



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS
INFECCIOSAS

LUANDA MACEDO DA SILVA NETO

**PREVALÊNCIA DE ENTEROPARASITOSE E
INFLUÊNCIA DO PARASITISMO NOS DESFECHOS
CLÍNICOS DOS PACIENTES COM TUBERCULOSE
CO-INFECTADOS OU NÃO PELO HIV ATENDIDOS
NUM HOSPITAL DE REFERÊNCIA NO RIO DE
JANEIRO (2000-2006)**

Rio de Janeiro

2008

Prevalência de enteroparasitoses e influência do parasitismo
nos desfechos clínicos dos pacientes com tuberculose co-
infectados ou não pelo HIV atendidos num hospital de
referência no Rio de Janeiro (2000-2006)

LUANDA MACEDO DA SILVA NETO

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós Graduação em Pesquisa Clínica em
Doenças Infecciosas do Instituto de
Pesquisa Clínica Evandro Chagas para
grau de Mestre em Pesquisa Clínica em
Doenças Infecciosas.
Orientadoras: Dra. Graziela Maria
Zanini e Dra Valéria Cavalcanti Rolla.

Rio de Janeiro
2008

S586

Silva Neto, Luanda Macedo da

Prevalência de enteroparasitoses e influência do parasitismo nos desfechos clínicos dos pacientes com tuberculose co-infectados ou não pelo HIV atendidos num hospital de referência no Rio de Janeiro (2000-2006) / Luanda Macedo da Silva Neto. – Rio de Janeiro, 2008.

xiii, 37 f. : tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2008.
Bibliografia: f. 32-37

1. Tuberculose. 2. Parasitas intestinais. 3. Teste tuberculíneo. 4. Desfechos clínicos. 5. HIV. I. Título.

CDD 616.9272

LUANDA MACEDO DA SILVA NETO

Prevalência de enteroparasitoses e influência do parasitismo
nos desfechos clínicos dos pacientes com tuberculose co-
infectados ou não pelo HIV atendidos num hospital de
referência no Rio de Janeiro (2000-2006)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós
Graduação em Pesquisa Clínica em
Doenças Infecciosas do Instituto de
Pesquisa Clínica Evandro Chagas para
grau de Mestre em Pesquisa Clínica em
Doenças Infecciosas.

Orientadoras: Dra. Graziela Maria Zanini e
Dra. Valéria Cavalcanti Rolla.

Aprovada em: 22 / 12 / 2008.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Armando de Oliveira Schubach. (Presidente)
Doutor em Biologia Parasitária
Instituto Oswaldo Cruz.

Dr. Antônio Carlos Francesconi do Valle
Doutor em Medicina (Dermatologia)
Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Dr. Carlos Graeff-Teixeira
Doutor em Medicina Tropical
Instituto Oswaldo Cruz.

À Deus por essa vitória alcançada.

Aos meus queridos pais: amigos conselheiros e companheiros inseparáveis, eu amo vocês. À minha irmã Fernanda, amiga e incentivadora, com muito amor. Ao meu namorado Ricardo pelo carinho, paciência e incentivo. A toda a minha família de Santos que mesmo à distância me deram todo apoio e amor. À minha orientadora e amiga Graziela que me acolheu em seu laboratório com muito carinho, me permitindo ter várias oportunidades.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC – FIOCRUZ) que contribuiu para minha formação.

Às minhas orientadoras Dra. Graziela Maria Zanini e Dra. Valéria Cavalcanti Rolla que aceitaram me orientar e muito me auxiliaram ao longo desses anos, com muito carinho, obrigada por acreditarem em mim, em especial a Dra. Valéria que aceitou prontamente a me ajudar com muita paciência e carinho na ausência da Dra. Graziela.

Ao Dr. Armando Schubach pelas valiosas contribuições ao longo do percurso do mestrado sempre com muita atenção e carinho, muito obrigada e também por aceitar ser o revisor e membro da banca.

Ao Dr. Carlos Graeff Teixeira que ao longo da minha caminhada mesmo a distancia sempre me ensinou muito, me inspirou e me fez perceber de que posso ser capaz, basta acreditar e ir à luta dos meus sonhos, muito obrigada por tudo e por ter aceitado vir de tão longe para participar como membro da banca examinadora.

Ao Dr. Antônio Carlos Francesconi do Valle por aceitar prontamente e atenciosamente a participar como membro da banca examinadora, muito obrigada.

À Dra. Fátima Madeira pela atenção, carinho e compreensão ao longo de vários anos contribuindo para o meu crescimento e amadurecimento profissional, muito obrigada e também por aceitar a fazer parte da banca examinadora como suplente.

À estatística Msc. Raquel Vasconcellos Carvalhaes por ter muita paciência e muito carinho comigo neste período, te agradeço de coração.

Ao Marcelo e a Suze da coordenação de ensino que muito me ajudaram, me apoiaram com amor e sempre com muita paciência, muito obrigada, continuem sempre assim, vocês são pessoas especiais.

À enfermeira Simone e a secretária Cristiane do Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses do IPEC pela paciência e ajuda ao longo deste período.

À minha família pelo apoio, carinho e compreensão nas horas em que ficava ausente por estar estudando, muito obrigada.

Às minhas amigas Andressa e Cibele, pelo carinho e aprendizado, foram as primeiras a me incentivarem na busca de meus objetivos e crescimento profissional, muito obrigado.

Ao Eduardo pelo apoio e aprendizado com muito carinho e paciência neste período.

À equipe que trabalha no Serviço de Documentação e estatística pela compreensão, apoio e ajuda durante esses anos.

Aos meus colegas de turma do mestrado no IPEC, que durante o curso compartilhamos nossas angústias, tristezas e alegrias, obrigada pelo companheirismo.

Aos meus colegas do Laboratório de Parasitologia do IPEC, Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses do IPEC e Laboratório de Malária do IOC pelo carinho, apoio e troca de idéias.

Aos pacientes acometidos pela Tuberculose, que são exemplos de persistência e esperança, que contribuíram com sua história para a realização deste trabalho, o meu muito obrigado, que Deus os abençoe.

À todos que, de uma forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma ... todo o universo conspira a seu favor.”

(Goethe)

Começou como um sonho,
mas graças a Deus hoje é realidade!

Silva Neto, L. M. **Prevalência de enteroparasitoses e influência do parasitismo nos desfechos clínicos dos pacientes com tuberculose co-infectados ou não pelo HIV atendidos num hospital de referência no Rio de Janeiro (2000-2006)**. Rio de Janeiro, 2008. Dissertação de Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

RESUMO

A tuberculose e as enteroparasitoses afetam predominantemente populações de baixo nível sócio-econômico, vivendo em condições habitacionais precárias de forma aglomerada. Um dos aspectos interessantes dessa interação é a influencia do parasitismo na resposta celular a *Mycobacterium tuberculosis* agente causador da tuberculose (TB). O objetivo do estudo foi avaliar a prevalência das enteroparasitoses em pacientes com tuberculose, infectados ou não pelo HIV e verificar a influência da presença de helmintos na resposta ao teste tuberculínico (TT) e desfechos clínicos da tuberculose. Dos 607 prontuários consultados, 327 indivíduos preencheram os critérios de inclusão do estudo e não apresentaram critério de exclusão. A prevalência de enteroparasitas encontrada foi de 19,6%. Não houve associação significativa entre o resultado do TT e a presença de helmintos, de protozoários, nem positividade do EPF. Não houve diferença significativa entre os desfechos clínicos dos indivíduos parasitados e não parasitados. Somente a variável eosinófilos apresentou associação estatisticamente significativa ($p < 0.001$) com a presença de helmintos. Não houve associação entre infecção helmíntica e desfechos terapêuticos da TB nem entre parasitismo e resposta ao TT.

Palavras Chaves: Tuberculose, Parasitas intestinais, teste tuberculínico e desfechos clínicos.

