

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

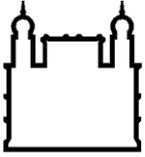
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical - FIOCRUZ

**ASPECTOS DA EPIDEMIOLOGIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS
IDENTIFICADAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO
ESTADO DO PIAUÍ, 2010-2016.**

Joana Carolina Viana Lima

Orientadora: Prof. Dra. Maria Helena Féres Saad

Teresina
Março 2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical - FIOCRUZ

JOANA CAROLINA VIANA LIMA

**ASPECTOS DA EPIDEMIOLOGIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS
IDENTIFICADAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO
ESTADO DO PIAUÍ, 2010-2016.**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, área de concentração: Diagnóstico, epidemiologia e controle de doenças infecciosas e parasitárias.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Helena Féres Saad

Teresina
Março 2017

LIMA, JOANA CAROLINA VIANA.

ASPECTOS DA EPIDEMIOLOGIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS IDENTIFICADAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO PIAUÍ, 2010-2016. / JOANA CAROLINA VIANA LIMA. - Rio de Janeiro, 2017.

86 f.; il.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2017.

Orientadora: MARIA HELENA FÉRES SAAD.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. DOENÇA PULMONAR. 2. ESPÉCIES DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS. 3. EPIDEMIOLOGIA. I. Título.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical - FIOCRUZ

JOANA CAROLINA VIANA LIMA

**ASPECTOS DA EPIDEMIOLOGIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS
IDENTIFICADAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO
ESTADO DO PIAUÍ, 2010-2016.**

ORIENTADORA: Prof. Dra. Maria Helena Féres Saad

Aprovada em: 24/03/2017

EXAMINADORES:

Prof. Dra. Clarissa Romero Teixeira (Presidente) Fiocruz Piauí

Prof. Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa (Membro) Fiocruz Piauí

Prof. Dr. Liline Maria Soares Martins (Membro) Universidade Estadual do Piauí

Prof. Dr. Elaine Ferreira do Nascimento (Suplente) Fiocruz Piauí

Prof. Dr. Régis Bernardo Brandim Gomes (Suplente) Fiocruz Piauí

Teresina, 24 de março de 2017.

Entrega o teu caminho ao SENHOR, confia nele, e o mais Ele fará.

Salmos 37:5

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, pelas oportunidades, por me permitir realizar e vencer obstáculos, mesmo quando me acho incapaz. Nessas circunstâncias ele me mostra as pessoas que como anjos me conduzem a tornar meus sonhos reais, o homem nada faz sem a permissão divina e o incentivo de familiares, colegas de trabalho e amigos...

Aos meus pais, João Cícero Lima e Conceição de Maria Oliveira Lima pelos esforços sem medida e suporte emocional para que eu concluísse cada etapa de formação, principalmente agora no Mestrado.

Ao coordenador de ensino Prof. Dr. Filipe Anibal Costa por ser entusiasta e dedicar-se em trazer o curso de Pós Graduação a nível de mestrado para nosso Estado, além de ser pessoa acessível e viabilizar as etapas para a realização do meu estudo, além das orientações sobre metodologia e estatística.

À minha Orientadora, Profa. Phd Maria Helena Féres Saad por aceitar orientar-me a distancia, essa não é tarefa fácil, mas seu apoio, e críticas enriqueceram a construção da tese, que aborda aspectos importantes para saúde pública.

Aos professores da IOC/FIOCRUZ, especialmente Clarissa por compartilhar seus conhecimentos e sugestões.

Aos Professores, Dra Maria do Amparo Salmito Cavalcanti, Dra Liline Maria Soares Martins, por compartilharem seus conhecimentos e sugestões.

À IOC/FIOCRUZ, CRPHF/FIOCRUZ, À Secretaria de Saúde do Estado do Piauí, FACIME e LACEN- PI, pelo apoio institucional.

Aos amigos e colegas de trabalho, atuantes na área da tuberculose pela contribuição profissional na elaboração deste estudo, especialmente, Walterlene de Carvalho, Gonçalves, Juana Vitória, Ivone Venâncio de Melo, Mercedes Boaventura, Maria de Fátima Lima, Gildevane Vieira do Nascimento, Gabriela Araújo, Irander Sousa e Heronilda.

Aos funcionários do LACEN-PI, pelo apoio, especialmente ao amigo Julimar Nascimento, por contribuir com suas explicações sobre a utilização da ferramenta GAL na coleta de dados.

Aos meus irmãos, Lorena Joana e Lucas Pereira, pelo suporte e incentivo motivacional em todos os momentos.

Ao Talvany Luís, pelas explicações sobre estatística.

Aos colegas do mestrado, pelo espírito de solidariedade e companheirismo especialmente a minha amiga Jaqueline Mesquita que esteve comigo desde a seleção até a conclusão da tese e Jéssica Santos que foi meu suporte para que eu cumprisse o prazo de conclusão da defesa.

Aos meus familiares, avó, madrinha, tios e tias, primos e primas por acreditarem no meu potencial e torcerem pelo meu sucesso, na empreitada de me tornar mestre.

E finalmente a todos os amigos e colegas que acompanharam as minhas angústias e torceram acreditando ser possível com mensagens de carinho, fé e motivação.

*Recria tua vida, sempre, sempre.
Remove pedras e planta roseiras e faz doces. Recomeça.*

Cora Coralina

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ASPECTOS DA EPIDEMIOLOGIA DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS IDENTIFICADAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO PIAUÍ, 2010-2016.

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

JOANA CAROLINA VIANA LIMA

As infecções por MNT são identificadas em diferentes regiões do mundo, acomete seres humanos em diferentes tecidos, incluindo doenças pulmonares crônicas que são mais debilitantes em idosos. Na forma pulmonar, apresenta-se clinicamente indistinguível de tuberculose (TB), o que torna o diagnóstico laboratorial imprescindível para o bom prognóstico do paciente que deve receber terapia baseada na confirmação/identificação da espécie. Em 2015, foram introduzidas técnicas moleculares automatizadas para identificação de micobactérias no Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga do Piauí (LACEN-PI) e trabalho de sensibilização para melhorar a estratégia diagnóstica foi realizada na clínica médica dos municípios. Este estudo, portanto, tem por objetivo identificar o perfil clínico, epidemiológico e laboratorial de cepas de micobactérias não tuberculosas isoladas de pacientes, cujos espécimes clínicos foram referenciados para o LACEN-PI, responsável pelo diagnóstico de micobactérias no estado, analisando os dados compilados entre 2010 e 2016. Entre as 123 culturas isoladas em meio sólido de Ogawa-Kudoh e Lowenstein-Jensen, e que a macroscopia e microscopia sugeriam crescimento de MNT, os testes moleculares (PRA-*hsp65*) e fenotípicos confirmaram 39 isolados (32,77%) oriundos de espécimes pulmonares (94,9%; 37/39) e extrapulmonares (5,1%; 2/39) de pacientes a maioria, com idade média ≥ 50 anos, e um único portador de HIV/AIDS. Predominância de espécies do grupo *M. abscessus* (33 %,13/39) e Complexo MAC (26 %), 10/39; foi observado, seguido de *M. kansasii* (10 %), 4/39, *M. asiaticum* e *Mycobacterias sp.* (8 %, 3/39, cada) e *M. heidelbergense*, *M. simiae*, *M. sherisse* e *M. szulgai* (2,5 %, 1/39, cada). Isolados do grupo *M. abscessus* estavam associados a pacientes do sexo masculino. A maioria dos pacientes são aposentados ou com atividades do lar (41 %,16/39). É interessante notar que após a introdução das técnicas moleculares de identificação em 2015 o percentual de MNT identificadas aumentou em 2016 onde em apenas 6 meses 20% dos casos suspeitos de MNT foram confirmados. Análise do desfecho dos casos mostrou que 5 % abandonaram o tratamento e 74,4% (29/39) tem relação com tratamento anterior para tuberculose. Este estudo confirma o perfil epidemiológico de isolamento de MNT de espécimes pulmonares, em pacientes idosos e com comorbidade; entretanto maior frequência do grupo *M. abscessus* é incomum e merece maior investigação no Piauí, pois oferece menor taxa de cura, devido a sua intrínseca resistência as drogas. Isolamento de MNT no Piauí, onde a TB é mais prevalente, tem taxa anual baixa, entretanto isto pode estar associado aos poucos estudos no campo e carência de laboratórios melhores equipados para sua identificação. Nossos dados mostram que as MNT pode ser um importante problema de saúde pública e, portanto, as investigações epidemiológicas são necessárias para melhor monitorar sua distribuição e amparar decisões terapêuticas.

Palavras-chave: Doença Pulmonar. Espécies. Micobactérias não tuberculosas. Epidemiologia.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ASPECTS OF THE EPIDEMIOLOGY OF NON-TUBERCULOSIS MYCOTHERAPIES IDENTIFIED IN THE CENTRAL PUBLIC HEALTH LABORATORY OF THE STATE OF PIAUÍ, 2010-2016.

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION IN MEDICINA TROPICAL

JOANA CAROLINA VIANA LIMA

NTM infections are identified in different regions of the world, including chronic lung diseases that are more debilitating in the elderly. In the pulmonary form, it is clinically indistinguishable from tuberculosis (TB), which makes the laboratory diagnosis essential for the good patient prognosis who should receive therapy after confirmation / identification of the species. In 2015, automated molecular techniques were introduced to identify mycobacteria in the Central Laboratory of Public Health Dr. Costa Alvarenga do Piauí (LACEN-PI) and awareness work to improve the diagnostic strategy was performed in the medical clinic of the municipalities. This study therefore aims to identify the clinical, epidemiological and laboratory profile of non-tuberculous mycobacterial strains isolated from patients, whose clinical specimens were referenced for LACEN-PI, responsible for the diagnosis of mycobacteria in the state, analyzing the data compiled between 2010 And 2016. Among the 123 cultures isolated from Ogawa-Kudoh and Lowenstein-Jensen solid mediums, and macroscopy and microscopy suggested MNT growth, molecular (PRA-hsp65) and phenotypic tests confirmed 39 isolates (32.77%) from specimens (94.9%; 37/39) and extrapulmonary (5.1%; 2/39) patients, most with a mean age ≥ 50 years, and a single patient with HIV / AIDS. Prevalence of *M. abscessus* species (13/39; 33%) and MAC Complex (10/39; 26%) was observed, followed by *M. kansasii* (4/39, 10%), *M. asiaticum* and *Micobacterias* sp. (3/39, 8%, each) and *M. heidelbergense*, *M. simiae*, *M. sherissi* and *M. szulgai* (1/39, 2.5%, each). Isolates from the *M. abscessus* group were associated with male patients. Most patients are retired or have household activities (16/39; 41%). It is interesting to note that after the introduction of molecular identification techniques in 2015 the percentage of NTMs identified increased in 2016 where in only 6 months 20% of the suspected cases of NTM were confirmed. Analysis of the outcome of the cases showed that 5% abandoned treatment and 74.4% (29/39) was related to previous treatment for tuberculosis. This study confirms the epidemiological profile of NTM being isolated from pulmonary specimens in elderly patients with comorbidities; However higher frequency of the group *M. abscessus* is not usual and this and deserve further investigation in Piauí, since it offers lower rate of cure due to its intrinsic drug resistance. Isolation of NTM in Piauí, where TB is more prevalent, has a low annual rate, however this may be associated with the few studies in the field and the lack of better equipped laboratories for its identification. Our data show that MNT can be an important threat for public health and therefore epidemiological investigations are necessary to better monitor their distribution and to support therapeutic decisions.

Key words: Pulmonary disease. Species. Mycobacteria Non-tuberculous. Epidemiology.

ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE TABELAS.....	
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	
1 INTRODUÇÃO.....	19
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.1.1 Características das micobactérias.....	20
1.1.2 Micobactérias não tuberculosas.....	24
1.1.3 Epidemiologia.....	24
1.1.4 Manifestações clínicas.....	26
1.1.5 Patogênese e resposta imune.....	28
1.1.6 Diagnóstico laboratorial.....	30
1.1.6.1 Exames microbiológicos.....	30
1.1.6.2 Métodos fenotípicos.....	33
1.1.6.3 Método imunocromatográfico.....	33
1.1.6.4 MÉTODOS MOLECULARES.....	34
1.1.6.4.1 Técnicas baseadas em PCR.....	34
1.1.6.4.2 GeneXPert.....	36
1.1.6.4.3 Hibridização de ácidos nucleicos com sondas.....	37
1.1.6.4.4 Sequenciamento de DNA.....	37
1.1.7 Tratamento.....	38
2 JUSTIFICATIVA.....	41
3 OBJETIVOS.....	42
3.1 Objetivo Geral.....	42
3.2 Objetivos Específicos.....	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1 Aspectos éticos.....	43
4.2 Tipo de estudo.....	43
4.3 Desenho do estudo.....	43
4.4 Descrição da área de estudo.....	44
4.5 Local de estudo e procedimentos laboratoriais.....	44

4.6 Período do estudo.....	45
4.7 População.....	45
4.8 Fluxograma de diagnóstico laboratorial.....	45
4.8.1 Baciloscopia	46
4.8.2 Cultura.....	48
4.8.2.1 Culturas em meio sólido	48
4.8.2.2 Culturas em meio líquido.....	49
4.8.3 Procedimentos para identificação de crescimento micobacteriano em meio de cultura.....	50
4.8.3.1 Identificação morfológica.....	50
4.8.3.2 Identificação enzimática.....	50
4.8.3.3 Identificação imunocromatográfica.....	51
4.8.3.4 Identificação Molecular.....	52
4.8.3.4.1 Teste Molecular GeneXpert.....	52
4.8.3.4.2 Testes moleculares para identificação de micobactérias não tuberculosas.....	53
4.9 Análises Estatísticas	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
6 CONCLUSÃO.....	73
7 PERSPECTIVAS.....	74
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
9 ANEXOS.....	83
9.1 Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos.....	84
9.2 Ficha do GAL.....	85
9.3 Ficha do SINAN.....	86
9.4 Instrumento de coleta de dados.....	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura da parede celular de micobactérias.....	21
Figura 2: Características microscópicas dos bacilos álcool ácido resistentes em esfregaço corado pelo Método Ziehl Neelsen.....	30
Figura 3: Coloração pela técnica de Ziehl Neelsen em meio líquido de isolamento	33
Figura 4: Método Molecular PRA-hsp 65(análise de restrição enzimática do gene hsp65).....	35
Figura 5: Representação esquemática da sequência alvo da região central do gene rpoB e as sondas complementares do alvo de 81 pares de base e tecnologia de base molecular.....	36
Figura 6: Mapa dos estados da federação do Brasil, com a localização do estado do Piauí.....	44
Figura 7: Fluxograma de rotina laboratorial seguido pela LACEN-PI.....	46
Figura 8: Fixação do esfregaço, lavagem da fucsina em água corrente e sentido de leitura ao microscópio ótico.....	47
Figura 9: Crescimento micobacteriano em meio sólido.....	48
Figura 10: Equipamento automatizado para cultivo de micobactérias em meio de cultura líquida, método BACTEC MGIT 960.....	49
Figura 11: Teste da produção de niacina em papel.....	51
Figura 12: Detecção do Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pelo Kit SD BIOLINE TB.....	51
Figura 13: Preparação da amostra e inserção do cartucho em módulo do equipamento.....	52
Figura 14: Taxa de positivas culturas realizadas no LACEN-PI, período de janeiro de 2010 a julho de 2016.....	54
Figura 15: Taxa de culturas positivas com crescimento micobacteriano sugestivo e culturas com confirmação, através da identificação da espécie de MNT no LACEN-PI, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.....	55
Figura 16: Distribuição da idade dos pacientes com infecção por MNT em culturas positivas no LACEN-PI.....	59
Figura 17: Distribuição dos casos de infecção por MNT identificados no LACEN-PI de acordo com o gênero, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.....	60

Figura 18: Distribuição dos casos diagnosticados com infecções por micobactérias não tuberculosas no LACEN – PI, de acordo com as atividades profissionais dos pacientes, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.....	60
Figura 19: Frequências de espécies de micobactérias não tuberculosas identificadas por técnicas moleculares, período de janeiro de 2010 a julho de 2016, pelo CRPHF/RJ.....	71
Figura 20: Frequências de pacientes identificados com infecção por MNT, de acordo com o município de residência, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, LACEN-PI.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de micobactérias não tuberculosas pelo critério de Runyon.....	22
Tabela 2: Classificação das micobactérias não tuberculosas quanto à patogenicidade.....	22
Tabela 3: Regimes de tratamento recomendado para as mais frequentes micobactérias não tuberculosas associadas à doença pulmonar.....	39
Tabela 4: Critérios para Leitura e Interpretação dos Resultados da Baciloscopia de Escarro, corada pelo Método de Ziehl-Neelsen.....	47
Tabela 5: Critérios para leitura de culturas em meio sólidos.....	49
Tabela 6: Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com infecção por MNT identificados no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, LACEN-PI.....	62
Tabela 7: Características laboratoriais das espécies de MNT identificados no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, LACEN-PI.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Formas clínicas, distribuição geográfica e espécies de Micobactérias não tuberculosas.....	26
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

MOTT – Micobactérias outras que não *Mycobacterium tuberculosis*

MNT – Micobactérias não tuberculosas

pH – Potencial hidrogeniônico

MAC – Complexo *M. avium*, *M. intracellulare* e *M. chimaera*

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

MCR – Micobactérias de crescimento rápido

CD4 – “Cluster differentiation” 4

NK – Células Natural Killer

μl – microlitros

INF-γ – Interferon gama

IL 12 – Interleucina 12

INF-γ R1 – Receptor 1 de interferon gama

INF-γ R2 – Receptor 2 de interferon gama

IL12Rβ 1 – Receptor 1 da subunidade beta da interleucina 12

IL12P40 – Subunidade p40 da interleucina 12

STAT 1 – Transdutor de sinal e ativador da transcrição

NFKβ – Fator nuclear kappa beta

NEMO – Modulador essencial do fator nuclear kappa beta

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

HSTCs – Células estaminais hematopoiéticas

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

TCH –Tiofeno 2 – carboxílico

HPLC – Cromatografia líquida de alta performance

BAAR – Bacilo álcool ácido resistente

ZN – Ziehl Neelsen

OK – Ogawa- Kudoh

LJ – Lowenstein-Jensen

PNB – Ácido para nitrobenzóico

CO₂ – Dioxido de carbono

O₂ – Oxigênio

MGIT – Sistema de Detecção de Micobactérias

TDM – Ácido micólio trealose 6,6 – dimicolato

MPT64 – antígeno MPT64

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PRA-*hsp65* - Análise de restrição enzimática do gene *hsp65*

DNA – Ácido desoxirribonucléico

RNA – Ácido ribonucléico

rRNA – RNA ribossomal

CMTB – Complexo *M.tuberculosis*

AIDS- Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida

CAAE – Certificado de Apresentação Para Apreciação ética

LACEN-PI – Laboratório Central do Estado do Piauí

GAL – Gerenciador de Ambiente Laboratorial

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

PNCT – Programa Nacional de Controle da Tuberculose

SITE TB - Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose

1.INTRODUÇÃO

O gênero *Mycobacterium* foi proposto por Lehmann e Neumann em 1896, visando à inclusão de duas espécies patogênicas a humanidade, responsáveis por incontáveis mortes e morbidade ao longo da trajetória humana, os bacilos da tuberculose e da hanseníase, antes classificados como *Bacterium tuberculosis* e *Bacterium leprae* (Legendre et al, 2012). Pouco depois de Hansen ter descrito, em 1874, o bacilo da hanseníase, como primeira bactéria relacionada a uma doença humana, e após 8 anos Koch ter isolado o bacilo da tuberculose em mamíferos, foram identificadas outras micobactérias, constituindo o grupo de micobactérias atípicas. Inicialmente as micobacterias atípicas foram associadas a colonização transitória ou a contaminação da amostra clínica, mas a partir de 1950 foram atribuídos a elas causa em certas doenças. (Araujo et al, 2003; Rodriguez,2006).

A partir da década de 90 foi observado número crescente de espécies de micobactérias e, com exceção de *M. leprae* que não cresce *in vitro*, foram divididas em dois grupos: espécies pertencentes ao Complexo *M. tuberculosis* e as micobactérias outras não causadoras de tuberculose (MOTT) (BRASIL, 2008). As MOTT são também conhecidas por outras denominações tais como micobactérias ambientais, micobactérias oportunistas, atípicas e mais recentemente denominadas micobactérias não tuberculosas (MNT) (Castro, 2012).

As MNT são menos conhecidas e muitas vezes negligenciadas, são saprófitas ambientais ubíquas e vem sendo reconhecidas como patógenos humanos oportunistas (WINTROP et al, 2010). Algumas espécies são mais frequentemente isoladas associadas à infecção humana, mas todas as espécies podem oferecer risco de doença (Brown- Elliott et al, 2002; Cardoso et al, 2008).

O sucesso das MNT, tanto como saprófitas ubíquas como agentes patogênicos oportunistas, é parcialmente explicado por sua resistência natural a condições adversas tais como dessecação, pobreza de nutrientes, temperaturas e pH extremos e resistência aos quimioterápicos microbianos (Nobre et al, 2014). Estas características associadas à capacidade de formação de biofilme conferem meios para a colonização de ambientes artificiais, tais como redes de abastecimento de água, inclusive clorada, onde podem proliferar e ganhar vantagem sobre seus concorrentes sensíveis ao cloro. Portanto, a exposição as MNT pode ocorrer em qualquer ambiente, quer no lar, quer hospitalar. Como estes organismos ainda são negligenciados na clínica médica, estudos

epidemiológicos para um melhor conhecimento de sua distribuição são necessários, pois o tratamento das infecções causadas é difícil devido a intrínseca e variável resistência as drogas disponíveis (Silva, 2010).

