos casos novos e em metade dos previamente tratados. Os fatores associados à TB resistente a antibiótico entre os casos novos foram o tratamento menor que um mês sem diagnóstico anterior de TB, já entre os retratamentos da TB-MDR estiveram associados ao sexo feminino (ZHAO et al., 2012).

Ainda na China, em estudo de caso-controle com 146 pares na província de Henan, a análise multivariada ajustada por idade e sexo, apontou que ser solteiro, ter baixa renda, estresse, não ter seguro médico, ter diabetes, doença cardiovascular, outra doença respiratória ou câncer foram potenciais fatores de risco associados à TB-MDR primária (LI et al., 2015).

Também na China, em Beijing, em estudo de coorte em pacientes hospitalizados com TB, os fatores: ser solteiro, migrante vivendo em Beijing, migrante de outras áreas, ter tratamento prévio de TB, ter exposição prévia a fluorquinolonas, ter doença pulmonar obstrutiva crônica, TB-MDR ou polirresistente foram fatores de risco associados à resistência à fluorquinolona em um hospital de referência (LIU et al., 2011).

O trabalho que foi desenvolvido durante o mestrado em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco, foi elaborado segundo as normas da Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. Trata-se de uma produção em parceria com o Hospital São Julião e seus profissionais, apresentando o desfecho com o artigo a seguir intitulado: “Acurácia diagnóstica do ensaio GeneXpert MTR/RIF na Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar.”

## Referências bibliográficas

- AGRAWAL, M., et al. Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.10, n. 5, DC09-DC12, 2016.
- ALEXANDER, K. A. et al. Novel Mycobacterium tuberculosis complex pathogen *M. mungi*. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n. 8, p. 1296-1299, 2010.
- ARMAND S, et al. Comparison of the Xpert MTB/ RIF test with an IS6110-TaqMan real-time PCR assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory and nonrespiratory specimens. **J Clin Microbiol**; v.49, n.5, p: 1772-6, 2011 May.
- BAILLY, A.: Dictionnaire grec-français, 16. ed. Paris, Lib. Hachette, 1950.
- BALCHA, T.T, et al. Intensified Tuberculosis Case-Finding in HIV-Positive Adults Managed at Ethiopian Health Centers: Diagnostic Yield of Xpert MTB/RIF Compared with Smear Microscopy and Liquid Culture. **PLOS ONE**, v.9, n. Issue 1, e85478, 2014.
- BASTOS, G. M. et al. Prevalência de resistência primária em pacientes com tuberculose pulmonar sem fatores de risco conhecidos para resistência primária. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 38, p. 733–739, 2012.
- B-M SCHMIDT et al. Impact of Xpert MTB/RIF rollout on management of tuberculosis in a South African community. **Afr Med J**, v.107, n. 12,;1078-1081, 2017. DOI:10.7196/SAMJ.2017.v107i12.12502.
- BOEHME, C.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**, v. 377, n.9776, p.: 1495-505, 2011.
- BORGDORFF, M. W. et al. Interventions to reduce tuberculosis mortality and transmission in low and middle income countries. **Bull World Health Organ**, v. 80, n.3, p.217-27,2002.
- BRAGA, J. U.; BARRETO, A. M. W.; HIJJAR, M. A. Inquérito epidemiológico da resistência às drogas usadas no tratamento da tuberculose no Brasil 1995-1997, **IERDTB. Parte III: Principais resultados. Bol Pneumol Sanit**, v.11, n.1, p. 76–81, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Manual de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. 2008. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_laboratorial\\_tuberculose.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_laboratorial_tuberculose.pdf)>. Acesso em: 10 maio 2014.



\_\_\_\_\_.Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

\_\_\_\_\_.Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011

\_\_\_\_\_.Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de recomendações** para o controle da tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2011

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde . Secretaria de Vigilância em Saúde. Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. **Bol Epidemiol**, v.46, n.9,p.:1-19,2015.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. **Panorama da IISAR on esolucerebut Diagnóstico situacional a partir de indicadores epidemiológicos e operacionais**, 2018. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tuberculose\\_brasil\\_indicadores\\_epidemiologicos\\_operacionais.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tuberculose_brasil_indicadores_epidemiologicos_operacionais.pdf)

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis [homepage on the Internet]. Brasília: Ministério da Saúde **Brasil Livre da Tuberculose. Plano nacional pelo fim da tuberculose como problema de saúde pública**; 1st ed; 2017. [Adobe Acrobat document, 40p.]. Available from <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/fevereiro/24/Plano-Nacional-Tuberculose.pdf>

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose, 2010. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil**. Available from: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manualderecomendacoestb.pdf>

CAMINERO, J. A. Guidelines for Clinical and Operational Management of Drug Resistant Tuberculosis. France: **International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, 2013.

CAMINERO, J. A. Guidelines for Clinical and Operational Management of Drug Resistant Tuberculosis. France: **International Union Against Tuberculosis and Lung Disease**, 2013.

CAMINERO, J. A. Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology, risk factors and case finding. **The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease**, v. 14, n. 4, p. 382–390, 2010.

CHAPPLE, W.; KATZ, A. R.; LI, D. Associations between national tuberculosis program budgets and tuberculosis outcomes: an ecological study. **The Pan African medical journal**, v. 12, 2012.

CHUCHOTTAWORN, C. et al. Risk Factors for Multidrug-Resistant Tuberculosis among Patients with Pulmonary Tuberculosis at the Central Chest Institute of Thailand. **PloS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0139986, 2015

COELHO, A. G. V., et al. Características da tuberculose pulmonar em área hiperendêmica – município de Santos (SP). **J Bras Pneumol**, v.35, n.10, p.:998-1007, 2009.

COMISION NACIONAL DE ZONOSIS. **La tuberculosis bovina en la Republica Argentina**. Buenos Aires, 1982. P.39-62.

CONDE, M. B., et al. Brazilian Thoracic Association Guidelines on Tuberculosis. **J Bras Pneumol**. v.35, n.10, p:1018-48, 2009;

COUSINS, D. V. et al. Tuberculosis in seals caused by a novel member of the Mycobacterium tuberculosis complex: Mycobacterium pinnipedii sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1305-1314, 2003.

DELOCCO, B. A. V. et al. Xpert® MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar. **Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde (BRATS)**, Brasília, v. 6, n. 16, p. 1-14, 2011

DELOGU, G.; SALI, M.; FADDA, G. The biology of Mycobacterium Tuberculosis Infection. *Mediterranean Journal of Hematology Infectious Diseases*, **Roma**, v. 5, n. 1, 2013.

DROBNIEWSKI, F. et al. Rapid diagnostics of tuberculosis and drug resistance in the industrialized world: clinical and public health benefits and barriers to implementation. **BMC Medicine, New York**, v. 11, n. 190, p. 1-11, 2013.

DUARTE, J. M. C, et al. The user has requested enhancement of the downloaded file. Tuberculose: a história e o patrimônio Memórias da doença através da História em exposição no Museu do IHMT. **An Inst Hig Med Trop**, v.16, p.: 89-101, 2017.

FAÇANHA, M. C., et al.. Treinamento da equipe de saúde e busca ativa na comunidade: estratégias para a detecção de casos de TB. **J Bras Pneumol**, v.35, n.5, p.:449-454, 2009.

FARGA, V; CAMINERO, J. A. Tuberculosis. Chile: Editorial Mediterráneo Ltda, 2011.

FARGA, V; CAMINERO, J. A. **Tuberculosis**. Chile: Editorial Mediterráneo Ltda, 2011.

FELDMAN, J. **Tuberculose humana de origem bovina: contribuição ao seu estudo no Estado de Minas Gerais**. Minas Gerais, 1995. [tese]. Universidade de Minas Gerais

- GANDHI, N. R. et al. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a threat to global control of tuberculosis. **The Lancet**, v. 375, n. 9728, p. 1830–1843, 2010.
- GOLUB, J. E, et al.. Active case finding of tuberculosis: historical perspective and future prospects. **Int J Tuberc Lung Dis**,v.9, n.11p.:1183203, 2005.
- HANG, N. T. L. et al. Primary Drug-Resistant Tuberculosis in Hanoi, Viet Nam: Present Status and Risk Factors. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e71867, 2013.
- HEEP, M. et al. Frequency of *rpoβ* mutations inside and outside the cluster I region in rifampicin-resistant clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates. **J. Clin. Microbiol.**, v39, p. 107-10, 2001.
- HIJJAR, M. A, et al.; Epidemiologia da tuberculose: importância no mundo, no Brasil e no Rio de Janeiro. **Pulmão RJ**, v . 14, n.4, p.:310-314, 2005.
- HOOG, A. H. V. et al. Optimal triage test characteristics to improve the cost-effectiveness of the Xpert MTB/RIF Assay for TB Diagnosis: A decision analysis. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. 1-11, 2013.
- HUF G, KRITSKI A. Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos. **J Bras Pneumol**, v. 38, n.2, p.:237-45, 2012.
- IGNATYEVA, O. et al. Resistance profile and risk factors of drug resistant tuberculosis in the Baltic countries. **Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)**, v. 95, n. 5, p. 581–588, 2015.
- INGEN, V. J, et al. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* Complex Subspecies. **Emerging Infectious Diseases**,v. 18, n. 4, April 2012.
- IOANNIDIS, P., et al. Cepheid GeneXpert MTB/RIF assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection and rifampin resistance identification in patients with substantial clinical indications of tuberculosis and smear-negative microscopy results. **J Clin Microbiol**, v.49, n.8, p: 3068-70, 2011.
- KURBATOVA, E. V. et al. Epidemiology of Pyrazinamide-Resistant Tuberculosis in the United States, 1999–2009. **Clinical Infectious Diseases**, v. 57, n. 8, p. 1081–1093, 2013.
- LE BOE, F. (SYLVIUS) – Opera medica, 1679. In MORTON, L.T.: A medical bibliography (Garrison and Morton). **London, Butler & Tammer Ltd.**, 1983, p. 300.
- LI, W.-B. et al. Factors associated with primary transmission of multidrug-resistant tuberculosis compared with healthy controls in Henan Province, China. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 4, p. 14, 2015.

LIOTÉ H. Tuberculosis, anti-TNF agents and other immunosuppressants: evolution of preventive strategies [Article in French]. **Rev Mal Respir.** v.25, n.10,p:1237-49, 2008.

LIU, Y. et al. Spatial epidemiology and spatial ecology study of worldwide drug-resistant tuberculosis. **International Journal of Health Geographics**, v. 10, n. 1, p. 1– 10, 2011.

LUPANDE, D., et al. GeneXpert MTB/RIF dans le dépistage de la tuberculose pulmonaire à l'Hôpital Provincial Général de Référence de Bukavu, à l'Est de la République Démocratique du Congo: quelles leçons tirées après 10 mois d'utilisation? **Pan African Medical Journal**, v.27, n.260, 2017, doi:10.11604/pamj.2017.27.260.12575.

M HELD, *et al.* Diagnostic accuracy of GeneXpert MTB/RIF in musculoskeletal tuberculosis: High sensitivity in tissue samples of HIV-infected and HIV-uninfected patients. **The South African Medical Journal**, v. 107, n.10, 2017.

MACIEL, M. S et al. A história da tuberculose no Brasil: os muitos tons (de cinza) da miséria. **Rev Bras Clin Med**, v. ;10, n.3, p.:226-30, 2012

MARLOWE, E.M, et al. Evaluation of the cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. **J Clin Microbiol**, v. 49, n.4, p.:1621-3, 2011.

MICHELETTI, V. C. D. et al. Drug-resistant tuberculosis in subjects included in the Second National Survey on Antituberculosis Drug Resistance in Porto Alegre, Brazil,. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 40, p. 155–163, 2014.

MORRONE N. Diagnosis of tuberculosis in individuals with respiratory symptoms: commentary on the II Guidelines of the Brazilian Society of Pulmonology and Phthysiology and the Ministry of health. **J Bras Pneumol**,v.31, n.4, p.:350-55, 2005.

NAIR, S. A. et al. Factors Associated with Tuberculosis and Rifampicin-Resistant Tuberculosis amongst Symptomatic Patients in India: A Retrospective Analysis. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, p. e0150054, 2016

NAKIYINGI, L.; NANKABIRWA, H.; LAMORDE, *M. tuberculosis* diagnosis in resource-limited settings: clinical use of GeneXpert in the diagnosis of smear-negative PTB: a case report. **African Health Sciences**, Kampala, v. 13, n. 2, p. 522-524, 2013.

NIEMANN, S.; RICHTER, E.; RÜSCH-GERDES, S. Biochemical and genetic evidence for the transfer of Mycobacterium tuberculosis subsp.. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 433-436, 2002.

OLIVEIRA, G. da S et al. Identificação laboratorial de micobacterias em amostras respiratórias de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonary no laboratorio

central de Saúde Pública do Distrito Federal (LACEN-DF). **Jornal Health Bio Sci**, v: 4, b. 3, p.: 186 -192, 2016.