Silva Neto, L. M. **Enteroparasitosis Prevalence and Parasitism Influence in Clinical Outcomes of Tuberculosis Patients with or without HIV Co-Infection in a Reference Hospital in Rio de Janeiro (2000-2006)**. Rio de Janeiro, 2008. Dissertation of Master Degree in Clinical Research in Infectious Diseases at Evandro Chagas Clinical Research Institute

ABSTRACT

Tuberculosis and intestinal parasites affect primarily low social and economic level populations, living clustered in precarious habitational settings. One of the interesting aspects of this interaction is the parasitism influence in cellular response to tuberculosis. In the present study, we evaluated the prevalence of enteroparasitosis in tuberculosis patients, HIV-infected and non HIV infected, and we observed the influence of helminth presence in the response to tuberculin skin test (TST) and tuberculosis clinical outcomes. From 607 clinical records reviewed, 327 individuals met the study inclusion criteria and did not present any exclusion criteria. The prevalence of enteroparasites observed was 19.6%. There was no significant association among TST result and the variables related to the presence of: helminthes, protozoa, and stool test for parasites result ($p>0.5$). We may observe that there is no significant difference ($p>0.05$) between the clinical outcome curves of parasited and non parasited individuals. Solely the variable “eosinophils” presents a statistically significant association ($p<0.001$) with helminthes, all other associations are considered not significant. Our findings neither show an association between helminthic infection and a favorable tuberculosis outcome, nor between parasitism and TST response.

Key-words: Tuberculosis, Intestinal Parasites, Tuberculin Skin Test, clinical outcome.

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
TT	Teste tuberculínico
TB	Tuberculose
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
EPF	Exame Parasitológico de Fezes

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	01
1.1 HISTÓRIA DA TUBERCULOSE.....	01
1.2 A DOENÇA, SEU AGENTE ETIOLÓGICO, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO..	04
1.3 EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE.....	05
1.4 O SISTEMA IMUNOLÓGICO NA TUBERCULOSE.....	06
1.5 AS ENTEROPARASIToses.....	07
1.6 O SISTEMA IMUNOLÓGICO NAS ENTEROPARASIToses.....	08
2.JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO.....	09
3. OBJETIVO GERAL.....	09
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
4. DEFINIÇÃO DE TERMOS: TUBERCULOSE, HIV E ENTEROPARASIToses.....	10
5.MATERIAL E MÉTODOS.....	11
6.RESULTADOS.....	11
7. CONCLUSÕES.....	31
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRIA DA TUBERCULOSE

A tuberculose (TB), também conhecida como peste branca, foi a principal causa de mortes no final do século XIX e início do século XX, e continua sendo a infecção mais importante causadora de mortes em adultos no mundo, por um único agente infeccioso (Bertolli, 2001). Descrita, provavelmente, pela primeira vez em textos indianos, a tuberculose pulmonar é conhecida desde os tempos de Hipócrates, como tísica (Bertolli, 2001). A análise de registros históricos de diversas civilizações, incluindo o estudo detalhado de múmias (DONOGHUE et al., 2004), indicam que a tuberculose acompanha o homem desde a antiguidade. No Brasil, acredita-se que esta doença tenha sido introduzida com a vinda de portugueses e missionários jesuítas, já a partir de 1500 (Trabulsi, 2005).

O bacilo causador da doença, *Mycobacterium tuberculosis* foi descrito em 24 de março de 1882 por Robert Koch. Ele recebeu, em 1905, o Prêmio Nobel de medicina por sua descoberta. Koch não acreditava que as tuberculoses bovina e humana fossem similares, o que impediu o reconhecimento do leite infectado como fonte da doença. Mais tarde, esta fonte foi eliminada graças à pasteurização (Trabulsi, 2005).

Em meados do século XIX (1860), a medicina associava a tuberculose diretamente às condições de miséria em que vivia a população. A grande preocupação, em termos de saúde pública, estava na destruição dos cortiços e na recuperação da zona urbana da cidade (Gonçalves, 2000).

Até o final do século XIX, acreditava-se também que a tuberculose estava intrinsecamente ligada à hereditariedade e às condições de vida, como habitação e trabalho. A noção da doença implicava em herança de morte, pois nessa época a cura inexistia. Em países europeus, a imagem de um "tuberculoso" estava associada à idéia de sensibilidade às artes, ao amor, ao refinamento dos sentimentos e passou a ser, no século XIX, uma forma valorizada de estética. Visava-se "aparecer" e a aparência física tornou-se um valor importante naquele contexto (Gonçalves, 2000).

Porém, ao final do século XIX, na Europa, houve a reconstrução da imagem da tuberculose; a concepção romântica deu lugar à compreensão social da doença, com sua maior incidência nas classes trabalhadoras (Gonçalves, 2000).

No Brasil, a percepção da tuberculose como doença social firmou-se neste século, estando presente no discurso médico, respaldado pelos dados estatísticos. Estes indicam de

forma incontestável, desde o início do século, uma maior incidência de tuberculose junto às classes populares, em virtude das precárias condições de vida, aspecto obscurecido na "tísica romântica". Apesar da associação da doença às condições de vida, percebe-se que as orientações para o controle da tuberculose, ao longo deste século, assumiram o fator biológico como seu principal determinante, sustentadas por um saber técnico-científico que se desenvolveu progressivamente (Fernandes, 1993).

Ao longo do século XX, a formulação e implementação das políticas de controle da tuberculose foram assumidas por instituições estatais e filantrópicas que atuaram, de forma diferenciada, no decorrer do período. Nas duas primeiras décadas, as instituições filantrópicas tiveram papel relevante na difusão e aplicação das idéias preconizadas para o combate à tuberculose. Destacou-se, no Rio de Janeiro, a Liga Brasileira contra a Tuberculose, fundada em 1900, como resultado de um movimento de médicos e intelectuais convencidos de que não podiam se omitir no combate à doença que causava tão alta letalidade, principalmente na capital federal. A Liga, até 1907, criou dois dispensários e desenvolveu um intensivo trabalho de propaganda sobre o problema da tuberculose e os meios para minimizá-lo. Nesse sentido, em 1913, passou a publicar sistematicamente uma revista, e em 1921, iniciou a publicação do Almanaque. No ano de 1927, criou o Preventório Rainha Dona Amélia, destinado aos filhos de tuberculosos. Em vários estados brasileiros criaram-se também ligas contra a tuberculose que foram, durante esse período, as únicas instituições que implementaram uma política de combate à doença (Fernandes, 1993).

O primeiro sucesso genuíno de vacinação contra a tuberculose foi desenvolvido a partir de linhagens atenuadas da tuberculose bovina, e criado por Albert Calmette e Camille Guérin em 1906, a vacina BCG (Bacilo de Calmette e Guérin). Ela foi usada pela primeira vez em humanos em 18 de julho de 1921 na França, apesar de arrogâncias nacionais terem impedido a disseminação de seu uso, seja nos EUA, Reino Unido ou Alemanha até o final da Segunda Guerra Mundial (Grange, 1983).

No contexto da década de 1930, consolidou-se a incorporação institucional de novas tecnologias, como a vacina BCG, a baciloscopia, a abreugrafia, o pneumotórax e outras cirurgias torácicas. Nesse período, ocorreu também o início da especialização acadêmica em fisiologia, em que se destacou o curso organizado por Clementino Fraga na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro (Fernandes, 1993).

A descoberta da quimioterapia antibiótica específica, a partir da década de 1940, iria alterar mundialmente, de forma bastante radical, o perfil epidemiológico, a ação institucional

e o conhecimento científico em relação à tuberculose, além de repercutir nas representações sobre a doença (Fernandes, 1993).

A introdução da estreptomicina e esquemas triplos (estreptomicina, hidrazida e ácido paraminossalicílico) no tratamento da enfermidade; a vacina BCG; o empenho dos dispensários em obter, através da educação sanitária, a adesão dos pacientes aos tratamentos prolongados; a abreugrafia no rastreamento em massa dos indivíduos que já disseminavam a doença mesmo antes de serem identificados como doentes; a pesquisa da imunidade individual por meio do teste de Mantoux – aplicação subcutânea de PPD (derivado de protéico purificado do *Mycobacterium tuberculosis*), que podia expressar a infecção pelo bacilo da tuberculose quando, no local de aplicação, resultasse um nódulo, dependendo de sua dimensão. Esses, dentre outros, poderiam ser lembrados como marcos dos esforços de assistência e controle dirigidos à tuberculose, de meados do século em diante (Antunes, 2000).

Apesar de ter ocorrido inicialmente uma queda acentuada dos índices de mortalidade pela doença, o uso irregular dos antibióticos ocasionou o surgimento de bacilos resistentes às drogas. O aprofundamento de estudos e experimentações utilizando a associação desses medicamentos e a descoberta de novos quimioterápicos, acompanhados por pesquisas no campo da microbiologia, possibilitaram a superação da resistência bacteriana naquela época. A União Internacional contra a Tuberculose promoveu, a partir de 1961, investigações sobre o uso desses quimioterápicos envolvendo diversos países, inclusive o Brasil, que resultaram em avanços terapêuticos significativos (Fernandes, 1993).