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 CARACTERÍSTICAS DAS MICOBACTÉRIAS

As micobactérias pertencem ao gênero *Mycobacterium*, único da família *Micobacteriaceae*. Estão dentro do domínio *Archea*, filo *Actinobacteria*, Classe *Actinobacteria*, subclasse, *Actinobacteridae*, ordem *Actinomycetales*, sub-ordem *Corynebacterineae* (Marques, 2011). Atualmente são reconhecidas 163 espécies e 11 subespécies dentro do gênero *Mycobacterium*, das quais cerca de 60 podem causar doenças no homem (Wu, Lu & Lai, 2009; Barreto, 2013). A resistência à descoloração por álcool-ácido, síntese de ácidos micólicos e porcentagem de citosina e guanina (C+G) do DNA genômico compreendida entre 61mol% e 71mol%, são os critérios que definem essa taxonomia (Wildner et al, 2011; Jordan et al., 2007).

Possuem parede celular complexa composta por duas camadas que envolvem a membrana plasmática. A mais externa é formada por glicolipídeos, sulfolipídeos, fenolglicolipídeos, peptideoglicolipídeos e lipoarabinomanano. Já a camada mais interna é composta por ácidos micólicos, arabinoglicano e peptidoglicano. As moléculas de peptideoglicano e de arabinoglicano se ligam através de ligações fosfodiester, conforme demonstrado na Figura 1.1.1 (Barreto, 2013; Silva, 2013). Os ácidos micólicos estão unidos fortemente aos arabinoglicanos através de ligações covalentes, formando um complexo hidrofóbico e altamente impermeável (Sousa, 2009). Essa proteção confere a resistência aos antibióticos, pois a grande maioria é incapaz de penetrar na parede celular (Oliveira, 2015).

São microrganismos que apresentam forma bacilar, com dimensões que variam de 0,2µm a 0,6µm de largura e 1 µm a 10µm de comprimento, delgada, retos ou ligeiramente curvos, pleomórficos, aeróbios ou microaerófilos, imóveis e incapazes de

formar esporos, conídeos ou cápsulas. O tempo de crescimento é geralmente lento e apresenta grande variação dentro do gênero, o que permite dividi-las em micobactérias de crescimento rápido (crescimento visível em menos de sete dias) e em micobactérias de crescimento lento (crescimento visível em mais de sete dias), quando cultivadas *in vitro* (Rodriguez, 2006; Wildner, 2011).

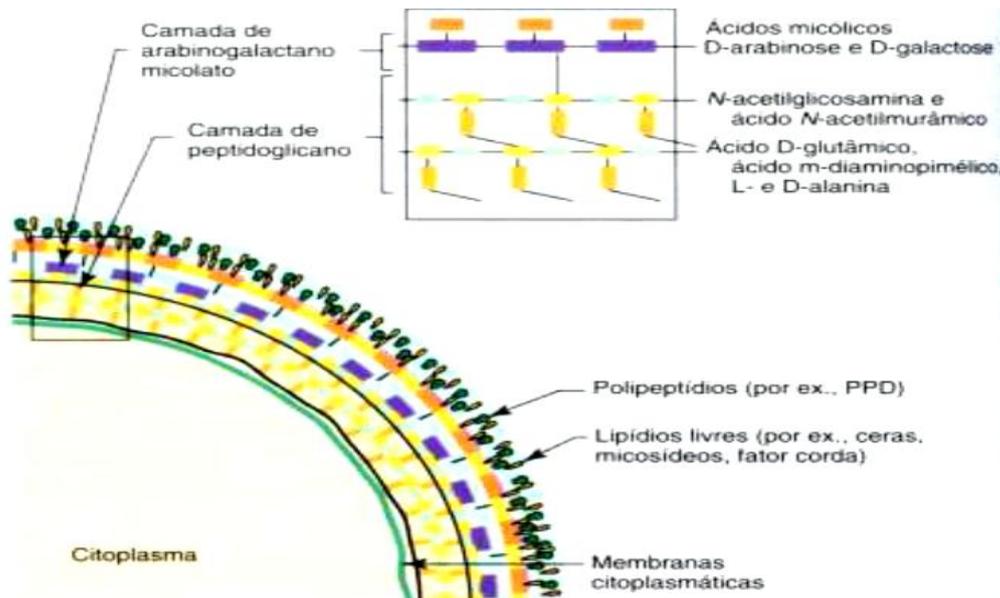


Figura 1: Estrutura da parede celular de micobactérias (Adaptado de Oliveira. 2015).

Ernest Runyon, em 1959, classificou taxonomicamente as MNT em quatro grupos, baseando-se no tempo de crescimento e pigmentação (Tabela 1) - Grupo I: Fotocromogênicas (com produção de pigmento na presença de luz); Grupo II: Escrotocromogênicas (com produção de pigmento independente da presença de luz); Grupo III: Não fotocromogênicas (sem formação de pigmento); Grupo IV: Produtoras ou não de pigmento de crescimento rápido (com crescimento em torno de 7 dias) (Silva et al, 2009) (Tabela 1). *M. kansasii*, *M. marinum* são fotocromógenas; *M.gordoniae*, *M.szulgai* são escrotocromogênicas; *M.avium* e *M.terrae* são acromogênicas e *M.fortuitum*, *M. chelonae* são de crescimento rápido, produtoras ou não de pigmento (Brasil, 2008).

Tabela 1 – Classificação de micobactérias não tuberculosas pelo critério de Runyon.

Grupos	Pigmentação	Tempo de Crescimento
Grupo I	Fotocromogenas	Lento
Grupo II	Escotocromogenas	Lento
Grupo III	Acromogenas	Lento
Grupo IV	Produtoras ou não de Pigmento	Rápido

Fonte: Adaptado de Hadad et al, 2005.

As similaridades taxonômicas fenotípicas, relação de antígenos citoplasmáticos e homologia de DNA são utilizadas para agrupar e definir complexos e grupos que facilitam a operacionalização do diagnóstico, conforme sua patogenicidade. A patogenicidade é variável, ditas patogênicas quando, obrigatoriamente causam doença no homem (ex. *M. tuberculosis*, *M. leprae*), potencialmente patogênicas, quando podem causar doença e raramente patogênicas, nunca ou raramente causam doença (Brasil, 2008) (Tabela 2).

Tabela 2 – Classificação das micobactérias não tuberculose quanto á patogenicidade.

MNT potencialmente patogênicas	MNT raramente patogênicas
<i>M.abscessus</i>	<i>M. agri</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. aurum</i>
<i>M. avium</i>	<i>M. branderi</i>
<i>M. avium subsp. paratuberculosis</i>	<i>M. chitae</i>
<i>M. celatum</i>	<i>M. duvalli</i>
<i>M. chelonae</i>	<i>M. gallax</i>
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. gevanese</i>	<i>M. gastri</i>
<i>M. haemophilum</i>	<i>M. gordonae</i>
<i>M. immunogenum</i>	<i>M. hassiacum</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. mageritense</i>

<i>M.kansasii</i>	<i>M.neoaurum</i>
<i>M.malmoense</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>
<i>M. marinum</i>	<i>M.phlei</i>
<i>M.munogenicum</i>	<i>M.porcinum</i>
<i>M.peregrinum</i>	<i>M.pulveris</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M.smegmatis</i>
<i>M.shimodei</i>	<i>M.terrae</i>
<i>M.simiae</i>	<i>M. trivial</i>
<i>M. szulgai</i>	<i>M.vaccae</i>
<i>M.ulcerans</i>	
<i>M.xenopi</i>	

Fonte: Adaptado de Castro, 2012.

1.1.2 MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS

O gênero *Mycobacterium* tem sofrido atualizações constantes e atualmente sua importância vem aumentando progressivamente com o isolamento de diferentes espécies em laboratórios de diagnóstico, devido sua ampla distribuição na natureza e por serem isoladas de diversos sítios do corpo humano como saprófitas ou causando infecções oportunistas (Wildner, 2012).

Estão amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas no solo, na água, nos vegetais, nos laticínios e em muitas espécies animais. No homem, já foram isoladas da pele, ouvido externo, narina, orofaringe, gengivas, vagina, genitália externa tanto masculina como feminina, saliva, fezes, urina, escarro (Lopes et al, 2003).

Geralmente a infecção ocorre por inalação, inoculação ou ingestão de material contaminado por micobactérias, podendo causar doenças pulmonares e infecções extrapulmonares, mas não existem evidências da transmissão de pessoa a pessoa, através de aerossóis (Lima, 2014; Cerca, 2010).

São capazes de multiplicar-se mesmo em condições de escassez nutricional, temperaturas extremas e pH baixo. Algumas espécies mostram-se resistentes ao glutaraldeído e aos processos de cloração utilizados para o tratamento de água de piscinas ou para o consumo humano. Mais de 20 espécies de micobactérias não tuberculosas já foram isoladas, a partir de sistemas de água potável. Ainda, possuem a

capacidade de formar biofilme como um mecanismo de sobrevivência, características que favorecem o desenvolvimento de infecção. (Wildner et al, 2011; Silva, 2013).

Através de análise de DNA “*fingerprints*” (impressões digitais), verificou-se que estirpes de várias espécies recuperadas a partir de amostras ambientais (água, solo e aerossóis) eram idênticas às isoladas de vários doentes. *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium xenopi* até o momento não foram isolados a partir de um ambiente natural, mas foram frequentemente isolados a partir de fontes de água para consumo e água de esgoto. *Mycobacterium haemophilum* e *Mycobacterium genavense* são também exemplos de espécies ainda não isoladas a partir da natureza, embora a epidemiologia das doenças por elas provocadas sugira a sua presença no ambiente. Outras espécies, tais como *Mycobacterium gordonae*, são comuns tanto em ambientes naturais como produzidos pelo homem (sintéticos) (Cerca, 2010). É importante diferenciar o nicho ecológico das micobactérias entre ambientes naturais (água, solos, ar, animais) dos ambientes influenciados pelo homem (águas de abastecimento, esgotos, piscinas, aquários, equipamentos cirúrgico, soluções desinfetantes) (Silva, 2013; Lima, 2014).

A denominação das MNT está relacionada à sua origem, a saber: bovina, aviária, reptiliana, saprofítica, ambiental, e outras que a princípio não foram consideradas patogênicas para o homem. Contudo, relatos de casos de doenças no homem por novos bacilos micobacterianos entre 1885 e 1948 estabeleceram o potencial patogênico desses microrganismos, as infecções podem ser assintomáticas, clinicamente significantes e, em alguns casos, fatais (Dalcomo, 2014; Da Costa et al , 2010).

1.1.3 EPIDEMIOLOGIA

Podem ser consideradas doenças emergentes, e em países desenvolvidos como Estados Unidos e Canadá observa-se, em geral um padrão epidemiológico, de crescimento com tendência inversamente proporcional à tuberculose (Dalcomo, 2014). Em países com alto índice de tuberculose, como o Brasil, a incidência de infecções por MNT é menos estudada e pouco conhecida (Castro, 2012).

No Brasil, o primeiro estudo sobre micobacteriose foi realizado em 1938, quando Costa Cruz isolou e descreveu *M. fortuitum* em fragmento de pele. Na década de 40 os sanatórios equipados para diagnosticar e tratar tuberculose também propiciaram o isolamento e identificação de MNT. Na década de 70 foram publicados estudos sobre o

isolamento de MNT em homens saudáveis, água e solo e ainda relato de caso de doença em pacientes por *M. kansasii*, *M. avium-intracellulare* e *M. fortuitum* (Dalcomo, 2000; Castro, 2012).

Até 1980 a maioria dos casos relatados sobre infecções causadas por MNT referiam-se a doenças pulmonares causadas por *M. kansasii* e MAC, doenças cutâneas por *M. marinum* e linfadenopatias cervicais por *M. scrofulaceum*. (Ueki et al, 2005). Após 1980, houve um aumento nas taxas de isolamento das MNT, associada a pandemia de AIDS. Mas, os dados sobre a frequência das espécies e a prevalência da doença não são conhecidos, pois as micobacterioses não são doenças de notificação compulsória (Bertoletti et al, 2011).

No Brasil foram registrados 590 casos de infecções por MNT no período de 1994 a 1999, com predominância da forma pulmonar em 73,4% dos casos (Lopes et al, 2003). No período entre 1996 e 1997, no Rio de Janeiro, foram descritos 15% de casos de MNT e, entre estes, 57,8% por MAC, dos quais 37% em hemocultura de pacientes HIV-positivos (Ueki et al, 2005).

Em 2009 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) determinou a notificação compulsória das infecções causadas por micobactérias de crescimento rápido (MCR). No período de 2000 a 2008, foram registrados, no Brasil, 2.139 casos de infecção por MCR, sendo 1.105 casos relatados no estado do Rio de Janeiro, 321 no Pará, 293 no Espírito Santo, 101 no Rio Grande do Sul, 70 em Goiás, 64 no Paraná, 47 no Mato Grosso, 37 em Minas Gerais, 23 em São Paulo, 23 no Distrito Federal, nove na Bahia, no Piauí e no Mato Grosso do Sul, respectivamente, cinco em Sergipe e em Santa Catarina, respectivamente, três em Alagoas, dois em Pernambuco, um no Acre, no Amazonas, no Ceará, no Maranhão, em Rondônia e no Tocantins, respectivamente (Wildner et al, 2011). De acordo, com Silva (2010), apesar da obrigatoriedade em notificar e informar os surtos, nesse período apenas 90 dos 700 hospitais realizaram as notificações. O número de procedimentos cirúrgicos é crescente no Brasil e, portanto, é alta a probabilidade das taxas de infecções relacionadas a surtos por MNT no Brasil está subestimado.

Os casos relacionados à forma pulmonar são relatados de forma pontual. No Pará no período de 1999 a 2010, *M. massiliense*, *M. simiae complex*, *M. intracellulare* e *M. avium*, foram às espécies mais isoladas em pacientes, a maioria havia feito tratamento anterior para tuberculose. Na Bahia, entre 1998 e 2003, 8,2% dos 203 pacientes que faziam tratamento para tuberculose multirresistente tiveram espécies de MNT isoladas

em material biológico. Nas diferentes regiões brasileiras a diversidade de espécies de MNT associadas a casos de doença pulmonar e extrapulmonar ocorreram, possivelmente devido as condições ambientais que podem favorecer seu predomínio. Diferentes estudos epidemiológicos demonstraram um aumento na frequência de isolamentos de MNT em amostras clínicas pulmonares e extrapulmonares e de casos confirmados da doença, com maior participação das regiões Sudeste e Sul do país (Lima, 2014).

1.1.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As MNT acometem praticamente qualquer tecido, órgão ou sistema do corpo humano, sendo mais frequentemente isolados de pele e tecido subcutâneo. Os primeiros quadros clínicos foram descritos na década de 50 e por muitos anos foram considerados ocasionais, relacionados a imunodeficiência, entretanto, as infecções associadas a procedimentos cosméticos e médicos invasivos/hospitalares têm contribuído para a emergência de casos nos últimos anos, com distribuição das infecções em todos os continentes (Lima, 2014) (Quadro 1).

Quadro 1 – Formas clínicas, distribuição geográfica e espécies de Micobactérias não tuberculosas.

Doença	Distribuição geográfica	Espécies comuns	Espécies incomuns
Pulmonar	Mundial	<i>M. abscessus</i> e MAC	<i>M. asiaticum</i>
	EUA, Europa, África do Sul	<i>M. kansasii</i>	<i>M. haemophilum</i>
Linfadenite	Mundial	MAC, <i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. kansasii</i> , <i>M. szulgai</i>
	Reino Unido e Escandinávia	<i>M. malmoense</i>	<i>M. abscessus</i>
Disseminada	Mundial	MAC	<i>M. abscessus</i>
	EUA e África do Sul	<i>M. kansasii</i>	<i>M. immunogenum</i>
Cutânea	Mundial	<i>M. marinum</i> , <i>M. abscessus</i>	MAC
	África, Ásia e Austrália	<i>M. ulcerans</i>	<i>M. szulgai</i>

Fonte: Adaptado por Lima, 2014

Existem vários relatos da ocorrência de surtos de infecções por MNT após cirurgias de revascularização miocárdica, diálise peritoneal, hemodiálise, mamoplastia (plástica de mama), artroplastias (cirurgia de substituição de uma articulação comprometida), lipoaspiração, mesoterapia (tratamento baseado em aplicação de substâncias sob a pele), injeções subcutâneas de produtos sem registro para tratamentos alternativos, administração parenteral de vitaminas, lidocaína, procedimentos de acupuntura e até colocação de *piercing* devido à falha na antisepsia da pele antes do procedimento (Salício et al, 2009).

As MNT podem acometer os pulmões, geralmente em pacientes com algum comprometimento pulmonar de base crônico como pneumoconiose, doença pulmonar obstrutiva crônica, tuberculose pré-existente, bronquite crônica, bronquiectasia e doença esofágica associada à aspiração crônica de material alimentar pelas vias aéreas. O diagnóstico clínico torna-se complexo devido à similaridade da sintomatologia com as doenças pulmonares pré-existentes. Os sinais e sintomas das doenças causadas pelas MNT são variáveis, inespecíficos e na maioria das vezes, se assemelham à evolução crônica da tuberculose: tosse crônica com expectoração e menos frequentemente fadiga, febre, hemoptise e perda de peso (Hadad et al, 2005).

As infecções mais comuns e graves ocorrem na forma disseminada em pacientes com a infecção pelo HIV, na forma avançada, em sua maioria por micobactérias do complexo MAC e geralmente não existe comprometimento pulmonar. Nesses pacientes o prognóstico da micobacteriose é grave devido à condição de imunossupressão instalada pelo vírus (Katoch, 2004).

As infecções cutâneas estão mais associadas as espécies *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* e *M. abscessus*. As lesões geralmente ocorrem após traumatismos, fraturas ou injeções. A doença cutânea por *M. marinum*, também, conhecida como granuloma de piscina, apresenta nódulos eritematosos, isolados ou múltiplos, edemaciados, que surgem em volta do local onde ocorreu o ferimento. Tais lesões podem evoluir para necrose e ulceração da pele ou permanecer estáveis por longo período. As lesões são únicas, mas em alguns casos pode haver múltiplas lesões semelhantes à esporotricose. *M. ulcerans* causa lesão ulcerada, também conhecida como úlcera de Buruli, apresentando evolução lenta e progressiva com destruição significativa da pele e tecidos adjacentes. A doença causada por *M. ulcerans* é endêmica em 32 países da África, oeste do Pacífico, Ásia e América do Sul (Hadad et al, 2005).

Para as micobacterioses uma variedade de quadros clínicos e radiológicos são descritas e a forma pulmonar é mais comum em homens, entre 30 e 50 anos, particularmente ocorrem na presença de fatores predisponentes: tuberculose residual, broncoquiectasia, silicose, doença pulmonar obstrutiva crônica, deficiência imunológica, entre outros. Podem se localizar nos pulmões, brônquios, pleura, gânglios linfáticos, articulações, pele, peritônio, entre outros. Em crianças a linfadenite é a forma mais comum, assim como as formas disseminadas e septicêmicas (Furini et al 2010).

1.1.5 PATOGÊNESE E RESPOSTA IMUNE

Ao serem inaladas pelo trato respiratório a partir da água, poeira ou outros aerossóis as MNT, em geral, são retidas pelos cílios nasais ou expelidas pela tosse e não causam doença. Caso atinjam o espaço alveolar, os bacilos infecciosos são fagocitados por macrófagos alveolares. Além da inalação de aerossóis, a transmissão MNT pode ocorrer via inoculação pós-traumática. A infecção por quebra da barreira corneana, cutânea ou mucosa, decorrente de procedimentos médicos para fins terapêuticos (cirurgias laparoscópicas e endoscopia) ou para fins estéticos (cirurgias plásticas e implantes). Este tipo de infecção acomete a pele e outros tecidos moles de indivíduos imunocompetentes e está normalmente associada às micobactérias de crescimento rápido (MCR) tais como *M. fortuitum*, *M. chelonae* e *M. abscessus*, que são habitualmente encontradas no solo e na água. (Lima, 2014; Campos, 2000).

Em hospedeiros imunocompetentes, os linfócitos CD4 e células natural *killer* (NK) podem interagir com as células mononucleares infectadas e matar os microorganismos. Nos casos de doenças disseminadas por MNT, os pacientes com HIV e níveis de linfócitos TCD4 inferiores a 50 células/mm³ são os mais susceptíveis, reafirmando o papel crítico destas células na defesa contra as micobactérias. Em indivíduos soronegativos para o vírus HIV as infecções por MNT disseminadas estão associadas a síndromes genéticas como: mutações específicas nos genes que codificam o interferon- γ (IFN- γ) e interleucina (IL-12), no receptor 1 do IFN- γ (IFN- γ R1), receptor 2 do IFN- γ (IFN- γ R2), receptor da subunidade β 1 da IL-12 (IL12R β 1), na subunidade p40 da IL-12 (IL12p40), no transdutor de sinal e ativador da transcrição (STAT1), e no fator nuclear- $\kappa\beta$ modulador essencial (NEMO). A resistência contra micobactérias necessita de eficaz resposta imune mediada por células Th1, pelo IFN- γ e induzida por IL-12 e

fator de necrose tumoral (TNF)- α (Oliveira, 2015; Ottenhoff, 2004; Ferraz et al 2011; Carvalho et al, 2003).

