

MÉTODOS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE PULMONAR

Izabel Laiza de Oliveira Costa – Multivix¹

Cintha Dessaune Neves – Multivix²

Resumo

O *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose é uma bactéria que atinge principalmente o pulmão e pode levar o paciente a óbito, sendo assim, é considerada há algumas décadas um enorme agravo de saúde pública. Pode ser tratada, alcançando a cura, e prevenida por meio de medidas profilaxias, uma vez que a bactéria é transmitida pela via aérea de indivíduo para indivíduo. É a segunda maior causa de mortes por doença infecciosa no mundo, ficando atrás apenas do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Apesar de apresentar uma alta incidência, os números de novos casos têm diminuído a cada ano. Para ser correta a sua identificação, é de extrema importância conhecer os métodos diagnósticos disponíveis, e, além disso, é essencial que os profissionais da saúde saibam, quando solicitar cada um dos métodos de identificação disponível, suas vantagens e limitações. Dessa maneira, com um diagnóstico rápido e correto, o indivíduo infectado pode rapidamente iniciar o tratamento, alcançando a cura. O objetivo deste artigo é discutir a utilidade dos vários métodos diagnósticos disponíveis nos dias atuais, salientando sua eficácia e acessibilidade com base em pesquisas já realizadas.

Palavras-Chaves: Tuberculose. *Mycobacterium tuberculosis*. Diagnóstico.

Abstract

Mycobacterium tuberculosis, cause of tuberculosis, is a bacterium that affects mainly the lungs, may cause the death of the patient. Therefore, for a few decades, it is considered an enormous public health problem. TB can be prevented by prophylaxis measures, since the bacterium is transmitted by air, from individual to individual. It is the second leading cause of death in the world, behind only the Human Immunodeficiency Virus (HIV). Despite presenting a high incidence, the number new

¹Graduanda em Biomedicina pela Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim. Email: iza_bel0711@hotmail.com

²Médica Veterinária, Mestre em Medicina Veterinária e Docente na Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim. Email: cinthyaneves@hotmail.com

cases have declined each year. To be accurately identified, it is extremely important to know the available diagnostic methods, and in addition, it is essential that the health professional knows when request each of the identification methods available today, its advantages and limitations. Thus, with a quick and accurate diagnosis, the infected individual can quickly begin treatment and can be completely healed. The purpose of this article is to discuss the utility of various diagnostic methods available today, highlighting their effectiveness and accessibility based on research already fulfilled. O purpose of this article is to discuss the utility of various diagnostic methods available today, highlighting their effectiveness and accessibility based on previous studies.

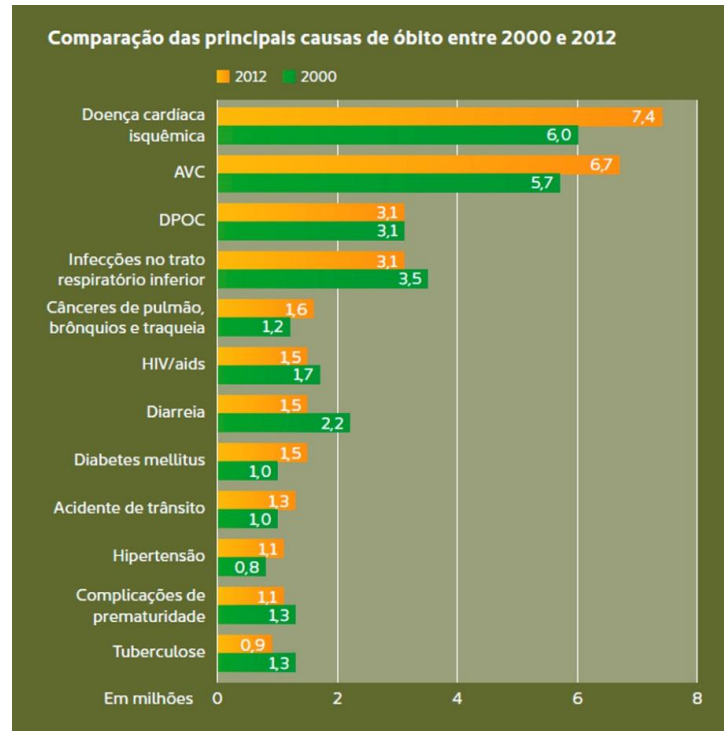
Key Words: Tuberculosis. *Mycobacterium tuberculosis*. Diagnostic.

1 INTRODUÇÃO

O *Mycobacterium tuberculosis*, também conhecido como bacilo de Koch (BK) é o principal agente causador da tuberculose pulmonar no homem. A Tuberculose (TB) pulmonar é um dos agravos de saúde prioritária no Brasil e no mundo (figura 1), sendo assim, o diagnóstico precoce para início de tratamento atempado é fundamental para minimizar a transmissão e reduzir a morbidade e mortalidade da doença.

Atualmente o diagnóstico depende basicamente de exames microbiológicos, os quais requerem um manuseio cuidadoso e um transporte rápido da amostra. Desde seu desenvolvimento por Koch em 1882, a técnica de Baciloscopia ou esfregaço de escarro para BAAR (bacilo álcool-ácido resistente) sofreu poucas modificações e continua sendo um dos métodos mais rápidos de detecção de *M. tuberculosis*; é uma maneira simples para diagnosticar a presença do bacilo, além de ter um baixo custo e ser de fácil acesso.