Como consequência, nas décadas seguintes, paulatinamente, foram sendo desativados os sanatórios e a grande maioria dos hospitais destinados à tuberculose, que também passaram a atender outras áreas da medicina ou mesmo alteraram seu setor de atuação (Fernandes, 1993).

O período mais recente, a partir do início da década de 1980, parece não ter sido menos pródigo na produção de conteúdos significativos distintivos da TB. O surgimento da HIV/AIDS promoveu rapidamente uma profunda modificação no panorama epidemiológico das doenças infecciosas em todo o globo e, sua associação com a tuberculose especialmente, propiciou condições para o recrudescimento da mortalidade provocada pela doença (Raviglione, 1995). As condições favoráveis ao surgimento e disseminação de cepas de *M. tuberculosis* resistentes às drogas aplicadas em sua terapêutica passaram a dificultar o controle da doença. A consolidação de grandes centros urbanos, em todas as regiões do país, reforçou antigas preocupações ante a associação da enfermidade com a privação e a

iniqüidade social, com os movimentos migratórios, com as precárias condições de habitação nas cidades e com a baixa efetividade dos programas de assistência e controle (Antunes, 2000).

1.2 A DOENÇA, SEU AGENTE ETIOLÓGICO, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Em 1882, o cientista alemão Robert Koch apresentou à comunidade científica o isolamento e forma de cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*, a partir de tubérculos (granulomas) macerados, identificando-o como o agente etiológico da tuberculose. O gênero *Mycobacterium* compreende microrganismos em forma de bastão, com dimensões de 0,2-0,7 x 1,0-10 µm, que não possuem flagelos, não formam esporos e não possuem cápsula (Ducati, 2005).

A tuberculose humana é uma doença infecciosa e contagiosa causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis*, uma micobactéria patogênica e aeróbia que infecta predominantemente os pulmões. A progressão da infecção por *M. tuberculosis* é regulada pelo sistema imune do hospedeiro e pode resultar em: imediata eliminação micobacteriana, latência desenvolvimento de doença ativa (Ducati, 2006).

A principal maneira de transmissão dá-se através de partículas infectantes provenientes da árvore respiratória lançados no ambiente através da tosse. Em pacientes com tuberculose ativa, a tosse caracteriza sintomas de inflamação pulmonar, além de ser o principal mecanismo de disseminação do microorganismo para novos hospedeiros. Esses expelidos pela tosse, espirro ou perdigotos são propelidos do pulmão para o ar formando aerossóis que podem permanecer em suspensão durante horas, caracterizando-a por sua alta contagiosidade (Trabulsi, 2005).

A pesquisa bacteriológica ainda é o método de escolha, quer seja para o diagnóstico, quer seja para o controle da eficácia do tratamento da TB. Esse mesmo método permite, também, a identificação da principal fonte de transmissão da doença, o paciente bacilífero. O diagnóstico da tuberculose pode ser realizado através da pesquisa dos bacilos em amostras de espécimes clínicos (escarro, líquido, lavado bronco-alveolar, líquido pleural, linfonodos, etc) através de exame microscópico (baciloscopia) ou através do isolamento dos mesmos em cultura. Apesar da baciloscopia ser a forma mais rápida, simples e de menor custo para se diagnosticar a doença causada por micobactérias, sua sensibilidade é baixa, visto que apenas 55,3% dos casos de doença pulmonar são detectados por este método (Ferreira, 2005). Por outro lado, a cultura convencional, em meio sólido, tem sensibilidade e especificidade

superiores às da baciloscopia, mas requer de 3 a 6 semanas para a detecção do crescimento do bacilo nos casos positivos. Entretanto, a cultura é ainda o único recurso bacteriológico disponível para a identificação da espécie, análise fenotípica de resistência a drogas anti-tuberculose e como fonte de material biológico (cepas) para estudos de epidemiologia molecular (GARG, 2003)

O tratamento quimioterápico padrão proposto pela OMS baseia-se na terapia de curta duração diretamente observada conhecida como DOTS, sigla inglesa para Directly Observed Treatment Short-course (Tratamento supervisionado de curta duração). O tratamento padrão atualmente recomendado pela OMS para o controle da tuberculose no mundo consiste na administração combinada das drogas isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol durante os dois primeiros meses, seguida por uma combinação de isoniazida e rifampicina por mais quatro meses (WHO, 2008) no Brasil o uso do etambutol é opcional (Silva, 2004).

No entanto, devido à longa duração do tratamento e os efeitos colaterais associados às drogas, a adesão ao tratamento torna-se mais baixa levando ao abandono contribuindo dessa forma para a redução da efetividade, o que levou a OMS a investir em medidas de adesão universal ao tratamento o que resultou na melhoria da adesão ao tratamento em muitos centros (WHO, 2008). As recomendações para tratamento de pacientes HIV positivo são semelhantes aos de pacientes HIV negativo (Trabulsi, 2005).

1.3 EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE

A tuberculose é um importante problema de saúde pública mundial, afetando especialmente países em desenvolvimento. A gravidade dessa situação está intimamente ligada ao aumento da pobreza, à má distribuição de renda e à urbanização acelerada. Este quadro contribui para a manutenção da pobreza, pois, como a AIDS, a tuberculose atinge, principalmente, indivíduos que poderiam ser economicamente ativos. A epidemia de HIV/AIDS e o difícil controle da tuberculose apontam para a necessidade de medidas enérgicas e eficazes de saúde pública (HIJJAR, 2001)

Estima-se que cerca de 1,7 bilhões de indivíduos em todo o mundo (cerca de 30% da população mundial) estejam infectados por *Mycobacterium tuberculosis* (FUNASA, 2003). Com o surgimento, em 1981, do HIV/AIDS, vem-se observando, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento, um crescente número de casos notificados de tuberculose em pessoas infectadas pelo HIV. A associação (HIV/TB) constitui, nos dias

atuais, um sério problema de saúde pública, que levou a um aumento da morbidade e mortalidade pela tuberculose, em muitos países (WHO 2008).

O ano de 2005 totalizou 1,6 milhões de óbitos por tuberculose em todo o mundo, incluindo 195 mil associados ao HIV (WHO, 2007). Uma em cada três pessoas infectadas com HIV está co-infectada com *M. tuberculosis* (Global Alliance for Tuberculosis Drug Development, 2005), pois o vírus aumenta a suscetibilidade à infecção e o risco de evolução da infecção para doença à medida que o estado de imunossupressão avança (WHO, 2004; FUNASA, 2003). O Brasil é o 15º país com a maior incidência de tuberculose no mundo (WHO, 2007) com 80.632 casos da doença em 2005. No mesmo ano, a cidade do Rio de Janeiro apresentou uma taxa de incidência de tuberculose de 92,22 casos/100 mil habitantes (DATASUS, 2008).

1.4 O SISTEMA IMUNOLÓGICO NA TUBERCULOSE

A resposta imune é a principal responsável pela defesa contra a infecção pelo bacilo da tuberculose. Entretanto, em infecções micobacterianas, a resposta imunológica do hospedeiro também está associada aos danos teciduais, devido à formação de granulomas e necrose. Vários dos sintomas da tuberculose, incluindo a destruição tecidual, que eventualmente liquefaz porções infectadas do pulmão, são preferivelmente mediados pela resposta imune do hospedeiro contra o bacilo em vez da virulência bacteriana propriamente dita (Trabulsi, 2005).

O controle imunológico dessa infecção é baseado na resposta imune celular, mediada predominantemente por células CD4 Th1. A produção de IL-12 por macrófagos e células dendríticas é induzida após a fagocitose do bacilo por essas células e direciona o desenvolvimento da resposta Th1 com produção de IFN- γ , que é a citocina crucial para o controle da infecção (Ladel et al., 1997; Henderson; Watkins; Flynn, 1997). Na tuberculose, o IFN- γ é produzido por linfócitos T CD4⁺, linfócitos T CD8⁺, células NK bem como por macrófagos (Orme et al., 1992; 1993; Barnes et al., 1993; Fenton et al., 1997; Lyadova et al., 1998; Lalvani et al., 1998; Schluger; Rom, 1998; Serbina; Flynn, 1999). A função principal do IFN- γ é ativar o macrófago infectado e dessa maneira, induzir que esta célula exerça seu papel microbicida, pela ativação da produção de reativos de oxigênio e de nitrogênio, necessários para a eliminação do bacilo (Schulger; Rom, 1998; Flynn; Chan, 2001). Além disso, o IFN- γ estimula o macrófago a liberar TNF- α , citocina importante para a formação do granuloma e para o controle da extensão da infecção (Flynn et al., 1995; Roach et al., 2002).