OLIVEIRA, L. B et al. ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA COINFECÇÃO TUBERCULOSE/HIV. **Cogitare Enferm**, v. 1, n.23p.: e51016, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015b** [Internet]. Geneva: World Health Organization. 2 p. Available from: [http://www.who.int/tb/post2015\\_TBstrategy.pdf](http://www.who.int/tb/post2015_TBstrategy.pdf) 2. [www.who.int/publications/guidelines/tuberculosis/en/](http://www.who.int/publications/guidelines/tuberculosis/en/). Acesso em: agosto 2018

\_\_\_\_\_. Geneva. Global tuberculosis report. 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/publications/guidelines/tuberculosis/en/>>. Acesso em: agosto 2018

\_\_\_\_\_. Geneva: World Health Organization. **Global tuberculosis report 2016**. [Adobe Acrobat document, 214p.]. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s23098en/s23098en.pdf>

\_\_\_\_\_. **Global tuberculosis report 2016**. Geneva: World Health Organization, 2016a.

\_\_\_\_\_. Geneva. Global tuberculosis report. 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/publications/guidelines/tuberculosis/en/>>

\_\_\_\_\_. The end TB strategy [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2015, 16 p. Available in: [http://www.who.int/tb/End\\_TB\\_brochure.pdf](http://www.who.int/tb/End_TB_brochure.pdf).

\_\_\_\_\_. **Global tuberculosis report 2014** [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014 . Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf).

\_\_\_\_\_. Geneva: World Health Organization; [cited 2017 Nov 27]. **Global tuberculosis report 2017**. [Adobe Acrobat document, 262p.]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259366/1/9789241565516-eng.pdf?ua=1>.

OORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE. Reunião Internacional para erradicação da tuberculose bovina nas Américas. Bol Oficina Sanit. Panam., v. 113, p. 357-60, 1992.

OXFORD ENGLISH DICTIONARY (Shorter), 3.ed. Oxford, Claredon Press, 1978.

PALOMINO, J. C. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. **European Respiratory Journal**, Redwood, v. 26, n. 2, p. 339-350, 2005.

PATEL VB, et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. **PLoS Med**, v.10, n.10, p.: e1001536, 2013.

PAVAN, E. M. Detecção de mutações no gene *rpoβ* associadas a *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a Rifampicina. [tese], p.121, 2003.

PEDRO, A. S.; OLIVEIRA, R. M. Tuberculose e indicadores socioeconômicos: revisão sistemática da literatura. 2013. **Rev Panam Salud Publica**, v. 33, n.:4,,p.:294-99, 2013.

PEDRO, H. S. P. et al. Clinical and epidemiological profiles of individuals with drugresistant tuberculosis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110(2), p. 235–241, 2015.

PINTO, P. F. P. S, et al. Perfil epidemiológico da tuberculose no município de São Paulo de 2006 a 2013. **REV BRAS EPIDEMIOL**, v. 20, n.3p.: 549-557, JUL-SET 2017.

PRADO, T. N., et al.. Epidemiological profile of adult patients with tuberculosis and AIDS in the state of Espírito Santo, Brazil: Cross-referencing tuberculosis and AIDS databases. **J Bras Pneumol**,v.37, n.1, p.:93-9, 2011.

RICHARD, D., et al. Cough and the Transmission of Tuberculosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 211, p.:1367–72, 2015

RITACCO, V. KANTOR, I.N. Zoonotic tuberculosis in Latin America. **J. Clin. Microbiol.**, V.30, 3299-300, 1992.

ROCHA, A. J **O impacto social das doenças negligenciadas no Brasil e no mundo**. 2012. (dissertação:monografia). Univerisdade Federal da Bahia. 2012.Disponível em:  
[https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/7983/1/Anderson%20de%20Jesus%20Rocha%20\(2012.1\).pdf](https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/7983/1/Anderson%20de%20Jesus%20Rocha%20(2012.1).pdf). Acesso em: setembro. 2018.

SIDIQQI, K.; LAMBERT, M. L.; WALLEY J. Clinical diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in low-income countries: the current evidence. **Lancet Infect Dis**. v. 3, n. 5,:288-96, 2003.

SILVA, D. R,. Características clínicas e evolução de pacientes imunocomprometidos não HIV com diagnóstico intra-hospitalar de tuberculose. **J Bras Pneumol**, v. 36, n. 4, p.:475-84, 2010.

SIQUEIRA, H. R . Enfoque Clínico da Tuberculose Pulmonar. **Pulmão RJ** v. 21, n.1, p.:15-18, 2012.

SOARES, M. L. M, et al. Aspectos sociodemográficos e clínico-epidemiológicos do abandono do tratamento de tuberculose em Pernambuco, Brasil, 2001-2014. **Epidemiol. Serv. Saude**, v.26, n.2,p.:369-378, abr-jun 2017.

SOUZA, M. B. DE; ANTUNES, C. M. DE F.; GARCIA, G. F. Perfil de sensibilidade e fatores de risco associados à resistência do *Mycobacterium tuberculosis*, em centro de referência de doenças infecto-contagiosas de Minas Gerais. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, p. 430–437, 2006.

STORLA, D. G.;YIMERS, BJUNE G. A. A systematic review of delay in in the diagnosis and treatment of tuberculosis. **BMC Public Health**, v.8, n.15, 2008.

SVEN, D.C., et al. Novel Cause of Tuberculosis in Meerkats, South Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 12, December 2013.

TADESSE, M., et al. GeneXpert MTB/RIF assay for the diagnosis of tuberculous lymphadenitis on concentrated fine needle aspirates in high tuberculosis burden settings. **PLoS One.**; v.10, n.9, :e0137471, 2015.

VILLEGAS, L. et al. Prevalence, Risk Factors, and Treatment Outcomes of Isoniazidand Rifampicin- Mono-Resistant Pulmonary Tuberculosis in Lima, Peru. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0152933, 2016.

ZHAO, P. et al. Social behaviour risk factors for drug resistant tuberculosis in mainland China: a meta-analysis. **The Journal of international medical research**, v. 40, n. 2, p. 436–445, 2012.

**Artigo: Acurácia diagnóstica do ensaio GeneXpert MTR/RIF na Tuberculose Pulmonar e Extrapulmonar.**

Robéria Mandú da Silva Siqueira<sup>1,2</sup>, Erivaldo Elias Junior<sup>2,\*</sup>, Claudia Gonçalves Gouveia<sup>2</sup>, Ângela Maria Dias de Queiroz<sup>2</sup>, Luciane Perez da Costa Fernandes<sup>2</sup>, Alinne Pereira de Castro<sup>1</sup>, Flávio Ribeiro de Araújo<sup>1</sup>.

**Afilições:** <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, Brasil.<sup>2</sup>Hospital São Julião, Campo Grande, MS, Brasil.

**\*Autor de correspondência:** Robéria Mandú da Silva Siqueira, Rua Lino Villachá, 1250, Nova Lima, Campo Grande, MS, Brasil. Phone/fax: +55 (67) 33581500. E-mail: roberiamandu@hotmail.com.



## Resumo

**Introdução:** A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa de repercussão social e epidemiológica. Pesquisas estão surgindo para aprimorar técnicas laboratoriais que auxiliem de maneira mais eficiente e rápida a descoberta de *M. tuberculosis*. A cultura é considerada padrão-ouro, mas algumas preocupações são inerentes, como: casos extrapulmonares (considerados mais difíceis de identificar devido à carga bacilar), identificação tardia de resistência a antibióticos, tempo de exame prolongado. Neste contexto, o teste GeneXpert MTB / RIF foi desenvolvido ferramenta na luta contra a doença, com a vantagem de fornecer resultados mais rápidos e informações adicionais sobre a resistência à rifampicina. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo utilizando uma base de dados laboratorial, no contexto da rotina operacional de um serviço de referência entre 2015 e 2018. **Resultados:** Das 1.023 amostras obtidas, 719 (70,2%) eram amostras clínicas de indivíduos do sexo masculino, a média de idade foi de  $47,45 \pm 16,52$  anos, metade dos quais eram HIV negativos e 2,5% estavam desabrigados. 576 eram amostras de expectoração (82,2%); entre aqueles de um local extrapulmonar, 168 eram amostras de líquido cefalorraquidiano. O TMR-TB apresentou sensibilidade de 63,0% e especificidade de 98,6% para tuberculose pulmonar. Micobactérias não tuberculosas foram encontradas em 19 amostras (2%). A detecção de resistência à rifampicina não foi conclusiva; e o RMT-TB mostrou alta sensibilidade (95,2 [76,2-99,8]) em pessoas com infecção pelo HIV. Além disso, foi mais sensível nos reclusos (75,0 [55,1 - 89,3]) do que nos sem abrigo (38,4 [13,8 - 68,4]). O teste foi mais confiável em amostras extrapulmonares. **Conclusões:** Portanto, o TB-RMT não exclui a necessidade de outros métodos diagnósticos tradicionais ou moleculares.

**Keywords:** Técnica de diagnóstico molecular; pessoas desabrigadas; reação em cadeia da polimerase; infecções por HIV; micobactérias.

**Abbreviations:**

AIDS = *Acquired immunodeficiency syndrome*

ART = Antirretroviral treatment

BK = Bacilo de Koch

DNA = *Deoxyribonucleic acid*

HIV = *Human immunodeficiency virus*

MNT = Micobactéria não-tuberculosa

OMS = Organização Mundial de Saúde

OK = Meio de cultura Ogawa Kudoh

PCR = *Polymerase chain reaction*

PNCT-BR = Programa Nacional de Controle da Tuberculose (Brasil)

PVHA = Pessoas vivendo com HIV/AIDS

RIF = *Rifampin*

TB = Tuberculosis

TBEP = Tuberculose extrapulmonar

TBP = Tuberculose pulmonar

TRM-TB = Teste rápido molecular para tuberculose

TSA – Teste de sensibilidade

UFC = Unidades formadoras de colônias

VPN = Valor preditivo negativo

VPP = Valor preditivo positivo

A TB é uma enfermidade infecto-contagiosa, de etiologia bacteriana, que tem como principal sítio de infecção os pulmões (TBP), porém pode acometer também outros órgãos como na tuberculose extrapulmonar (TBEP).<sup>(1,2)</sup>

Muitos avanços no controle da TB foram notados, no entanto, o Brasil ainda está entre aqueles países com maior prevalência de TB no mundo. Na nova classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) de países considerados como prioritários no controle mundial da TB (composta por três listas com 30 países cada), o Brasil foi o 25º em carga da doença e o 22º em coinfeção TB/HIV.<sup>(3)</sup>

Foram notificados no estado do Mato Grosso do Sul (Brasil) 813 casos novos de TB no ano 2017, sendo 30 casos novos /100 mil habitantes com uma mortalidade atingindo 2,3 casos/100 mil habitantes. Os casos novos de tuberculose pulmonar (TBP) confirmados por critérios laboratoriais foram de 66,6% no ano de 2017.<sup>(4)</sup>

O diagnóstico da TB é realizado a partir da identificação dos Bacilos de Koch (BK) (*Mycobacterium tuberculosis*) de uma amostra biológica, por meio da baciloscopia, da cultura ou de métodos moleculares.<sup>(5)</sup> Desta forma, as técnicas laboratoriais para diagnóstico de TB são extremamente importantes para o controle epidemiológico da mesma. A cultura em meio específicos permite o isolamento e o crescimento dos bacilos de amostras clínicas, sendo esta técnica considerada padrão-ouro, com alta sensibilidade e especificidade para a detecção de TBP ou TBEP.<sup>(6)</sup>

No Brasil, o Teste Rápido Molecular (TRM-TB) foi inserido no Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT-BR) que permite detectar no tempo de até duas horas o ácido desoxirribonucleico (DNA) de *M. tuberculosis* e mutações associadas à resistência à rifampicina (RIF) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR).<sup>(7,8)</sup>

Os métodos de PCR tradicionais possuem uma sensibilidade de 50% e especificidade de 100%, no entanto a maioria necessita de conhecimento técnico avançado e recursos humanos qualificados, bem como de investimento financeiro. Além disto, é fácil ocorrer à contaminação da amostra durante o processamento. Nesse sentido, foi desenvolvida uma plataforma específica de PCR com todas as etapas analíticas do processamento automatizado, conhecido como TRM-TB, utilizada atualmente devido à maior rapidez e permitindo resultados seguros e precoces.<sup>(9,10)</sup>

A OMS recomenda o TRM-TB para o diagnóstico inicial em casos suspeitos de TB, bem como casos de falha terapêutica com possibilidade de resistência à rifampicina (RIF), e em casos de coinfeção com o HIV. <sup>(7)</sup> Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o desempenho dos resultados no Teste Rápido Molecular, GeneXpert *Mycobacterium tuberculosis*/Rifampicina (GeneXpert MTB/RIF), em amostras clínicas de TBP e TBEP bem como a performance em grupos específicos de pessoas em situação de vulnerabilidade.