Figura 1 – Principais causas de mortalidade no mundo entre 2000 e 2012 segundo a OMS



Fonte: FLEURY, 2014

Apesar da baciloscopia estabelecer um diagnóstico presuntivo rápido o método gold-standard para diagnóstico ainda é o isolamento cultural do microrganismo em meio Lowenstein-Jensen (LJ), o qual pode demorar várias semanas.

As técnicas bioquímicas são classicamente utilizadas na identificação de micobactérias. Dentre os métodos destaca-se o estudo dos ácidos micólicos, presente na parede celular de todas as micobactérias. Teste moleculares e sorológicos são recentes e fornecem uma informação precisa ao clínico; esses novos métodos são úteis para o diagnóstico da Tuberculose, contudo a sensibilidade, especificidade e valores preditivos variáveis, aliados ao alto custo e complexidade, os inviabilizam como exames de rotina, ficando seu uso restrito. Sendo assim, em alguns casos não se consegue obter confirmação microbiológica, sendo o diagnóstico e o tratamento estabelecidos com base na suspeição.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico e Epidemiologia

A tuberculose foi descoberta em 1882 pelo bacteriologista alemão Robert Koch. Considerada uma das doenças mais antigas do mundo com evidências da enfermidade encontradas em ossos humanos pré-históricos na Alemanha com registros datados de 8.000 antes de Cristo (a.C). Por não ter causa conhecida na época, a doença, era vista como um castigo. Essa visão, no entanto, foi desmistificada por Hipócrates, na Grécia em XXX a.C, ele mostrou que a tuberculose era algo natural e passou a denominá-la de Tísica. A expansão da doença mundo afora se deu com o advento das guerras, que estreitavam o contato entre indivíduos (FIOCRUZ, acesso em 15 abr. 2016).

Figura 2 – Dr. Robert Koch (1843 – 1910)



Fonte: PBS NEWSHOUR, 2015.

Figura 3 - Sanatório para pacientes com tuberculose na Itália, 1920



Fonte: PBS NEWSHOUR, 2015.

A tuberculose é uma das doenças infecciosas mais mortais do mundo. A cada ano, cerca de 1,5 milhão de pessoas morrem, enquanto outros nove milhões sofrem com a doença, principalmente em países em desenvolvimento. (MSF, acesso em 10 abr. 2016). Anualmente são notificados cerca de 6 milhões de novos casos em todo o mundo, levando mais de um milhão de pessoas a óbito. O surgimento da AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e o aparecimento de focos de tuberculose resistente aos medicamentos agravam ainda mais esse cenário (Ministério da Saúde, acesso em 12 abr. 2016).

Nos países industrializados, 80% dos casos ocorrem em pessoas acima de 50 anos de idade, enquanto que, nos países em desenvolvimento, 80% dos casos são observados entre 15 e 50 anos. Os índices de aumento são ainda maiores nos países emergentes, devido às elevadas taxas de endemicidade e declínio das condições socioeconômicas (NETO, 2001).

No Brasil, a tuberculose é um sério problema da saúde pública, com profundas raízes sociais. A cada ano, são notificados aproximadamente 70 mil novos casos e ocorrem 4,6 mil mortes em decorrência da doença. Ocupamos o 17º lugar entre os 22 países responsáveis por 80% do total de casos de tuberculose no mundo, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (Ministério da Saúde, acesso em 12 abr. 2016).

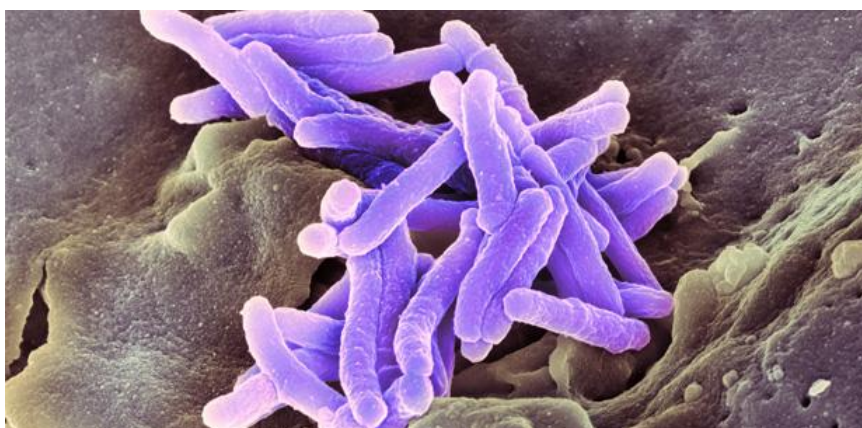
Ainda que a taxa de mortalidade global tenha tido uma redução de 47% entre os anos de 1990 e 2015, existem deficiências graves quando se trata de diagnóstico e acesso ao tratamento (MSF, acesso em 10 abr. 2016)

2.1 Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

Esse complexo é integrado pelas espécies *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* e *M. canettii*. Da espécies citadas o *M. tuberculosis* é o principal agente causador da tubérculos no Homem, de acordo com COLE (2002, p. 148) citado por FERRI (2014, p. 146).