1.5 AS ENTEROPARASITOSE

Interação ecológica entre indivíduos de espécies diferentes, em que os parceiros (hospedeiro e parasito) estabelecem entre si relações íntimas e duradouras com certo grau de dependência metabólica. Geralmente o hospedeiro proporciona ao parasito todos ou quase todos os nutrientes e as condições fisiológicas requeridas por este. Um processo de adaptação recíproca, de compatibilidade ou de baixa virulência do parasitismo, asseguram a sobrevivência de ambas as espécies. O parasito só poderá seguir existindo se não destruir toda a população de seus hospedeiros ou não impedir a reprodução destes; caso contrário a espécie parasitária desapareceria (Rey, 2001).

A prevalência das infecções helmínticas no mundo, no Brasil e no Rio de Janeiro não é completamente conhecida, visto que esta doença não é de notificação obrigatória. Os dados que indicam a prevalência da infecção por helmintos são obtidos de estudos realizados isoladamente.

Os helmintos intestinais são causa de significativa morbidade em humanos. Estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas no mundo estão parasitadas por pelo menos uma espécie de helminto (Bethony et al., 2006). A cada ano ocorrem cerca de 65 mil óbitos decorrentes das infecções por ancilostomídeos, 60 mil associados à infecção por *Ascaris lumbricoides* e 70 mil em razão das formas invasivas de *Entamoeba histolytica* (WHO, 2002). Os helmintos estão presentes em mais de 25% da população mundial e mais de 40% ocorrem em crianças em países de baixa renda (Elias, 2006).

Seguem abaixo alguns dados de enteroparasitoses no Brasil realizados através de publicações que refletem, em sua maioria, a realidade de pequenas localidades, tornando-se difícil uma visão abrangente. São apresentadas frequências pontuais em diferentes populações: 55,1% em pacientes idosos em 1997, em João Pessoa (PB); 11,5% em pacientes de um laboratório em 2004, na Paraíba do Sul (RJ); 30,9% em pacientes ambulatoriais de um hospital em 2005, Porto Alegre (RS) e 66,1% em crianças e adolescentes do sertão baiano em 2006; e 88,6%, 85,%, 70,5% e 21,3% em crianças, respectivamente de Guaçuí (ES) em 2006, de Neópolis (SE) em 2005, de Lages (SC) em 2004 e de Presidente Prudente (SP). Campos e cols. em um estudo multicêntrico realizado em 10 estados, em escolares de 7 a 14 anos, estimaram um índice de positividade de 55,3% para algum tipo de enteroparasitose, sendo as de distribuição mais freqüente: ascaridíase, tricuriase e giardíase (Basso, 2008).

O crescimento desordenado dos centros urbanos, com o estabelecimento de comunidades marginais com elevada densidade populacional, desprovidas de infra-estrutura sanitária mínima e com baixo nível educacional, cria condições ótimas para a transmissão de helmintos e enteroprotzoários (Savioli et al., 1992).

Além da mortalidade em casos extremos, as enteroparasitoses afetam o equilíbrio nutricional, interferem na absorção de nutrientes, induzem sangramentos, reduzem a o apetite resultando muitas vezes numa perda ponderal e causam complicações, como obstrução intestinal e anemia levando a alterações imunológicas diminuindo a eficiência da resposta imune específica facilitando o estabelecimento de infecções bacterianas (Wade et al, 2004; Savioli et al., 1992), como por exemplo, a tuberculose. Verificamos a prevalência de enteroparasitoses em estudos realizados no Brasil onde o parasito mais freqüente foi *S. stercoralis* (Co, 2006; Tristão, 2002), diferindo de outros estudos realizados na Etiópia, onde os parasitos mais freqüentes foram *Ascaris lumbricóides*, ancilostomídeos, *Trichuris trichiura* e *Strongyloides stercoralis*, (Elias, 2001; Kassu, 2004).

1.6 O SISTEMA IMUNOLÓGICO NAS ENTEROPARASITOSE

A resposta imune típica induzida pelos helmintos intestinais é dependente de células Th2, resposta que envolve produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, assim como a produção de IgE e a mobilização e expansão de células efetoras específicas, como mastócitos, eosinófilos e basófilos (Abbas, 1996).

Os helmintos podem modular a atividade inflamatória celular produzindo fatores que interferem na atividade dos linfócitos e dos anticorpos, ou seja, os parasitos modificam a resposta imune efetora. Por exemplo, parasitas como *Ancylostoma caninum* produzem um fator inibidor de adesão de neutrófilo, enquanto *Trichinella spiralis* produz uma glicoproteína que inibe algumas funções dos neutrófilos (Bruschi, 1997).

Outro fator associado às infestações helmínticas é o aumento dos níveis de IgE e a eosinofilia que são também observados nas reações alérgicas. Um estudo de Schneider et al., (2002) mostrou que onde as alergias são raras, o aumento total de IgE e a eosinofilia estão associados com as doenças helmínticas. Yamamoto e colaboradores (2000) compararam a infecção intestinal por *A. lumbricoides* e *T. trichiuria* entre crianças e observaram um aumento dos níveis de IgE causados por esses parasitos.

2. JUSTIFICATIVA E IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

Apesar de várias hipóteses terem sido levantadas nos últimos anos sobre o impacto do parasitismo nas doenças infecciosas, poucos são os estudos realizados para avaliar essas hipóteses e melhorar a compreensão sobre a relação do parasita com outros organismos intracelulares tais como vírus, fungos e micobactérias. A tuberculose afeta predominantemente populações de nível sócio-econômico precário, vivendo em condições habitacionais de baixo padrão, de forma aglomerada, sem saneamento básico disponível e com alta prevalência de enteroparasitoses (FUNASA, 1993). Essa co-infecção (TB e enteroparasitoses) podem colaborar para a maior gravidade do quadro clínico de tuberculose, principalmente através de alterações do tipo de resposta imune.

As infecções helmínticas induzem resposta imune do tipo TH2, enquanto que resposta imune contra TB ou HIV apresentam um perfil tipo TH1. Infecções helmínticas crônicas causam um aumento da resposta TH2, aumentando a susceptibilidade à TB e HIV e a progressão das duas doenças. Assim, infecções por helmintos com domínio de resposta TH2 parecem contribuir para um aumento da incidência de TB nas populações do terceiro mundo (Bentwich et al, 1999).

Consideramos que um estudo em pacientes com diferentes formas clínicas de tuberculose com HIV/AIDS, possa contribuir para o conhecimento da associação dessas parasitoses com desfechos clínicos de importância na TB e no resultado de testes diagnósticos baseados na resposta imune do hospedeiro.

Dados originados dessa abordagem poderão ser importantes para intervenção direta nos pacientes atendidos no IPEC e, talvez, na rede pública do país. Procedimentos simples como o diagnóstico e tratamento das enteroparasitoses poderiam beneficiar o paciente, a população e o sistema de saúde.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação entre a presença das enteroparasitoses e os desfechos clínicos de pacientes com tuberculose, infectados ou não pelo HIV, atendidos no IPEC entre 2000 e 2006.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar a prevalência de enteroparasitoses em pacientes com tuberculose infectados ou não pelo HIV;
2. Comparar a resposta ao teste tuberculínico em pacientes com e sem enteroparasitos;
3. Analisar fatores sócio-demográficos, clínicos e laboratoriais associados à comorbidade (TB/HIV e enteroparasitas);
4. Verificar a influência das enteroparasitoses na evolução da TB.

Prevalência de enteroparasitoses e influência do parasitismo nos desfechos clínicos dos pacientes com tuberculose, co-infectados ou não pelo HIV, atendidos num hospital de referência no Rio de Janeiro (2000-2006)

LUANDA MACEDO DA SILVA NETO

Artigo submetido e aceito para publicação pela revista: *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. Este artigo corresponde a dissertação na íntegra.

Rio de Janeiro

2008

Comprovação de aceitação do artigo através do recebimento de e-mail da revista.

Assunto: BJID-ARTICLE 2422
De: bjid@bjid.com.br
Data: Ter, Janeiro 13, 2009 11:26 am
Para: graziela.zanini@ipecc.fiocruz.br ([mais](#))
CC: luanda.neto@ipecc.fiocruz.br

Dear Dr. Graziela Maria Zanini,

We would like to inform you that your manuscript entitled, "Enteroparasitosis Prevalence and Parasitism Influence in Clinical Outcomes of Tuberculosis Patients with or without HIV Co-Infection in a Reference Hospital in Rio de Janeiro (2000-2006)" (002422-8), was accepted for publication in BJID. We will indicate the issue in a next future.