As infecções por MNT em mulheres idosas com bronquiectasias/nódulos pulmonares sem doença pulmonar, ou imunossupressora preexistente, estimulou estudos para identificar fatores relacionados ao processo de adoecimento e cura, certamente ligados ao sistema imune (Campos, 2000). Estudos evidenciaram que o processo de adoecimento e gravidade das infecções micobacterianas está relacionado a mutações deletérias em qualquer dos cinco genes envolvidos na cascata de citocinas, IL12B (codificando IL-12p40), IL12RB1 (codificando IL-12RB1), IFNGR1, IFN γ R2 (codificando IFN γ R1 e IFN γ R2, respectivamente) ou STAT1 (codificando o sinal transdutor associado à INF- γ e ativador de transcrição), resultando em incapacidade das células dos pacientes em produzir ou responder ao INF- γ (Ottenhoff, 2004).

Além das mutações na via da resposta da imune, outras condições podem predispor as infecções por MNT como a produção de autoanticorpos anti-IFN γ e anti- IL-12. A doença disseminada favorecida por autoanticorpos anti-IFN- γ pode ser refratária ao tratamento com antimicrobianos, mas tratamento com rituximab ou anti-CD20 (anticorpo anti-fosfoproteína glicosilada ativada expressa na superfície de células B) pode ser bem-sucedido; tratamento com anti-TNF foi associada com infecção por MNT tais como *M. haemophilum* ou *M. avium* (Novosad &, Winthrop, 2014).

Observa-se risco aumentado para adoecimento por MNT em pacientes com doenças crônicas fazendo uso de corticosteroides orais, ou inalados, prescritos para suprimir a inflamação em portadores de doença pulmonar (DPOC), asma e artrite reumatoide. Pacientes em tratamento de câncer também tem risco aumentado, devido imunossupressão de quimioterapia antineoplásica, assim como também pacientes transplantados, principalmente para células estaminais (células com capacidade de se diferenciar em diversas linhagens celulares) hematopoiéticas (HSCTs), indicados para tratar malignidades hematológicas, leucemia e mieloma múltiplo, pois apresentam anormalidades nas células imunológicas e na fase de reconstituição imune há indução de imunossupressão por HSCTs (Henkle & Winthrop, 2015).

1.1.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Um grande número de MNT potencialmente patogênico pode ser isolado no laboratório clínico. A identificação correta das espécies desses organismos é uma das tarefas mais complexas realizadas em um laboratório de micobacteriologia. A suspeita clínica de doença micobacteriana é a principal indicação para o isolamento e identificação de MNT como agente etiológico, que deve ser realizada por métodos microbiológicos, fenotípicos, imunocromatográficos e moleculares (Ngan, Jureen, Teo; 2011).

1.1.6.1 EXAMES MICROBIOLÓGICOS

Os principais métodos para detecção e controle de micobacterioses, são a bacterioscopia e cultura. Colônias isoladas em cultura in vitro favorece posterior identificação de espécies/complexos e a determinação de sensibilidade aos fármacos (Mota, 2011).

A bacterioscopia é realizada através da pesquisa de bacilos álcool ácido resistentes (BAAR). O material é preparado em lâmina, corado pelo método Ziehl-Neelsen (ZN) e visualizado em microscópio. Os bacilos se coram em vermelho contra fundo azul (Mota, 2011; Spada, 2009) (Figura 2).

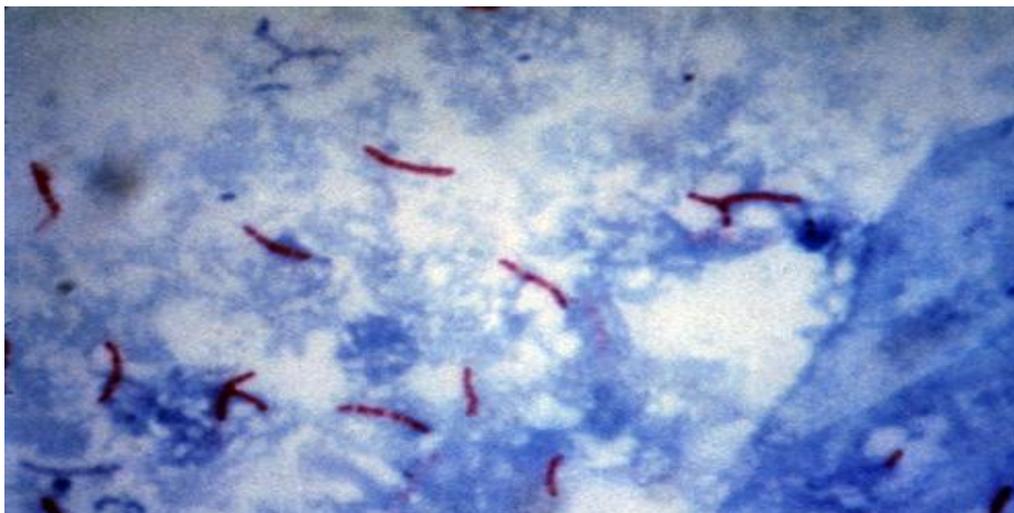


Figura 2: Bacilos álcool ácido resistentes em esfregaço corado pelo Método Ziehl Neelsen e visualizada por microscopia ótica. **Fonte:** CDC, 2014.

É um procedimento simples e de baixa complexidade, rápido e fácil execução. Entretanto, possui baixa sensibilidade (30% a 80%), principalmente em espécimes paucibaculares, bem como baixa especificidade, pois não distingue as espécies micobacterianas (Silva, 2013).

A cultura é o padrão ouro, e é indicada para os suspeitos de infecção pulmonar com baciloscopia negativa e para o diagnóstico de formas extrapulmonares como meningoencefálica, renal, pleural, óssea ou ganglionar. Está indicada nos casos de suspeita de resistência bacteriana às drogas, seguida do teste de sensibilidade, e dos casos de abandono de tratamento, recidiva, falência de tratamento e suspeita de casos multidroga resistente (Feyzioglu et al, 2014; Silva, 2013; Costa, 2006). Os meios sólidos de cultura mais usados são Lowenstein Jensen (LJ) e Ogawa-Kudoh (OK), produzidos á base de ovos, e são métodos padronizados e recomendados pelo Ministério da Saúde para uso em laboratórios de referência. O meio de OK é preconizado para uso em laboratórios regionais e locais, sua técnica é indicada para processos de descentralização em áreas de difícil acesso, além de econômico oferece risco equivalente ao da técnica de baciloscopias (Oliveira, Lima, Moura; 2011). O meio LJ é utilizado no isolamento micobacteriano em amostras pulmonares e extra-pulmonares e o meio de OK somente para amostras pulmonares (escarro). Os espécimes clínicos são semeados em ambos os meios, sem ou com ácido para-nitrobenzóico (PNB), onde o crescimento de *M. tuberculosis* é inibido e as MNT são resistentes. A leitura/acompanhamento das amostras para visualização de colônias sugestivas de micobactérias, e/ou contaminação e/ou ausência de crescimento (cultura negativa), ocorre ao fim em 8 semanas sucessivas (Brasil, 2008; Palaci et al, 2013).

Os meios de cultura líquidos (meio Middlebrook) são meios mais enriquecidos, o que lhes confere uma maior sensibilidade. O aparecimento de sistemas automatizados e semi-automatizados de leitura do crescimento das micobactérias constituíram um importante avanço na micobacteriologia, pois permitem detecção mais rápida e precoce do crescimento utilizando diferentes métodos: i) radiométrico (libertação de CO₂ marcado por Carbono 14, no Bactec 460TB®), ii) fluorimétrico (liberação de um composto fluorescente devido ao consumo de O₂, no MGIT® e no Bactec MGIT 960®), iii) colorimétrico (baseado na aquisição de cor por parte do meio de cultura, através de uma reação de redução secundária ao consumo de O₂, no MBRedox®). Através desses sistemas obtêm-se uma cultura positiva entre 5 a 15 dias, sendo os mais indicados para a detecção de casos novos, entretanto, tem a desvantagem de serem

mais propícios a contaminação por outras bactérias (Bento et al, 2010; Feyzioglu et al, 2014).

Devido à presença ubíqua das MNT no ambiente/natureza é necessário cuidado quando a cultura é positiva e interpretar adequadamente: contaminação, colonização ou doença. Assim, uma única cultura positiva de expectoração, especialmente com pequeno número de organismos, não é suficiente para diagnosticar a doença por MNT. Foi sugerido que o trato respiratório pode ser colonizado na ausência de micobacteriose, particularmente em pacientes com doença respiratória crônica, referindo-se, então como "colonização". O complexo *M. avium* (MAC) constitui o microrganismo predominante nestes casos (Brasil, 2009). Estudos mais recentes com tomografias computadorizadas de alta resolução mostraram que esses pacientes geralmente têm uma combinação de bronquiectasias multifocais e doença parenquimatosa nodular, sendo que esta ou ambas são agora percebidas como devidas a doença micobacteriana. A colonização no sentido verdadeiro (isto é, não invasão de tecidos) é provavelmente rara. A partir dessas observações, o diagnóstico de doença pulmonar causada por MNT geralmente não é difícil se uma combinação de critérios clínicos, radiográficos e bacteriológicos forem utilizados. A avaliação mínima deve incluir três ou mais espécimes de expectoração para BAAR e outros testes devem ser realizados para excluir, patologias como tuberculose e neoplasia pulmonar (Antunes et al, 2012; Rui&Sarmiento,1999; Wassilew et al, 2016).

A partir do crescimento bacteriano pode-se executar a visualização da formação de corda. O fator corda é um efeito causado por um componente da parede celular das micobacterias o ácido micólico trealose 6,6-dimicolato (TDM), que está envolvido em importantes mecanismos imunomoduladores responsáveis pela virulência das micobactérias (Hunter et al, 2006; Richmond & Cummings, 1950). A presença da TDM pode ser um fator determinante no sucesso da infecção por *M. tuberculosis* e na sua sobrevivência nos macrófagos por meio da inibição de eventos de fusão de fagossomos e lisossomos durante a infecção (Indrigo et al, 2003). Embora mais comum em *M. tuberculosis*, ocasionalmente pode estar presente em MNT tais como *M. kansasii*, *M. terrae*, *M. phlei*, *M.chelonae* e *M. fortuitum* (Coelho et al, 2007). É caracterizado por bacilos distribuídos em forma de paliçada com aspecto de corda, ou como grumos compactados na forma de borrão avermelhado evidenciados pela coloração de Ziehl-Neelsen (Figura 3). São melhores observados em cultura líquida, mas a cultura em meio sólido permite avaliar a microscopia quanto: pureza da cultura, presença de BAAR além da formação de fator corda (Brasil, 2008; Silva, 2012).

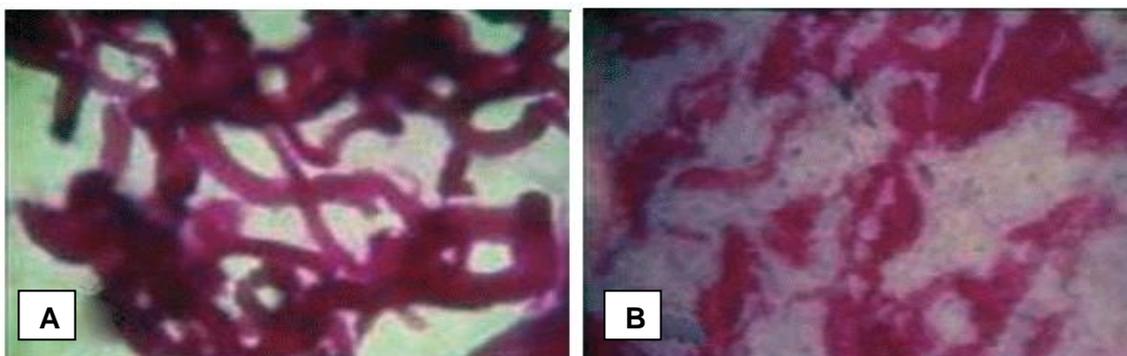


Figura 3. Coloração pela técnica de Ziehl Neelsen em meio líquido de isolamento: a) *M. tuberculosis* evidenciando o fator corda. b) *M. kansasii* com ausência do fator corda (Adaptado de Coelho et al, 2007).

1.1.6.2 MÉTODOS FENOTÍPICOS

Métodos fenotípicos para diferenciação das espécies de MNT mais utilizados são: testes de produção de pigmento, crescimento a 45°C e a 25°C, determinação do tempo de crescimento em LJ, meio Sauton com ácido pícrico e em ágar comum, inibição de crescimento em meio com NaCl 5%, arilsulfatase, hidrólise do tween 20, β -galactosidase, redução do telurito de potássio, inibição do crescimento em meio contendo PNB, redução do nitrato, urease e pirazinamidase (Silva, 2012; Cerca, 2010). Para MCR os testes de captação do ferro, inibição de crescimento em meio contendo citrato de sódio, manitol e inositol são utilizados (Wildner, 2012).

1.1.6.3 MÉTODOS IMUNOCROMATOGRÁFICO

A MPT64 é uma proteína secretora de 24 kDa, codificada pelos genes da região RD2 e é um dos principais antígenos do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, é descrito como específico por diferenciar o CMTB de MNT (Abe et al, 2011; Maurya et al, 2011). A Diagnostics, Inc. (SD) (Yongin, Coréia) desenvolveu o SD BIOLINE TB AgMPT64 teste RAPID®, que utiliza anticorpos monoclonais de rato anti-MPT64 capaz de distinguir por imunocromatografia o CMTB das MNT. É operacionalmente simples sensível, específico e pode ser realizado a partir de crescimento em meios de culturas sólidos e líquidos. Entretanto, tem por desvantagem gerar resultados falso-negativos em virtude da baixa quantidade de bactérias nas culturas ou por mutações no gene MPT64 (Bensi et al, 2013; Silva, 2012).

1.1.6.4 MÉTODOS MOLECULARES

A identificação de micobactérias através de métodos convencionais fenotípicos oferece desvantagens, pois a demora em obter resultados e a dificuldade em diferenciar as espécies provoca impacto importante na escolha do tratamento adequado para o paciente (Wildner et al, 2011; Cerca, 2010). Nos últimos anos foram desenvolvidos, métodos moleculares, rápidos e sensíveis: Técnicas baseadas em PCR (*Polimerase Chain Reaction*), sequenciamento de DNA e hibridização de ácidos nucleicos com sondas (Rodrigues, 2012; Wildner 2012; Devallois, Goh, Rastogi; 1997).

Os métodos moleculares embora mais acurados ainda são de alto custo para países em desenvolvimento, pois necessita de estrutura física adequada e pessoal especializado. Sondas específicas de espécies para MAC reduz significativamente o tempo necessário para indicar a presença de MAC em oposição ao método anterior por testes bioquímicos. Em alguns outros casos, por exemplo, histopatologia sugestiva de infecção micobacteriana com culturas negativas ou sem culturas realizadas, os métodos moleculares auxiliam em demonstrar a presença de DNA micobacteriano e o provável organismo e sua especiação (Simeão et al, 2009).

1.1.6.4.1 TÉCNICAS BASEADAS EM PCR (PRA-*hsp65*)

O PRA-*hsp65* (*Polimerase Chain Reaction Restriction Analysis of the gene heat shock pprotein 65*) é o método molecular usado para identificar as espécies de MNT, através da comparação de padrões de fragmentos gênicos por restrição enzimática de gene alvo. Resumidamente, um fragmento de 439 pares de base (pb) do gene *hps65* é amplificado por reação de cadeia da polimerase (PCR), utilizando como iniciadores o par de *primers* Tb11 (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT) e Tb12 (5'-CTTGTCGAACCGCATACCCT). Os produtos gerados são então submetidos à digestão enzimática com as enzimas de restrição *BstE II* e *Hae II*. Os fragmentos obtidos são então resolvidos em gel de agarose e os padrões obtidos são comparados com padrões conhecidos arranjados em algorítmico. Embora o método apresente alta especificidade a sensibilidade é variada, pois, algumas espécies apresentam perfil de PRA ainda não descrito na literatura. Entretanto, é um método rápido, não requer organismos viáveis, possibilita determinar taxonomia, separando subespécies e caracterizando novas espécies, devido à variabilidade da sequência do gene alvo. (Nunes, 2012; Costa, 2012;

Cardoso, 2012). Requer equipamentos básicos de PCR e de eletroforese em gel de agarose (Wildner et al, 2011) (Figura 4).

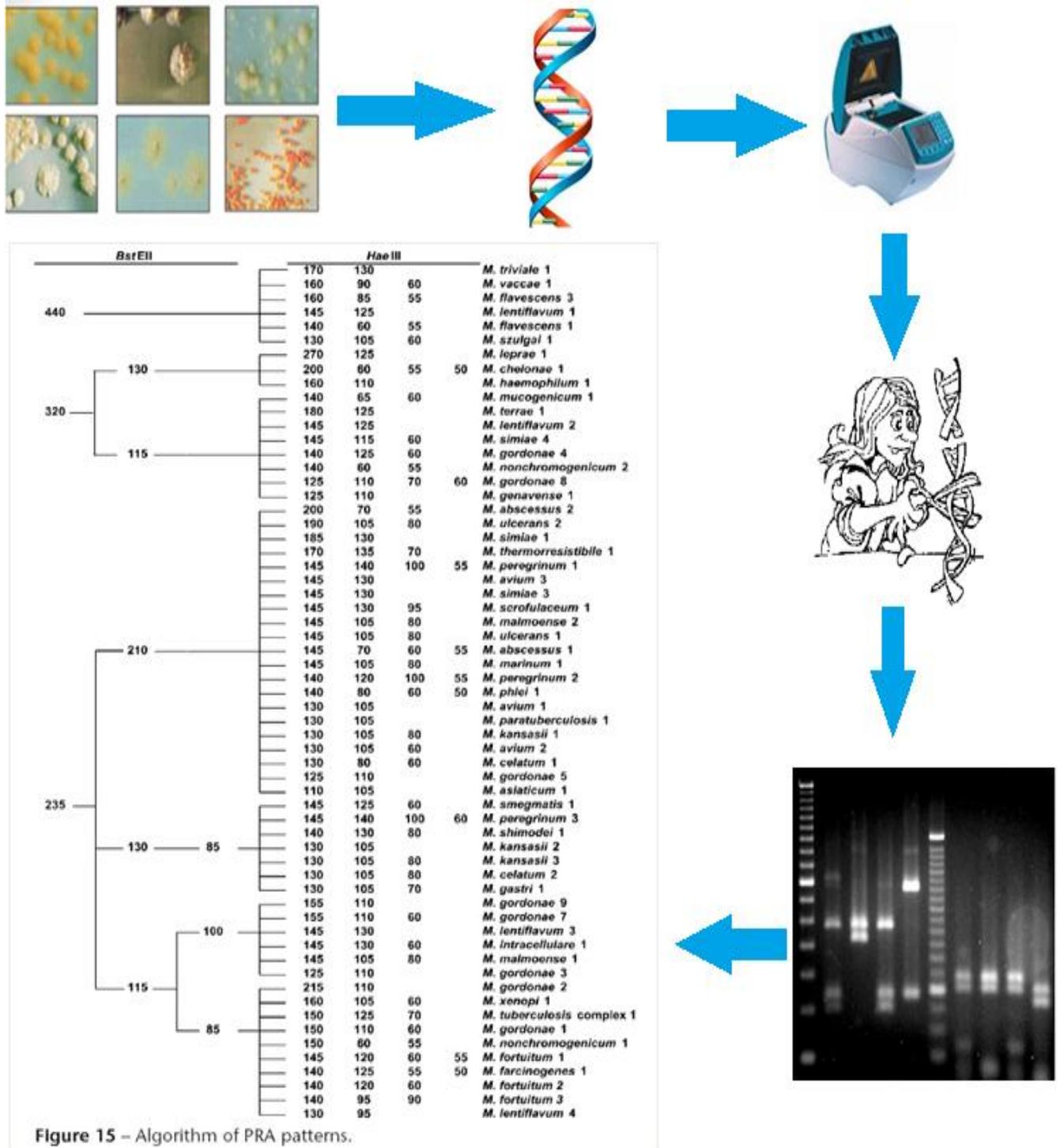


Figura 4: Método Molecular PRA-hsp 65(análise de restrição enzimática do gene hsp65) (Adaptado apresentação LOPES, 2010).

1.1.6.4.2 GeneXpert

Em dezembro de 2010, a OMS (Organização Mundial da Saúde) aprovou a utilização do teste comercial Xpert® MTB/RIF (Cepheid, Inc.). Este teste consiste de uma plataforma totalmente automatizada baseada na *hemi-nested*-PCR em tempo real (RT-PCR). O teste emprega cinco sondas de hibridização de diferentes ácidos nucleicos na mesma reação multiplex. Cada sonda é complementar a uma sequência alvo diferente dentro do gene *rpoB* de *M. tuberculosis*, suscetível à rifampicina, e é marcada com um fluoróforo de cor diferente. Juntas, estas sondas abrangem toda a região central de 81 pb do gene *rpoB* (Figura 5) (Pinto et al, 2015; Lawn & Nicol; 2011; Pinhata, 2014).