Os bacilos desse complexo apresentam-se retos ou ligeiramente curvos, imóveis, não são esporulados. A parede celular desta bactéria é composta principalmente por lipídeos (ácidos micólicos), esses lipídeos são responsáveis pela formação de uma barreira resistente a descoloração álcool-ácido. Essa parede desempenha papel importante no que diz respeito a virulência da bactéria, pois pode conferir resistência a alguns medicamentos (WINN, 2010).

Figura 4 – Bacilo de Koch por microscopia eletrônica



Fonte: Fleury Medicina e Saúde, 2014

Os Bacilos de Koch são microrganismos intracelulares, com capacidade de multiplicação dentro de fagócitos. Pesquisas realizadas relatam que, quando adentram macrófagos, essas bactérias podem levar de 24 a 32 horas para replicação. A sua virulência está ligada diretamente a composição do seu genoma, que possui em torno de quatro mil genes codificantes, onde cerca de duzentos

codificam diversos tipos de proteínas responsáveis pela variação antigênica e outros duzentos codificam estruturas relacionadas ao metabolismo dos ácidos graxos, o que confere aos BK capacidade de crescerem em tecidos, onde a principal fonte de carbono são os ácidos graxos (CAMPOS apud FERRI, 2014, p. 147).

2.2 Diagnóstico

Os sintomas e sinais classicamente relacionados com a TB, são habitualmente inespecíficos. Sendo assim, os meios complementares de diagnóstico desempenham um papel primordial na abordagem desta doença (BENTO et al, 2011).

A tuberculose terá diagnóstico definitivo através da identificação do microrganismo em amostra biológica por meio da baciloscopia, da cultura ou de métodos moleculares. As amostras geralmente encaminhadas para a pesquisa são as de lavado brônquico, escarro e outras relacionadas com o sistema respiratório. Exames hematológicos, imunológicos, bioquímicos e da área radiológica podem auxiliar no diagnóstico, direcionando o médico para os testes mais específicos. (FERRI et al, 2014). Como o *M. tuberculosis* é altamente infeccioso torna-se de fundamental importância o rápido diagnóstico dessa infecção, tanto para o tratamento adequado do paciente, como para se evitar a disseminação da doença (OPLUSTIL, 2010).

2.2.1 Coloração de Bacilos Álcool-Ácido-Resistente (BAAR)

A baciloscopia direta do escarro ou exame direto, é um dos métodos de análise no diagnóstico e também controle de tratamento da tuberculose pulmonar por permitir a descoberta das fontes de infecção, ou seja, os casos bacilíferos. Trata-se de um método simples, rápido e de baixo custo para elucidação diagnóstica da TB, uma vez que permite a confirmação da presença do bacilo (Ministério da Saúde, acesso em 12 abr. 2016).

O exame direto é uma técnica rápida, que possui importante papel no diagnóstico presuntivo da tuberculose. Baseia-se nas características da parede celular do

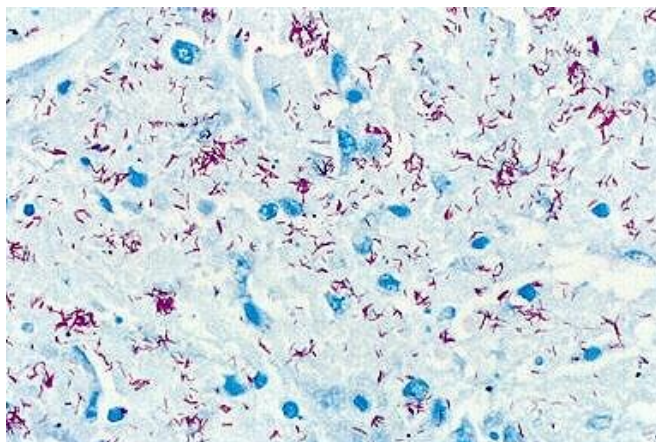
microrganismo, que contém elevado teor lipídico, o que torna a bactéria resistente a descoloração por álcool-ácido (BENTO et al, 2011).

Em virtude de seu elevado conteúdo lipídico, a parede celular das micobactérias tem a capacidade singular de fixar o corante fucsina, que, assim não é removido pelo álcool-ácido (WINN et al, 2010).

Essa reação de coloração, juntamente com sua forma e tamanhos característicos, proporciona uma enorme ajuda na detecção precoce e tratamento de acometidos pela doença. (EZEMBRO, 2012). O exame consiste na realização de esfregaço em lâmina da amostra biológica coletada, com posterior coloração de Ziehl-Neelsen (ZN), auramina e rodamina. (FERRI, 2014).

O método Ziehl-Neelsen, uma das mais utilizadas para pesquisa de bacilos, baseia-se na coloração pela fucsina básica que confere aos BAAR uma cor avermelhada após lavagem por álcool-ácido. Nesse método a amostra primeiramente é corada com fucsina, em seguida lavada com o álcool-ácido e, posteriormente, corada com o corante azul de metileno. A parede celular dos bacilos, formada principalmente por lipídeos, não permitirá a descoloração por álcool-ácido, sendo assim os bacilos permanecerão corados em rosa, como visto na figura 5 (PORTAL BRASIL, acesso em 20 abr. 2016).