Best regards



Luciana Bastianelli
Managing Editor

**Enteroparasitosis Prevalence and Parasitism Influence in Clinical Outcomes of
Tuberculosis Patients with or without HIV Co-Infection in a Reference Hospital in Rio
de Janeiro (2000-2006)**

Luanda M S Neto ¹, Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira ³, Paulo Renato Totino ⁴,
Flavia Marinho Sant'Anna², Viviane de Oliveira Coelho ², Valeria Cavalcanti Rolla ² and
Graziela M Zanini ¹.

1- Laboratório de Parasitologia at Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) -
Fiocruz, RJ.

2-Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses, Instituto de Pesquisa Clínica
Evandro Chagas (IPEC) - Fiocruz, RJ.

3- Serviço de Estatística e Documentação, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
(IPEC) - Fiocruz, RJ.

4- Laboratório de Malária at Instituto Oswaldo Cruz (IOC) – Fiocruz, RJ.

Luanda Macedo da Silva Neto.

Av. Brasil, 4365. Manguinhos. Rio de Janeiro/ RJ – Brasil.

CEP.: 21040-900.

Tel. 3865-9507. E-mail: luanda.neto@ipecc.fiocruz.br

Abstract

Tuberculosis and intestinal parasites affect primarily low social and economic level populations, living clustered in precarious habitational settings. One of the interesting aspects of this interaction is the parasitism influence in cellular response to tuberculosis. In the present study, we evaluated the prevalence of enteroparasitosis in tuberculosis patients, HIV-infected and non HIV infected, and we observed the influence of helminth presence in the response to tuberculin skin test (TST) and tuberculosis clinical outcomes. From 607 clinical records reviewed, 327 individuals met the study inclusion criteria and did not present any exclusion criteria. The prevalence of enteroparasites observed was 19.6%. There was no significant association among TST result and the variables related to the presence of: helminthes, protozoa, and stool test for parasites result ($p > 0.5$). Considering the survival of this cohort, we may observe that there is no significant difference ($p \geq 0.05$) between the survival curves of parasited and non parasited individuals. Solely the variable “eosinophils” presents a statistically significant association ($p < 0.001$) with helminthes, all other associations are considered not significant. Our findings neither show an association between helminthic infection and a favorable tuberculosis outcome, nor between parasitism and TST response, unlike other *in vitro* studies. Apparently, experimental data do not correspond to the clinical findings.

Key-words: Tuberculosis, Intestinal Parasites, Tuberculin Skin Test, Survival.

Introduction

Human tuberculosis is an infectious and contagious disease caused primarily by the *Mycobacterium tuberculosis*, an aerobic pathogenic mycobacterium infecting primarily the lungs. The progression of *M. tuberculosis* infection is ruled by the host's immune system, and may result in: Immediate elimination of the mycobacterium, latency or immune system failure, leading to the development of active disease [1].

The year of 2005 totaled 1.6 million of deaths by tuberculosis all over the world, including 195,000 with HIV co-infection [2]. One out of three HIV infected individuals has *M. tuberculosis* co-infection [3], due to the increase of susceptibility to infection and risk to disease progression caused by immunodeficiency [4, 5]. Brazil is the 15th country in highest number of tuberculosis (TB) cases [2]. In 2005, the number of cases was 80,632. In the same year, the city of Rio de Janeiro presented an incidence rate of tuberculosis of 92.22 cases/100,000 individuals, and the state has the highest incidence in Brazil [6].

Parasitic infections affect the nutritional status of the individual leading to immunological alterations that promote a decrease in the efficacy of the immune response, favoring the occurrence of other bacterial infections [7]. Tuberculosis and enteroparasitosis affect primarily low social and economic level populations, living clustered in precarious habitational settings [5].

It is estimated that in the world approximately 3.5 billion people are infected by parasites, among which 450 million would be symptomatic, mostly children. Each year approximately 65,000 deaths occur due to *Ancylostomidae*, 60,000 associated with *Ascaris lumbricoides* infection and 70,000 due to *Entamoeba histolytica* invasive forms [8]. A study in Brazil showed a 55.3% prevalence of enteroparasites in children, most of them polyparasited [9].

One of the interesting aspects of this interaction is the parasitism influence in cellular response to *M. tuberculosis*. Some *in vitro* studies suggested that parasited individuals had less

effective cellular response compared to non parasited [10, 11], while other authors did not find any relation between parasitism and a positive result to tuberculin skin test (TST) in parasited individuals [12].

In the present study, we evaluated the prevalence of enteroparasitosis in tuberculosis patients, HIV-infected and non HIV infected, and we observed the influence of helminth presence in the response to TST and tuberculosis clinical outcomes.

Patients and Methods

Region, Study Population and Time Period Studied

A review of 607 clinical files of patients from the Laboratório de Pesquisa Clínica em Micobacterioses (LPCM) at the Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) from Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) was performed, from 2000 to 2006.

Patients with any tuberculosis presentation, determined by bacilloscopy and/or culture were included. In non confirmed cases, those who presented clinical criteria associated to a positive therapeutic proof were selected [13]. Patients that did not have stool tests for parasites were excluded.

Variables Selected for the Study

Variables selected for the study were: demographical (sex, age, occupation, and education), clinical (tuberculosis clinical presentation, treatment outcomes), and laboratorial (white blood cell and eosinophils counts, TST, and CD4). In the association with individuals' social class and tuberculosis, and presence of enteroparasitosis we have verified that the information "occupation" would not be suitable, as the activities are much diversified. Most occupations ranged from housekeeping, maids, servants, cleaner, among others. Therefore, in this study

preference was given to analyze the relation between enteroparasitosis and social class through a proxy with educational degree.

Techniques used in Stool Tests for Parasites

The stool tests for parasites were performed at the Laboratório de Parasitologia from IPEC, and the techniques performed were: Kato Katz [14], Ritchie [15], and Baermann-Moraes [16].

Diagnostic criteria

HIV infection was determined by ELISA anti-HIV tests in two different blood samples, confirmed by an immunofluorescence assay or a Western blot [17].

Data analysis

Initially, an exploratory analysis of the data was performed through description of frequencies, measures of central tendency and dispersion.

The association among categorical variables was verified through Pearson's chi-square test for independence (χ^2), or by a correction named Fisher's exact test if the table was formed by two lines and two rows. *P*-values <0.05 indicated statistically significant associations among the variables.

To verify the normality of continuous variables, Kolmogorov-Smirnov test was used, whose *P*-value ($p < 0.05$) corresponding to rejection of normality. Because of rejection of normality nonparametric tests were used. Mann-Whitney nonparametric test was used to verify differences between the continuous variable (eosinophils) distributions in both groups (TST result, anti-HIV test, presence or absence of helminthes and protozoa in stool tests for parasites).

Nonparametric Kaplan-Meier model was used to evaluate survival, related to tuberculosis treatment outcomes (favorable/unfavorable), and for the presence of some parasites. Thus, variables related to helminthes occurrence, protozoa occurrence, and specifically strongyloidiasis occurrence were tested.

If the variable presents a survival curve substantially different to the occurrence when compared to the absence, we could claim that the factor being tested is an important predictor of TB progression. Another way of stating this consists in applying Peto and Log-rank tests. P -values < 0.05 would indicate that, statistically, the two survival curves differ significantly.

To describe which factors have an impact in helminthes and protozoa occurrence in tuberculosis patients, two models of logistic regression were performed. In the first model, helminthiasis occurrence was used as the outcome, while in the second model protozoa occurrence was used as the outcome. As selection criterion for the variables to both models, the variables related to the outcome by theoretical relevance were used. However, to decrease the number of variables in the multivariate model, the variables with P -value < 0.2 in the Type I Anova test and in the Wald statistic test were selected. This significance level was used because of small number of variables attain at 5% significance level. At last, the two final models are described, with their respective odds ratio (OR) and 80% confidence intervals.

The analysis was performed in the statistic software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) version 16.0. Survival and logistic models were performed with the software R version 2.6.0.

Ethical Aspects

The project was approved by the Institutional Review Board from the Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

Results

From 607 clinical records reviewed, 352 individuals met the study inclusion criteria and did not present any exclusion criteria. Other factors contributed to case exclusions, such as: diagnostic change, transfer to another hospital, absence of initial or end dates for the treatment. From the 607 clinical files reviewed, 327 were analyzed. Sociodemographic and clinical factors from the studied series are presented in Table I.