## Métodos

### Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa quantitativa, descritiva, retrospectiva com utilização de banco de dados de resultados laboratoriais de um laboratório de análises clínicas do Hospital São Julião, Campo Grande, MS, Brasil, no contexto da rotina operacional de um hospital de referência para diagnóstico e tratamento da doença no estado.

As amostras selecionadas foram procedentes de pacientes com suspeita de TBP ou TBEP durante o período de agosto de 2015 a junho de 2018. Foram excluídas da análise as amostras do banco de dados que só tinham o resultado para um dos testes.

### Materiais

Para realização do TRM — TB foi utilizada a plataforma Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, EUA), que identifica o *M. tuberculosis* a partir da sequência específica do gene *rpoB* na região 81bp, mas também verifica a resistência à rifampicina (RIF) por meio da detecção de mutações no gene. O ensaio Xpert<sup>®</sup> MTB/RIF é composto de um cartucho plástico utilizado para o processamento das amostras líquidas, contendo tampões e reagentes liofilizados de PCR, também possui uma máquina automática e um sistema de *software*, que analisa amostras respiratórias em até duas horas. O limite para detecção é em torno de 131 UFC/mL da amostra. <sup>(10)</sup>

As etapas a que as amostras foram submetidas no TRM-TB foram: purificação, concentração e amplificação de ácidos nucleicos por PCR em tempo real, com o benefício de integração e automatização desses três processos que seriam realizados separadamente em uma técnica de PCR convencional. O método possibilitava a detecção por meio da fluorescência, do *M. tuberculosis* e da resistência à RIF com a utilização de cinco sondas complementares à região do gene *rpoβ*.<sup>(11)</sup>

As amostras foram em seguida semeadas em meio de Ogawa-Kudoh (OK) à base de ovo e contendo corante verde malaquita que inibe a microbiota contaminante.

Materiais como urina, líquido e outros líquidos foram centrifugados, já em fragmentos de tecidos foram fragmentados ou macerados. As amostras oriundas de sítios não estéreis, como tecido cutâneo, foram fluidificadas e descontaminadas. Após semeadura foram incubadas entre 35-37 °C por até oito (8) semanas. Finalmente, era realizada a leitura, avaliando-se as colônias e suas características morfológicas: presença de pigmento, aspecto liso ou rugoso e a ocorrência de contaminação.

A leitura de meio sólido seguiu os critérios do Manual de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e Outras Micobactérias: quando < 20 colônias a cultura é positiva (paucibacilar); de 20 a 100 colônias é positiva (+); > 100 colônias é positiva (++); quando houver colônias confluentes, formando uma espécie de tapete, a cultura é positiva (+++); e quando não houver crescimento de colônias tem-se cultura negativa.<sup>(6)</sup>

#### Análise estatística

Para variáveis categóricas de resultados laboratoriais expressos em proporção, foi utilizado o teste não paramétrico do qui-quadrado, com auxílio do *software* GraphPad Prism® versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Foi considerado nível de significância de 5%.

#### Ética

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos local (CAAE: 44087215.3.0000.0021), vinculado a Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. A confidencialidade dos dados e o anonimato dos pacientes foram assegurados na elaboração e no manuseio do banco de dados.

## **Resultados**

Foram identificadas 1.217 amostras de pacientes, porém foram analisadas destas 1.023 (84,0%) amostras de pacientes com suspeita de TBP e TBEP, pois foram submetidas à análise do TRM-TB e cultura. Houve predominância do sexo masculino com 719 amostras (70,2%) e a média de idade da população estudada foi de  $47,45 \pm 16,52$  anos, sendo a faixa etária entre os 40 – 59 com maior representatividade: 409 casos (39,9%).

Os pacientes atendidos em hospitais constituíram a principal fonte de origem das amostras analisadas, com 902 das amostras (88,1%). Quanto à coinfeção com HIV cerca de metade das amostras eram de pacientes soronegativos, representando 520 (50,8%). Já em 26 amostras a procedência foi de moradores de rua (2,5%). Verifica-se na tabela 1 os dados que caracterizam a população do estudo.

**Tabela 1** - Características socioepidemiológicas dos pacientes que tiveram amostras analisadas pelo Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB), em hospital de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, entre agosto de 2015 a junho de 2018. (N = 1023).

<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	719	70,2
Feminino	301	29,8
Ignorado	3	0,0
<b>Idade (anos)</b>		
18-39	371	36,2
40-59	409	39,9
≥ 60	219	21,4
Ignorado	24	12,5
<b>Procedência</b>		
Hospital	902	88,1
Ambulatório	84	8,3
Instituição penal	37	3,6
<b>Caso novo</b>		
Sim	942	92,1
Não	76	7,4
Ignorado	5	0,5
<b>Coinfecção HIV</b>		
Sim	281	27,5
Não	520	50,8
Ignorado	222	21,7
<b>Morador de rua</b>		
Sim	26	2,5
Não	997	97,5

As amostras recebidas para realização das análises eram procedentes de diversos sítios de coleta conforme a suspeição clínica da forma de apresentação da doença, baseada nos sintomas de cada paciente. A distribuição das amostras segundo o sítio de coleta está demonstrada na tabela 2.

**Tabela 2** – Distribuição dos sítios de coleta referente as amostras submetida a análise pelo Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB), em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, no período de 2015 a junho de 2018. (N = 1023).

Sítios de amostras	N	%
<b>Pulmonar (n=701)</b>		
Escarro	576	82,2
Escarro induzido	73	10,4
Lavado broncoalveolar	52	7,4
<b>Extrapulmonar (n=322)</b>		
Líquido cefalorraquidiano	168	52,3
Líquido pleural	82	25,5
Linfonodo	19	5,9
Urina	17	5,3
Fragmento pele	10	3,1
Líquido ascítico	8	2,5
Fragmento ósseo	4	1,2
Fragmento pericárdio	4	1,2
Líquido sinovial	4	1,2
Fragmento trato digestivo	3	0,9
Fragmento tecido nervoso	2	0,6
Aspirado medular	1	0,3

Os resultados dos TRM-TB e cultura estão apresentados na tabela 3. Ao todo 76 amostras (7,4%) tiveram resultado positivo no TRM-TB e cultura negativa para *M. tuberculosis*. Foram encontradas 11 (1,1%) amostras com resultado negativo no TRM-TB, que, no entanto, foram positivas em exame de cultura para *M. tuberculosis*.



**Tabela 3** – Resultados de Teste Rápido Molecular para tuberculose (TRM-TB) e detecção em meio de cultura para *Mycobacterium tuberculosis*, em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, no período de agosto de 2015 a junho de 2018, (N = 1023).

Testes laboratoriais	Cultura positiva (n=144)		Cultura negativa (n=879)		Tota l
	N	%	N	%	N
<b>TRM-TB detectado</b>	133	92,4	76	8,9	<b>209</b>
<b>TRM-TB não detectado</b>	11	7,6	801	91,1	<b>812</b>

$p < 0.0001$ , teste de qui-quadrado

Sensibilidade = 63,0%; Especificidade = 98,6%; Valor preditivo positivo = 92,3%; Valor preditivo negativo = 91,1%; Acurácia = 91,3% [Intervalo de confiança de 95%]. Razão de verossimilhança = 46,5.

Quanto à forma clínica da TB, 701 (68,5%) eram provenientes de suspeita da doença na forma pulmonar e 322 das amostras (31,5%) de doença extrapulmonar. As culturas que apresentaram resultado positivo pelo crescimento de *M. tuberculosis* em TBP foram 133 (18,9%), já as culturas positivas em amostras de TBEP foram 11 (3,4%).

O exame de TRM-TB não detectou a presença de *M. tuberculosis* em 10 exames (1,4%) de pacientes com TBP, sendo que esta falha compreendeu 1,2% das amostras de escarro testadas (7/576) e 5,8% das amostras de lavado broncoalveolar (3/52). Já entre os pacientes com TBEP, o TRM-TB não foi capaz de detectar o bacilo em 1 amostra (0,3%), sendo esta uma amostra de urina, que representou falha de detecção em 5,8% das amostras de urina testadas (1/17). Na tabela 4 verifica-se o desempenho dos testes com base nas formas clínicas de apresentação da doença.

**Tabela 4** – Resultados do Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) segundo identificação em cultura do *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de diferentes formas clínicas de apresentação da doença, em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil (N = 1023).

Testes laboratoriais	Pulmonar <sup>a</sup> n=701				Extrapulmonar n=322			
	Cultura positiva		Cultura negativa		Cultura positiva		Cultura negativa	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>TRM-TB detectado</b>	123	17,5	70	10,1	10	3,1	8	2,5
<b>TRM-TB não detectado</b>	10	10,4	498	71,0	1	0,3	302	94,1
Sensibilidade (%)	63.7 [56.5 – 70.5]				90.9 [58.7 – 99.8]			
Especificidade (%)	98.0 [96.4 – 99.0]				97.4 [95.0 – 98.9]			
Valor preditivo positivo	92.5 [86.6 – 96.3]				55.5 [30.7 – 78.5]			
Valor preditivo negativo	87.6 [84.6 – 90.2]				98.6 [98.2 – 99.9]			
Acurácia (%)	88.5				97.2			

$p < 0.0001$ , teste de qui-quadrado, intervalo de confiança = 95%

<sup>a</sup>Likelihood ratio = 32,4

<sup>b</sup>Likelihood ratio = 35.2

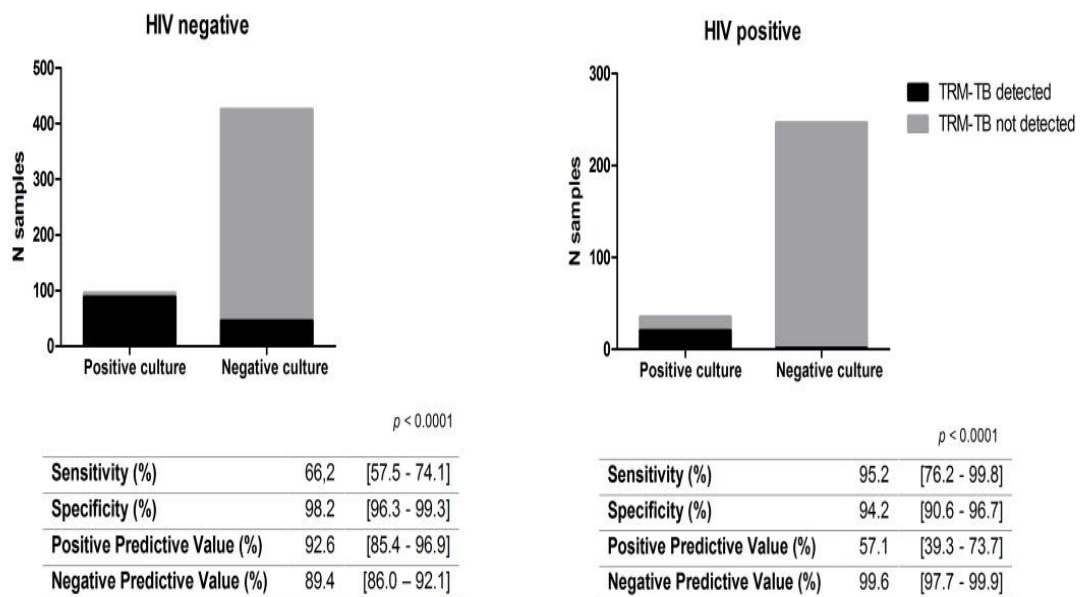
Dentre os resultados de cultura, foram encontradas 19 amostras (2%) com resultado para micobactérias não tuberculosas (MNT). Nestas amostras o TRM-TB detectou em 2 (10,5%) amostras *M. tuberculosis*. Dentre estes casos de MNT, 6 amostras (31,6%) eram de pacientes coinfectados pelo HIV. Sobre a forma clínica de apresentação da doença foi encontrado que 1 caso (5,3%) era TBEP e 18 (94,7%) era TBP. A MNT foi identificada como *Mycobacterium simiae* em um dos 19 casos. Nos demais 18 casos de MNT não foi disponibilizado espécie do micro-organismo.

Foi detectado pelo TRM - TB 5 (cinco) amostras (0,5%) positivas para *M. tuberculosis* e resistentes à RIF, porém na cultura uma dessas amostras (20%) era justamente de uma MNT, outra amostra resultou negativa na cultura para *M. tuberculosis* (20%), e três amostras foram positivas para *M. tuberculosis* (sendo duas com teste de sensibilidade - TSA - indicando sensibilidade e uma sem resultado disponível do TSA). Todas as amostras com detecção de resistência à RIF no TRM-TB eram de TBP.