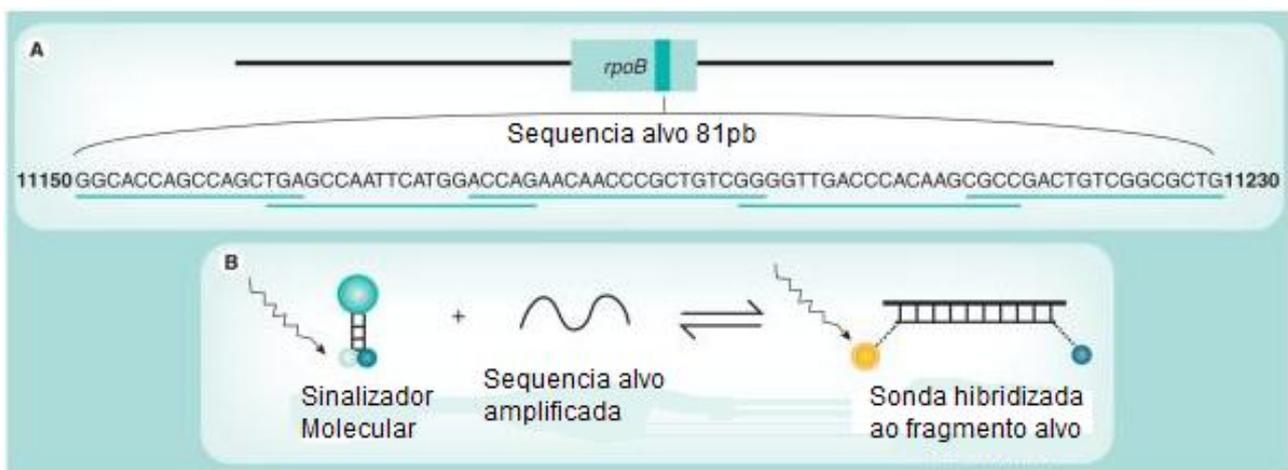


Figura 5: Representação esquemática A) da sequência alvo da região central do gene *rpoB* e as sondas complementares ao alvo de 81 pares de base (pb); B) Tecnologia de base molecular.

O gene *rpoB*, codifica a subunidade β da RNA polimerase, sítio-alvo da rifampicina. Portanto, o teste detecta *M. tuberculosis* em espécimes clínicos pulmonares e extrapulmonares e mutações no DNA associadas à resistência a rifampicina (RIF), simultaneamente. Tem por desvantagem alto custo e produzir resultados de resistência falsos positivos. Tem por vantagem a alta sensibilidade e, portanto, é útil para apoiar políticas de saúde pública de países com alta carga bacilar para auxiliar no diagnóstico da TB, pois é um teste rápido (2 horas), realizado diretamente do espécime clínico de expectoração. Essa tecnologia reduz a carga de trabalho e o custo da triagem inicial com testes convencionais, mas não os substituem (Piatek, et al 2013; Lawn & Nicol; 2011)

1.1.6.4.3 HIBRIDIZAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS COM SONDAS

São os métodos moleculares mais bem sucedidos para a identificação de micobactérias. Os principais sistemas comerciais disponíveis são o AccuProbe (GEN-Probe Inc., USA), INNO-LiPA Mycobacterium (Innogenetics NV, Bélgica) e GenoType Mycobacterium CM (Hain LifeScience)(Nunes, 2014).

O sistema AcuProbe utiliza sondas específicas de DNA, conjugadas com marcador quimioluminescente, que deverão hibridizar com o RNA ribossomal (rRNA), extraído de crescimento bacteriano, formando complexo DNA-RNA estável. O reagente diferencia as sondas hibridizadas das não hibridizadas e a reação é detectada pela emissão de luz que é proporcional a hibridização. Apesar de ser rápido, sensível e específico, apresenta alto custo, mas não permite identificar todas as espécies de MNT patogênicas (Cerca, 2014; Rodrigues, 2012; Neokanis et al, 2008; Mota, 2011).

A tecnologia de INNO-LiPA Mycobacterium (Innogenetics NV, Bélgica) e GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain LifeScience) utiliza o princípio da hibridização reversa ou tecnologia de “DNA strips” (Sondas em tira), com sondas imobilizadas em linhas paralelas sobre membrana de nitrocelulose e com detecção luminescente, que é proporcional a quantidade de hibridização (Cerca, 2014; Rodrigues, 2012). Os sistemas de sonda GenoType Mycobacterium CM, para micobactérias comuns, e a versão AS, para adicional detecção de outras MNT (Hain LifeScience), são ensaios comerciais que permite a detecção e identificação ao nível de espécies de micobactérias, obtidas a partir de culturas positivas em meio líquido ou sólido, tais como: *M. avium* subespécies, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. interjectum*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. marinum*-*M. ulcerans*, *M. peregrinum*, e de *M. tuberculosis* complex, e *M. xenopi*; e para as espécies: *M. simiae*, *M. mucogenicum*, *M. goodii*, *M. cellatum*, *M. smegmatis*, *M. genavense*, *M. lentiflavum*, *M. heckeshornense*, *M. szulgai*, *M. phlei*, *M. hemophilum*, *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. gastri*, *M. asiaticum*, e *M. shimoidei*, respectivamente (Gitti et al, 2006).

1.1.6.4.4 SEQUENCIAMENTO DE DNA

Metodologia considerada padrão-ouro para micobactérias, entre as técnicas de biologia molecular. Usa como marcadores o sequenciamento de fragmentos de alguns genes presentes nas micobactérias: *hsp65*, *rpoB* e *16S rRNA* (Costa, 2012). A técnica é realizada através, da amplificação do DNA da micobactéria através de “primers”,

específicos para os genes alvos e comparação das sequências obtidas com as sequências de referência depositada em bases de dados. O sequenciamento de 16S rRNA favorece estudos taxonômicos, devido ocorrerem mutações lentas e constantes, o gene *hsp65* permite diferenciar uma variedade de espécies de micobactérias, com exceção de espécies MAC e CMTB e o sequenciamento do gene *rpoB* permite distinguir micobactérias de crescimento lento e rápido (Cerca, 2010).

1.1.7 TRATAMENTO

O tratamento das MNT é lento, caro e complexo, aspectos importantes para a adesão dos pacientes (Wassillew et al, 2016) Elas são naturalmente resistentes aos fármacos tuberculostáticos ou tem pouca sensibilidade, que é variável entre as diferentes espécies. A resistência está relacionada a mutações em diferentes genes e associada ao tratamento inadequado. (Nunes, 2014). A identificação das espécies é fundamental para indicação do esquema terapêutico. Dentre as espécies mais resistentes destacam-se MAC, *M.fortuitum* e *M. chelonae*, e exigem terapia com múltiplos fármacos (Wildner, 2012).

Estudos randomizados relacionados à terapia para várias espécies de MNT são poucos na literatura; sabe-se que para alguns fármacos e espécies, não há correlação de suscetibilidade *in vitro* com resposta efetiva *in vivo* (Wildner, 2012). Assim, a American Thoracic Society (ATS, 2007) e o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011) recomendam a concentração inibitória mínima, em meio líquido, como método padrão para a escolha das drogas para tratamento, entretanto deve ser aplicado apenas às espécies: *MAC*, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium peregrinum* (Bombarda, 2011).

As recomendações de tratamento baseiam-se em estudos retrospectivos, e a duração da terapia estende-se até 12 meses após a negativação da baciloscopia. A tabela 3 mostra os principais esquemas terapêuticos para as espécies de manifestação pulmonar (Costa, 2012).

Os macrolídeos são fundamentais no tratamento da maioria das infecções por MNT em formas pulmonares, com exceção de *M. kansasii*. A droga principal no tratamento de infecção pulmonar por *M.kansasii* é a rifampicina combinada com

etambutol, isonizada e/ou um macrolídeo. Para o complexo MAC, na forma pulmonar, claritromicina e amicacina são as únicas drogas com boa correlação entre a suscetibilidade *in vitro* e *in vivo*, geralmente combinada com etambutol ou rifampicina. Mas nos casos com sorologia positiva para HIV a rifabutina é preferível a rifampicina, devido a interação medicamentosa e efeitos adversos. A infecção pulmonar causada por *M. abscessus* pelo menos duas drogas são utilizadas: amicacina, cefoxitina, imipinem ou tigeciclina (injetáveis) e mais três drogas orais: ciprofloxacina, doxicilina e linezolida (Wassilew, 2016).

TABELA 3 – Regimes de tratamento recomendados para as mais frequentes micobactérias não tuberculosas associadas à doença pulmonar

Espécies	Tratamento
<i>M. malmoense</i>	RIF, INH e EMB ± macrolídeo ± quinolona
MAC	RIF, EMB e macrolídeo. Incluir aminoglicosídeo para doença cavitária. Se houver resistência ao macrolídeo, usar RIF, INH, EMB e AMC/STR (primeiros 3-6 meses). Administrar 3 vezes por semana para doença limitada e diariamente para as formas mais extensas
<i>M. xenopi</i>	CLA, RIF, INH, EMB ± STR (primeiros 3-6 meses)
<i>M. kansasii</i>	RIF, INH e EMB. Se houver resistência a RIF, usar INH, EMB, STX, + AMC/STR (primeiros 3-6 meses)
<i>M. goodii</i>	2 agentes com susceptibilidade <i>in vitro</i>
<i>M. chelonae</i>	CLA + agente adicional (susceptibilidade <i>in vitro</i>)
<i>M. fortuitum</i>	2 agentes com susceptibilidade <i>in vitro</i>
<i>M. abscessus</i>	Macrolídeo + 1-2 agentes adicionais ± ressecção se a doença for limitada

Notas: RIF: rifampicina, INH: isoniazida, EMB: etambutol, AMC: amicacina, STR: estreptomicina, CLA: claritromicina, STX: sulfametoxazol.

Fonte: (Adaptado de Costa, 2012).

São comuns eventos adversos medicamentosos associados às drogas, o que leva a um mau prognóstico, principalmente em pacientes idosos ou com doença imunossupressora. Em casos de falência ao tratamento, especialmente na forma pulmonar pode-se considerar a realização de cirurgia (Poroca, 2009; Castro, 2012). Pacientes com HIV/AIDS, artrite reumatóide, doenças pulmonares crônicas e transplantados, devem ter seu quadro clínico avaliado antes da instituição da terapia. Em portadores de artrite reumatóide com infecção pulmonar por MNT, na ausência da

melhora clínica, o tratamento por MNT deve ser suspenso para evitar progressão da doença e óbitos, devido doença pulmonar subjacente. Para pacientes transplantados observou-se que para o controle da infecção por MNT é necessário a diminuição da medicação imunossupressora, a fim de melhorar a função imunológica. Em pacientes com HIV/AIDS bem avaliada recomenda-se suspender o tratamento antimicrobiano a fim de melhorar a resposta imunológica e a sobrevivência desses indivíduos (Arend, Soolingen, Ottenhof, 2009).

2. JUSTIFICATIVA

As infecções por micobactérias não tuberculosas cada vez mais apresentam relevância clínica. A crescente prevalência de doenças devidas a MNT está relacionada tanto a interações mais intensas de seres humanos com certos tipos de ambiente, como as mudanças demográficas da população, incluindo um número crescente de pessoas imunossuprimidas por infecção por HIV, malignidade ou intervenção médica. Muitas MNT são patógenos oportunistas significativos em pacientes com imunossupressão grave, mas são causas de doença em indivíduos imunocompetentes. Portanto, estudo da prevalência de infecções associadas à micobactérias não tuberculosas é fundamental. Em países onde a tuberculose ainda é endêmica, é necessário conhecer se está ocorrendo modificações clínico-epidemiológicas relacionadas às infecções micobacterianas. As suas formas clínicas assemelham-se as formas clínicas de tuberculose e o diagnóstico clínico e laboratorial precoce é importante para auxiliar o manejo clínico do tratamento dos pacientes. Embora para a tuberculose os esquemas terapêuticos estejam bem definidos, para as MNT está relacionado à espécie isolada/agente etiológico da infecção e, para algumas espécies, a combinação de drogas não garante a cura, além do tratamento se estender por longos períodos oferecendo toxicidade ao paciente. Assim, somente após a identificação das espécies o clínico tem possibilidades de melhor orientar a administração do tratamento das MNT.

Diante disso, identificar os principais agentes etiológico de micobacterioses sob aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, a partir de coleta de dados nos LACENs, possibilitará ampliar o conhecimento sobre as infecções micobacterianas e fomentar ações de prevenção e controle dessas doenças no estado.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os aspectos epidemiológicos das infecções de fonte humana por micobactérias não tuberculosas em culturas positivas isoladas no Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga (LACEN-PI) no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as espécies de micobactérias não tuberculosas isoladas;
- Analisar as características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas dos pacientes com infecções por micobactérias não tuberculosas;

4.MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ASPÉCTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual do Piauí, sob CAAE nº 56484916.9.0000.5209, parecer 1.893.057. A coleta de dados dos sistemas de informações do LACEN-PI foi autorizada pela instituição através do Termo de Autorização de Banco de Dados e Carta de Anuência. Para a transcrição dos dados para software de análise estatística a identidade dos pacientes foi preservada e mantida em confidencialidade.

4.2 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo descritivo, do tipo série de casos, para a identificação de micobactérias não tuberculosas de espécimes clínicos referenciados ao Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga (LACEN-PI), entre janeiro de 2010 a julho de 2016.

4.3 DESENHO DO ESTUDO

A coleta de dados foi realizada no Laboratório de Tuberculose do LACEN-PI por consulta aos softwares do Sistema Gerencial Laboratorial - GAL (Anexo A), para solicitação/cadastros de exames, e do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN (Anexo B). O GAL é uma ferramenta que gera relatórios epidemiológicos/laboratoriais e o SINAN gera relatórios clínicos/epidemiológicos. Para avaliar o perfil dos pacientes foram analisadas as seguintes variáveis: i) demográficas: idade, sexo, ocupação, município de residência; ii) laboratoriais: tipo de amostra, baciloscopia, cultura, fator corda, inibição pelo ácido p-nitrobenzóico (PNB) para diferenciar CMTB de MNT, detecção de MPT64 em cultura e teste molecular GeneXpert para identificação de *M.tuberculosis* e resistência a rifampicina, e iii) clínica: paciente com tratamento anterior para tuberculose, alteração de raio-X de tórax, sorologia para HIV e agravos associados e desfecho do caso.

4.4 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O estado do Piauí é constituído por 224 municípios e está localizado na região Nordeste com extensão territorial de 251.611,934 Km² e população de 2.516.119,34 habitantes (IBGE, 2010). Após a capital Teresina (847.430 habitantes), o município de Parnaíba (145.705 habitantes) é o mais populoso e são os únicos do estado que realizam cultura para identificação de micobactérias pelo Método Ogawa-kudoh. Os serviços de saúde do estado, frequentemente, recebem pacientes de estados vizinhos, principalmente Maranhão (Figura 6).

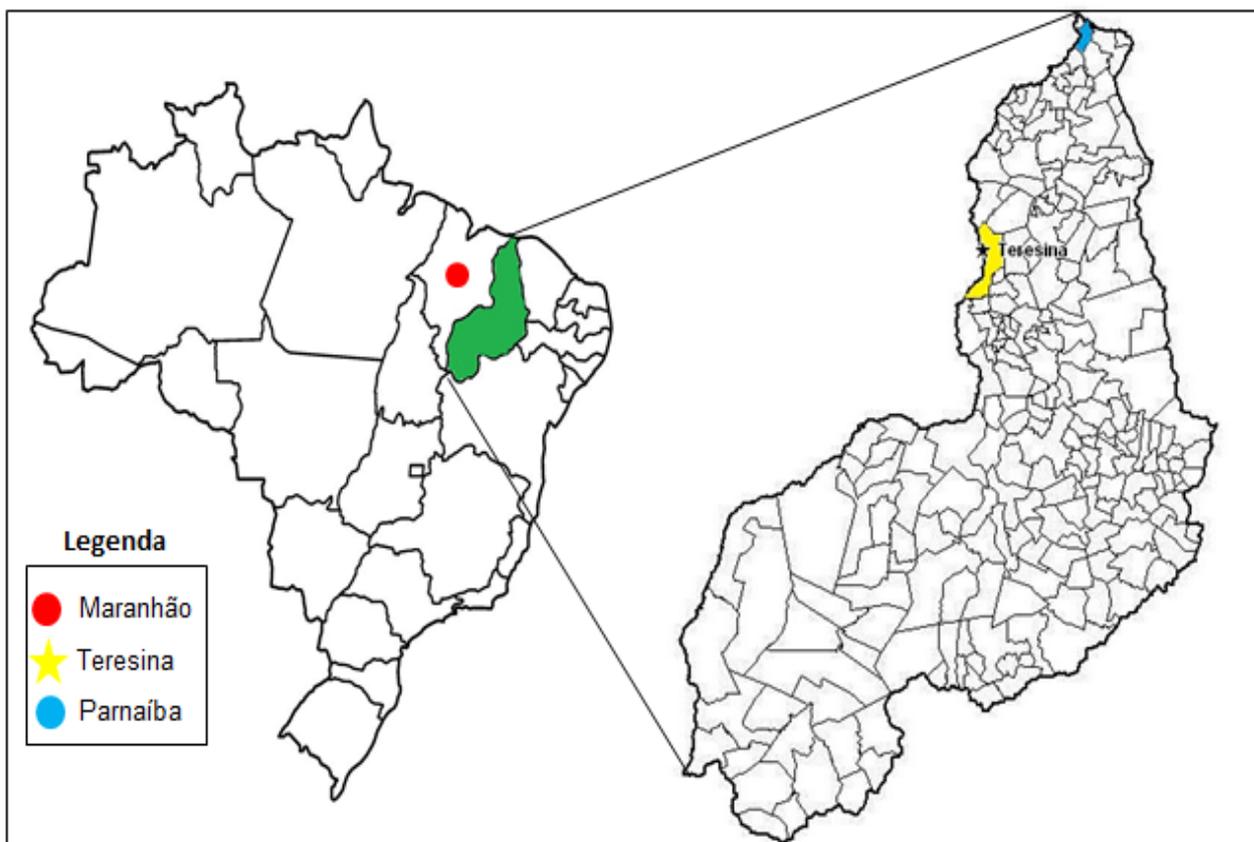


Figura 6: Mapa dos estados da federação do Brasil, com a localização do estado do Piauí e seus municípios Teresina e Parnaíba participantes do estudo.
Fonte: Lima & Santos, 2017.

4.5 LOCAL DO ESTUDO E PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

O Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga (LACEN-PI) é referência estadual para realização de metodologias como identificação e teste de sensibilidade de micobactérias com crescimento em meio Ogawa-Kudoh, semeados a partir de espécimes de escarro e provenientes de outras unidades laboratoriais, e realização de exames a partir de espécimes pulmonares e extrapulmonares nos meios

sólido LJ e líquido Middlebrook 7H9 (automatizado). Os testes moleculares (PCR em tempo real ou teste rápido molecular-Xpert/MTB RIF) foram realizados para as amostras de escarros oriundas de municípios fora da capital Teresina, do sistema prisional, serviços de saúde privados, e amostras pulmonares e extrapulmonares dos diversos serviços de saúde. A confirmação e identificação das espécies de Micobactérias não tuberculosas por métodos fenotípicos e moleculares foram realizadas no Centro de Referência Professor Hélio Fraga – CRPHF, Fiocruz/Rio de Janeiro.

4.6 PERÍODO DO ESTUDO

O estudo abrange dados de pacientes com infecções por micobactérias não tuberculosas no período compreendido entre janeiro de 2010 a julho de 2016.

4.7 POPULAÇÃO

Foram incluídas informações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais de pacientes com diagnóstico de micobacterioses, cujas amostras foram referenciadas ao Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga do Estado do Piauí.