The prevalence of enteroparasites observed was 19.6%. Helminthes and protozoa prevalence in investigated patients were 10.1% and 9.8%, respectively. The frequencies of parasites found were: *S. stercoralis* (7.3%), *E. histolytica* (3.0%), and *G. lamblia* (2.7%). From seven polyparasitism cases, five occurred among protozoa, two among helminthes, and one in both. The prevalence of enteroparasitosis was similar in both sexes ($P=0.251$).

Association between Sociodemographic and Clinical/Laboratorial Factors

Low educational level was observed among analyzed patients, most (43.6%) was illiterate or had incomplete fundamental school; on the other hand, solely 8% attend or attended graduation schools.

There were no significant associations between the underlying disease (TB or HIV/TB), educational degree and age range according to stool test for parasites ($P=0.399$; 0.945 and 0.902). In addition, there was no significant association among TST result and the variables related to the presence of: helminthes, protozoa, and stool test for parasites result ($P>0.5$).

A significant association between eosinophils count and the stool test for parasites result and helminthes presence or absence was observed. The association between the eosinophilia and the presence of helminthes was significant both for HIV-negative TB cases ($P=0.001$) and for HIV-positive TB cases ($P=0.000$). Among HIV-negative TB patients presenting eosinophilia, 23.7% had helminthes vs. 45.2% of HIV-positive TB patients presenting eosinophilia.

Considering the survival of this cohort, we may observe that there is no significant difference ($P>0.05$) between the survival curves of parasited and non parasited individuals. Patients' survival tends towards decreasing with long-term follow-up, regardless of the presence of parasitosis, even when helminthes, protozoa, and *S. stercoralis* are independently analyzed.

Variables potentially related to the outcomes, i.e., presence of helminthes and protozoa at the stool test for parasites, are presented in Table II. Solely the variable "eosinophils" presents a statistically significant association ($P<0.001$) with helminthes, all other associations are considered not significant.

After selection of the logistic model with the 12 variables theoretically related to the interest *constructo* (Table II), once more, solely eosinophils (5% significance level) describe helminthiasis occurrence. Patients presenting eosinophilia have 11.4 fold (95% CI: 5.54-27.77) more chances of an unfavorable outcome (helminthes) than the group presenting eosinopenia or normal eosinophils count. Subsequently, an alternative model was performed (less conservative), with a 0.2 significance level, finding the following explicative variables for helminthiasis: sex, protozoa, and eosinophils (Table III).

No variable presents statistical significance in the explicative model of protozoa occurrence, with a 5% significance level. At 20% level, only the variable helminthes would explain the occurrence of protozoa (Table III).

Male sex was a risk factor for helminthiasis, with 1.11 fold more chances of presenting helminthes than the women group. The absence of helminthes was a risk factor for protozoa, with 2.77 fold more chances of presenting protozoa than the group presenting helminthes. The absence of protozoa was a risk factor for helminthes, with 4.86 fold more chances of presenting helminthes than the protozoa group. Eosinophilia was a risk factor for helminthes, with 13.14 fold more chances than the eosinopenia or normal eosinophils count groups.

Discussion

The impact of helminthic infection on TST result, as well as on the tuberculosis clinical outcome (prognosis) is still controversial. Recent *in vitro* studies showed significant correlations between helminthic infections and tuberculosis [18, 19, 20, 21, 10]. In this study, initially, we evaluated the prevalence of enteroparasitosis in tuberculosis patients, HIV-infected or non infected, and we found a prevalence of helminthes similar to that observed by other authors, *Strongyloides stercoralis* being the most frequent parasite [10, 20]. However, the series from the other authors were composed exclusively by individuals with pulmonary tuberculosis. When we compare with the study performed by [11], we may consider our prevalence, as well as different parasites observed, significantly low. This could be explained by the population studied (Africa), where the number of intestinal parasitosis cases is knowingly higher.

There was no association between enteroparasitosis and social class or sex in our study, neither in Ludwig et al [22] that observed a trend to intestinal parasitosis prevalence decrease, concurrent to the increase of basic sanitation, making evident an inverse relation between the prevalence of positive tests and the population with access to water and sewerage system. This could explain, at least partially, our low prevalence, as our patients live in Rio de Janeiro with better sanitation conditions [6].

Our study found statistical significance between eosinophilia and stool test for parasites result and between eosinophilia and helminthes presence or absence, both for HIV-negative or positive TB patients. Kaminsky et al. [23] and Tristão et al [20] observed, as we did, that intestinal infection by helminthes in HIV-positive patients resulted in immune responses involving eosinophilia.

In our study, we tried to verify whether there was a significant association between helminthic infections and response to TST, and in tuberculosis clinical outcome. No significant

association was observed between TST result and presence of helminthes in tuberculosis patients, HIV-infected or non infected. Elias et al [11] in a study in Ethiopia did not observe this association in patients with pulmonary tuberculosis, although TST reactivity has been greater in individuals treated with anti-helminthic drugs compared to placebo group. In a second step of this same study, the authors stimulated cellular response *in vitro* with PPD (Purified Protein Derivative) and found a significant association in individuals treated with placebo.

In our study there was no difference in survival among individuals with or without enteroparasites, which is consistent with Brown et al [12] findings, suggesting that the presence of enteroparasitosis does not have a direct impact on survival.

After selection of the logistic model with the 12 variables theoretically related to the interest *constructo*, once more, solely eosinophils variable showed a relation to the outcomes (helminthes and protozoa in stool test for parasites). Reinforcing what has already been said above through another analysis (Mann-Whitney non parametric test) that eosinophils have a significant association with the presence of helminthes, suggesting that in the absence of a stool test for parasites, eosinophilia finding should indicate its performance and, occasionally, make anti-helminthic treatment [23].

Based in a literature review and in our own findings, intestinal parasites eradication, with consequent elimination of the immune modulation provoked by them, may lead to a positive tuberculosis outcome. Thus, more attention should be focused to prevention and treatment of helminthic infection, even before initiating bacterial or antiviral treatment.

Our findings neither show an association between helminthic infection and a favorable TB outcome, nor between parasitism and TST response, unlike other *in vitro* studies. Apparently, experimental data do not correspond to the clinical findings.

Acknowledgements:

We thank Dr Armando Schubach for valuable suggestions and Eduardo Machado for helping in the retrieval of patients' data. We also thank the team of the IPEC's Service for Documentation and Statistics, and Cristianne Marques and Simone from the Laboratory of Clinical Research in Mycobacteriosis, for the kind and efficient support in the search of the patients' files.

References

1. Ducati R.G., Ruffino-Netto A., Basso L.A., Santos D.S. The resumption of consumption. A review on tuberculosis. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; Rio de Janeiro. November Vol. 101(7): 697-714.
2. WHO. Report global tuberculosis control: surveillance, planning, financing, Geneva, 2007. World Health Organization.
3. Global Alliance for Tuberculosis Drug Development (homepage on the internet) USA, (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://www.tballiance.org/home/home.php>
4. WHO Report global tuberculosis control: surveillance, planning, financing, Geneva, 2004. World Health Organization.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 4. ed. ampl.– Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
6. DATASUS (homepage on the internet) Brasil, Departamento de Informática do SUS, Ministério de Saúde do Brasil (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br>

7. Wady M.T.B.; Linhares-Carvalho M.I.; Salles-Costa R.; Valle J. e Castello-Branco L.R.R. Investigação dos aspectos nutricionais em homens abrigados em uma instituição filantrópica envolvida em surto de tuberculose. *Bol.Pneumol Sanit* 2004; 12(1): 11 – 16.
8. WHO. Report of an informal consultation on hookworm infection and anemia in girls and women. Geneva, 2002. World Health Organization.
9. Campos R., Briques W., Belda Neto M., Souza J.M., Katz N., Salata E., Dacal A.R.G., Dourado H., Castanho R.E.P., Gurvitz R., Zingano A., Pereira G.J.M., Ferrioli Filho F., Camilo-Coura L., Faria J.A.S., Cimerman B, Siqueira Filho J.B., Prata A. Levantamento multicêntrico de parasitoses intestinais no Brasil. Rhodia - Grupo Rhône-Poulenc, São Paulo, 1988.
10. Co T.R.; Hirsch C.S; Toossi Z.; Dietze R and Ribeiro-Rodrigues R. Intestinal helminth co-infection has a negative impact on both anti-Myco bacterium tuberculosis immunity and clinical response to tuberculosis therapy. *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology* 2006, 147: 45–52.
11. Elias D.; Wolday D.; Akuffo H.; Petros B.; Bronner U.; Britton S.; Hansen A. Effect of deworming on human T cell responses to mycobacterial antigens in helminth-exposed individuals before and after bacilli Calmette-Guerin (BCG) vaccination. *Clin Exp Immunol* 2001; 123:219±225.