Figura 5 – Baciloscopia de escarro pelo método de Ziehl- Neelsen

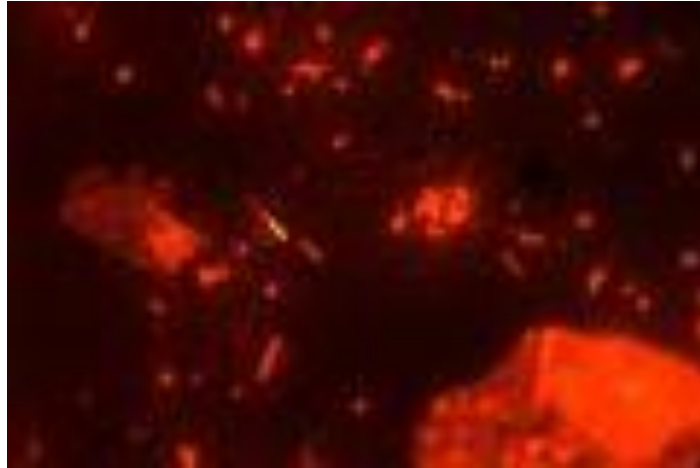


Fonte: KONEMAN, 2001

O método de fluorescência consiste na coloração pelo fluorocromo auramina ou rodamina, onde será permitida a visualização dos bacilos em amarelo-fluorescentes

ou laranja-avermelhado, respectivamente, a observação deve ser realizada em microscopia de fluorescência. Na figura 6 pode-se observar os bacilos fluorescentes em destaque (EZEMBRO,2012).

Figura 6 – Baciloscopia de escarro pelo método de fluorescência.



Fonte: CDC, 2011

A técnica de Ziehl-Neelsen requer uma observação em microscópio óptico com ampliação de 1000x, enquanto que no método fluorescente basta uma ampliação de 250 ou 450, conferindo ao microbiologista um maior campo de visão, o que também reduzirá o tempo necessário para examinar a lâmina confeccionada (BENTO et al, 2011).

Mesmo que boa parte da literatura diga que a sensibilidade das duas técnicas seja semelhante, alguns autores, têm considerado mais sensível o método da fluorescência, que após revisão sistemática evidenciou ser cerca de 10% mais sensível do que o BAAR convencional (CONDE et al, 2011).

A maioria dos programas de luta contra a tuberculose enquadram a baciloscopia na avaliação inicial dos casos suspeitos. Pois além da positividade do exame, o técnico responsável poderá fornecer também uma noção quantitativa da carga bacilar. É, porém, uma técnica com baixa sensibilidade, exigindo a presença de, pelo menos, 104 bacilos/ml para se obter um exame positivo (OPLUSTIL, 2010).

A sensibilidade média da baciloscopia direta é de aproximadamente 50% a 60%, na dependência da qualidade da amostra, da técnica de coloração e da experiência do profissional. Quanto ao valor preditivo positivo da baciloscopia positiva no escarro espontâneo, um estudo realizado no município do Rio de Janeiro evidenciou um valor de 98,4% para o diagnóstico de TB (CONDE et al, 2011).

Para leitura e interpretação em amostras de escarro, o Manual de Vigilância Laboratorial da Tuberculose orienta a seguir devido método de avaliação: quando não encontrados bacilos em 100 campos examinados, constata-se “negativo”; quando são visualizados de 1 a 9 bacilos em 100 campos examinados, relata-se a quantidade encontrada nos 100 campos; quando visualizados de 10 a 99 bacilos em 100 campos examinados, relatar “positivo (+)”; quando encontrados 1 a 10 bacilos por campo em 50 campos examinados, “positivo (++)”; e quando encontrados mais de 10 bacilos por campo em 20 campos, reporta-se “positivo (+++)” (PORTAL BRASIL, acesso em 20 abr. 2016).

Quadro 1 - Método Para Relatar o Número de Bacilos Álcool-Ácido-Resistente Observados em Esfregaços Corados

NÚMERO DE BACILOS OBSERVADOS	MÉTODO DE RELATO
0/100 Campos	Negativo (-)
1-9/100 Campos	Número médio/100
10-99/100 Campos	Positivo (+)
1-10/Campo	Positivo (++)
Mais de 10/Campo	Positivo (+++)

Fonte: Adaptado de OPLUSTIL, 2010

Segundo BRAS (2004), no Brasil, o padrão de análise para a baciloscopia é a coloração por Ziehl-Neelsen, a coloração por auramina com leitura em microscópio

de imunofluorescência somente é indicada para a triagem em laboratórios que processam de 30-50 amostras por dia. Descreve também, que devem ser coletadas duas amostras de escarro espontâneo, uma no momento que o paciente procura o atendimento e outra pela manhã ao acordar. Relatando que a realização de três escarros induzidos em dias diferentes é mais custo-efetiva do que uma broncoscopia para o diagnóstico de TB pulmonar.