O TRM-TB demonstrou ser mais sensível na detecção de tuberculose em PVHA com sensibilidade de 95,2 [76,2 — 99,8], porém maior especificidade em soronegativos para HIV com especificidade de 98,2 [96,3 — 99,3]. Enquanto o valor

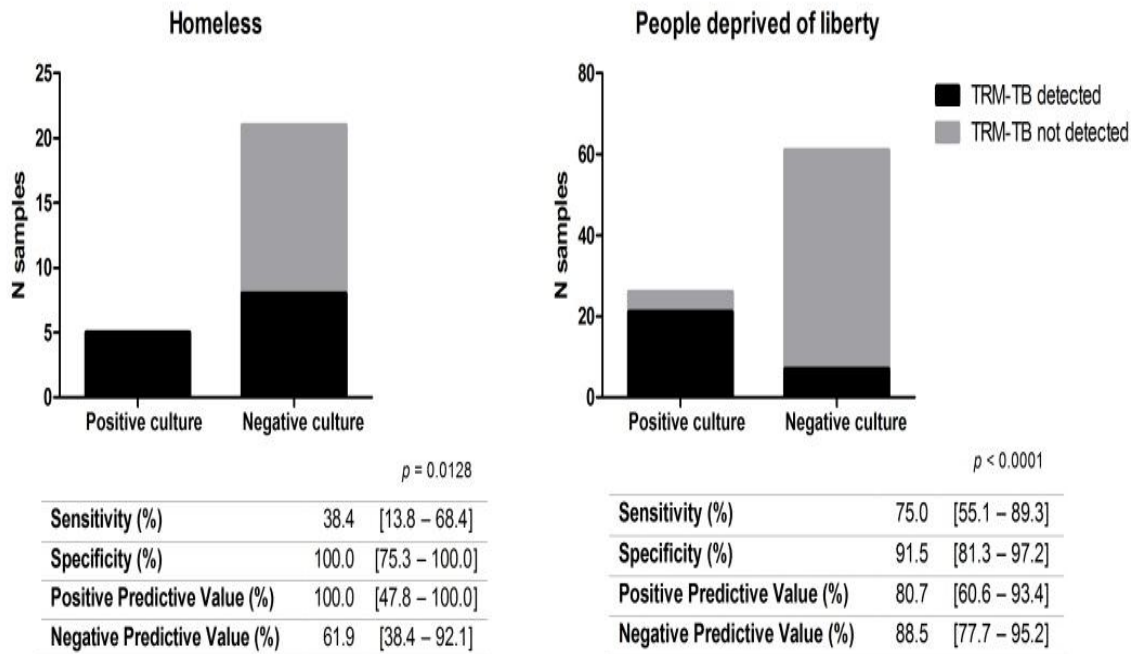
preditivo positivo (VPP) foi maior em soronegativos com 92,6 [85,4 — 96,9], o valor preditivo negativo (VPN) foi maior em PVHA com 99,6 [97,7 — 99,9]. (Figura 1).

**Figura 1.** Análise dos resultados de Teste rápido molecular para tuberculose e cultura segundo coinfeção pelo HIV . em laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, (N = 1023).



O TRM-TB demonstrou ser mais sensível em pacientes privados de liberdade com sensibilidade de 75,0 [55,1 — 89,3] do que em moradores de rua com 38,4 [13,8 — 68,4], porém mais específico para moradores de rua com especificidade 100 [75,3 — 100]. Enquanto o VPP foi maior em moradores de rua com 100 [47,8 — 100], o VPN foi maior em pacientes privados de liberdade com 88,5 [77,7 — 95,2] (Figura 2).

**Figura 2.** Análise do Teste rápido molecular para tuberculose (TRM-TB) e cultura segundo situação de risco, laboratório de referência do Mato Grosso do Sul - Brasil, (N = 1023).<sup>a</sup>



## Discussão

Este estudo teve como objetivo avaliar a correlação dos resultados de diferentes técnicas laboratoriais operando sob condições laboratoriais de rotina para a visualização de pacientes com suspeita de TB em uma região do Brasil.

*M. tuberculosis* foi identificado em 719 (70,2%) do sexo masculino, corroborado pelo estudo de Macedo et al. (2017),<sup>(12)</sup> que também encontrou o maior percentual de casos de TB no sexo masculino, correspondendo a 65,6% (n = 374).

Uma provável explicação para a maior porcentagem em homens é atribuída ao fato de que eles estão mais expostos ao microrganismo, juntamente com o aumento da exposição a fatores de risco, como o uso de álcool e o tabagismo. Além disso, os homens buscam menos cuidados de saúde em relação às mulheres em geral, retardando o diagnóstico ou não permitindo a adoção de medidas preventivas precoces no caso da TB.<sup>(13)</sup>

Os casos novos conforme constatado neste estudo de 942 casos (92,1%) classificados como de origem novo evidenciou que a incidência está aumentando

indo de encontro com as metas para a redução do coeficiente de incidência de tuberculose para menos de dez casos novos por cada 100 mil habitantes até 2035 que foram estabelecidas em 2017, por meio da Coordenação-Geral do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (CGPNCT) do Brasil. <sup>(3)</sup>

Já quanto à forma clínica de apresentação da doença, a TBP demonstrou maior frequência quando comparada com a TBEP, corroborando-se com um estudo realizado no município de Curitiba com 5.984 casos de TB no qual se identificou que a TBP foi mais representativa com 4.406 dos casos (74%). <sup>(14)</sup>

O número menor de TBEP pode ser atribuído aos seguintes fatores: número de bacilos de *M. tuberculosis* (MTB) presentes nos tecidos em locais da doença muitas vezes baixos e espécimes clínicos de maior dificuldade de obtenção em certos órgãos. No caso do diagnóstico de TBEP, isso representa maior dificuldade diagnóstica também por: baixa suspeição clínica e sintomas atípicos <sup>(15)</sup>. A TBEP é menos contagiosa e frequente em relação à TBP, e conseqüentemente menos tratada por programas em países em desenvolvimento. <sup>(16)</sup>

Apesar disto o TRM-TB apresentou maior utilidade com maior sensibilidade como método no diagnóstico para a TBEP (90,9) quando comparado com a TBP (63,7) e especificidade semelhante nas duas formas de apresentação da doença (97,5 e 98,0, respectivamente) ( $p < 0.05$ ). No estudo, de Vallejo et al., 2015 <sup>(17)</sup> obtiveram especificidade menor de 95,2% em amostras respiratórias, 94,1% em amostras não respiratórias e sensibilidade maior de 93,9% em amostras respiratórias e 100,0% em amostras não respiratórias, em que o número de amostras avaliadas foi de 384 pulmonares e 145 extrapulmonares. No estudo de Huh et al., 2014 <sup>(18)</sup>, foi verificado que a sensibilidade foi maior com 85,7% [IC: 42,0–99,2] e a especificidade de 98,9% [IC: 93,2–99,9] realizado em 303 amostras pulmonares.

No estudo de Tortoli et al., (2012) <sup>(19)</sup>, realizado em 8 laboratórios acreditados na Itália, com 1.493 amostras extrapulmonares, identificou-se que o diagnóstico da TB, especialmente nessa forma de apresentação clínica, baseava-se na combinação de vários testes. Entre os testes rápidos investigados, a sensibilidade do TRM-TB foi duas vezes maior em comparação com o exame de baciloscopia, duplicando assim a proporção de diagnósticos rápidos.

Ainda sobre a TBEP, um estudo realizado na Índia com 547 pacientes, sugeriu que o TRM-TB tem potencial para o diagnóstico de TB extrapulmonar e que sua facilidade de uso torna aplicável para os países onde a TB é endêmica. <sup>(20)</sup>

As amostras de TBEP obtiveram alta representatividade com 322 casos (31,5%) dos exames analisados neste estudo, mesmo que em menor número quando comparada às amostras de TBP. Isto pode ser explicado em parte devido ao fato das amostras serem provenientes de hospitais com 902 dos casos (88,1%), e o laboratório que realizou a análise ser de referência no diagnóstico e tratamento da doença no estado, ou seja, para onde são encaminhados os casos mais complexos de adesão terapêutica e que não obtiveram diagnóstico confirmatório em outros níveis de complexidade.

As unidades básicas de saúde apresentam maior dificuldade no diagnóstico da TBEP, pois somente um quarto obtém a confirmação bacteriológica. Uma das razões para essa dificuldade é o difícil acesso ao sítio das lesões e ao fato de habitualmente serem paucibacilares quando extrapulmonares, situação na qual a baciloscopia costuma ser negativa dificultando a investigação nesse nível da hierarquia de atenção à saúde. <sup>(21)</sup>

Das amostras pulmonares o escarro foi a amostra mais significativa com 572 (82,2%), que por sua vez se assemelha ao encontrado no estudo de Oliveira et al., (2016) <sup>(22)</sup>, realizado em um Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal, Brasil, no período de janeiro de 2011 a junho de 2014, que encontrou das 284 amostras avaliadas 246 (86,6%) dos casos foram pulmonares.

Diferentemente da literatura que aponta a TB pleural como a forma extrapulmonar mais frequente, <sup>(21)</sup> neste trabalho encontrou-se o líquido cefalorraquidiano com 168 amostras (52,3%) como maior sítio de investigação da doença, seguido do líquido pleural com 82 amostras (25,5%). Também diverge do estudo realizado no “Ambulatório Didático de Moléstias Infecciosas e Parasitárias” (ADMIP) da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FMSCSP), com 44 pacientes em que analisaram a forma osteoarticular da doença presente em 9 casos (36%). <sup>(23)</sup>

Outro dado observado foi com relação à coinfeção com HIV, onde neste estudo 35/209 amostras positivas no TRM-TB correspondiam a PVHA, representando 16,7% de coinfeção dentre os resultados positivos. São considerados como problemas de saúde pública global tanto a TB como o HIV. No

ano de 2015 aproximadamente 10,4 milhões de pessoas adoeceram por TB, das quais 1,2 milhão eram pessoas que tinham HIV. Ainda em 2015, 1,8 milhão de pessoas morreram devido à TB, incluindo 400.000 pessoas que eram HIV positivo.<sup>(24)</sup>

Os métodos diagnósticos mais frequentes são baciloscopia, TRM-TB e anatomo-histopatológico. O TRM-TB é o método recomendado pela OMS, de fácil realização, resultado rápido, com relato de boa sensibilidade e especificidade<sup>(25)</sup>. O TRM-TB demonstrou ser mais sensível em pacientes privados de liberdade com 75,0 [55,1 – 89,3] do que moradores de rua 38,4 [13,8 – 68,4] neste estudo, porém mais específico para moradores de rua com 100 [75,3 – 100].

Enquanto o VPP foi maior em moradores de rua com 100 [47,8 – 100] o valor preditivo negativo foi maior em pacientes privados de liberdade com 88,5 [77,7 – 95,2]. No estudo de Pinto, et al. (2017)<sup>(26)</sup> constataram que houve aumento de moradores de rua com TB, alertando-se sobre a dificuldade em realizar o diagnóstico e tratamento adequado nesta população.

Segundo Atehortúa et al. (2015), o TRM-TB é uma ferramenta adicional para o diagnóstico da TB pulmonar em países em desenvolvimento e apresenta uma melhor performance em amostras com baciloscopia negativa. Já o estudo de Vallejo et al., (2015)<sup>(17)</sup>, realizado no Instituto Nacional del Tórax, Chile, com 529 amostras, identificou que o TRM-TB contribuiu muito para o diagnóstico da TB, com bons resultados tanto para amostras respiratórias como para as de outros sítios, além de fornecer informações relevantes sobre a resistência no estágio inicial.

O trabalho de Huh et al., (2014)<sup>(18)</sup> considera que o TRM-TB é uma ferramenta adequada para a exclusão da doença em pacientes com baixa probabilidade de TB pulmonar. Para a detecção da resistência à RIF o método não obteve um bom desempenho. Há que considerar que neste estudo em 100% dos casos em que o TRM-TB informou possível resistência à rifampicina tal condição não obteve confirmação pelo TSA.

A prevalência de resistência à RIF verifica-se no presente trabalho em 0,5% pelo TRM-TB isoladamente. Para Scott et al., (2011)<sup>(28)</sup>, o TRM-TB obteve desempenho melhor no diagnóstico de TB comparado a baciloscopia e a outros métodos moleculares no rápido diagnóstico. No entanto, ele considera que entre os resultados de resistência à RIF detectados pelo TRM-TB, três foram sensíveis à RIF

pelo método de TSA, sendo então considerados resultados falso-positivos. A cultura é considerada padrão ouro para o diagnóstico de TB. Houve amostra que foi positiva nos TRM-TB e negativa na cultura e vice-versa, podendo sugerir resultados falso-positivos e falso-negativos.