4.8 FLUXOGRAMA DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial de micobactérias não tuberculosas foi realizado seguindo as orientações do fabricante para técnicas automatizadas e as orientações do Protocolo de Nacional de Vigilância Laboratorial de Tuberculose e outras micobactérias (Brasil, 2008) para técnicas convencionais. A Figura 7 demonstra o fluxograma do LACEN-PI ao receber amostra clínicas:

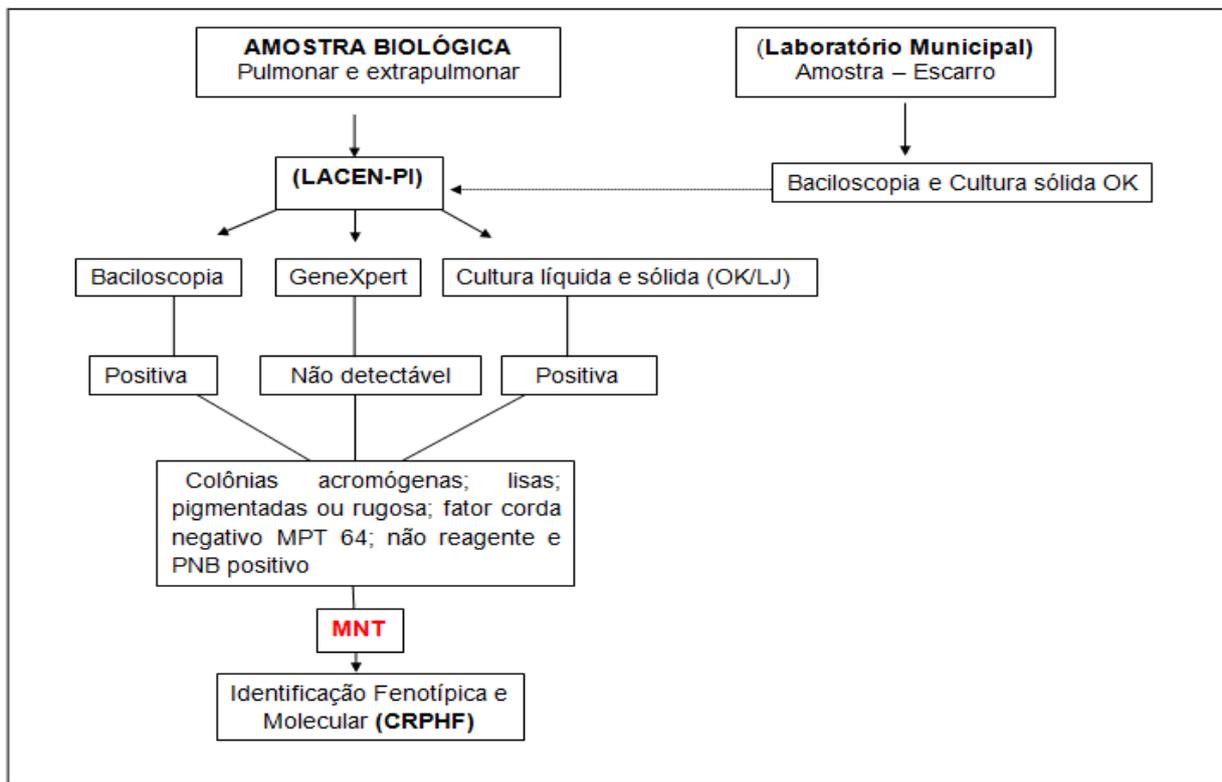


Figura 7: Fluxograma de rotina laboratorial seguido pelo LACEN-PI para realizar diagnóstico de micobactérias não tuberculosas (MNT).

OK: meio sólido de Ogawa Kudoh. LJ: meio sólido de Löwenstein-Jensen. CRPHF: Centro de Referência Prof. Hélio Fraga, Fiocruz/RJ.

4.8.1 BACILOSCOPIA

Realizada pelo método de coloração de Ziehl Neelsen em lâmina de vidro, onde foram confeccionados os esfregaços com amostra fixada em chama e posteriormente, coberta em toda sua extensão com o corante fucsina. A parte inferior da lâmina foi aquecida em chama do bico de Bunsen, até a emissão de vapores. Após cinco minutos, lavou-se a lâmina com água corrente. O esfregaço foi coberto com solução álcool-ácido em toda sua extensão por 1 minuto. Após lavagem, a lâmina foi coberta em toda sua extensão com azul de metileno por 2 minutos e seguindo-se nova lavagem (Figura 8). A lâmina foi, então, posicionada em pé para secagem e analisada por microscopia óptica com objetiva de imersão 100x.



Figura 8: Fixação de esfregaço, lavagem da fucsina em água corrente e sentido de leitura ao microscópio ótico. (BRASIL, 2008).

Os resultados da baciloscopia de amostra outras que não escarro e escarro são registrados de forma diferente. As amostras outras que não escarro é positiva com qualquer quantidade de BAAR. As amostras de escarro, sua positividade é semi-quantificada de acordo com o número de bacilos álcool-ácido resistentes presentes na lâmina/número de campos examinados, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde e descrito na tabela 4 (Brasil, 2008).

Tabela 4: Critérios para Leitura e Interpretação dos Resultados da Baciloscopia de Escarro, corada pelo Método de Ziehl-Neelsen.

Visualização microscopia	Resultado
Não são encontrados BAAR/100 campos visualizados	NEGATIVO
São encontrados de 1 a 9 BAAR/100 campos visualizados	Quantidade de BAAR encontrada
São encontrados de 10 a 99 BAAR/ 100 campos visualizados	POSITIVO (+)
Se é encontrada em média de 1 a 10 BAAR/campo, nos primeiros 50 campos observados	POSITIVO (++)
Se é encontrada em média mais de 10 BAAR/ campo, nos primeiros 20 campos observados	POSITIVO (+++)

Fonte: Adaptada de Brasil, 2008.

4.8.2 CULTURA

4.8.2.1 CULTURAS EM MEIO SÓLIDO

Foram usados meios sólidos enriquecidos à base de ovo, OK e/ou LJ. Para as amostras de escarro espontâneo, antes da semeadura no meio de OK procedeu-se a descontaminação do espécime clínico com NaOH 4%. As amostras extrapulmonares foram centrifugadas por 15 minutos a 3.000 x g, descontaminadas pelo método Petroff modificado (NaOH 2%), inoculadas nos meios de cultura e incubadas em estufa bacteriológica entre 35 e 37° C, com tampa do frasco semi- rosqueada. Os tubos foram totalmente rosqueados após 48 h de incubação, verificando-se a presença de contaminação (presença de bactérias, fungos, alteração de coloração do meio ou liquefação). Os tubos contaminados eram descartados e a informação era registrada no “Registro de cultura em meio sólido e teste de sensibilidade” e no sistema de informação GAL. No caso de crescimento microbiológico sem contaminação durante as 8 semanas de incubação, as variáveis: data da leitura, número de colônias visualizadas, características morfológicas das colônias em relação à presença de pigmento, aspecto (lisa ou rugosa) (Figura 9), e contaminação parcial ou total de cada tubo foram registradas no GAL.

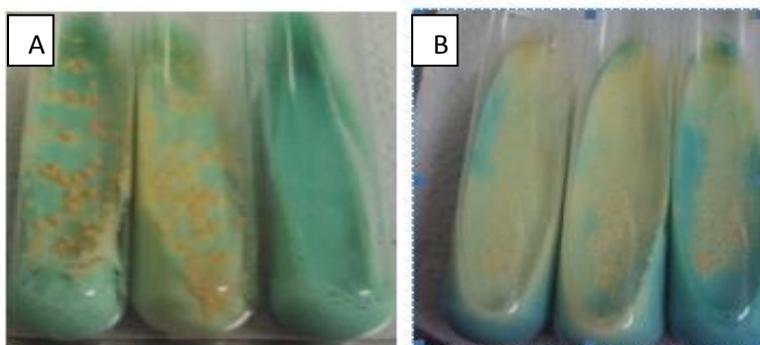


Figura 9: Crescimento micobacteriano em meio sólido. A) Cultura de micobactérias não tuberculosas (MNT) em meio Loewenstein Jensen. B) Culturas com colônias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* em meio Ogawa Kudoh. (Arquivo LACEN, 2017).

Os critérios para leitura das culturas com crescimento em meio sólido são apresentados na escala semiquantitativa descritos na tabela 5.

Tabela 5: Critérios para leitura de culturas em meio sólido.

COLÔNIAS	RESULTADO
Menos de 20 colônias	Cultura Positiva (número de colônias).
De 20 a 100 colônias	Cultura Positiva (+).
Mais de 100 colônias separadas	Cultura Positiva (++)
Colônias confluentes (tapete)	Cultura Positiva (+++).

Fonte: Adaptada de Brasil, 2008.

4.8.8.2 CULTURAS EM MEIO LÍQUIDO

O sistema automatizado MGIT “Mycobacteria Growth Indicator Tube” (Becton & Dickinson) é um meio líquido (Middlebrook 7H9), acrescido de PANTA (mistura de antibióticos polimixina B, anfotericina B, carbenicilina and trimetoprim) e suplemento OADC (ácido oleico, albumina bovina, dextrose, catalase), acondicionados em um tubo com sensor fluorescente sensível ao oxigênio, o composto de rutênio pentahidratado com base. A multiplicação bacteriana no tubo MGIT BBL (Tubo Indicador do Crescimento de Micobactérias MGIT BBL de 7 ml) é identificada logo na fase inicial, através dessa fluorescência (Figura 10). Essa metodologia permite processar amostras pulmonares e extrapulmonares, exceto urina e sangue. Ao tubo MGIT BBL adiciona-se 0,8 mL do suplemento OADC e em seguida 0,5mL da amostra (escarro descontaminado como acima descrito com NaOH 4%). Os tubos MGIT BBL são, então, acondicionados em bandejas de incubação conforme instruções do manual BACTEC MGIT (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA).



Figura 10: Equipamento automatizado para cultivo de micobactérias em meio de cultura líquida, método BACTEC MGIT 960 (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*). (Adaptado de <http://www.bd.com/ds/productCenter/MT-BactecMgit960.asp/> e Arquivo LACEN-PI).

4.8.3 PROCEDIMENTOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE CRESCIMENTO MICOBACTERIANO EM MEIO DE CULTURA

As colônias visualizadas nos tubos de cultura sólida de OK e LJ foram submetidas aos métodos de identificação morfológica, enzimática, imunocromatográfica e molecular para confirmação das espécies de micobactérias.

4.8.3.1 IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA

As culturas foram observadas quanto ao crescimento macroscópico de colônias a cada sete dias, por um período máximo de oito semanas. Foram registrados o tempo de crescimento, pigmentação e morfologia. A presença do fator corda em esfregaço corado pelo Ziehl-Neelsen, mais comumente presente para CMTB, foi visualizado por microscopia ótica.

4.8.3.2 IDENTIFICAÇÃO ENZIMÁTICA

A niacina tem um papel vital nas reações de oxirredução e na síntese metabólica das micobactérias. Todas as micobactérias produzem o ácido nicotínico, porém comparativamente *M. tuberculosis*, assim como *M. africanum*, tem um bloqueio metabólico na via biosintética do NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo), acumulando maior quantidade de niacina sendo útil para sua identificação, embora testes adicionais devam ser realizados, pois algumas MNT produzem resultados positivos para a niacina (*M. simiae*, *M. chelonae* e *M. marinum*). O teste de niacina foi realizado em fita de papel, as colônias das culturas foram diluídas em 1,5 ml de água destilada e inserida uma fita de papel (KIT PROBAC). O teste foi considerado positivo quando há formação de cor amarela no tubo suspensão micobacteriana. Não é considerada cor amarela da fita de niacina, e sim a cor amarela visualizada no extrato da cultura (Figura 11).



Figura11: Teste da produção de niacina em papel. (-) micobactéria não tuberculosa negativo e (+) *M. tuberculosis*. (Adaptado Arquivo LACEN, 2017).

4.8.3.3 IDENTIFICAÇÃO IMUNOCROMATOGRÁFICA

Esse teste foi usado para identificação rápida do complexo *M. tuberculosis* a partir de crescimento bacteriano. Para o meio sólido houve a preparação da amostra, utilizando-se 3 a 4 colônias que foram suspensas em 100µl de tampão de extração. Para a cultura líquida adicionou-se diretamente 100µl do crescimento, ou 100µl da suspensão de crescimento de meio sólido em tampão de extração, na cavidade do dispositivo do teste. A leitura foi realizada após 15 minutos, e considerou-se positivo quando apareceram duas linhas coloridas na janela de resultados, a linha controle “C” e a linha teste “T” (TB Ag MPT64 TEST BIOEASY) (Figura 12).

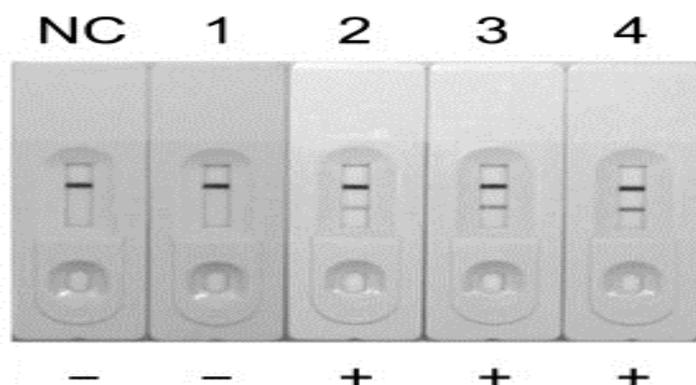


Figura 12: Detecção do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* pelo kit SD BIOLINE TB AgMPT64. NC= controle negativo, - = teste negativo em Micobacterias não tuberculose. + = teste positivo *M. tuberculosis*.

4.8.3.4 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

4.8.3.4.1 TESTE MOLECULAR GeneXpert

Para amostra escarro, lavado brônquico e secreção traqueal utilizou-se 1 mL do espécime e 2 mL da solução reagente em tubo cônico virgem (proporção 1:2). Em amostra de líquido cefalorraquiano (LCR), utilizou-se a proporção 1:1. Posteriormente, foram agitados em vórtex e um volume de 2 mL foi transferido para o cartucho do kit e inserido em módulo do equipamento Xpert MTB/RIF (Xpert, Cepheid, Sunnyvale, CA, EUA). Os resultados foram disponibilizados em 2 horas (Figura 13).



Figura 13: Preparação da amostra e inserção do cartucho em módulo do equipamento Xpert/ RIF MTB PCR-RT (Cepheid, Sunnyvale, CA, EUA).**Fonte:**http://www.fmt.am.gov.br/layout2011/diversos/XPert%20Word_22Fev2012.pdf

4.8.3.4.2 TESTES MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS

Após a obtenção de crescimento a partir da semeadura da segunda amostra (escarro) e amostra única (extrapulmonares), a identificação é realizada por pelas seguintes metodologias: o sequenciamento do DNAr-16S e por PRA-*hsp65* (preferencialmente utilizada), que foram realizados no Laboratório de Referência Nacional Professor Hélio Fraga/ FIOCRUZ).

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram organizados em planilhas do programa estatístico EpiInfo 2.3.0 onde os mesmos foram submetidos os testes de correlação Pearson, Qui-quadrado, para as variáveis aleatórias discretas; e teste T de Student para as variáveis aleatória contínuas , ambos os teste com Intervalo de Confiança 95% e significância em $p < 0,05$. Os resultados foram tabulados em gráficos e tabelas no Programa Excel.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga (LACEN-PI) realizou 3.208 culturas entre janeiro de 2010 a julho de 2016. Destas, 446 culturas foram positivas para micobactérias. A frequência de culturas positivas distribuídas anualmente mostrou que no ano de 2012 a positividade foi maior, 33 % (64/189), seguido dos anos precedente de 2011 (29%, 48/164), do ano posterior de 2013 (23 %, 88/389) e do ano de 2010 (18%, 27/146). As menores taxas de positividade foram observadas em ordem decrescente nos anos de 2014 (11%, 79/668) e 2015 (8%, 79/1027). No ano de 2016, houve um aumento na taxa de positividade, em relação a 2014/15, correspondendo a 14% (61/445) em apenas 6 meses do ano (Figura 14). Talvez a alta frequência de culturas positivas em 2012 se justifique pela sazonalidade e maior interesse médico em confirmar suspeita clínica e ainda pela instituição de Protocolo de investigação de doenças neurológicas, que incrementou o número de solicitações de cultura por amostra líquor instituído no ano de 2015.

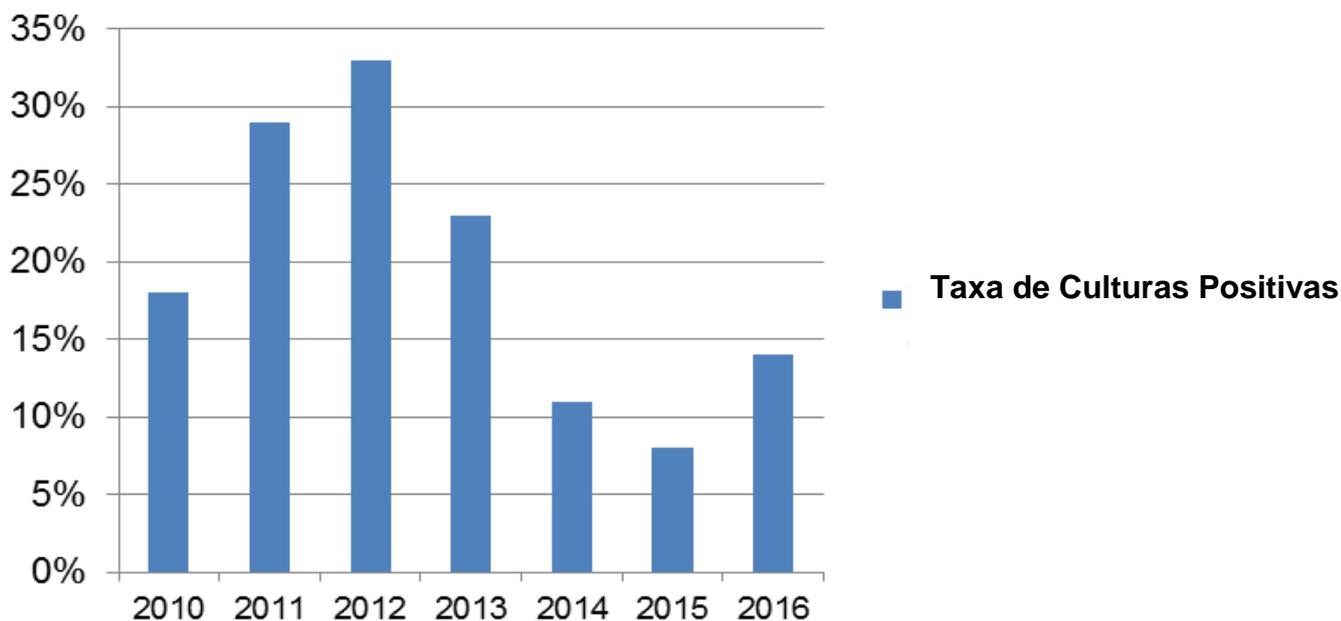


Figura 14: Taxa de culturas positivas com crescimento micobacteriano sugestivo e culturas com confirmação, através da identificação da espécie de MNT no LACEN-PI, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016

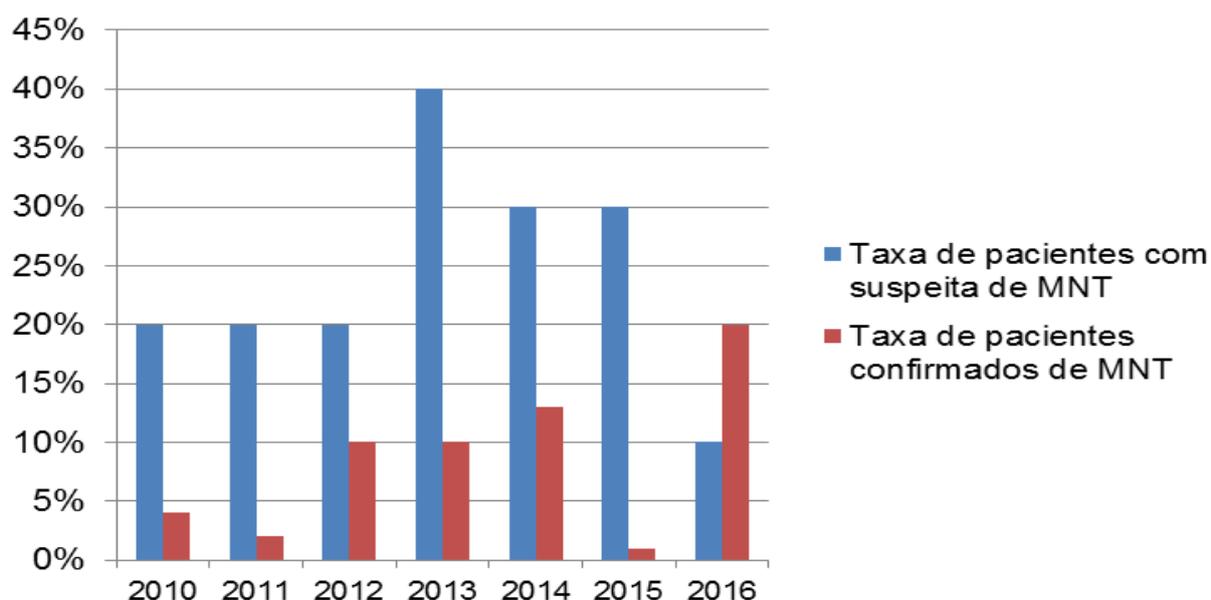


Figura 15: Taxa de culturas positivas com crescimento micobacteriano sugestivo de MNT e com confirmação da espécie por técnicas moleculares, no período de janeiro a julho de 2016.

A taxa de detecção de casos suspeitos de infecções por MNT por ano entre as culturas positivas isoladas pelo LACEN-PI manteve-se constante no período de 2010-2012 (20%, 6/27 em 2010; 20%, 10/48 e 20% 15/64) e 2014-2015 (30%, 21/79 e 30%, 21/79) com a maior taxa ocorrendo no ano de 2013 (40%, 37/88). Portanto, no período de seis anos de estudo taxa de geral de MNT foi de 24,5%. Entre os casos confirmados a frequência aumentou ao longo dos anos exceto para o ano de 2015 (1%). Nos anos de 2012 a 2014 as frequências de casos confirmados mais que dobrou em relação a 2010-11. É interessante notar que só no primeiro semestre de 2016 a taxa de casos confirmados foi a mais alta (20%), inclusive se comparada com a taxa de suspeitos.