12. Brown M., Miiro G., Nkurunziza P., Watera C., Quigley M.A., Dunne D.W., Whitworth J.A.G., Elliott A.M. *Schistosoma mansoni*, nematode infections, and progression to active tuberculosis among HIV-1-infected Ugandans. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74:819–25.
13. Brasil, Ministério da Saúde. Plano Nacional de Controle da Tuberculose. Brasília: FUNASA; 1999. p. 184
14. Katz N.; Chaves A.; Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med trop S Paulo* 1972; 14:397–400.
15. Ritchie L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bulletin of the United States Army Medical Department* 1948; Washington, v.8, p.326.
16. Moraes R.G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil. *Rev Saúde Publica* 1948; 1: 507-624.
17. ANVISA/MS (homepage on the internet) Brasil, Exames de HIV e AIDS, Ministério de Saúde do Brasil (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://www.aids.gov.br>
18. Diniz LM.; Zandonade E.; Diatze R.; Pereira F.E.; Ribeiro-Rodrigues R. Short report: do intestinal nematodes increase the risk for multibacillary leprosy? *Am. J. Trop. Med. Hyg* 2001; 65(6): 852-4.

19. Stewart G.R.; Boussinesq M.; Coulson T.; Elson L.; Nutman T.; Bradley J.E. Onchocerciasis modulates the immune response to mycobacterial antigens. *Clin Exp Immunol* 1999; 117:517–23.
20. Tristão-Sá R.; Ribeiro-Rodrigues R.; Johnson L.T.; Pereira F.E.L.; Dietze R. Intestinal nematodes and pulmonary tuberculosis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* 2002; 35 (5): 533-535.
21. Elias D., Mengistu G., Akuffo H., Britton S. Are intestinal helminthes risk factors for developing active tuberculosis? *TropMed Int Health* 2006; 11:551–8.
22. Ludwig K.M.; Frei F.; Alvares F.F. e Ribeiro-Paes J.T. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1999; 32(5):547-555.
23. Kaminsky R.G.; Soto R.J.; Campa A.; Baum M.K. Intestinal Parasitic Infections and Eosinophilia in an Human Immunodeficiency Virus Positive Population in Honduras. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; Rio de Janeiro, November Vol. 99(7): 773-778, 773.

Table I: Distribution of sociodemographic, clinical and laboratorial factors from 327 TB patients (2000-2006)

Sociodemographic variables	Categories	(%)
Sex	Female	38.2
	Male	61.8
Age *	42.44±12.60	-
Educational degree	Illiterate and FS incomplete	43.4
	FS complete and HS incomplete	32.4
	HS	16.2
Age range	Graduated	8.0
	Up to 35 years	34.3
	36 to 46 years	31.8
	> 46 years	33.9
Laboratorial variables	Categories	(%)
Stool test for parasites	Positive	19.6
	Negative	80.4
Helminthes	Presence	10.1
	Absence	89.9
Protozoa	Presence	9.8
	Absence	90.2
TST	Non reactive (0-4 mm)	20.2
	Reactive (≥5 mm in HIV+ and >10 mm in TB)	79.8
White blood cell count	Normal (3,200-12,600)	86.2
	Leukocytosis (>12,600)	4.6
	Leukopenia (<3,200)	9.2
Eosinophils*	4.24±5.141	-
Eosinophils	Eosinopenia (zero %) and normal (1-6%)	78.9
	Eosinophilia (>6%)	21.1
Tuberculosis Outcomes	Favorable	79.8
	Unfavorable	20.2
CD4	Up to 200 cells/mm ³	19.9
	>200 cells/mm ³	80.1
Viral load	Up to 100,000 copies	74.9
	>100,000 copies	25.1

*Mean and Standard Deviation of continuous variables TST: Tuberculin Skin Test, CD4: CD4 cell counts, FS: Fundamental School, HS: High School.

Table II: Variables Distribution and Association according to the Outcome (helminthes and protozoa infection) in Tuberculosis Patients HIV-positive or HIV-negative

Variables (N=327)	Categories	Helminthes (n=33) (%)	P-value*	Protozoa (n=32) (%)	P-value*
Sex	Male	72.7	0.191	65.6	0,705
	Female	27.3		34.4	
CD4	Up to 200 cells/mm ³	21.2	0.820	25.0	0,484
	>200 cells/mm ³	78.8		75.0	
VIRAL LOAD	Up to 100,000 copies	78.8	0.676	75.0	1,000
	>100,000 copies	21.2		25.0	
EDUCATIONAL DEGREE	Illiterate and FS incomplete	54.5	0.459	37.5	0,905
	FS complete and HS incomplete	30.3		34.4	
	HS complete	12.1		18.8	
AGE RANGE	Graduation	3.0	0.323	9.4	0,765
	Up to 35 years	30.3		37.5	
	36 to 46 years	24.2		34.4	
UNDERLYING DISEASE	> 46 years	45.5	0.355	28.1	0,542
	HIV+TB	51.5		43.8	
	TB	48.5		56.3	
TST	Non reactive (0-4 mm)	18.2	0.486	25.0	0,305
	Reactive (≥5 mm in HIV+ and >10 mm in TB)	81.8		75.0	
DIAGNOSTIC CONFIRMATION	Positive	63.6	0.323	64.5	0,684
	Negative	36.4		35.5	
TB CLINICAL PRESENTATION	Pulmonary	51.5	0.286	68.8	0,545
	Extrapulmonary	42.4		25.0	
	Disseminated	3.0		3.1	
EOSINOPHILS	Extrapulmonary and pulmonary	3.0	0.000*	3.1	0,360
	Eosinopenia (0%) and normal (1-6%)	30.3		71.9	
	Eosinophilia (>6%)	69.7		28.1	
WHITE BLOOD CELL COUNT	Normal (3,200-12,600)	93.9	0.376	90.6	0,426
	Leukocytosis (>12,600)	3.0		0	
	Leukopenia (<3,200)	3.0		9.4	
HELMINTHES	Presence	NA	NA	3.1	0,168
	Absence	NA		96.9	
PROTOZOA	Presence	3.0	0.168	NA	NA
	Absence	97.0		NA	

*P-value <0.05 at χ^2 test. NA: Not applicable, FS: Fundamental School, HS: High School, TST: Tuberculin Skin Test, CD4: CD4 cell counts, TB: Tuberculosis

Table III: Model Analyzing Factors of Influence in the Outcome of Helminthes and Protozoa in Tuberculosis Patients HIV-infected and not infected, with Follow-up from 2000-2006 (N= 327).

OUTCOME (Presence X Absence)		Helminthes OR (80% CI)	Protozoa OR (80% CI)
SEX	Male	2.11 (1.45-3.08)	-
	Female	1.00	-
HELMINTHES	Absence	-	3.77 (1.58-9.00)
	Presence	-	1.00
PROTOZOA	Absence	5.86(2.38-14.41)	-
	Presence	1.00	-
EOSINOPHILS	Eosinophilia	14.14(9.91-20.18)	-
	Eosinopenia and normal	1.00	-

7. CONCLUSÕES

1. A prevalência de enteroparasitoses em pacientes com tuberculose infectados ou não pelo HIV foi de 19,6%, sendo 10,1% de helmintos e 9,8% de protozoários. Os parasitos mais freqüentes foram *S.stercoralis*, *E. histolytica* e *G. lamblia*.
2. Não houve diferença significativa estatisticamente entre o resultado do TT em pacientes com e sem enteroparasitos ;

Eosinofilia associada a presença de helmintos foi a única variável associada a comorbidades (TB/HIV e enteroparasitas).