2.2.2 Exame Micobacteriológico Cultural

A cultura permite a identificação da bactéria e necessita de menor número de bacilos na amostra examinada para ser considerada positiva. Além de identificar a espécie da micobactéria, permite, também, testar sua sensibilidade aos quimioterápicos, mas requer maior sofisticação laboratorial que a baciloscopia e, pelo menos, 40 dias para o resultado. O micobacteriológico cultural permite a identificação do microrganismo e a realização do teste de sensibilidade, além de aumentar o rendimento diagnóstico em 20-40%; os meios sólidos mais recomendados são o Lowenstein-Jensen e o Ogawa-Kudoh. Esse último é recomendado para a utilização nos laboratórios de menor complexidade porque não requer o uso de centrífuga (CAMPOS,2006).

A cultura em meio sólido tem como limitação o tempo do resultado que pode levar de 2 a 8 semanas, por isso, quando possível, deve ser utilizado o meio líquido através de sistemas automatizados não radiométrico; os resultados nesse caso saem no prazo de 10 a 40 dias (BRASIL, 2008).

Existem disponíveis vários meios de cultura para as micobactéria, porém o mais utilizado no Brasil e aprovado pela Organização Mundial da Saúde é o de Lowenstein-Jensen, um meio sólido à base de ovo. (OPLUSTIL, 2010). Dentre os meios sólidos, o crescimento das micobactérias é melhor em meio à base de ovo, e mais rápido no meio com ágar, e com com menor tempo de crescimento nos meios líquidos (BRAS, 2009).

De acordo com PERESI et al (2008), a realização da cultura se inicia pelo tratamento das amostras, onde espécimes como urina e líquido são centrifugados e frações de tecidos são fragmentados e/ou macerados.

Em segundo momento será feita a descontaminação, necessária apenas para amostras que apresentem sítios não estéreis, como por exemplo o escarro. Materiais como, líquido pleural, líquido, sangue e medula, são consideradas amostras não contaminadas. O hidróxido de sódio, e o ácido oxálico são as substâncias mais utilizadas para realização deste processo (BOLLELA et al, 1999).

A terceira etapa é a fase de semeadura no meio de cultura. Os meios mais utilizados são Lowenstein-Jensen e Ogawa-Kudoh feitos à base de ovo e que contém corante verde malaquita, responsável por inibir a microbiota contaminante. Os meios a base de ágar são o Middlebrook 7H10 e Middlebrook 7H11 que por serem transparentes permitem melhor visualização das colônias (LIMA et al, 2008).

Em grandes laboratórios utilizam com frequência os meios de cultura líquido, por serem mais enriquecidos, o que propicia um teste com maior sensibilidade. Estes meios são produzidos a partir de outros meios disponíveis no mercado, porém são modificados para se tornarem mais eficientes. No entanto, meios líquidos não possibilita a quantificação das bactérias e são altamente propícios à contaminação por outros microrganismos. Para aumentar a qualidade e especificidade do teste pode-se usar concomitantemente a cultura em meio sólido (OPLUSTIL, 2010).

Na penúltima fase, é feita a incubação do meio a 37°C. Devido ao lento crescimento das bactérias, o meio pode se manter incubado por até 60 dias. Na quinta e última etapa é feita a leitura, avaliando as colônias, suas características morfológicas, aspecto e o nível de contaminação. (PERESI et al, 2008).

A leitura dos meios sólidos é feita, seguindo estes critérios: cultura positiva, quando contado número inferior a 20 colônias, laudar quantificando o número de colônias encontradas; quando visualizado de 20 a 100 colônias, reportar cultura positiva (+); Cultura positiva (++) , quando encontrado número superior a 100 colônias; quando houver colônias, formando uma espécie de tapete, relata-se positiva (+++); (ASSIS et al, 2011).

Quadro 2 - Método Para Relatar o Crescimento de Colônias em Meio de Cultura Sólido

NÚMERO DE COLÔNIAS OBSERVADAS	MÉTODO DE RELATO
0 Colônia/Cultura	Negativo (-)
1-20 Colônias/ Cultura	Positiva
20-100 Colônias/Cultura	Positiva (+)
Mais de 100 Colônias/Cultura	Positivo (++)
Colônias confluentes/ Tapete	Positivo (+++)

Fonte: Adaptado de OPLUSTIL, 2010

Uma cultura positiva permite detecção a sensibilidade dos antibióticos e também, avaliar a eficácia do tratamento. Apesar desse exame se manter como *gold-standard* no diagnóstico é, porém, um processo muito demorado (NETO, 2001).

2.2.3 Biologia Molecular

Os testes para ampliar os ácidos nucleicos, são avaliações rápidas, com especificidade e sensibilidade alta. Entre os métodos mais empregados, está a Reação em cadeia da Polimerase (PCR), técnica aplicada diretamente na amostra biológica, escarro ou em colônia suspeita. Essas técnicas moleculares surgiram com a intenção de fornecer ao médico um resultado mais rápido e preciso; são testes de detecção rápida, que permitem uma resposta em 24 a 48 horas. Existem diversos kits comercializados, sendo que cada um deles utiliza-se de um método diferente para amplificar regiões específicas do DNA (ASSIS, 2007).