Em nosso estudo a observação do aumento de casos suspeitos a partir de 2013 e o concomitante aumento de casos confirmados pode ser devido a melhor sensibilização dos profissionais de saúde na suspeita de infecções por micobacterias e embora neste período o número de culturas positivas tenha caído no LACEN-PI, o fato dos profissionais estarem mais atentos na triagem dos casos suspeitos fez o rendimento de casos confirmados de MNT aumentar. A adição, recente, de técnicas moleculares no LACEN-PI contribui para agilizar a confirmação dos suspeitos e, portanto, é uma estratégia importante para monitorar a epidemiologia destas infecções. Estas técnicas foram implantadas em 2015, e talvez pelo fato do período de adaptação, às novas metodologias, a frequência de suspeitos e MNT confirmadas tenha diminuído, já que em 2016 a taxa semestral foi maior que as taxas passadas anuais (20%) de casos confirmados de MNT.

Embora a elevada taxa chame atenção, não é possível inferir que venha ocorrendo um aumento na incidência de MNT no Piauí.

Em um estudo conduzido por Bertolletti e colaboradores (2011), no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2009, no estado de São Paulo, observou-se 21,4% das culturas positivas identificadas como MNT. Os autores destacam o aumento da frequência do isolamento de MNT, que em 2003 era de oito isolados (9,1%) chegando em 2009 a 53 isolados (31,9%), um aumento de 22,8% em seis anos. Nos anos de 2003 a 2006 a média de isolamento de MNT foi de 4,87%, chegando a 26,85% no período de 2007 a 2009. Os dados sugerem que, um dos motivos do aumento da frequência de MNT foi a implantação da cultura líquida no diagnóstico, uma vez que o método de identificação utilizado (PRA-hsp65) era o mesmo nos dois períodos estudados. No nosso estudo taxas similares foram encontradas em um mesmo período de seis anos (31,7 %) entre os casos suspeitos de infecção por MNT.

Segundo Piersimoni e Scarparo (2008) ainda não está claro se o aumento das MNT é devido a sua crescente prevalência no decorrer do tempo ou ao aprimoramento das técnicas de detecção e identificação. No Instituto Adolfo Lutz Rio Claro, a cultura líquida foi implantada a partir de 2007 e as frequências de MNT mostram o aumento não somente na quantidade, como também na diversidade de espécies isoladas (Bertolletti et al, 2011). Em outro estudo, conduzido por Pedro et al (2008), o aumento observado na frequência de MNT no estado de São Paulo a partir de 2001 pôde ser explicado pela implantação do método automatizado com cultura líquida, método mais sensível do que a cultura tradicional. Em Santa Catarina, este método foi implantado em 2010, justificando também a observação do aumento no número de isolamentos de MNT no estado (Wildner, 2012).

Os métodos convencionais de identificação utilizam testes fenotípicos, baseados em testes bioquímicos e nas características de crescimento em cultivo. Entretanto, esses métodos apresentam limitações, tais como a demora para a obtenção dos resultados e a difícil reprodutibilidade bem como diferentes espécies podem compartilhar o mesmo padrão bioquímico e características coloniais (NGAN et al., 2011). Assim, métodos moleculares são utilizados como alternativas de identificação mais rápida e acurada. Dentre eles, pode-se citar multiplex-PCR, PCR em tempo real, PCR seguida de análise de restrição e métodos de hibridização (Suffys et al., 2001; Tortoli, Mariottini & Mazzarelli, 2003).

No Brasil, ainda é difícil a comparação de dados relativos às MNT, pois os poucos estudos existentes são pontuais, com variação de período, tipo de amostras clínicas e população analisada. Além disso, por não serem transmissíveis, as doenças causadas pelas MNT não são de notificação obrigatória, a não ser em casos de infecção após procedimentos cirúrgicos realizados em serviços de saúde, dificultando a estimativa de sua real prevalência (Brasil, 2008; Ueki et al., 2005).

A taxa de detecção de MNT identificadas em nosso estudo foi superior ao de Santos (2015), também realizado no Piauí, cuja prevalência foi de 9,9% (14/142), mas em período curto entre 2014 a 2015. Resultado este similar ao obtido por Bona et al (2011) que realizaram um estudo incluindo 106 pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar referenciados ao serviço de pneumologia de um hospital público de Teresina – Piauí, no período de janeiro a junho de 2007. Dos 103 pacientes avaliados, 3 foram excluídos e 94 receberam diagnóstico com base no isolamento de *M. tuberculosis* em amostras de escarro, representando assim uma prevalência por MNT de 9% (9/103). Agertt et al (2013) em estudo abrangendo três anos, 2008 e 2010, encontrou taxa mais elevada (33%) no Hospital Universitário de Santa Maria/Rio Grande do Sul. Em outro estudo, realizado no Centro de Referência em São Paulo, no período de 1996 a 2005, 24,4% dos isolados de micobactérias corresponderam a MNT (Pedro et al, 2008); enquanto em Minas Gerais, Froes e colaboradores (2003) encontraram 6%, em trabalhos realizados em hospitais públicos. Wildner (2012), em Santa Catarina, encontrou 5,4% de MNT. Embora, haja diferenças de área geográfica, período e população alvo, nestes estudos pode-se observar que as maiores frequências de MNT ocorreram em períodos mais recentes investigados e é possível as técnicas moleculares contribuíram para este melhor desempenho diagnóstico, já que anteriormente com os métodos fenotípicos, morosos, laboriosos e pouco sensíveis, havia um menor interesse clínico pelo diagnóstico.

A variabilidade das taxas de prevalências de MNT em diferentes regiões brasileiras se explica provavelmente pela distribuição geográfica das mesmas. De acordo com um estudo realizado por Barreto e Campos (2000) utilizando 590 isolados de micobactérias provenientes de diferentes regiões brasileiras durante o período de 1994 a 1999 foi demonstrado a maior participação das regiões Sudeste e Sul, com 57,6% do total de casos no País, dos quais 17,8%, 16,4% e 8,12%, no Centro Oeste, Nordeste e Norte, respectivamente. Portanto, extensivos estudos em diferentes estados destas regiões são importantes para melhor monitorar a epidemiologia das infecções por MNT.

Em nosso estudo, as análises das características demográficas de pacientes diagnosticados com infecções por MNT não mostrou diferença significativa de idade e sexo, predominando, pacientes de faixa etária entre 50 e 60 anos. A idade dos pacientes variou de 9 a 87 anos. Apenas um paciente no início da adolescência foi diagnosticado com MNT. Embora sem diferença significativa, o percentual de pacientes mulheres (51,3%; 20/39) foi ligeiramente maior que de homens (48,7%, 19/39) o mesmo ocorrendo à média de idade para os homens (Figuras 16 e 17).

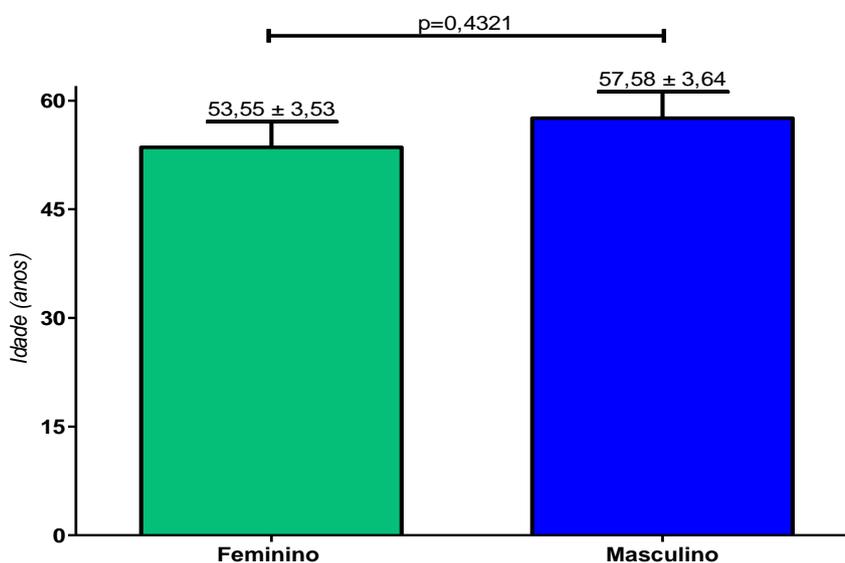


Figura16: Distribuição da idade dos pacientes com infecções por MNT em culturas positivas no LACEN-PI.

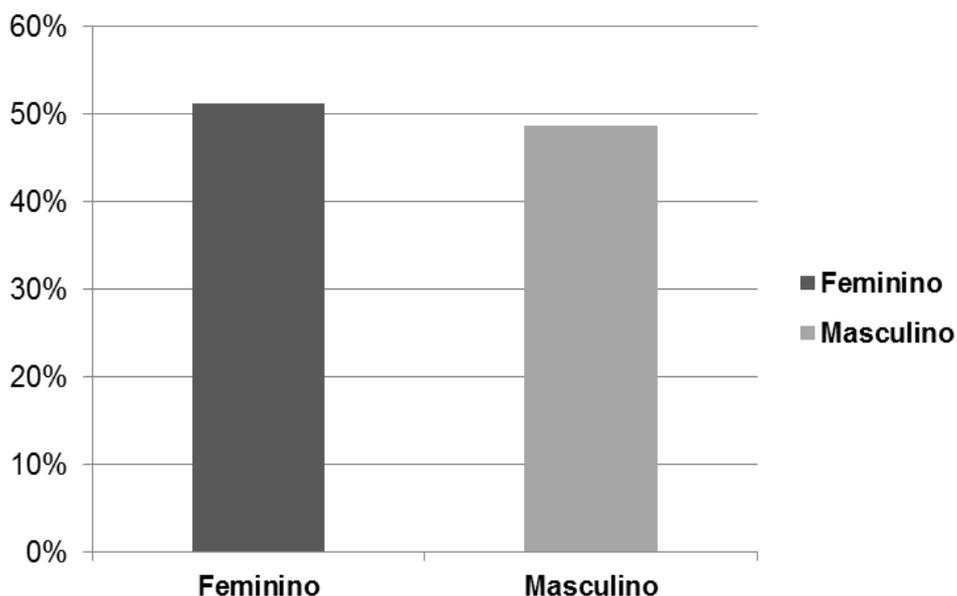


Figura 17: Distribuição dos casos de infecção por MNT identificados no LACEN-PI de acordo com gênero, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.

Kim e colaboradores (2008) ao avaliarem 60 pacientes com doença pulmonar por MNT, o sexo feminino (95%) foi predominante, com idade variando de 50 a 60 anos, mas não encontraram correlação entre idade na menarca e menopausa, idade e diagnóstico ou início dos sintomas, sugerindo que a quantidade total de exposição estrogênica ao longo da vida não é um marcador de susceptibilidade à infecção por MNT. Entretanto, Oliveira (2015) e Graça (2009) descreveram que a diminuição dos níveis de estrogênio e defeitos nos genes $INF-\gamma$ ou do seu receptor, podem predispor pacientes mulheres as infecções bacterianas, e os baixos níveis de estrogênio, que ocorrem principalmente no período da menopausa ou climatério, interferem no mecanismo de defesa do indivíduo infectado com MNT (Trench e Santos, 2005). Entretanto, nosso estudo não foi desenhado para obtenção desta informação. Por outro lado, vários autores observaram um relativo maior número de pacientes homens com MNT em Fortaleza (Ceará) (62,7%) e em Santa Catarina (57,7%) (Wildner, 2012), em ambos os estudos a idade média dos pacientes era 50 anos. Estudos mais recentes sugerem uma inversão no predomínio de gênero, relatando predominância da doença em mulheres, bem como, em populações com idade mais avançada (Castro 2012; Feeman et al 2007). Outros estudos descrevem que a

prevalência de MNT aumenta com a idade e as mulheres seriam mais suscetíveis (Adjemian, Olivier, Seitz et al, 2012). Estudos realizados nos Estados Unidos da América descrevem que em doentes da terceira idade a prevalência de infecções por MNT foi de 47 por 100.000 pacientes-ano e que as mulheres tem maior probabilidade de apresentar a doença do que os homens (Adjemian et al, 2012). Nosso estudo, embora limitado a uma área geográfica, parece corroborar estes dados. Portanto, o risco de doença por MNT aumentar com a idade e associado a mulheres parece ser mais comum (Prevots et al, 2010).

A figura 18 apresenta as atividades profissionais realizadas pelos pacientes com infecção por MNT, a maioria (23,1%, 9/39) dos pacientes são aposentados ou exercem atividades do lar (17,9%, 7/39), seguidos por lavradores (10,3%, 4/39). Os profissionais liberais (12,8%, 5/39), desempregados (5,1%, 2/39), e estudantes (1/39, 2,6 %) contaram apenas 20,5% dos pacientes diagnosticados com MNT. O restante dos pacientes não havia informação (11/39, 28 %).

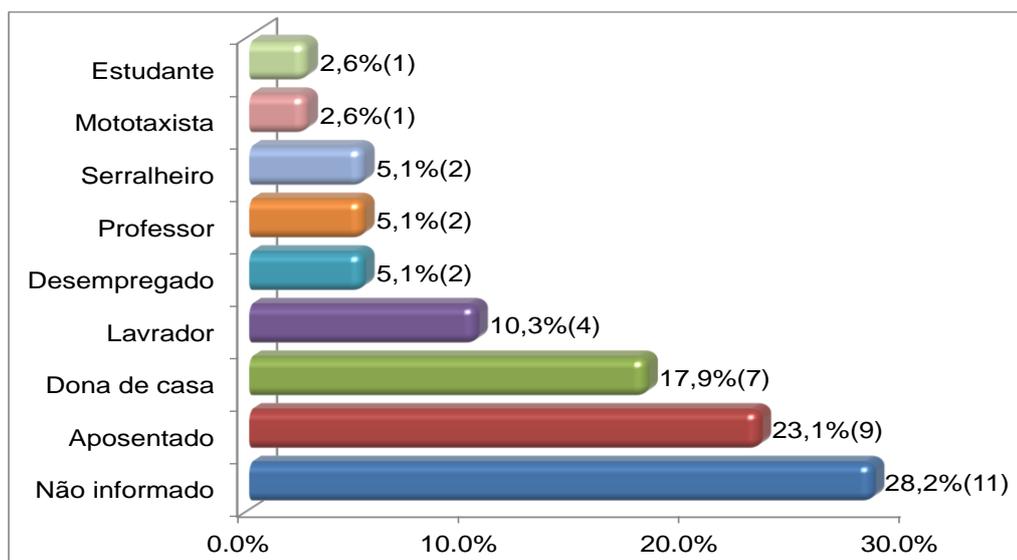


Figura18: Distribuição dos casos diagnosticados com infecções por micobactérias não tuberculosas no LACEN-PI de acordo com as atividades profissionais dos pacientes, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016.

Estes dados mais uma vez parecem corroborar os estudos que descrevem os fatores de meia idade e sexo feminino associado ao risco de ter MNT, pois em nosso estudo os aposentados e donas de casa são os principais pacientes com MNT. Atualmente, ser apenas dona de casa está mais relacionado a mulheres de idade mais avançada. Profissionais liberais e lavradores apresentaram menor frequência da doença, mas a presença de comorbidades pulmonares preexistentes e a exposição ao meio ambiente durante suas atividades pode favorecer a infecção.

Estudos realizados nos Estados Unidos da América sobre infecções pulmonares por MNT foram associados a áreas mais densamente povoadas, sugerindo que a exposição às águas de abastecimento municipal, predispõe os indivíduos a doença (Wintrop, Varley, Ory et al, 2001). No Japão, as infecções por MNT eram mais prevalentes em agricultores e jardineiros do que em pacientes urbanos com bronquiectasias, sugerindo uma maior exposição ao solo do que fontes de água (Maekawa, Ito, Hirai et al, 2011). Em nosso estudo, a maioria dos pacientes reside em área urbana sugerindo que a fonte de exposição possa ser a água. Portanto estudos devem ser direcionados para a investigação de MNT em fontes de água no Piauí.

A tabela 6 descreve as características clínicas dos pacientes. Observou-se que a forma pulmonar é predominante entre os pacientes (95%, 37/39). Os dois casos de infecções por MNT extrapulmonar (5 %, 2/39) ocorreram em sítio estéril (punção de linfonodo e líquido cefalorraquidiano), entretanto um é uma criança de 9 anos e o outro um homem de 50 anos, respectivamente. O homem é portador de HIV/AIDS, porém não foi informado o status sorológico para HIV/AIDS da criança, mas a linfadenopatia é rara em adultos não infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e frequente na infância (Antunes, 2012). Na infância observa-se associação de ausência de vacinação BCG e linfadenite. A ingestão de material infectado pode ser a fonte de infecção (Campos, 2000). O processo infeccioso, geralmente, se inicia de ferimento na gengiva ou na mucosa faríngea e acarreta drenagem linfática para os linfonodos satélites (Hadad, et al 2005). Entretanto, em nosso estudo MNT, não havia mais informações epidemiológicas desta criança.

Tabela 6: Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com infecção por MNT, identificado período de janeiro de 2010 a julho de 2016 no, LACEN-PI.

VARIÁVEIS	N	%
Amostra		
Pulmonar	37	94,90%
Extrapulmonar	2	5,10%
Contato com TB		
Não	37	94,90%
Sim	1	2,60%
Não informado	1	2,60%
Tratou TB		
Tratou	29	74,40%
Não tratou	6	15,40%
Não informado	4	10,30%
Raio X		
Suspeito	37	94,90%
Não realizado	1	2,60%
Não informado	1	2,60%
Comorbidade		
Bronquiectasia	3	7,70%
Gastrite	3	7,70%
Artrite Reumática	1	2,60%
Asma	2	5,10%
Diabetes	2	5,10%
Tabagismo	1	2,60%
Alcoolismo	3	7,70%
Intervenção cirúrgica pulmonar	2	5,10%
Deficiente auditivo	1	2,60%
Hipertensão	2	5,10%
Infecção Fúngica/Bacteriana	2	5,10%
Não informado	24	61,50%
HIV		
Negativo	29	74,40%
Positivo	1	2,60%
Não informado	5	12,80%
Não realizado	4	10,30%
Desfecho		
Em tratamento para MNT	6	15,38%
Abandono de tratamento para MNT	2	5,10%
Cura	1	2,60%
Óbito	3	7,70%
Recidiva/Investigação	1	2,60%

Não Informado	24	61,50%
Óbito outra causa	2	5,10%

Legenda: N, frequência absoluta; %, frequência relativa.

A doença na forma pulmonar foi mais frequente (94,9% dos casos), similar a outros estudos descritos na literatura. Em estudo de Pedro et al (2008), realizado em São José do Rio Preto, durante o período de 1996 a 2005, também houve predominância da forma clínica pulmonar (78,6%). Sendo as amostras de escarro mais comuns, com 132 cepas (73,2%) de MAC e 11 cepas (6%) isoladas de lavados gástricos e brônquicos. Enquanto, no estudo realizado entre 1991 e 1997, Ueki et al (2005) identificaram 29,3% de isolados provenientes de doença disseminada, 15,8% de origem extrapulmonar, e apenas 48% tiveram origem pulmonar. Estes dados refletem a realidade do período que antecedeu a expansão da terapia antirretroviral, no qual a doença disseminada por MAC era relatada com alta frequência.

De acordo com Wassilew (2016), vários fatores podem contribuir para a ocorrência de MNT pulmonar, dentre estes o fator idade mais avançada e previamente tratado para tuberculose, bem como DPOC, bronquiectasias e fibrose cística. Nos EUA, encontraram como principais fatores de risco para o adoecimento por MNT na forma pulmonar a DPOC (28%), bronquiectasias (16%), doença gastroesofágica (8%), *diabetes mellitus* (7%) e artrite reumatóide (3%). Em nosso estudo não foi possível obter essas informações em 61,5% (24/39) pacientes, mas identificou-se proporções similares para bronquiectasia (7,7%), gastrite (7,7%), *diabetes mellitus* (5,1%), infecção fúngica (5,1%) e artrite reumatoide (2,6%). Além destes fatores alcoolismo, tabagismo e doenças pulmonares preexistentes também são associados à MNT (Lencher et al, 2013) e foram também evidenciados em nosso estudo (tabela 6).

Nos Estados Unidos da América, mais de 90% das culturas de MNT são provenientes de secreções pulmonares (O'Brien et al, 1987), característica esta também encontrada em nosso estudo. Na era da epidemia por HIV as MNT eram comumente cultivadas a partir de sangue, e isto foi consistente com achados também no Brasil (Ferreira, et al, 2002; Senna et al, 2011; Oplustil et al, 2011). Após a introdução da terapia anti-retroviral e profilaxia adequada as infecções disseminadas diminuíram substancialmente, inclusive no Brasil (Gadelha et al, 2002). Portanto, é importante notar que em nosso estudo, dentre os pacientes que realizaram o teste sorológico para

HIV/AIDS (29/39, 74,3 %), as MNT isoladas são majoritariamente de infecções em pacientes HIV negativo (Tabela 6).

Apenas um paciente referiu ter contato com tuberculose; e 74% (29/39) já haviam realizado tratamento anterior para a doença. Castro et al (1999) descreveram que tuberculose em atividade ou curada são fatores de riscos para adoecimento por MNT. De acordo com Oliveira e Carvalho (2000), pacientes curados por tuberculose podem ainda apresentar bacilos dormentes, que poderiam se multiplicar em condições de comprometimento do sistema imunológico, e nesse momento, as cepas de MNT (ubíquas) oportunizaria o risco de infecção e doença.