Houve 76 (7,4%) amostras negativas em exame de cultura, porém com detecção positiva no TRM-TB, e 11 (1,1%) testes de TRM-TB sem detecção do *M. tuberculosis* que, no entanto foram positivos em cultura. Nos falso-positivos, não foi possível, portanto afirmar que se tratava de TB causada pelo *M. tuberculosis*. No estudo de Casela et al., (2018) <sup>(29)</sup>, realizado entre 2014 a 2015 no laboratório do Hospital Especializado Otávio Mangabeira em Salvador, Bahia, com 19.117 testes (baciloscopia, cultura para micobactérias e TRM-TB), encontraram dentre os 424 pacientes com baciloscopia positiva, 9 (2,1%) amostras negativas no TRM-TB, sugerindo a possibilidade de presença de MNT. Assim, foi concluído no estudo que nesses casos, a presença de MNT pode ser representativa, necessitando-se prosseguir a investigação com cultura e identificação de espécie.

## **Conclusão**

Por fim, este trabalho alertou para a incidência de caso de TB, tendo em vista que apresentou maior número de casos novos. O GeneXpert MTB/RIF é indicado a partir deste trabalho para a identificação de casos positivos para TB em amostras extrapulmonares, e no caso de amostras pulmonares para confirmar as amostras negativas.

Existe a possibilidade do teste GeneXpert MTB/RIF resultar em casos falso-positivos e falso-negativos, sendo necessário utilizar o teste GeneXpert MTB/RIF em casos especiais e não como substituto da cultura. A resistência à RIF não foi significativa neste trabalho.

Indica-se a partir dos resultados o uso do teste GeneXpert MTB/RIF para o diagnóstico confirmatório em casos de PVHA e, já em relação aos soronegativos para a confirmação de resultados negativos para Tuberculose.

Além disso, pode-se concluir que o GeneXpert MTB/RIF deve ser usado para o diagnóstico confirmatório em privados de liberdade, e no caso de morador de rua para a confirmação do diagnóstico negativo para TB.



## Agradecimentos

A equipe do estudo agradece ao Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde do Brasil, pelo auxílio obtido através do fornecimento do equipamento utilizado (Cepheid System ID: 804739) por meio da Seleção de Propostas de Pesquisa Envolvendo o Teste Rápido Molecular para Tuberculose (TRM-TB) no Sistema Único de Saúde - SUS em 2014. Agradecemos ao apoio financeiro da CAPES para os estudos.

## Referências

- [1]. Wildner LN, CL; Souza, BS; Senna, SG; Silva, RM, Bazzo, ML. Micobactérias: Epidemiologia e Diagnóstico. J Trop Pathol. 2011;40(3):207-29. doi:<https://doi.org/10.5216/rpt.v40i3.15972>.

- [2]. Chaves J, Tomilin BA, Brun D, Fuhr LG, Ourique F, Pilletti K et al. Profile of patients with tuberculosis treated in a Reference of the municipality of Santa Cruz dos Sul - RS in the period from 2009 to 2013. *J Health Biol Sci.* 2017;5(1):31-6. doi:doi:10.12662/2317-3076jhbs.v5i1.902.p.31-36.2017.
- [3]. BRAZIL. Brazil Free from Tuberculosis: National Plan to End TB as a Public Health Problem. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; 2017.
- [4]. BRAZIL. Overview of Tuberculosis in Brazil: context based on epidemiological and operational indicators. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; 2018.
- [5]. WHO. Global tuberculosis report 2012. Geneva: World Health Organization; 2012.
- [6]. BRAZIL. National Manual for the Laboratory Surveillance of Tuberculosis and others Mycobacterias. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2008
- [7]. WHO. Global Tuberculosis Report 2018. Geneve: World Health Organization; 2018.
- [8]. Rabna P, Ramos J, Ponce G, Sanca L, Mané M, Armada A et al. Direct Detection by the Xpert MTB/RIF Assay and Characterization of Multi and Poly Drug-Resistant Tuberculosis in Guinea-Bissau, West Africa. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127536. doi:10.1371/journal.pone.0127536.
- [9]. Durovni B, Saraceni V, van den Hof S, Trajman A, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S et al. Impact of replacing smear microscopy with Xpert MTB/RIF for diagnosing tuberculosis in Brazil: a stepped-wedge cluster-randomized trial. *PLoS Med.* 2014;11(12):e1001766. doi:10.1371/journal.pmed.1001766.
- [10]. Patel VB, Theron G, Lenders L, Matinyena B, Connolly C, Singh R et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. *PLoS Med.* 2013;10(10):e1001536. doi:10.1371/journal.pmed.1001536.
- [11]. Delocco BAV, Guioti CdO, Gava CM, Diogo Penha S, Salomon FCR, Carvalho JLdC et al. Xpert MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar: Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência Tele;2011 September. Report No.: 1983-7003.
- [12]. Macedo JO, ASSS; Pereira, IC; Assunção, MJSM. Epidemiological profile of tuberculosis in a municipality of Maranhão. *Reon Facema.* 2017;3(4):699-705.
- [13]. Zigmignan A, Alves MS, Sousa EM, Lima Neto LG, Sabbadini PS, Monteiro SG. Epidemiological characterization of pulmonary tuberculosis in the state of Maranhão, between the period 2008-2014. *Rev Investig Biomed.* 2014;6(1):6-13.
- [14]. Basso GB, Franzoi CF, Silva JP, Nodari JP, Cyrino LR, Costardi JVV et al. Epidemiological Profile of Tuberculosis in the city of Curitiba in the period 2001 to 2011. *Perspect Med.* 2017;28(3):12-7. doi:10.6006/perspectmed.02012017.8647454537.
- [15]. Lawn SD, Zumla AI. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the Xpert(®) MTB/RIF assay. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10(6):631-5. doi:10.1586/eri.12.43.
- [16]. Pefura Yone EW, Kengne AP, Moifo B, Kuaban C. Prevalence and determinants of extrapulmonary involvement in patients with pulmonary tuberculosis in a Sub-Saharan African country: A cross-sectional study. *Scand J Infect Dis.* 2013;45(2):104-11. doi:10.3109/00365548.2012.714905.

- [17]. Vallejo PV, Rodríguez JCD, Searle AM, Farga VC. Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. *Rev Chil Enferm Respir.* 2015;31(2):127-31. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482015000200010>
- [18]. Huh HJ, Jeong B-H, Jeon K, Koh W-J, Ki C-S, Lee NY. Performance evaluation of the Xpert MTB/RIF assay according to its clinical application. *BMC Infect Dis.* 2014;14:589-. doi:10.1186/s12879-014-0589-x.
- [19]. Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, Mazzola E, Dal Monte P, Pascarella M et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J.* 2012;40(2):442-7. doi:10.1183/09031936.00176311 %J European Respiratory Journal.
- [20]. Vadwai V, Boehme C, Nabeta P, Shetty A, Alland D, Rodrigues C. Xpert MTB/RIF: a New Pillar in Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis? *J Clin Microbiol.* 2011;49(7):2540-5. doi:10.1128/JCM.02319-10 %J Journal of Clinical Microbiology.
- [21]. Lopes AJ, Capone D, Mogami R, Tesarollo B, Cunha DL, Capone RB et al. Extrapulmonary tuberculosis: clinics and image aspects. *Pulmão RJ.* 2006;15(4):253-61.
- [22]. Oliveira GdS, Lima GRdCeC, Silva JX, Naves JdOS, Monteiro Filho CMdR. Laboratory identification of mycobacteria from respiratory samples of patients with suspected pulmonary tuberculosis in samples isolated at the Central Laboratory of Public Health of the Federal District (LACEN-DF). *J Health Biol Sci.* 2016;4(3):290-7. doi:doi:10.12662/2317-3076jhbs.v4i3.712.p187-192.2016
- [23]. Silveira TT, Kikuta VS, Pipa MB, Cunha DFS, ribeiro TC, Rio RC et al. Study of the osteoarticular/bone and joint tuberculosis forms in patients followed in didactic ambulatory care in a teaching hospital. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo.* 2017;62(1).
- [24]. WHO. Global Tuberculosis Report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016.
- [25]. Deus Filho A, Carvalho IMS. Epidemiological Profile of Patients with Tuberculosis in a Teresina-PI University Hospital. *JCS HU-UFPI.* 2018;1(1):51-60. doi:<https://doi.org/10.26694/2595-0290.1151-60>.
- [26]. Pinto PFPS, Silveira C, Rujula MJP, Chiaravalloti Neto F, Ribeiro MCSdA. Epidemiological profile of tuberculosis in São Paulo municipality from 2006 to 2013. *Rev Bras Epidemiol.* 2017;20(3):549-57. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/1980-5497201700030016>.
- [27]. Atehortúa S, Ramírez F, Echeverri LM, Peñata A, Ospina S. Xpert MTB/RIF test performance assay in respiratory samples at real work settings in a developing country. *Biomedica.* 2015;35:125-30.
- [28]. Scott LE, McCarthy K, Gous N, Nduna M, Van Rie A, Sanne I et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with Other Nucleic Acid Technologies for Diagnosing Pulmonary Tuberculosis in a High HIV Prevalence Setting: A Prospective Study. *PLoS Med.* 2011;8(7):e1001061. doi:10.1371/journal.pmed.1001061.
- [29]. Casela M, Cerqueira SMA, Casela TdO, Pereira MA, Santos SQd, Pozo FAD et al. Rapid molecular test for tuberculosis: impact of its routine use at a referral hospital. *J Bras Pneumol.* 2018;44:112-7.

**Artigo submetido na Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz:  
“Diagnostic accuracy of the GeneXpert MTR / RIF assay in  
pulmonary and extrapulmonary tuberculosis.”**

Robéria Mandú da Silva Siqueira<sup>a,b</sup>, Erivaldo Elias Junior<sup>b\*</sup>, Claudia Gonçalves Gouveia<sup>b</sup>, Ângela Maria Dias de Queiroz<sup>b</sup>, Luciane Perez da Costa Fernandes<sup>b</sup>, Alinne Pereira de Castro<sup>a</sup>, Flávio Ribeiro de Araújo<sup>a</sup>

\*

**Affiliations:** <sup>a</sup>Postgraduate Program in Biotechnology, Dom Bosco Catholic University, Campo Grande, MS, Brazil.

<sup>b</sup>São Julião Hospital, Campo Grande, MS, Brazil.

**Corresponding Author:** Robéria Mandú da Silva Siqueira, Rua Lino Villachá, 1250, Nova Lima, Campo Grande, MS, Brazil. Phone/fax: +55 (67) 33581500. *E-mail:* roberiamandu@hotmail.com.

## Summary

**Background:** Tuberculosis (TB) is an infectious disease of social and epidemiological repercussion. Surveys in the field of research are emerging to improve laboratory techniques that help in a more efficient and fast way the discovery of *M. tuberculosis*. The culture is considered gold standard, in this way widely used in the environment, but some concerns are inherent, such as: extrapulmonary cases (considered more difficult to identify due to bacillary load), late identification of resistance to antibiotics, time of examination prolonged. In this context, the GeneXpert MTB / RIF test has been developed as a powerful weapon in the fight against disease, with the advantage of providing faster results and additional information on resistance to rifampicin. **Methods:** A retrospective study was carried out using a laboratory database, in the context of the operational routine of a reference service between 2015 and 2018. **Findings:** Out of 1,023 samples obtained, 719 (70,2%) were male, the mean age was  $47.45 \pm 16.52$  years, half of which were HIV negative and 2,5% were homeless. 576 were sputum samples (82,2%); among those from an extrapulmonary site, 168 were cerebrospinal fluid samples. The RMT-TB presented a sensitivity of 63,0% and a specificity of 98,6% for pulmonary tuberculosis. Nontuberculous mycobacteria were found in 19 samples (2%). The detection of resistance to rifampicin was not conclusive; and the RMT-TB showed high sensitivity (95.2 [76.2-99.8]) in people with HIV infection. Besides, it was more sensitive in prisoners (75.0 [55.1 - 89.3]) than in the homeless (38.4 [13.8 - 68.4]). The test was more reliable in extrapulmonary samples. **Conclusions:** Therefore, RMT-TB does not exclude the need for other traditional or molecular diagnostic methods.