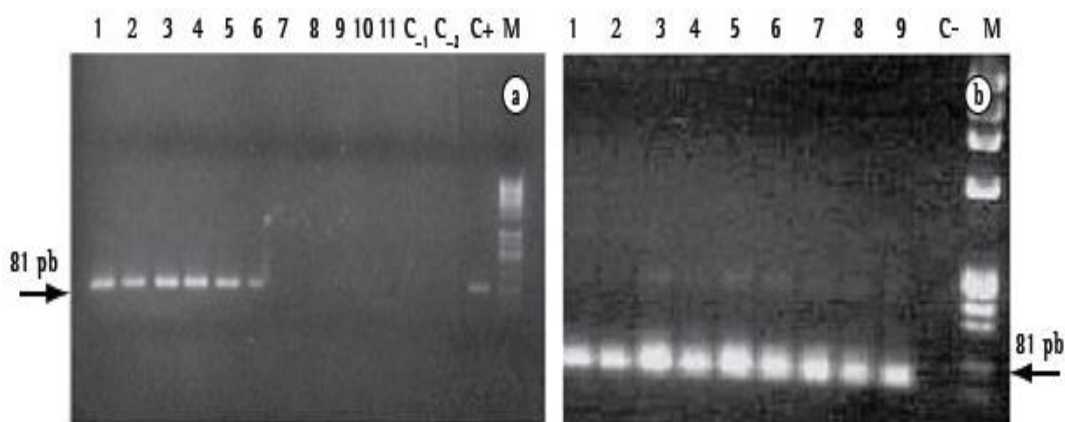
Para esse tipo de análise há necessidade de um laboratório com técnicos experientes e equipamento específico, o que encarece o procedimento, sendo ele

cerca de 14 vezes mais caro que um exame direto. A sensibilidade e a especificidade desses exames, têm sido extensivamente estudadas, tendo-se observado divergências de resultados (BRAS, 2004).

Grande parte dos estudos aponta esses testes para uma especificidade muito alta no diagnóstico da Tuberculose pulmonar. Porém, outros têm revelado resultados variáveis, com relação à sensibilidade, dependendo do tipo de amostra. Estudos têm relatado também que a sensibilidade desses testes depende do nível bacilar presente na amostra; a sensibilidade se mostra maior em amostras com mais de 50 colônias por cultura e também em amostras pulmonares onde o exame direto é positivo (CAMPOS, 2006).

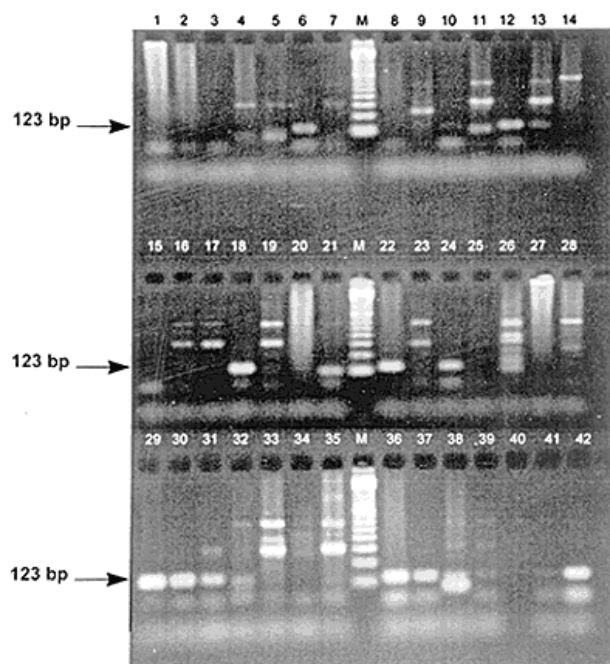
Contrastado ao exame direto, o valor acrescentado dos testes moleculares baseia-se no seu maior valor preditivo positivo que é maior que 95% nas amostras com exame direto positivo e capacidade de detectar mais precocemente o *M. tuberculosis*, em 50 a 80% das amostras com exame direto negativo e cultura positiva. Em contraste ao exame cultural, a positividade desses testes consiste na precocidade do diagnóstico, em 80 a 90% dos pacientes com suspeita de tuberculose, posteriormente confirmada pela cultura da amostra (ASSIS et al, 2011).

Figura 7 – Eletroforese em gel de agarose. Em a), curva de diluição usando sangue total de um indivíduo sadio misturado com DNA de *M. tuberculosis*. Em b), curva de diluição de DNA de *M. tuberculosis* em água para estabelecer o limite de detecção de DNA através de nested PCR.



Fonte: LIMA, 2009

Figura 8 – Eletroforese em gel de agarose a 3% de produtos amplificados em PCR para tuberculose.
Amostras Positivas: 6; 12; 13; 18; 22; 24; 29-32; 36-39; 41 e 42.



Fonte: BOLELLA et al, 1999

As principais limitações dos testes moleculares, se dão devido aos resultados falsos positivos e falsos negativos. Os resultados falsos positivos estão relacionados principalmente, a problemas de contaminação da amostra. Enquanto que a presença de inibidores da amplificação enzimática na amostra, pode ser responsável pela obtenção de resultados falsos negativos (DELOCCO et al, 2011).