Quanto ao desfecho dos dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes com infecção por MNT identificados no LACEN-PI, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, embora sem informação para 61% dos casos, é importante mencionar que o abandono do tratamento pode ser explicado pelos efeitos adversos dos fármacos, pois os esquemas terapêuticos, como na tuberculose, são sempre com mais de uma droga, pois a monoterapia é contraindicada. A posologia deve ser diária e, iniciada a medicação, a cultura torna-se negativa, geralmente, em 6 a 12 meses. O tratamento medicamentoso deverá estender-se para 18 a 24 meses, aproximadamente 1 ano após negatificação da cultura (Campos, 2000; Brasil, 2012)

Os testes laboratoriais empregados na identificação das MNT isolado estão descritos na tabela 7. A presença de BAAR foi identificada em 61,4% (24/39) dos pacientes, sinalizando para a presença de micobacteriose, mas não distingue a espécie. A baciloscopia negativa pode ocorrer em amostras paucibacilares, isto é, amostras cuja concentração de bacilos seja inferior ao limite mínimo (5.000 a 10.000 bacilos/ml) para visualização de BAAR em esfregaço (Lima, 2010).

Tabela 7: Identificação laboratorial das espécies de MNT identificadas no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, LACEN-PI.

	Variáveis	N	%	P
BAAR				
	Negativo	15	38,5%	0,1495
	Positivo	24	61,5%	
GeneXpert				
	Não detectável	10	25,6%	<0,001***
	Não realizado	28	71,8%	
	Não informado	1	2,6%	
PNB				
	Com crescimento	28	71,8%	<0,001***
	Sem crescimento	1	2,6%	
	Não informado	10	25,6%	
Fator Corda				
	Não informado	2	5,1%	<0,001***
	Ausente	34	87,2%	
	Presente	3	7,70%	
MPT64				
	Não reagente	19	48,7%	0,8728
	Não realizado	20	51,3%	

Legenda: BAAR- bacilos álcool ácido resistentes pela coloração de Ziehl-Neelsen. PNB- para nitro benzoico. n, frequência absoluta; %, frequência relativa; p valor: teste Pearson Qui-quadrado, com IC 95% e significância a $p < 0,05$.

O teste de PCR em tempo real do método molecular automatizado GeneXpert é desenhada para detectar DNA de *M.tuberculosis*, e embora realizado em apenas 25,6 % dos pacientes (10/29) resultou negativo em todas as amostras. O teste não pode ser realizados em todas as amostras porque o LACEN-PI recebeu o equipamento em setembro de 2014, e assim como o teste imunocromatográfico MPT64, foi utilizado nos espécimes a partir desta data. O teste MPT64 é também utilizado para identificação de *M. tuberculosis*, e resultou 100% negativo nas amostras ensaiadas. Em nossa experiência o uso dos testes imunocromatográficos aliado à metodologia automatizada (meios líquidos) reduz o tempo de identificação, objetivo recente da OMS (Kumar et al, 2011).

O equipamento GeneXPRT assim como testes imunocromatográficos permitem distinguir MNT e CMTB, contudo no Brasil o teste rápido molecular é uma ferramenta de diagnóstico restrita. O LACEN – PI recebeu esse equipamento, por se enquadrar em um ou mais critérios epidemiológicos do Ministério da Saúde: municípios com mais de 200

casos novos de tuberculose notificados em 2012 e/ou municípios considerados estratégicos (municípios com grande população prisional, população indígena e algumas cidades de fronteiras) (Brasil, 2013).

O teste de crescimento em PNB foi positivo para 71,8% (28/39) das culturas, e a ausência de formação do fator corda foi evidenciada em 87,2% (34/39) das culturas (tabela 2), ambos resultados esperados para a presença de MNT no espécime clínico. Resultado falso para o fator corda foi encontrado para três espécies (*M.sherissi*, *M. simiae* e *M. abscessus subspécie bolletti*), corroborando a literatura que descreve essa característica como incomum para MNT (Giampaglia et al, 2007).

Foram identificadas 12 espécies de MNT, de crescimento rápido e lento, com prevalência de cepas do grupo *abscessus* (33,4%; 13/39) (*M. abscessus subespécie bolleti* e *M. abscessus subspécie abscessus*) e Complexo MAC (25,5%; 10/39) (Complexo MAC (*M. intracellulare/chimaera* e *M. avium*), seguida de *M. kansasii* (10%; 4/39), *M.asiaticum* e *M.fortuitum* (7,5%; 3/39, cada); *M. heidelbergense*, *M.simiae*, *M.sherissi* e *M.szulgai* (2,5%; 1/39, cada) e 7,5% (3/39) de Micobactérias sp (Figura 19).

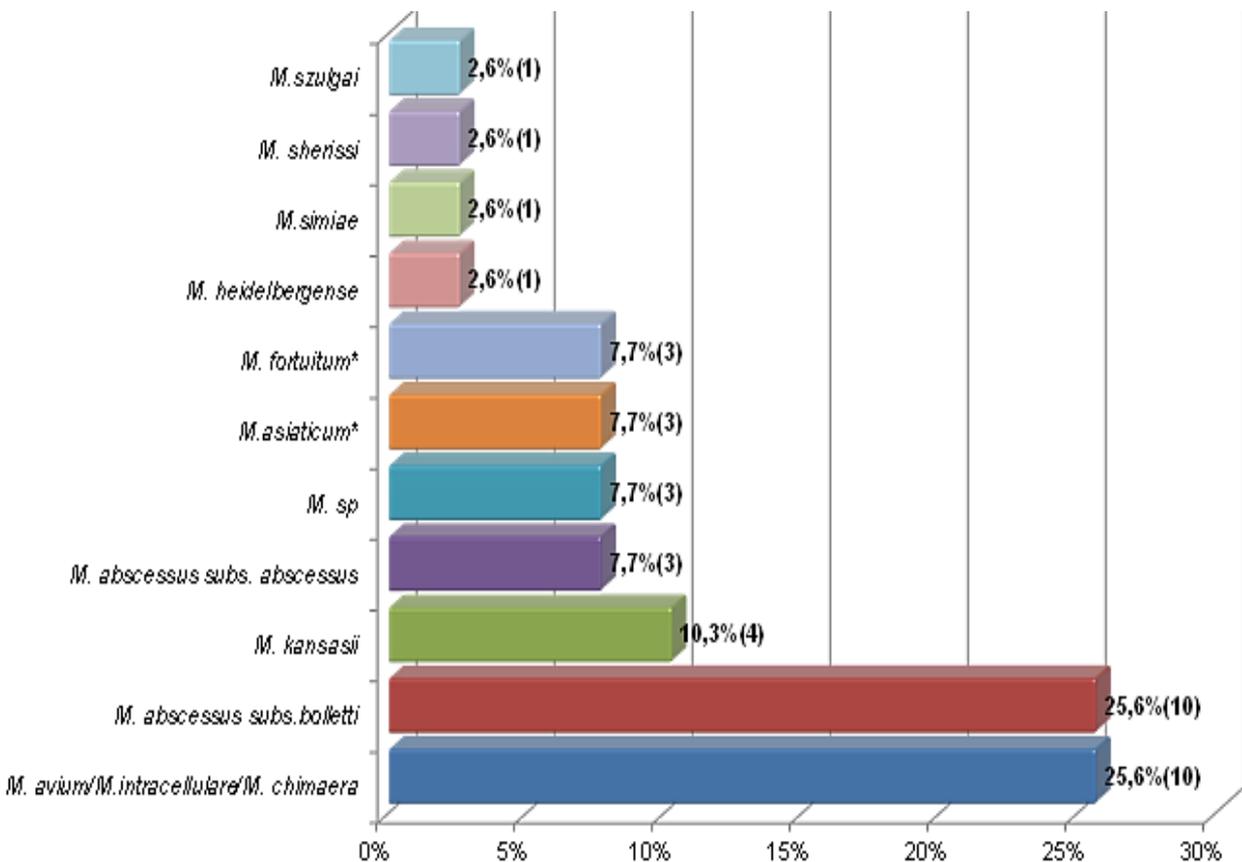


Figura19: Frequência de espécies de micobactérias não tuberculosas identificadas por técnicas moleculares de amostras clínicas, período de janeiro de 2010 a julho de 2016, pelo CRPHF/RJ.

Ao contrário da TB, o isolamento de NTM em espécimes pulmonares nem sempre significa doença. Em um esforço para padronizar a definição de infecção por MNT, a Sociedade Torácica America (ATS) e a Sociedade de Doenças Infecciosas da América (IDSA) publicaram diretrizes em 2007 (Griffith et al, 2007). A diversidade de espécies de MNT encontradas no Brasil, possivelmente está relacionada às diferentes condições ambientais (Oliveira, 2015). Em relatório divulgado pela Anvisa, sobre casos de infecções por MNT notificados entre 1998 a 2009 em 23 estados do Brasil, observou-se que as espécies mais prevalentes eram: *M. abscessus subespécie bolletti* (30,4%, 257), *M. fortuitum* (13,8%, 117) e *M. chelonae* (1,5%, 17); esta última espécie não foi identificada em pacientes do nosso estudo (BRASIL, 2011). Entre 2000 a 2005 na Baixada Santista, Zamariolli et al (2008) isolaram 13 espécies diferentes de MNT (*M. kansasii*, Complexo *M. avium*, *M. fortuitum* e *M. intracellulare*), todas também encontradas em nosso estudo, e isoladas de espécimes pulmonares (escarro). Por outro lado, em um extenso estudo de revisão de identificação de MNT em espécimes pulmonares do Brasil (48 %) e Portugal (49 %) MAC foi o grupo mais frequentemente identificado, seguida de *M. kansasii* (17 %) e *M. gordonae* (16 %), respectivamente (Costa et al, 2016). Em nosso estudo, igualmente foi encontrada prevalência de MAC (25,6 %), mas diferentemente *M. abscessus (subespécie bolletti e abscessus)* foi mais prevalente (33,3 %). No período de janeiro a junho de 2011, houve um surto por MNT em clínicas e hospitais particulares do Pará, sendo *M. bolletti* a espécie responsável pelas infecções, que foram relacionadas a procedimentos cirúrgicos invasivos (Carvalho, 2012). Em Pernambuco, as cepas responsáveis por doença pulmonar, mais frequentes foram *M. kansasii* (77,3%), *M. abscessus* (13,7%) e *M. intracellulare* (9%) (Guarines et al, 2017). Estes achados podem estar sugerindo que *M. bolletti* possa estar se difundindo na região norte/nordeste e estudos epidemiológicos em fontes ambientais são necessários.

Restrepo et al (2009) descrevem, em estudo de isolamento de MNT de ambientes cirúrgicos (luvas de procedimento, água de duas torneiras do centro cirúrgico e soluções usadas durante os procedimentos cirúrgicos), em um Hospital Público de Manaus, ter identificado *M. celatum*, *M. gordonae*, *M. lentiflavum*, *M. mucogenicum* e *M. intracellulare*; esta última foi também identificada em nosso estudo. *M. kansasii*, *M. abscessus* e *M. bolletti* foram as espécies comuns identificadas no estudo de Bona et al (2011) realizado em 2007 no Piauí. O estudo de Santos (2015), analisando apenas os

anos de 2014-15, no LACEN-Piauí, confirma identificação de *M. abscessus* e MAC, mas 20% dos casos suspeitos de MNT não puderam ser identificados por limitação técnica. Portanto, os grupos *M. abscessus*, MAC e *M. kansasii* podem estar clusterizados no Piauí, mas estudo epidemiológico mais abrangente, analisando isolados de ambiente e pacientes é necessário para confirmar esta hipótese. Concomitantemente, melhores esforços para identificar todas as MNT isoladas são imprescindíveis.

Embora ainda pouco compreendido, sabe-se que os organismos de MNT tendem a se agrupar em distribuições associadas a áreas geográficas específicas. Nos Estados Unidos da América, *M. kansasii* é mais comumente encontrado nas regiões sul e central (Griffith et al, 2007). No entanto, fora de áreas geograficamente endêmicas estes microrganismos tem prevalência alta em áreas onde os casos de HIV são frequentes (Bloch et al, 1998). *M. abscessus*, por sua vez é descrito ser comumente identificado no sudeste dos Estados Unidos, da Florida ao Texas, mas também foi identificado fora desta região (Griffith et al, 2007). Nos Estados Unidos permanece mais frequente, nesta ordem, as MNT MAC, *Mycobacterium kansasii*, e *Mycobacterium abscessus*.

A identificação de *Mycobacterium abscessus* de origem respiratória, geralmente, não é tão frequente quanto MAC e *M. kansasii*, mas sua presença em infecção pulmonar se reveste de maior gravidade e requer especial atenção devido a sua resistência aos quimioterápicos e portanto não havendo um esquema terapêutico disponível para seu tratamento, contrariamente os MAC e *M. kansasii*, e, portanto, com prognóstico de cura deficitário (Mello et al, 2013; Bona et al, 2011).

M. abscessus subespécie *bolletii*, segundo Katoch (2004), na forma pulmonar são menos frequentes, enquanto MAC é a mais isolada em pacientes idosos na fase inicial de AIDS. A cepa *M. abscessus* subespécie *bolletii* foi a espécie responsável pela doença na criança de 9 anos e no homem de 50 anos com HIV/AIDS. *M. abscessus* na literatura está associado a procedimentos médicos invasivos ou cirúrgicos e traumas, causam infecções sérias que requerem a atenção médica, pois, geralmente, acometem pele e os tecidos subcutâneos. Pertencem ao grupo classificados como micobactérias de crescimento rápido (MCR) e são bastante resistentes a antibióticos (Fontana, 2008). A escolha das drogas deve considerar perfil de sensibilidade da cepa e as orientações das comissões de controle de infecção hospitalar. As MCR de forma geral exigem tratamento prolongado. A remoção cirúrgica de tecidos e debridamento podem ser necessárias para o sucesso terapêutico (Brasil, 2007).

A micobactéria rara *M. heidelbergense* foi isolada em amostra escarro paucibacilar (1 BAAR) em dois espécimes clínicos (2,5%), de um paciente idoso com tratamento anterior de tuberculose e lavrador (tabela 19). *M.heidelbergense* foi descrito pela primeira vez em 1997, em Heidelberg na Alemanha, em tecido linfático de uma criança com linfadenite. É uma micobactéria de crescimento lento não cromogênica que se assemelha a *M. malmoense* e sua distinção pode ser realizada por análise lipídica em cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e cromatografia em camada fina (TLC). Após a sua descrição, foi isolada em amostra de urina, escarro e lavado gástrico em pacientes adultos HIV soronegativos em um Hospital de Referência alemão. Nos anos seguintes foi identificado em paciente com doença pulmonar, que se suspeitava de malignidade, na Suíça. O PRA *hsp65* e o sequenciamento do gene 16S rRNA permitiu a confirmação desta nova espécie (Brown-Elliott et al, 2002; Tortolli, 2003).

Em estudo retrospectivo de revisão, *M. fortuitum* é descrito em percentual similar em Portugal (6 %) e Brasil (7%) (COSTA et al 2016), aliás o mesmo percentual evidenciado no presente estudo. Entretanto, isolamento de *M. fortuitum* não parece ser clinicamente significativo como para MAC, *M. kansasii* e *M. abscessus*. Frequentemente, é apenas indicativo de colonização transitória em pacientes com doença pulmonar subjacente e não progride mesmo sem administração de antimicrobianos específico (Park et al, 2008). No entanto, pode causar doença pulmonar em humanos, particularmente em pacientes com distúrbios gastroesofágicos (Griffith et al, 2007). No Brasil, entre os casos que atendiam aos critérios da ATS para infecção por MNT, quatro casos foram descritos em São Paulo (Pedro et al, 2008), e 11 no Rio de Janeiro, mas apenas 5 foram curados com sucesso (Mello et al, 2013).

Em nosso estudo foram identificados cinco pacientes com múltipla espécie de MNT: *M.fortuitum* e *M.intracellulare/M.chimaera* foram identificadas na primeira e segunda amostra, escarro e lavado brônquico alveolar, respectivamente (a terceira amostra estava contaminada e foi excluída). Era uma paciente do sexo feminino, idosa (70 anos) e com alterações sugestivas em imagem radiológica de tórax. O segundo caso constituiu-se de paciente do sexo feminino, 69 anos, imagem radiográfica de tórax com alterações sugestivas, perda de peso e tratamento anterior para TB, *M.asiaticum* e *M.intracellulare/M.chimaera* foram identificadas de duas amostras de escarro. O terceiro caso com amostra única de lavado brônquico alveolar foi identificado *M. intracellulare/M.chimaera*. Era um paciente do sexo masculino, 36 anos, com infecção fúngica (*Cryptococcus sp*) e bacteriana (*Neisseria meningitidis grupo "C"*). O quarto

paciente é um homem idoso (69 anos), imagem radiográfica de tórax com alterações sugestivas, perda de peso e HIV/AIDS negativo, foi identificado em amostra única de lavado brônquico alveolar *M.intracellulare/M.chimaera*. O quinto paciente é uma idosa de 63 anos e com tratamento anterior para tuberculose, foi identificado em amostra única de secreção traqueal *M.intracellulare/ M.chimaera*. Usualmente, a identificação de mais de uma espécie sugere contaminação e para determinar qual cepa é realmente a causadora da infecção é necessário considerar em quantas amostras foi identificada, o número de colônias da primeira cultura, o espectro das drogas para as quais tenham sido testadas e as comorbidades presentes. Estes casos são fortes suspeitos de albergarem infecção mista já que possuem alteração de imagem radiográfica de tórax sugestiva e doença de base pulmonar, mas não possuíam confirmação dos isolados em outras amostra (usualmente três) por testes moleculares (Inhumaru et al, 2005). Estes casos devem ter a evolução clínica acompanhada cuidadosamente, pois falha no tratamento sugere a presença de infecção mista que necessita ser investigada. Portanto, maior interação entre a clínica, laboratório e patologista é necessária para melhor manejo dos pacientes.

O diagnóstico de infecção pulmonar por MNT requer a presença de sintomas, anormalidades radiológicas sugestivas (que muitas vezes são inespecíficas) e culturas microbiológicas com espécimes clínicos adequados (um único lavado brônquico alveolar, duas amostras de escarro ou de tecido respiratório demonstrando histopatologia granulomatosa), em conjunto com exclusão de outros microorganismos, como *M.tuberculosis*, como agente etiológico do caso. A maioria desses critérios foram cumpridos e a infecção por MNT foi confirmada em 39/123 (32,7%) dos casos suspeitos e em 8,7% de todas as culturas positivas para micobactérias. A maioria dos casos em nosso estudo era de base pulmonar e com comorbidade respiratória e imunológica.

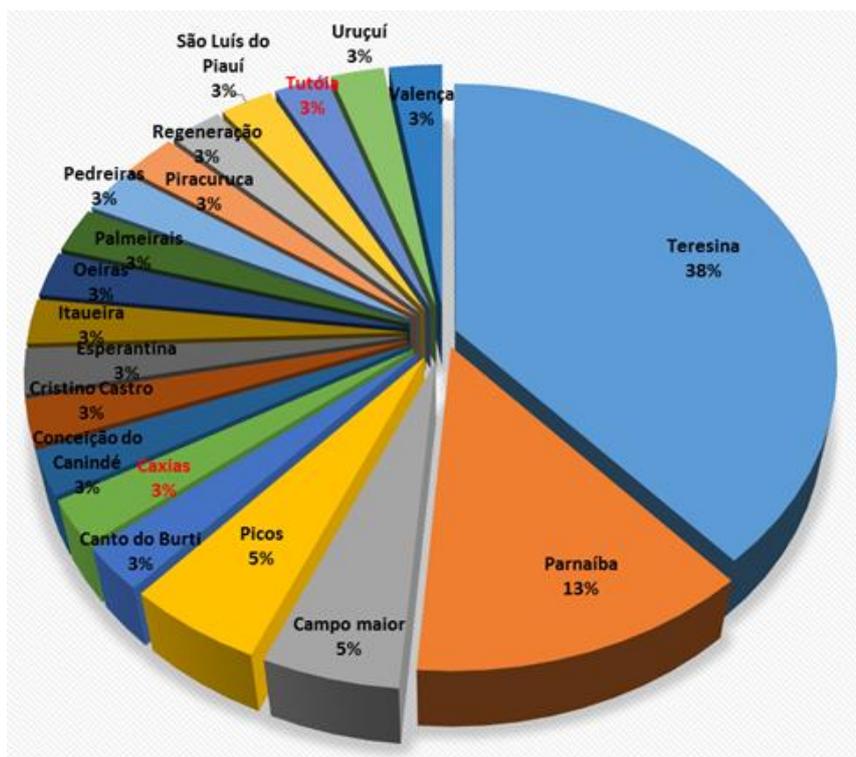


Figura 20: Frequência de pacientes identificados com infecção por MNT de acordo com o município de residência, no período de janeiro de 2010 a julho de 2016, LACEN-PI. Letras vermelhas cidades do estado do Maranhão: Tutóia, Pedreiras e Caxias.