**Keywords:** Molecular diagnosis techniques; homeless people; polymerase chain reaction; HIV infections; mycobacteria.

**Abbreviations:**

EPTB = Extrapulmonary tuberculosis

KB = Koch's Bacillus

MNT = Non-tuberculous mycobacteria

NPV = Negative predictive value

NTCP-BR = National Tuberculosis Control Program (Brazil)

OK = Ogawa Kudoh culture medium

PLHA = People living with HIV/AIDS

PPV = Positive predictive value

PTB = Pulmonary tuberculosis

RMT-TB = Rapid molecular test for tuberculosis

RIF = Rifampicin

ST = Sensitivity test

AST= Antimicrobial susceptibility testing

## Introduction

TB is an infectious-contagious disease of bacterial aetiology. The main site of infection is in the lungs (PTB), but it can also affect other organs in cases of extrapulmonary tuberculosis (EPTB).<sup>(1,2)</sup>

There have been many advances in TB control, however, Brazil is still among the countries with the highest TB burden in the world. In the new WHO classification of countries considered as priority in the global control of TB (composed of three lists with 30 countries each), Brazil was 25<sup>th</sup> in terms of disease burden and 22<sup>th</sup> with TB/HIV coinfection.<sup>(3)</sup>

In 2017, 813 new TB cases were reported in the state of Mato Grosso do Sul (Brazil), of which there were 30 new cases/100 thousand inhabitants with the mortality reaching 2.3 cases/100 thousand inhabitants. New cases of pulmonary tuberculosis (PTB) confirmed by laboratory criteria were 66,6% in 2017.<sup>(4)</sup>

Diagnosis of TB is based on the identification of Koch's Bacilli (KB) (*Mycobacterium tuberculosis*) from a biological sample, through smear microscopy, culture, or molecular methods.<sup>(5)</sup> In this way, laboratory techniques for the diagnosis of TB are extremely important for the epidemiological control of TB. Culture in specific media allows the isolation and growth of bacilli from clinical specimens. This technique is the gold-standard, with high sensitivity and specificity for the detection of PTB or EPTB.<sup>(6)</sup>

In Brazil, the rapid molecular test for tuberculosis (RMT-TB) was included in the National Tuberculosis Control Program (NTCP-BR). RMT-TB allows the detection of *M. tuberculosis* DNA and mutations associated with resistance to rifampicin (RIF) through the polymerase chain reaction (PCR).<sup>(7,8)</sup>

Traditional PCR methods have a sensitivity of 50% and a specificity of 100%; however, most require advanced technical knowledge, qualified human resources, as well as financial investment. In addition, it is easy to contaminate the sample during processing. Thus, a specific PCR platform, known as RMT-TB, was developed by automating all the analytical steps and is currently being used due to its higher speed and reproducibility.<sup>(9)</sup>

The WHO, therefore, recommends RMT-TB for the initial diagnosis in suspected cases of TB, in cases of therapeutic failure with the possibility of resistance to rifampicin (RIF), and in cases of HIV coinfection. <sup>(7)</sup> Thus, the objective of this study was to analyse the performance of RMT-TB in clinical samples of TB and EPTB as well as its performance in specific vulnerable groups of people, such as people living with HIV or AIDS (PLWHA) and the homeless.

## Methods

### Study Design

This was a quantitative, descriptive, and retrospective study that used the data from a laboratory of São Julião Hospital, Campo Grande, MS, Brazil. This was in context of the operational routine of a reference hospital for the diagnosis and treatment of tuberculosis in the state. The selected samples were from patients with suspected PTB or EPTB admitted to the hospital between August 2015 and June 2018.

### Materials

The Xpert<sup>®</sup> MTB / RIF platform (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA), that identifies *M. tuberculosis* based on the specific sequence of the *rpoB* gene in the 81bp region, is also used to perform RMT-TB and to verify resistance to rifampicin (RIF) by detecting mutations in the gene. The Xpert<sup>®</sup> MTB / RIF assay is composed of a plastic cartridge used for processing liquid samples containing freeze-dried PCR reagents and buffers. It also has an automatic machine and software system that analyses respiratory samples for up to two hours. The limit of detection is around 131 CFU/mL of the sample. <sup>(10)</sup>

The steps of RMT-TB include: purification, concentration, and amplification of nucleic acids through real-time PCR, with the added benefit of integration and automation of these three processes, which would normally be performed separately



inconventional PCR. This method allowed the detection of *M. tuberculosis* and its resistance to RIF using five probes complementary to the *rpoB* gene region. <sup>(11)</sup>

Samples were then cultured in an egg-based Ogawa-Kudoh (OK) medium containing malachite green dye, which inhibits contaminating microbiota. Materials such as urine, cerebrospinal fluid (CSF) and other liquids were fragmented or macerated as necessary and then centrifuged. Samples from non-sterile sites such as cutaneous tissue were fluidised and decontaminated. After culturing, samples were incubated at 35-37 °C for up to 8 weeks. Finally, the morphological characteristics of the colonies were evaluated: presence of pigment, smooth or rough surface, and the occurrence of contamination. To analyse the solid medium, the criteria of the Manual of Laboratory Surveillance of Tuberculosis and Other Mycobacteria was followed: <20 colonies indicated a paucibacillary positive culture; 20 to 100 colonies indicated a (+) positive culture; > 100 colonies indicated a (++) positive culture; confluent colonies, forming a kind of carpet, indicated a (+++) positive culture; and when there was no growth of colonies the culture was considered as negative. <sup>(6)</sup>

### **Statistical analysis**

For categorical variables of laboratory results expressed proportionally, the non-parametric chi-square test was used in GraphPad Prism® software version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A significance level of 5% was used.

### **Ethics**

The study was approved by the Ethics Committee on Local Human Research (CAAE: 44087215.3.0000.0021). The confidentiality of the data and the anonymity of the patients were ensured in the preparation and handling of the database.

## Results

In this study, 1,023 samples were obtained, which were submitted to the TRM-TB test in conjunction with the sowing for the culture examination. There was a predominance of males with 719 samples (70,2%) and the mean age of the studied population was  $47.45 \pm 16.52$  years, the 40-59 age group being the most representative: 409 cases (39,9%).

Patients seen at hospitals were the main source of the analysed samples, encompassing 902 of the samples (88,1%). Regarding HIV coinfection, about half of the samples were from seronegative patients, representing 520 (50,8%). Twenty-six samples were from homeless people (2,5%). The data characterizing the study population are shown in **Table 1**.

The samples received for analysis were from different collection sites according to suspicions based on the clinical presentation of the disease and patient symptoms. The distribution of the samples according to the collection site is shown in **Table 2**.

The results of RMT-TB and culture are shown in **Table 3**. In all, 76 samples (7,4%) had a positive result in RMT-TB and negative culture for *M. tuberculosis*. We found 11 (1,1%) samples with negative results on RMT-TB, which, however, were positive in culture examination for *M. tuberculosis*.

Regarding the clinical form of TB, 701 (68,5%) were from suspected pulmonary disease and 322 from samples (31,5%) of extrapulmonary disease. The cultures that presented positive results due to the growth of *M. tuberculosis* in PTB were 133 (18,9%), whereas positive cultures in EPTB samples were 11 (3,4%).

The RMT-TB test did not detect the presence of tuberculous bacteria in 10 tests (1,4%) of patients with PTB, and this failure comprised 1,2% of the sputum samples tested (7/576) and 5,8% of the bronchoalveolar lavage samples (3/52). Among the patients with EPTB, RMT-TB was not able to detect the bacillus in 1 sample (0,3%), which was a urine sample, which represented failure of detection in 5,8% of the urine samples tested (1/17). **Table 4** shows the performance of the tests based on the clinical forms of presentation of the disease.

Among the culture results, 19 samples (2%) were found with results for non-tuberculous mycobacteria (NTM). In these samples RMT-TB was detected in 2

(10,5%) *M. tuberculosis* samples. Among these NTM cases, 6 samples (31,6%) were from patients co-infected with HIV. Regarding the clinical presentation of the disease, it was found that 1 case (5,3%) was EPTB and 18 (94,7%) were PTB. NTM was identified as *Mycobacterium simiae* in one of the 19 cases. In the other 18 NT cases, no microorganism species were diagnosed.

Five samples (0,5%) positive for *M. tuberculosis* and resistant to RIF were detected by RMT-TB. However, in culture, one of these samples (20%) was from an NTM, another sample was negative for *M. tuberculosis*(20%), and three samples were positive for *M. tuberculosis* (two using sensitivity test- DST - indicating sensitivity and one without DST result). All samples with detection of RIF resistance in RMT-TB were PTB.

RMT-TB has been shown to be more sensitive in detecting tuberculosis in people living with HIV/AIDS(PLHA) with a sensitivity of 95.2 [76.2-99.8], but a higher specificity in HIV seronegative patients, with 98.2 [96,3-99,3]. While the positive predictive value (PPV) was higher in seronegative patients at 92.6 [85.4 - 96.9], the negative predictive value (NPV) was higher in PLHA with 99.6 [97.7-99.9] (**Figure 1**).

RMT-TB has been shown to be more sensitive in patients deprived of their freedom, with sensitivity of 75.0 [55.1 - 89.3] compared to 38.4 [13.8 - 68.4] in the homeless. However, it was more specific for homeless people with specificity of 100 [75,3 - 100]. While the positive predictive value (PPV) was higher in homeless people at 100 [47.8 - 100], the negative predictive value (NPV) was higher in deprived patients at 88.5 [77.7 - 95.2] (**Figure 2**).

## Discussion

This study aimed to evaluate the correlation of the results of different laboratory techniques operating under routine laboratory conditions for seeing patients suspected to have TB in a region of Brazil.

*M. tuberculosis* was identified in 719 (70,2%) males, corroborated by the study by Macedo et al. (2017),<sup>(12)</sup> that also found the highest percentage of TB cases in males, corresponding to 65,6% (n = 374).

A probable explanation for the higher percentage in men is attributed to the fact that that they are more exposed to the microorganism, together with increased exposure to risk factors such as alcohol use and smoking. In addition, men seek less health care compared to women in general, slowing down the diagnosis or not allowing early preventive measures to be adopted in the case of TB.<sup>(13)</sup>

In 2017, the Brazilian Ministry of Health, through the General Coordination of the National Tuberculosis Control Program (CGPNCT), established targets for reducing the tuberculosis incidence rate to less than 10 new cases per 100,000 inhabitants by 2035.<sup>(4)</sup> Thus, according to these Brazilian targets, it was possible to classify 942 cases (92,1%) diagnosed in this study as new.

Regarding the clinical form of presentation of the disease, PTB showed a higher frequency compared to EPTB, corroborating a study carried out in the city of Curitiba with 5,984 TB cases, where PTB was more representative with 4,406 of the cases (74%).<sup>(14)</sup>

The smaller number of EPTB cases can be attributed to the following factors: the number of *M. tuberculosis* bacilli (MTB) present in tissues at often infrequent disease sites and the greater difficulty of obtaining clinical specimens from certain organs. In the case of diagnosis of EPTB, this represents a greater diagnostic difficulty due to: low clinical suspicion and atypical symptoms.<sup>(15)</sup> EPTB is considered to be less contagious and less frequent than PTB, and consequently less targeted by programs in developing countries.<sup>(16)</sup>

In spite of this, RMT-TB was more useful as a diagnostic tool for EPTB (90.9) compared to PTB (63.7) and there was similar specificity in the two forms of disease

presentation (97.5 and 98.0, respectively) ( $p < 0.05$ ). The study of Vallejo et al. (2015).<sup>(17)</sup> obtained 95,2% specificity in respiratory samples, 94.1% in non-respiratory specimens and 93,9% sensitivity in respiratory samples and 100.0% in non-respiratory specimens, in which the number of samples evaluated was 384 pulmonary and 145 extrapulmonary. In the study by Huh et al. (2014).<sup>(18)</sup> the sensitivity was higher with 85,7% [CI: 42.0-99.2] and the specificity was 98,9% [CI: 93.2-99, 9], performed on 303 lung samples.

In the study by Tortoli et al. (2012),<sup>(19)</sup> conducted in 8 laboratories accredited in Italy with 1,493 extrapulmonary samples, it was identified that the diagnosis of TB, especially in this form of clinical presentation, was based on the combination of several tests. Among the rapid tests investigated, the sensitivity of the RMT-TB was twice as great as the bacilloscopy examination, thus doubling the proportion of rapid diagnoses.

A study in India with 547 patients suggested that RMT-TB has good potential for the diagnosis of extrapulmonary TB and that its ease of use makes it applicable to countries where TB is endemic.<sup>(20)</sup>

The EPTB samples were highly represented in this study, with 322 cases (31,5% of exams analysed), although smaller in number than the PTB samples. This can be partly explained by the fact that the majority of samples came from hospitals with 902 of the cases (88,1%), and the laboratory that performed the analysis is a reference in the diagnosis and treatment of the disease in the state, that is, to where the more complex cases of therapeutic adherence, and those that did not obtain confirmatory diagnosis in other levels of complexity, are sent.

The basic health units present greater difficulty in the diagnosis of EPTB, since only one fourth obtains bacteriological confirmation. One of the reasons for this difficulty is that it is difficult to access to the site of the lesions and the fact that they are usually paucibacillary when extrapulmonary, a situation in which the bacilloscopy is usually negative, making it difficult to investigate at this level of the health care hierarchy.<sup>(21)</sup>

Of the pulmonary samples, sputum was the most prevalent with 572 (82,2%), which in turn resembles the results of the study by Oliveira et al. (2016),<sup>(22)</sup> performed in a Central Public Health Laboratory of the Federal District, Brazil, from January 2011 to June 2014, who found that of the 284 samples evaluated, 246 (86,6%) of the cases were pulmonary.