De acordo com a literatura, os testes de amplificação de ácidos nucléicos não podem substituir a baciloscopia ou a cultura. Os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) defendem a realização de exames moleculares em, pelo menos, uma amostra

em pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar. Pacientes com exame direto positivo, o teste molecular confirma o diagnóstico de tuberculose. Toda via, o CDC também defende uma atitude mais razoável, referindo que eles não são suficientemente sensíveis para excluir o diagnóstico em suspeitos com exame direto negativo, uma vez que só detectam de 40 a 75% dos casos, que posteriormente devem ser confirmados por cultura. (CDC, acesso em 20 abr. 2016).

Estes testes não são válidos para monitorar o paciente em tratamento, uma vez que se verifica persistência do DNA mesmo após a morte do bacilo e, por vezes por períodos superiores a 12 meses. Estudos mais recentes, têm sugerido que uma nova técnica, o PCR em tempo real (RIPCR), que consiste na determinação quantitativa do DNA e fornece seu perfil evolutivo, poderá ser útil para avaliação e resposta ao tratamento (LIMA et al,2008).

2.2.4 Exames Imunoquímicos

Exames imunoquímicos encontrados para diagnóstico de TB atualmente são os ensaios de liberação de citocina e o teste tuberculínico. O teste tuberculínico é indicado como método auxiliar no diagnóstico da tuberculose, a prova tuberculínica quando positiva, isoladamente, indica a presença de infecção e não é suficiente para diagnóstico da doença. A prova consiste na inoculação via intradérmica da tuberculina no terço médio da face anterior do antebraço esquerdo, na dose de 0,1 ml. A leitura da prova tuberculínica é realizada de 48 a 72 horas após a aplicação, podendo este prazo ser estendido para 96 horas, caso o paciente falte a consulta. O maior diâmetro transversal da área de endurecimento palpável deve ser medido com régua milimetrada, e o resultado registrado em milímetros. Possui baixa especificidade, pois existe grande chance das populações que foram vacinadas contra o *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) apresentarem reação na pele. Além de demonstrar também baixa sensibilidade em indivíduos imunologicamente debilitados. Os testes de liberação de citocinas ativadoras de resposta imunológica consistem na resposta do paciente a proteínas específicas. Essas proteínas induzem a liberação de citocinas pelo doente, e apenas são produzidas por bactérias do complexo *M. tuberculosis* e espécies patogênicas de *M. bovis*, por isso descarta-se um possível falso positivo causado pela vacina BCG. Nesse método, o sangue total ou células mononucleadas do sangue, provenientes do paciente, serão expostas a fatores protéicos antigênicos que, estimularam os linfócitos a secretarem fatores de ativação de macrófagos. Caso o paciente já tenha tido contato com a bactéria, os linfócitos de memória irão liberar uma significativa quantidade de citocinas (FERRI, 2014).

2.2.5 Tratamento

O tratamento da tuberculose deve ser feito em regime ambulatorial, supervisionado pelo serviço de saúde mais próximo do doente. Antes de iniciar a quimioterapia, é necessário orientar o paciente quanto ao tratamento. Para isso, deve-se explicar em linguagem acessível, as características da doença e o esquema de tratamento a ser seguido. São abordados aspectos como: droga, duração, benefícios do uso regular da medicação, consequências do abandono do tratamento e possíveis efeitos adversos dos medicamentos. As Drogas usadas, nos esquemas padronizados são a Isoniazida, Rifampicina, Pirazinamida e Etambutol. Em crianças menores de cinco anos, apresentem dificuldade para ingerir os comprimidos, recomenda-se o uso de drogas, na forma de suspensão ou xarope (BRASIL, 2010).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um diagnóstico precoce é fator de grande importância para reduzir a mortalidade e diminuir o risco de contaminação da bactéria. Os exames micobacteriológicos, continuam a ser referência no diagnóstico de Tuberculose pulmonar. A identificação do microrganismo pela baciloscopia, mesmo com limitações quanto a sensibilidade continua a ser fundamental para um rápido diagnóstico.

A cultura, apesar de demorada, continua a ser a técnica *gold standard* para o diagnóstico da tuberculose pulmonar. Os Testes moleculares que amplificam os ácidos nucléicos são rápidos na identificação dos bacilos. Porém, apresentam sensibilidade relativamente baixa, sendo dependente do tipo de amostra e da sua carga bacilar. Os ensaios de liberação de citocinas se utilizam de biomarcadores inflamatórios, mas ainda é pouco empregado como método diagnóstico, sendo mais usado em pesquisas científicas. Uma vez que nem sempre é possível isolar o *M. tuberculosis*, o diagnóstico e a decisão de iniciar o tratamento dependem da integração de dados epidemiológicos, clínicos, imaginológicos e também laboratorial.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, Ana C. B. et al. Comparação da PCR, Baciloscopia e Cultura no Diagnóstico da Tuberculose Humana. **Revista de Veterinária e Zootecnia**. vol.8 n.3 p.384-392, São Paulo Set 2011. Disponível

em:<<http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/view/110>>. Acesso em: 29 abr. 2016.