3. Não houve associação entre infecção helmíntica e desfecho terapêutico favorável ou desfavorável da TB.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996; 383(6603):787-93.
- Antunes JLF, Waldman EA, Moraes M. A tuberculose através do século: ícones canônicos e signos do combate à enfermidade. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2000, 5(2):367-379.
- ANVISA/MS (homepage da internet) Brasil, Exames de HIV e AIDS, Ministério de Saúde do Brasil (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://www.aids.gov.br>
- Barnes PF, Abrams JS, Lu S, Sieling PA, Rea TH, Modlin RL. Patterns of cytokine production by mycobacterium-reactive human T-cell clones. *Infect Immun*. 1993; 61(1):197-203.
- Basso, RMC; Silva-Ribeiro, RT; Soligo, DS; Ribacki, SI; Callegari-Jacques, SM e Zoppas, BCA. Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2008, 41(3):263-268.
- Bentwich Z, Kalinkovich A, Weisman Z, Borkow G, Beyers N, Beyers AD. Can eradication of helminthic infections change the face of AIDS and tuberculosis? *Immunol Today*. 1999; 20(11):485-7.
- Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, Hotez PJ. Soiltransmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. 2006; 367(9521):1521-32.
- Bruschi, F. 1997. Modulation of inflammatory cells in helminth infections. *Ann. Ist. Super Sanita* 1997.. 33(4): 541-9.
- BERTOLLI FILHO, C. História social da tuberculose e do tuberculoso: 1900-1950. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2001.
- Co TR, Hirsch CS., Toossi Z., Dietze R and Ribeiro-Rodrigues R. Intestinal helminth co-infection has a negative impact on both anti-Mycobacterium tuberculosis immunity and

clinical response to tuberculosis therapy. *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology*.2006; 147: 45–52

DATASUS (homepage da internet) Brasil, Departamento de Informática do SUS, Ministério de Saúde do Brasil (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br>

Donoghue HD, Spigelman M, Greenblatt CL, Lev-Maor G, Bar-Gal GK, Matheson C, Vernon K, Nerlich AG, Zink AR. Tuberculosis: from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4(9):584-92.

Ducati R G, Ruffino-Netto A, Basso L.A, Santos DS. The resumption of consumption . A review on tuberculosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2006; Vol. 101(7): 697-714.

Ducati, R.G.; BASSO, I.A.; SANTOS, D.S. Micobactérias. In: Trabulsi IR, Alterthum F. *Microbiologia*. 4a ed. São Paulo: Atheneu; 2005.

Elias D, Wolday D, Akuffo H, Petros B, Bronner U, Britton S, Hansen A. Effect of deworming on human T cell responses to mycobacterial antigens in helminth-exposed individuals before and after bacilli Calmette-Guerin (BCG) vaccination. *Clin Exp Immunol* 2001; 123:219±225.

Elias D., Mengistu G., Akuffo H., Britton S. Are intestinal helminthes risk factors for developing active tuberculosis? *TropMed Int Health*. 2006; 11:551–8.

Fenton MJ, Vermeulen MW, Kim S, Burdick M, Strieter RM, Kornfeld H. Induction of gamma interferon production in human alveolar macrophages by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 1997; 65(12):5149-56.

Fernandes, Tania Memória da tuberculose: acervo de depoimentos. Rio de Janeiro, Fundação Oswaldo Cruz/Casa Oswaldo Cruz., 1993.

Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, Triebold KJ, Pfeffer K, Lowenstein CJ, Schreiber R, Mak TW, Bloom BR. Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Immunity*. 1995; 2(6):561-72.

Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:93-129.

Fundação Nacional de Saúde. 2003. Guia de Doenças Infecciosas e Parasitárias. Site oficial da **FUNASA**.

Garg SK, Tiwari RP, Tiwari D, Singh R, Malhotra D, Ramnani VK, Prasad GBKS, Chandra R, Fraziano M, Colizzi V, Bisen PS. Diagnosis of tuberculosis: available Technologies, limitations and possibilities. *Journal of Clinical and Laboratory Analysis*. 2003; 17: 155-163.

Global Alliance for Tuberculosis Drug Development (homepage on the internet) USA, (acessado em julho de 2008). Disponível em: <http://www.tballiance.org>

Gonçalves, H. A tuberculose ao longo dos tempos. *História, Ciências, Saúde — Manguinhos*, jul.-out. 2000. vol. VII(2): 303-25.

Grange JM, Gibson J, Osborn TW, Collins CH, Yates MD. What is BCG? *Tubercle. Jornal de Pediatria* - Vol. 82, N°3. 1983; 64:129-39.

Henderson RA, Watkins SC, Flynn JL. Activation of human dendritic cells following infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*. 1997; 159(2):635-43.

Hijjar, M A; Procopio, M J; Oliveira R e Teixeira, G M. A tuberculose no Brasil e no mundo. *Boletim de Pneumologia Sanitária* - Vol. 9, N° 2 - jul/dez – 2001.

Kassu, A; Mohammad, A; Fujimaki, Y; Moges, F; Elias, D; Mekonnen, F; Mengistu, Yamato, GM; Wondmikun, Y; Ota, F. Serum IgE levels of tuberculosis patients in a tropical setup with high prevalence of HIV and intestinal parasitoses. *Clin Exp Immunol* 2004;138 :122–127.

- Ladel CH, Szalay G, Riedel D, Kaufmann SH. Interleukin-12 secretion by *Mycobacterium tuberculosis*-infected macrophages. *Infect Immun*. 1997; 65(5):1936-8.
- Lalvani A, Brookes R, Wilkinson RJ, Malin AS, Pathan AA, Andersen P, Dockrell H, Pasvol G, Hill AV. Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(1):270-5.
- Lyadova I, Yermeev V, Majorov K, Nikonenko B, Khaidukov S, Kondratieva T, Kobets N, Apt A. An ex vivo study of T lymphocytes recovered from the lungs of I/St mice infected with and susceptible to *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 1998; 66(10):4981-8.
- Ministério da Saúde. Revisão da definição nacional de casos de AIDS em indivíduos com 13 anos ou mais, para fins de vigilância epidemiológica. Brasília (DF); 1998.
- Ministério da Saúde. Plano Nacional de Controle da Tuberculose. Brasília: FUNASA; 1999. p. 184.
- Orme IM, Miller ES, Roberts AD, Furney SK, Griffin JP, Dobos KM, Chi D, Rivoire B, Brennan PJ. T lymphocytes mediating protection and cellular cytolysis during the course of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Evidence for different kinetics and recognition of a wide spectrum of protein antigens. *J Immunol*. 1992; 148(1):189-96.
- Orme IM, Roberts AD, Griffin JP, Abrams JS. Cytokine secretion by CD4 T lymphocytes acquired in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol*. 1993; 151(1):518-25.
- Raviglione MC; Snider J; Kochi A. Epidemiologia global da tuberculose: morbidade e mortalidade de uma epidemia mundial. *Journal of the American Medical Association*. 1995, v.5, n.6, p.2445-2456.
- Rey, L. – Parasitologia. 3a edição. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 2001

- Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol.* 2002; 168(9):4620-7.
- Savioli, L., Bundy, D., Tomkis, S. A.. Intestinal parasitic infections: a soluble public health problem. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1992. 86: 353-354.
- Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157:679-91.
- Schneider, M., Hilgers, R.H., Sennekamp, J. 2002. Allergy, total IgE and eosinophilis in East and West – serious effects of different degrees of helminthiasis and smoking. *Eur. J. Med. Res.* 7(2): 63-71.
- Serbina NV, Flynn JL. Early emergence of CD8(+) T cells primed for production of type 1 cytokines in the lungs of *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice. *Infect Immun.* 1999; 67(8):3980-8.
- Silva JR., Jarbas Barbosa da. Tuberculose: Guia de Vigilância Epidemiológica. *J. bras. pneumol.* [online]. 2004, v. 30, suppl. 1 ISSN 1806-3713.
- Trabulsi, L.R. ; Alterthum, F. *Microbiologia.* 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- Tristão-Sá, R., Ribeiro-Rodrigues, R., Johnson, L.T., Pereira, F.E.L., Dietze, R.. Intestinal nematodes and pulmonary tuberculosis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2002. 35 (5): 533-535.
- Yamamoto, R., Nagai, N., Kawabata, M., Leon, W.U., Ninomiya, R., Koizumi, N.. Effect of intestinal helminthiasis on nutritional status of schoolchildren. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 2000. 31(4): 755-61.
- Wady, MTB, Linhares-Carvalho MI, Salles-Costa R, Valle J e Castello-Branco LRR. Investigação dos aspectos nutricionais em homens abrigados em uma instituição filantrópica envolvida em surto de tuberculose. *Bol.Pneumol Sanit.* 2004; 12(1): 11 – 16.

WHO. Report of an informal consultation on hookworm infection and anemia in girls and women. Geneva, World Health Organization, 2002.

WHO Report global tuberculosis control: surveillance, planning, financing, Geneva, 2004. World Health Organization.

WHO. Report global tuberculosis control: surveillance, planning, financing, Geneva, 2007. World Health Organization.

WHO. Global Tuberculosis Control: surveillance, planning, financing. Geneva, 2008. World Health Organization.