In contrast to the literature that points to pleural TB as the most frequent extrapulmonary form, <sup>(22)</sup> in this study we found the cerebrospinal fluid with 168 samples (52,3%) as the largest site for investigation of the disease, followed by pleural fluid with 82 samples (25,5%). This also differs from the study carried out in the Ambulatory Didactics of Infectious and Parasitic Diseases (ADMIP) of the Faculty of Medical Sciences of Santa Casa de São Paulo (FMSCSP), with 44 patients analysed, the osteoarticular form of the disease was present in 9 cases (36 %). <sup>(23)</sup>

Another finding was related to HIV coinfection, where in this study 35/209 positive samples in RMT-TB corresponded to PLHA, representing a 16.7% coinfection among the positive results. Both TB and HIV are considered global public health problems. In the year 2015, approximately 10.4 million people became ill with TB, of which 1.2 million were people who had HIV. Over that year, 1.8 million people died from TB, including 400,000 people who were HIV positive. <sup>(24)</sup>

The most frequent diagnostic methods for TB are smear microscopy, RMT-TB and histopathology. RMT-TB is the WHO recommended method, which is easy to perform, a fast result, with good sensitivity and specificity. <sup>(25)</sup> RMT-TB has been shown to be more sensitive in patients deprived of freedom at 75.0 [55.1-89.3] compared to 38.4 [13.8-68.4] in homeless persons in this study, but more specific for homeless people with 100 [75,3 - 100]. While the PPV was higher in homeless people at 100 [47.8 - 100], the negative predictive value was higher in deprived patients at 88.5 [77.7 - 95.2]. Pinto et al. (2017). <sup>(26)</sup> found that there was an increase in the number of homeless people with TB and stated the difficulty in carrying out diagnosis and adequate treatment in this population.

According to Atehortúa et al. (2015), <sup>(27)</sup> RMT-TB is an additional tool for the diagnosis of pulmonary TB in developing countries and presents better performance in smear-negative samples. A study by Vallejo et al. (2015)[21], carried out at the National Chiropractic Institute, Chile, with 529 samples, found that RMT-TB contributed greatly to the diagnosis of TB, with good results for both respiratory samples and those from other sites, in addition to providing relevant information on early stage resistance.

The work of Huh et al. (2014) <sup>(19)</sup> considers that RMT-TB is an adequate tool for the exclusion of the disease in patients with low probability of pulmonary TB. The method did not perform well for the detection of RIF resistance. It should be noted that in this study, in 100% of the cases in which RMT-TB reported possible

resistance to rifampicin, this condition did not obtain confirmation by the DST. For Scott et al. (2011),<sup>(28)</sup> RMT-TB performed better in the diagnosis of TB compared to bacilloscopy and other molecular methods in rapid diagnosis. However, it considers that among the results of resistance to RIF detected by the RMT-TB, three were sensitive to RIF by the DST method, and were considered false-positive results.

The prevalence of RIF resistance in the present study was 0,5% by RMT-TB alone. Culture is considered the gold standard for the diagnosis of TB. There was a sample that was positive in the RMT-TB and negative in the culture and vice-versa, suggesting the possibility of false-positive and false-negative results. There were 76 (7.4%) negative samples by culture but with positive detection in RMT-TB, and 11 (1.1%) tests of RMT-TB without detection of *M. tuberculosis*, which were positive in culture. In the false positives, it was therefore not possible to state that they were TB caused by *M. tuberculosis*.

In the study by Casela et al. (2018),<sup>(29)</sup> performed between 2014 and 2015 in the laboratory of the Otávio Mangabeira Specialised Hospital in Salvador, Bahia, with 19,117 tests (smear microscopy, culture for mycobacteria and RMT-TB) found among 424 patients positive smear microscopy, 9 (2,1%) negative samples in the RMT-TB, suggesting the possibility of nontuberculous mycobacteria (NMT). Thus, it was concluded in the study that in these cases, the presence of NMT can be representative, and it is necessary to continue the research with culture and identification of species.

## **Conclusion**

In conclusion, this study provides a great contribution to public health, in view of the discussion of the results of diagnostic techniques for tuberculosis accessible in some centres. The need for analysis of molecular tests under the operational routine of a patient care laboratory is of great relevance.

It was possible to compare the performance of RMT-TB in face of the socio-epidemiological characteristics of the population served. The homeless patients presented a risk of low diagnostic capacity despite the introduction of the molecular method, since this group had the lowest sensitivity in the tests ( $p < 0.05$ ). The RMT-TB presented better sensitivity in EPTB and PLHA. Despite greater specificity, the

reasons for the lower platform sensitivity in TBP and false-positive as well as false-negative results need to be better elucidated in subsequent investigations.

### **Acknowledgments**

The study team thanks the National Program for Tuberculosis Control of the Brazilian Ministry of Health for the assistance obtained through the supply of the equipment used (Cepheid System ID: 804739) through the Selection of Research Proposals Involving the rapid molecular test for tuberculosis (TRM-TB) in the Unified Health System - SUS in 2014. We are also grateful to CAPES for helping to fund scholarships for researchers



## References

- [1]. Wildner LN, CL; Souza, BS; Senna, SG; Silva, RM, Bazzo, ML. Micobactérias: Epidemiologia e Diagnóstico. *J Trop Pathol*. 2011;40(3):207-29. doi:<https://doi.org/10.5216/rpt.v40i3.15972>.
- [2]. Chaves J, Tomilin BA, Brun D, Fuhr LG, Ourique F, Pilletti K et al. Profile of patients with tuberculosis treated in a Reference of the municipality of Santa Cruz dos Sul - RS in the period from 2009 to 2013. *J Health Biol Sci*. 2017;5(1):31-6. doi:doi:10.12662/2317-3076jhbs.v5i1.902.p.31-36.2017.
- [3]. BRAZIL. Brazil Free from Tuberculosis: National Plan to End TB as a Public Health Problem. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; 2017.
- [4]. BRAZIL. Overview of Tuberculosis in Brazil: context based on epidemiological and operational indicators. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; 2018.
- [5]. WHO. Global tuberculosis report 2012. Geneva: World Health Organization; 2012.
- [6]. BRAZIL. National Manual for the Laboratory Surveillance of Tuberculosis and others Mycobacterias. Brazil: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2008
- [7]. WHO. Global Tuberculosis Report 2018. Geneve: World Health Organization; 2018.
- [8]. 1 Rabna P, Ramos J, Ponce G, Sanca L, Mané M, Armada A et al. Direct Detection by the Xpert MTB/RIF Assay and Characterization of Multi and Poly Drug-Resistant Tuberculosis in Guinea-Bissau, West Africa. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127536. doi:10.1371/journal.pone.0127536.
- [9]. Durovni B, Saraceni V, van den Hof S, Trajman A, Cordeiro-Santos M, Cavalcante S et al. Impact of replacing smear microscopy with Xpert MTB/RIF for diagnosing tuberculosis in Brazil: a stepped-wedge cluster-randomized trial. *PLoS Med*. 2014;11(12):e1001766. doi:10.1371/journal.pmed.1001766.
- [10]. Patel VB, Theron G, Lenders L, Matinyena B, Connolly C, Singh R et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (Xpert MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. *PLoS Med*. 2013;10(10):e1001536. doi:10.1371/journal.pmed.1001536.
- [11]. Delocco BAV, Guioti CdO, Gava CM, Diogo Penha S, Salomon FCR, Carvalho JLdC et al. Xpert MTB/RIF no diagnóstico da tuberculose pulmonar: Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência TeIE;2011 September. Report No.: 1983-7003.
- [12]. Macedo JO, ASSS; Pereira, IC; Assunção, MJSM. Epidemiological profile of tuberculosis in a municipality of Maranhão. *Reon Facema*. 2017;3(4):699-705.
- [13]. Zagmignan A, Alves MS, Sousa EM, Lima Neto LG, Sabbadini PS, Monteiro SG. Epidemiological characterization of pulmonary tuberculosis in the state of Maranhão, between the period 2008-2014. *Rev Investig Biomed*. 2014;6(1):6-13.
- [14]. Basso GB, Franzoi CF, Silva JP, Nodari JP, Cyrino LR, Costardi JVV et al. Epidemiological Profile of Tuberculosis in the city of Curitiba in the period 2001

- to 2011. *Perspect Med*. 2017;28(3):12-7.  
doi:10.6006/perspectmed.02012017.8647454537.
- [15]. Lawn SD, Zumla AI. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the Xpert(®) MTB/RIF assay. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012;10(6):631-5.  
doi:10.1586/eri.12.43.
- [16]. Pefura Yone EW, Kengne AP, Moifo B, Kuaban C. Prevalence and determinants of extrapulmonary involvement in patients with pulmonary tuberculosis in a Sub-Saharan African country: A cross-sectional study. *Scand J Infect Dis*. 2013;45(2):104-11. doi:10.3109/00365548.2012.714905.
- [17]. Vallejo PV, Rodríguez JCD, Searle AM, Farga VC. Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. *Rev Chil Enferm Respir*. 2015;31(2):127-31.  
doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482015000200010>
- [18]. Huh HJ, Jeong B-H, Jeon K, Koh W-J, Ki C-S, Lee NY. Performance evaluation of the Xpert MTB/RIF assay according to its clinical application. *BMC Infect Dis*. 2014;14:589-. doi:10.1186/s12879-014-0589-x.
- [19]. Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, Mazzola E, Dal Monte P, Pascarella M et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J*. 2012;40(2):442-7. doi:10.1183/09031936.00176311 %J European Respiratory Journal.
- [20]. Vadwai V, Boehme C, Nabeta P, Shetty A, Alland D, Rodrigues C. Xpert MTB/RIF: a New Pillar in Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis? *J Clin Microbiol*. 2011;49(7):2540-5. doi:10.1128/JCM.02319-10 %J Journal of Clinical Microbiology.
- [21]. Lopes AJ, Capone D, Mogami R, Tesarollo B, Cunha DL, Capone RB et al. Extrapulmonary tuberculosis: clinics and image aspects. *Pulmão RJ*. 2006;15(4):253-61.
- [22]. Oliveira GdS, Lima GRdCeC, Silva JX, Naves JdOS, Monteiro Filho CMdR. Laboratory identification of mycobacteria from respiratory samples of patients with suspected pulmonary tuberculosis in samples isolated at the Central Laboratory of Public Health of the Federal District (LACEN-DF). *J Health Biol Sci*. 2016;4(3):290-7. doi:doi:10.12662/2317-3076jhbs.v4i3.712.p187-192.2016
- [23]. Silveira TT, Kikuta VS, Pipa MB, Cunha DFS, ribeiro TC, Rio RC et al. Study of the osteoarticular/bone and joint tuberculosis forms in patients followed in didactic ambulatory care in a teaching hospital. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo*. 2017;62(1).
- [24]. WHO. *Global Tuberculosis Report 2016*. Geneva: World Health Organization; 2016.
- [25]. Deus Filho A, Carvalho IMS. Epidemiological Profile of Patients with Tuberculosis in a Teresina-PI University Hospital. *JCS HU-UFPI*. 2018;1(1):51-60. doi:<https://doi.org/10.26694/2595-0290.1151-60>.
- [26]. Pinto PFPS, Silveira C, Rujula MJP, Chiaravalloti Neto F, Ribeiro MCSdA. Epidemiological profile of tuberculosis in São Paulo municipality from 2006 to 2013. *Rev Bras Epidemiol*. 2017;20(3):549-57.  
doi:<http://dx.doi.org/10.1590/1980-5497201700030016>.
- [27]. Atehortúa S, Ramírez F, Echeverri LM, Peñata A, Ospina S. Xpert MTB/RIF test performance assay in respiratory samples at real work settings in a developing country. *Biomedica*. 2015;35:125-30.
- [28]. Scott LE, McCarthy K, Gous N, Nduna M, Van Rie A, Sanne I et al. Comparison of Xpert MTB/RIF with Other Nucleic Acid Technologies for Diagnosing

- Pulmonary Tuberculosis in a High HIV Prevalence Setting: A Prospective Study. *PLoS Med.* 2011;8(7):e1001061. doi:10.1371/journal.pmed.1001061.
- [29]. Casela M, Cerqueira SMA, Casela TdO, Pereira MA, Santos SQd, Pozo FAD et al. Rapid molecular test for tuberculosis: impact of its routine use at a referral hospital. *J Bras Pneumol.* 2018;44:112-7.

## Tables

**Table 1** - Socio-epidemiological characteristics of the samples for Rapid molecular test for tuberculosis (RMT-TB) at a referral hospital between August 2015 and June 2018

<b>Variables</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Gender</b>		
Male	719	70.2
Female	301	29.8
Missing	3	0.0
<b>Age (years)</b>		
18-39	371	36.2
40-59	409	39.9
> 60	219	21.4
Missing	24	12.5
<b>From</b>		
Hospital	902	88.1
Outpatient	84	8.3
Criminal institution	37	3.6
<b>New case</b>		
Yes	942	92.1
No	76	7.4
Missing	5	0.5
<b>HIV coinfection</b>		
Yes	281	27.5
No	520	50.8
Missing	222	21.7
<b>Homeless person</b>		
Yes	26	2.5
No	997	97.5

**Table 2** - Distribution of sampling sites for molecular rapid test for tuberculosis (TRM-TB), in a reference laboratory in Mato Grosso do Sul, Brazil, from 2015 to June 2018. (N = 1023).