BENTO, João. et al. Métodos diagnósticos em tuberculose. **Revista Científica da Ordem dos Médicos**. vol.24 p.145-154, Porto 2011. Disponível em:

<<http://www.actamedicaportuguesa.com/>>. Acesso em: 23 abr. 2016.

BOLELLA, Valdes R. et al. Problemas na padronização da reação em cadeia da polimerase para diagnóstico da tuberculose pulmonar. **Revista Saúde Pública** vol.33 n.3 São Paulo Jun. 1999. Disponível

em:<http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101999000300009>. Acesso em: 22 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças Infecciosas e Parasitárias. **Guia de Bolso**. 8° ed. p.402-418, Brasília 2010..

BRASIL. Portal Brasil. **Tuberculose**. 2014. Disponível em: <

http://www.brasil.gov.br/saude/2014/03/sus-comeca-a-oferecer-teste-rapido-para-tuberculose/13384689945_2ba9260586_m1.jpg/view>. Acesso em: 20 abr. 2016.

CAMPOS, Hisbello S. Diagnóstico da Tuberculose. **Revista Pulmão Rio de Janeiro**. vol.15 n.2 p. 92-99, Rio de Janeiro 2006. Disponível

em:<http://sopterj.com.br/profissionais/_revista/2006/n_02/07.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2016.

CDC. **Tuberculosis (TB)**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/tb/topic/basics/default.htm>>. Acesso em: 21 abr.2016.

DELOCCO, B. A.V. et al. **Tuberculose Pulmonar**. Boletim brasileiro de avaliação de tecnologias em saúde, Brasília, v. 6, n. 16, 2011.

EZEMBRO, Esmeraldo. et al .REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. **Manual de Baciloscopia da Tuberculose**. Maputo 2012. Disponível

em:<[dehttps://www.fhi360.org/sites/default/files/media/documents/TB%20Basiloscopy%20Manual.pdf](https://www.fhi360.org/sites/default/files/media/documents/TB%20Basiloscopy%20Manual.pdf)>. Acesso em: 30 abr. 2016.

Fiocruz. **Tuberculose Pulmonar**. Disponível em:

<<https://agencia.fiocruz.br/tuberculose>>. Acesso em 15 abr. 2016.

FERRI, Anise Ozório. et al. Diagnóstico da tuberculose: uma revisão. **Revista Liberato**. vol. 15, n. 24, p. 105-212, Novo Hamburgo jul/dez. 2014. Disponível

em:<<http://revista.liberato.com.br/ojs-2/index.php/revista/article/view/317/219>>. Acesso em: 23 abr. 2016.

Fleury Medicina e Saúde. **Tuberculose: Relatório da OMS apresenta a situação da doença no mundo.** Edição nº6/2014. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revistamedica/materias/Pages/tuberculose-relatorio-oms-situacao-doenca-mundo.aspx>>. Acesso em: 15 jul. 2016.

Fleury Medicina e Saúde. **Principais causas de mortalidade no mundo segundo a OMS.** Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/as-principais-causas-de-mortalidade-no-mundo-segundo-a-oms.aspx>>. Acesso em: 5 out. 2016.

Jornal Brasileiro de Pneumologia. vol.30 suppl.1 São Paulo Jun. 2005. **Diretrizes Brasileiras para Tuberculose 2005.** Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-37132004000700002&script=sci_arttext>. Acesso em: 23 abr. 2016.

KONEMAN, Elnor W. **Diagnostico microbiologico:** Texto e Atlas colorido. 5.ed. São Paulo: MEDSI, 2001. 1465 p.

LIMA, Juliana Figueiredo. et al. Desempenho da técnica nested PCR na detecção específica do complexo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras sanguíneas de pacientes pediátricos. **Jornal Brasileiro de pneumologia.** vol.35 n.7 São Paulo Jul. 2009. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132009000700011>. Acesso em: 22 abr. 2016.

LIMA, Stella Sala Soares. Métodos convencionais e moleculares para o diagnóstico da tuberculose pulmonar: um estudo comparativo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia.** vol.34 no.12 São Paulo Dez. 2008 Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132008001200011>. Acesso em: 25 mar. 2016.

Médicos Sem Fronteiras. **Tuberculose.** Disponível em: <<http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/tuberculose>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

NETTO, Antônio R. Programa de Controle da Tuberculose no Brasil: Situação Atual e Novas Perspectivas. **Informe Epidemiológico do SUS.**vol.10 n.3 p.129-138, Brasília Set 2001. Disponível em:<http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-16732001000300004>. Acesso em: 29 abr. 2016.

OPLUSTIL, Carmen Paz. et al. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica.** 3°. ed. São Paulo: SARVIER, 2010 p.
PBSNEWSHOUR. **The day we discovered the cause of the 'white death'.** Disponível em: <<http://www.pbs.org/newshour/updates/march-24-1882-robert-koch-announces-his-discovery-of-the-cause-of-tuberculosis/>>. Acesso em: 20 set. 2016.

Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto. **Tuberculose: diagnóstico laboratorial**. Disponível em:<http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=235>. Acesso em: 25 mar. 2016.

WINN, Washington. Et al. **Koneman diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6°. Ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, 2010 p.