	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Pulmonary (n=701)</b>		
Sputum	576	82.2
Induced sputum	73	10.4
Bronchoalveolar lavage	52	7.4
<b>Extrapulmonary (n=322)</b>		
Cerebrospinal fluid	168	52.3
Pleural fluid	82	25.5
Lymph node	19	5.9
Urine	17	5.3
Skin fragment	10	3.1
Ascitic fluid	8	2.5
Bone fragment	4	1.2
Pericardium fragment	4	1.2
Synovial fluid	4	1.2
Digestive tract fragment	3	0.9
Nervous tissue fragment	2	0.6
Spinal aspirate	1	0.3

**Table 3** – Results of rapid molecular test for tuberculosis (RMT-TB) according to detection in culture medium for *M. tuberculosis*, in reference laboratory, from August 2015 to June 2018. (N = 1023).

Laboratory test	Positive culture (n=144)		Negative culture (n=879)		Total N
	N	%	N	%	
<b>RMT-TB detected</b>	133	92.4	78	8.9	<b>211</b>
<b>RMT-TB not detected</b>	11	7.6	801	91.1	<b>812</b>

$p < 0.0001$ , chi-square test

Sensitivity = 63,0%; Specificity = 98,6%; Positive predictive value = 92,3%; Negative predictive value = 91,1%; Accuracy = 91,3% [95% confidence interval]. Likelihood ratio = 46,5.

**Table 4** – Results of the Rapid Molecular Test for Tuberculosis (RMT-TB) according to culture identification of *M. tuberculosis* in samples from different clinical forms of disease presentation, (N = 1023).

Laboratory test	Pulmonary <sup>a</sup> n=701				Extrapulmonary n=322			
	Positive culture		Negative culture		Positive culture		Negative culture	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>RMT-TB detected</b>	123	17.5	70	10.1	10	3.1	8	2.5
<b>RMT-TB not detected</b>	10	1.4	498	71.0	1	0.3	302	94.1
Sensitivity (%)	63.7 [56.5 – 70.5]				90.9 [58.7 – 99.8]			
Specificity (%)	98.0 [96.4 – 99.0]				97.4 [95.0 – 98.9]			
Positive predictive value	92.5 [86.6 – 96.3]				55.5 [30.7 – 78.5]			
Negative predictive value	87.6 [84.6 – 90.2]				98.6 [98.2 – 99.9]			
Accuracy (%)	88.5				97.2			

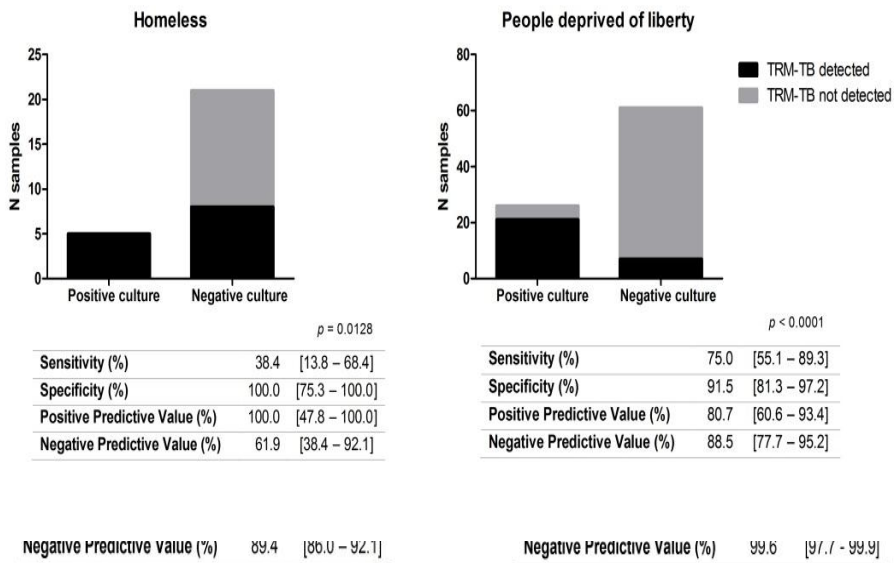
$p < 0.0001$ , chi-square test, confidence interval = 95%

<sup>a</sup>Likelihood ratio = 32.4

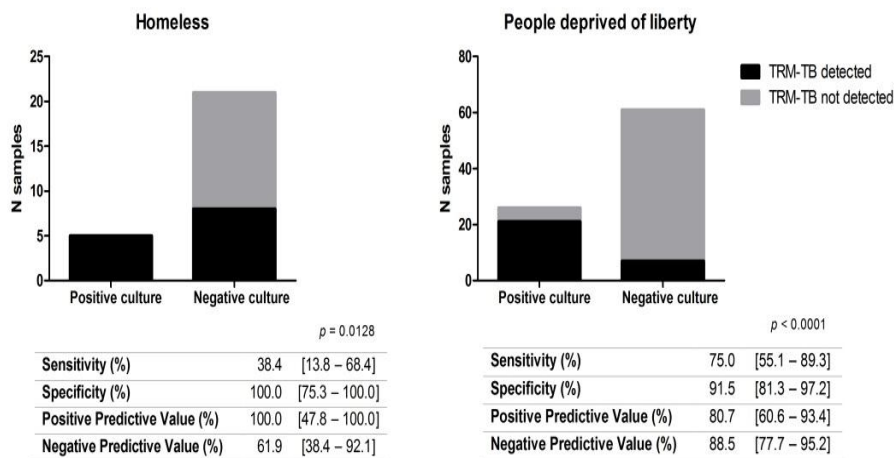
<sup>b</sup>Likelihood ratio = 35.2

### Captions to Figures

**Figure 1.** Analysis of rapid molecular test results for tuberculosis and culture according to HIV coinfection. (N = 1023).



**Figure 2.** The analysis of rapid molecular test for tuberculosis (RMT-TB) and culture at risk (N = 1023).<sup>a</sup>



## **Anexo 1:** Normas para publicação na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

O conteúdo das Memórias é de livre acesso para os leitores e nenhuma taxa de publicação é cobrada dos autores. As Memórias do Instituto Oswaldo Cruz decidiram simplificar as exigências quanto ao formato dos manuscritos submetidos. A partir de agora, todos os manuscritos poderão ser submetidos em qualquer formato de texto desde que se siga a subdivisão comum de artigos científicos, por exemplo, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e referências.

Para Revisões, Perspectivas e artigos similares, os autores podem usar as seções que melhor se adequam à estrutura e conteúdo do manuscrito proposto. Todos os manuscritos devem conter, além do título e resumo, detalhes completos de autores e instituições, agradecimentos de qualquer assistência técnica ou financeira, bem como declarar quaisquer conflitos de interesse. Este formato de texto flexível será usado para a análise inicial e revisão por pares. Se o manuscrito for aceito,

Após a aceitação, o manuscrito deve ser organizado no seguinte formato:

O manuscrito deve ser preparado com software padrão de processamento de texto e deve ser impresso (fonte 12) em espaço duplo ao longo do texto, legendas das figuras e referências (deve ter até 30 referências), com margens de pelo menos 3 cm. As figuras devem vir na extensão tiff, com uma resolução mínima de 300 dpi. Tabelas e legendas para figuras devem ser enviadas todas juntas em um único arquivo. Figuras, devem ser carregadas separadamente como arquivo suplementar.

Título em execução: não obrigatório

Título : com até 250 caracteres

Nomes dos autores : sem títulos ou graduações

Afiliações institucionais : endereço completo somente do autor correspondente

Resumos: Forneça um resumo entre 250 e 300 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves, notas técnicas, anúncios de genoma ou resenhas). Os resumos dos artigos originais devem ser estruturados em 5 seções, como segue: ANTECEDENTES, OBJETIVOS, MÉTODOS, CONSTATAÇÕES E PRINCIPAIS CONCLUSÕES, cada seção abordando respectivamente o problema,



o objetivo do estudo, a principal abordagem metodológica, os achados mais importantes e as conclusões do estudo. o estudo.

Palavras-chave : 3-6 itens devem ser fornecidos. Termos da lista Medical Subject Headings (Mesh) do Index Medicus devem ser usados.

Patrocínios : indicando as fontes de apoio financeiro e mudança de endereço.

Introdução : deve definir o objetivo do estudo, fornecer um breve resumo (não uma revisão) de trabalhos relevantes anteriores e indicar que novo avanço foi feito na investigação. Não deve incluir dados ou conclusões do trabalho que está sendo relatado.

Materiais e Métodos : deve fornecer rapidamente informações claras e suficientes para permitir que o estudo seja repetido por outros. Técnicas padrão só precisam ser referenciadas.

Ética : ao relatar experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos seguidos estavam de acordo com os padrões éticos do comitê responsável em experimentação humana (institucional ou regional) e com a Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 1983. animais, indicar se o guia do conselho de pesquisa da instituição ou nacional, ou qualquer lei nacional sobre o cuidado e uso de animais de laboratório foi seguido.

Resultados : deve ser um relato conciso das novas informações descobertas, com o menor julgamento pessoal. Não repita no texto todos os dados nas tabelas e ilustrações. Em caso de descrever novas espécies, deve seguir:

Nome da nova espécie, autores (quando for o caso), sp. nov., (Figs xy)

[Ex: *An. (Nyssorhynchus) atacamensis* González e Sallum, sp. nov. (Figs 1-4)]

Referência anterior às novas espécies (quando for o caso)

[Ex: *An. pictipennis* de Rueda et al. (2008): 448.]

Diagnóstico (ou Descrição; todos os estágios são descritos);

Digite *host* (quando for o caso);

Site de Infecção (quando for o caso);

Tipo-localidade ;

Digite dados e depósito ;

*Outro material examinado* (quando for o caso);

*Distribuição* ;

*Dados do parasita hospedeiro* (tal prevalência e outros dados importantes, quando é o mesmo caso); Bionomia ; Etimologia ; Discussão taxonômica (ou simplesmente DISCUSSÃO como título interno).

Discussão : deve limitar-se ao significado da nova informação e relacionar as novas descobertas com o conhecimento existente. Apenas citações inevitáveis devem ser incluídas.

Agradecimentos devem ser curtos e concisos, e restritos aos absolutamente necessários. Contribuição do autor : declare a contribuição de cada autor para o trabalho.

Referências: Deve ser precisa. Apenas as citações que aparecem no texto devem ser referenciadas. Os artigos não publicados, a menos que aceitos para publicação, não devem ser citados. O trabalho aceito para publicação deve ser referido como "no prelo" e uma carta de aceitação do periódico deve ser fornecida. Os dados não publicados só devem ser citados no texto como "observações não publicadas", e uma carta de permissão do autor deve ser fornecida. As referências no final do artigo devem ser listadas em ordem numérica e na mesma ordem em que são citadas no texto.

Figura e tabelas devem ser compreensíveis e sem referência ao texto

Figuras: apresentadas em formato tiff com um mínimo de 300 dpi e as fotografias devem ser bem focalizadas, bem contrastadas, e se montadas em uma placa, as figuras devem ser numeradas consecutivamente com números arábicos. A ampliação deve ser indicada por uma linha ou barra na figura e referenciada, se necessário, na legenda (por exemplo, barra = 1 mm).

Placas e figuras de linhas devem caber em uma coluna (8 cm) ou na largura total (16,5 cm) da página e d devem ser mais curtas do que o comprimento da página para permitir a inclusão da legenda. As letras e números nas figuras devem ser de tamanho legível após a redução ou impressão. Uma fotografia colorida ilustra a capa de cada edição do Journal e os autores são convidados a enviar ilustrações com legendas de seus manuscritos para consideração da capa.

Tabelas: devem complementar, não duplicar, o texto e devem ser numeradas com algarismos romanos. Um título descritivo curto deve aparecer acima de cada tabela, com quaisquer explicações ou notas de rodapé (identificadas com a, b, c, etc.)

## Anexo 2: comprovante de submissão na revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

11/01/2019

ScholarOne Manuscripts



Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

[# Home](#)[/ Author](#)[Review](#)

# Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

**Submitted to**  
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

**Manuscript ID**  
MIOC-2019-0006

**Title**  
Diagnostic accuracy of the GeneXpert MTR / RIF assay in pulmonary and extrapulmonary tuberculosis

**Authors**  
Siqueira, Robéria  
Junior, Erivaldo  
Gouveia, Cláudia  
de Queiroz, Ângela  
Fernandes, Luciane  
de Castro, Alinne  
Araújo, Flávio

**Date Submitted**  
11-Jan-2019

[Author Dashboard](#)