A maioria dos pacientes do nosso estudo vive em grandes centros urbanos e alguns poucos na área rural. As cidades com maior número de casos identificados são de pacientes residentes nas cidades que realizam a cultura pelo método Ogawa-Kudoh: Teresina 38% (15/39), Parnaíba 13% (5/39) e Picos 5% (2/39) (Figura 21). A geografia territorial do estado também interfere no fluxo envio de amostras para o LACEN-PI, somados a dificuldade em atender os critérios de envio das amostras (transporte e acondicionamento) (Figura 20), sugere estar ocorrendo subnotificação em outras áreas. A predominância da doença pulmonar, sugere, portanto, que as fontes de água, ar e solo, nos grandes centros urbanos do Piauí, sejam fatores de risco para MNT. Por outro lado, para se ter melhor conhecimento dos fatores etiológicos nos centros participantes, do presente estudo, investir em estrutura básica é primordial, mas não basta equipar a unidade de investigação diagnóstica com metodologias automatizadas eficientes e caras, é também crucial a compreensão e interação médico, paciente e infraestrutura diagnóstica para melhor servir a população afetada por estas infecções. Para tal suscitar

discussões sobre procedimentos necessários para obtenção de espécimes clínicos válidos para diagnóstico mais preciso devem ser implementados de forma a servir de base para melhores estratégias de medidas de prevenção e controle dessas doenças emergentes.

Os resultados aqui apresentados mostraram algumas limitações importantes para a caracterização da infecção por MNT, primeiramente pela ausência de informações em alguns campos das fichas do GAL e SINAN. Essas poderiam ter sido complementadas, através da coleta de informações em prontuários médicos do Serviço de Pneumologia do Estado, e ainda no Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose, pois nele são notificados casos de TB com indicação de tratamentos especiais (reações adversas, toxicidade, resistência e notificados casos de MNT que devam ser atendidos por unidades de referência terciária). Entretanto, nosso estudo não foi desenhado para complementar dados nos sistemas de informação oficial, pois isto requereria autorização especial das instituições responsáveis, nova submissão ao Comitê de Ética nas diferentes instituições o que extrapolaria o tempo do presente estudo.

6.CONCLUSÃO

- Entre janeiro de 2010 a julho de 2016 o LACEN-PI diagnosticou 31,7% (39/123) de pacientes com infecção por micobactérias não tuberculosas, através de testes moleculares, refletindo frequência de 8,7% (39/446) de casos de MNT entre as culturas positivas do LACEN-PI;
- Observou-se detecção de 20% de pacientes diagnosticados com MNT em 2016, taxa esta maior que os anos anteriores.
- A partir de 2015 foi implantado no LACEN-PI metodologias automatizadas o que talvez tenha favorecido a identificação positiva de MNT entre os casos suspeitos, relativo aos anos anteriores.
- A doença na forma pulmonar foi mais prevalente (95%, 37/39);
- Das 12 espécies do Complexo MNT identificadas, o Grupo *abscessus* (*M.abscessus subespécie abscessus* e *M.abscessus subespécie bolletii*) foi predominante, seguido do Complexo MAC e *M.kansasii*;
- A espécie rara de MNT, *Mycobacterium heidelbergense*, foi identificada no período;
- Os municípios do estado com maior frequência de casos diagnosticados foram Teresina (Capital) 15/39; Parnaíba 13% (5/39) e Picos 5% (2/39), sendo três casos provenientes de municípios do estado do Maranhão (Caxias, Pedreiras e Tutóia).

7.PERSPECTIVAS

- Considerando que as metodologias automatizadas foram inseridas no ano de 2015, é necessário avaliar seus resultados de forma prospectiva nos anos posteriores;
- Ampliar o estudo epidemiológico, clínico e laboratorial, buscando informações em prontuários clínicos dos serviços que estejam acompanhando os pacientes, bem como a ferramenta SITE TB;
- Ampliar o estudo de identificação de MNT no Piauí e suscitar discussões sobre medidas de prevenção e controle dessas doenças emergentes;

8.REFERÊNCIAS

Abe C, Hirano K, Tomiyama T. Simple and rapid identification of the Mycobacterium tuberculosis complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. J. Clin. Microbiol. 1999; 37: 3693-3697.

Adjemian, J.; Olivier Kenneth N.; Seitz, Amy E. et al. Prevalence of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in U.S. Medicare Beneficiaries. Am J Respir Crit Care Med. 2012 Apr 15; 185(8): 881–886

Agertt, Vanessa Albertina. Identification of mycobacteria isolated at University Hospital of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. J Bras Patol Med Lab, 2013, 49 (2): 115-117, 2013

Antunes, Ana; Viveiros, Filipa, Carvalho, Aurora; Duarte, Raquel. Micobacterioses Não-Tuberculosas - Das Manifestações Clínicas ao Tratamento. Arquivos de Medicina. 2012 ;269(1): 25-30

Brasil (Anvisa). Infecção por Mycobacterium abscessus Diagnóstico e tratamento. Informe Técnico no 1. Gerencia de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde, [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2007 [citado em 2016 nov 03] Disponível em: http://www.saude.mt.gov.br/upload/controle-infecoes/pasta3/informe_tecnico_anvisa_n_1_infeccao_por_mycobacterium_abscessus_diagnostico_e_tratamento.pdf

Brasil (Anvisa). Relatório descrito de investigação de casos de infecções por micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido (MCR) no Brasil no período de 1998 A 2009. Unidade de Investigação e Prevenção das Infecções e dos Eventos Adversos Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde – GGTES, [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2011 [citado em 2016 nov 08] Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite_micobacteria/relatorio_descrito_mcr_16_02_11.pdf

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_laboratorial_tuberculose.pdf.

Brasil. Protocolo Estadual de Vigilância e Manejo Clínico das Doenças Pulmonares e Disseminadas Causadas por Micobactérias Não Tuberculosas (MNT). DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, Santa Catarina, 2012

Bensi EP, Panunto PC, Ramos Mde C. Incidence of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria, differentiated by multiplex PCR, in clinical specimens of a large general hospital. Clinics.2013; 68(2): 179-84

Bertoletti, A C D; Alves, K J F; Chimara, E; Aily, A C G. Isolamento de micobactérias provenientes de amostras clínicas da região de Rio Claro: análise da frequência. Rev. Inst Adolfo Lutz.; 70(4):622-30, 2011

Bombarda, Sidney et al. Recomendações para o Diagnóstico e Tratamento das Micobacterioses Não Tuberculosas no Estado de São Paulo.2011. [Internet]. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/tuberculose/doc/tb11_3mntsb.pdf

Bona, M G M, et al. Análise de restrição enzimática do gene hsp65 de isolados clínicos de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar em Teresina, Piauí. J. bras. Pneumol, 2011, 37 (5) 628-635.

Bloch, K C; Zwerling, L, Pletcher; MJ, et al. Incidence and clinical implications of isolation of Mycobacterium kansasii: results of a 5-year, population-based study. Ann Intern Med 1998;129:698-704

Brown-Elliott B A; Griffith, DE; Wallace R J Jr. Newly described or emerging human species of nontuberculous mycobacteria. Infect Dis Clin North Am, 2002; 16 (1): 187-220.

Cardoso, A M et al. Emergence of nosocomial Mycobacterium massiliense infection in Goiás, Brazil. A.M. Cardoso et al. / Microbes and Infection, 2008, 10:1552-1557

Carvalho, N F G de; Ferrazoli, L; Acosta, M B R, Chimara, E.. Caracterização dos surtos causados pelo grupo Mycobacterium abscessus. Rev Inst Adolfo Lutz, 2012; 71(2):228-36

Castro, Elcineide Soares. Micobactérias não tuberculosas: aspectos clínicos e epidemiológicos e análise de espécies identificadas pela metodologia PRA. Universidade Federal do Ceará. 2012.

Castro, R S e; Vasconcelos, O; Horta, A A; Rodrigues, F; Pereira, M. F; Marques, R. A. -. Infecções por micobactérias atípicas. Acta Médica Portuguesa, 1999, (12) 371-379

Carvalho, B T C; Iazzetti, Antônio V; Ferrarini, M A G; Campos, S O.; Iazzetti, M A, Carlesse, F A M C. Sepsis por Salmonella associada à deficiência do receptor da interleucina-12 (IL-12Rβ1). Jornal de Pediatria, 2003, 79(3): 273-276

Cerca, Pedro Alexandre Rodrigues. Identificação de micobactérias não tuberculosas através de métodos moleculares não comerciais. Universidade Nova de Lisboa, 2010.

Coelho AG, Zamarioli LA, Reis CM, Duca BF. Detection of cord factor for the presumptive identification of Mycobacterium tuberculosis complex. J Bras Pneumol. 2007 Nov-Dec; 33(6):707-11.

Cook, J. L. Nontuberculous mycobacteria: opportunistic environmental pathogens for predisposed hosts. British Medical Bulletin, 2010, 96(1), 45-59

Costa, Ana Roberta Fusco da. Caracterização genética de micobactérias não tuberculosas isoladas de espécimes clínicos pulmonares no estado do Pará. Universidade Federal do Pará. Programa de Pós Graduação em Medicina Tropicais, 2012

Costa, Ana Roberta Fusco da; Conceição, Emilyn da Costa. Identificação genotípica de membros do complexo Mycobacterium avium isolados de infecções pulmonares no Estado do Pará, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude 2010; 1(3):35-42

Costa, D N; Alarico, S; Dalcolmo, M P; Neves, M C; Empadinha, N. The looming tide of nontuberculous mycobacterial infections in Portugal and Brazil. *Tuberculosis* 96 (2016):107-119

Chimara E, Ferrazoli L, Ueky SY, Martins MC, Durham AM, Arbeit RD, Leão SC. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction enzyme analysis (PRA)-hsp65 in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based extended algorithm of PRA-hsp65 patterns. *BMC Microbiol.* 2008; 8 (1) 1-12

Dabó; H ; Santos, V ; Marinho, A ; Ramos, A C, Teresa; Ribeiro, M; Amorim, A . Micobactérias não tuberculosas em espécimes respiratórios: significado clínico em um hospital terciário no norte de Portugal. *J. bras. Pneumol*, 2015, 41 (3): 45-59

Dalcomo, Margareth. Importância das micobacterioses nas supurações broncopulmonares crônicas. *Pulmão RJ*, 2014, 23(3):37-41

Devallois, A, Goh, KS; Rastogi, N. Rapid identification of mycobacteria to species level by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the hsp65 gene and proposition of an algorithm to differentiate 34 mycobacterial species. *J Clin Microbiol* 1997; 35(1): 2969–73

Feyzioglu B, Dogan M, Sanli O O, Ozdemir M, Baykan M. Comparison of the performance of TK system with LJ and MGIT methods in the diagnosis of tuberculosis. *Int J Clin Exp Med.* 2014 Apr 15; 7(4): 1084-1088

Ferreira RMC, Saad MHF, Da Silva MG, De Souza Fonseca L. Non-tuberculous mycobacteria I: one year clinical isolates identification in tertiary hospital aids reference center, Rio de Janeiro, Brazil, in pre highly active antirretroviral therapy era. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002, 97:725- 729;

Fontana, Rosane Teresinha. As micobactérias de crescimento rápido e infecção hospitalar: Um problema de Saúde Pública. *Rev Bras Enferm*, Brasília, 2008; 61(3): 371-376

Froes, GC et al. Perfil e seguimento dos pacientes portadores de Mycobacterium sp. do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. *J Pneumol*, 2003 29(6): 365-370

Furini, A A C.; Pedro, H S.P.; Montenegro, L M L.; Machado, R L D; Schindler C F H C; Rossit, A R B. A infecção por Mycobacterium tuberculosis e micobactérias não tuberculosas na infância: um desafio diagnóstico. *Arq Ciênc Saúde*, 2010 out-dez; 17(4): 206-212

Gadelha A, Accacio N, Grinzstejn B, Veloso V, da Silveira LB, Fandinho F, Saad MH, Lourenço MC, Rolla V. Low incidence of colonization and no cases of disseminated Mycobacterium avium Complex infection (DMAC) in Brazilian AIDS patients in the HAART era. *Braz J Infect Dis.* 2002, 6:252–257

Giampaglia, C. M. S; Martins, M. C; Chimara, E; Oliveira, R. S; Oliveira, G. B. de; Vieira, A. G; Marsico, F. C. Q; Mello, L. de S F A; Kritski, M. A. da S T. Diferenciação entre Mycobacterium tuberculosis e outras Micobactérias com ácido r-nitrobenzóico utilizando o sistema MGIT960. *INT J TUBERC LUNG DIS*, 2007 11(7):803–807

Gitti, Zoe; Neonakis, Ioannis; Fantj; Garyfallia; Kontos, Fanourios; Maraki, Sofia and Tselentis, Yiannis. Use of the GenoType Mycobacterium CM and AS Assays To Analyze 76 Nontuberculous Mycobacterial Isolates from Greece. *J Clin Microbiol*, 2006 Jun; 44(6): 2244–2246

Graça, Ednelza da Silva. Caracterização dos Níveis Plasmáticos de polimorfismos +874T/A no gene INF γ em pacientes com diferentes formas clínicas de tuberculose. Universidade Federal do Pará. Programa de Pós Graduação. Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Universidade Federal do Pará, 2009

Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367-416

Guarinesa, Klarissa Miranda, Lima, Andrea Santos, Peixoto, Santos, Aline dos Guedes, Rêgo, Gabriela de Moraes; Schindler, Charifker, Haiana. Identificação molecular das espécies de micobactérias não tuberculosas na forma Pulmonar da doença no estado de Pernambuco. XVIII Congresso Brasileiro de Infectologia, 2017, 49

Hadad, D J et al. Micobacterioses: Recomendações para o Diagnóstico e Tratamento. Secretaria Estadual de Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. 2005. [Internet]. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/tb/MNT_Final_9-12-05a.pdf

Hunter, R L; Olsen, M R; Jagannath, C; Actor, J K. Multiple roles of cord factor in the pathogenesis of primary, secondary, and cavitary tuberculosis, including a revised description of the pathology of secondary disease. *Ann Clin Lab Sci*. 2006; 36(4): 371-86

Inumaru, V. T. G et al. Culturas mistas de micobactérias: é importante isolar e identificar? *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 2005 ,64(1): 137-141

Indrigo J, Hunter RL Jr, Actor JK. Cord factor trehalose 6,6'-dimycolate (TDM) mediates trafficking events during mycobacterial infection of murine macrophages. *Microbiology*. 2003;149(Pt 8):2049-59

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Cidades [Internet] [citado em 02 mar 2017]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>

Lima, Juliana Falcão de Araújo. Identificação de cepas de Mycobacterium spp. utilizando abordagem molecular baseada em PCR para alvo 16S-23S do rDNA. Universidade Federal de Pernambuco. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, 2010

Katoch VM. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J Med Res*. 2004 Oct; 120(4): 290-304.

Kumar, V G S; Tejashree, A U; Ranganath. MPT 64 Antigen detection for Rapid confirmation of M.tuberculosis isolates. *BMC Research Notes*, 2011, 79 (4), 1-4

Lawn, Stephen D; Nicol, Mark P 2011. Xpert® MTB/RIF assay: development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiol*, 2011. 6(9):1067–1082

Lechner, A J.; Matuschak, G ; Brink, D S. Pulmões - Uma Abordagem Integrada à Doença. Artmed Editora, 2013.361-362

Legendre, D P.; Muzny C A; Swiatlo, E. Hansen's disease (Leprosy): current and future pharmacotherapy and treatment of disease-related immunologic reactions, *Pharmacotherapy*, 2012, 32(1):27e37

Lima, Andrea Santos. Fatores e Espécies de Micobactérias Não Tuberculosas associadas aos casos de Micobacterioses Pulmonar e Extrapulmonar no Estado de Pernambuco. Doutorado em Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz/ Centro De Pesquisas Aggeu Magalhães, 2014.

Lima, A S; Guarinesa, K M; Montenegro, L M L; Neves, E; Carneiro, M; Duarte, R S, Schindler, H C. Espécies de MNT associadas aos casos de micobacteriose pulmonar e extrapulmonar no estado de Pernambuco. XVIII Congresso Brasileiro de Infectologia, 2017,57

Lopes, M L; Lima, K V B; Leão, S C; Sousa, M S de; Santi, L Q, Loureiro, E C Brito. Micobacterioses Associadas A Procedimentos Médicos Invasivos em Belém. Trabalho realizado na Seção de Bacteriologia e Micologia- SEBAC do Instituto Evandro Chagas- IEC/ SVS - MS, Pará, 2003.

Menon, L J B; Feliciano, C S; Falango, D; Martinez, R; Bollela, V R .Seis casos clínicos da associação entre micobacteriose não Tuberculosa e micose Pulmonar: uma revisão . XVIII Congresso Brasileiro de Infectologia, 201,56

Maraschin, Mariane de Mello, Tatiana Spader, Débora Alves Nunes Mario, Luana Rossato, Paulo Guilherme Markus Lopes. INFECÇÕES CAUSADAS POR MALASSEZIA: NOVAS ABORDAGENS. *ResearchGate*, 2008, 34 (2):4-8

Marques, Carolina Fonseca. As percepções dos pacientes em tratamento de tuberculose sobre sua doença: uma análise da literatura científica. Fundação Oswaldo Cruz Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, 2011.

Mello, KGC de; Mello, FCQ; Borg, L; Rolla, V; Duarte, RS; Sampaio, EP, et al. Clinical and therapeutic features of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Brazil, 1993-2011. *Emerg Infect Dis* 2013;19:393-9;

Mota, Sandra Patrícia Mendes da Silva. Isolamento e identificação de micobactérias não tuberculosas. Mestrado em Biologia Molecular e Celular. Universidade Aveiro, 2011

Nobre, A; Alarico, S; Maranhã, A; Mendes, V; Empadinhas, N. The molecular biology of mycobacterial trehalose in the quest for advanced tuberculosis therapies. *Microbiology*, 2014, 160 (8), 1547–1570

Novosad, S. A. and Winthrop, K. L .Beyond tumor necrosis factor inhibition: the expanding pipeline of biologic therapies for inflammatory diseases and their associated infectious sequelae. *Clin Infect Dis*, 2014, 58(1):1587–98.)

Nunes, Luciana de Souza. Caracterização Molecular e Determinação da Suscetibilidade de Micobactérias de Crescimento Rápido No Rio Grande Do Sul. Universidade Federal Do Rio Grande do Sul Faculdade de Medicina Programa De Pós-Graduação Em Medicina: Ciências Médicas, 2014

O'Brien RJ, Geiter LJ, Snider de Jr. The epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States. Results from a national survey. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:1007-1014

Oliveira, Anita Santos de. O Complexo *Mycobacterium avium* – caracterização e patogenicidade. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, 2015.

Oliveira, Helenice Bosco de; Moreira, Djalma de Carvalho Filho. Recidivas tuberculose e seus fatores de risco. *Rev Panam Salud Publica*, 2000, 7(4): 1-10

Oplustil CP, Leite OH, Oliveira MS, Sinto SI, Uip DE, Boulos M, et al. Detection of mycobacteria in the bloodstream of patients with acquired immunodeficiency syndrome in a university hospital in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2001,5: 252-9.

Palaci, M; Peres, R. L., R; Maia, E. A. T; Cunha; Ribeiro, M. O; Lecco, R.; de Souza Ribeiro, C.; Ferro e Silva, R. R.; Vinhas, S. A; Dietze, R.; Vianna, S; Morais, C. G. V. de. Contribution of the Ogawa-Kudoh swab culture method to the diagnosis of pulmonary tuberculosis in Brazil. *Int j tuberc lung dis* 17(6):782–786 © 2013 The Union

Park, S; Suh, GY; Chung, MP; Kim H; Kwon, OJ; Lee, KS et al. Clinical significance of *Mycobacterium fortuitum* isolated from respiratory specimens. *Respir Med* 2008;102:437-42

Pedro, H D S P; Pereira, M I F; Goloni, M D R A; Ueki, S Y M; Chimara, E. Nontuberculous mycobacteria isolated in São Jose do Rio Preto, Brazil, between 1996 and 2005. *J Bras Pneumol* 2008, 34:950-955

Piatek, A S; Cleeff, M V, Heather, A; Coggin, W L; Rehr, M; Kampen, S V; Shinnick, T M; Mukadi, YI. GeneXpert for TB diagnosis: planned and purposeful implementation. *Global Health: Science and Practice*, 2013 1(1):18-23

Piersimoni, C e Scarparo, C. Pulmonary infections associated with non-tuberculous mycobacteria in immunocompetent patients. *Lancet*, 2008, 8(1):323-34

Pinhata, Juliana Maira Watanabe. Detecção do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* em escarro por pcr em tempo real. Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, 2014

Portal Brasil.[internet] Saúde [citado em 2016 fev 8]. Disponível em:<http://www.brasil.gov.br/saude/2013/03/teste-rapido-para-diagnosticar-tuberculose-sera-oferecido-no-sus>

Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, et al. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med* 2010,182:970-976

Restrepo A V; Salem, J I; Ogusku M M; Gomes L F; Fraiji N A. Pesquisa de micobactérias ambientais em água de torneira, luvas, e soluções utilizadas em procedimentos cirúrgicos no Hospital Universitário Getúlio Vargas – Manaus/AM. *Acta Amazônica*. 2009, 39(4): 889-899

Richmond L; Cummings M M. An evaluation of methods of testing the virulence of acid-fast bacilli. *Am Rev Tuberc*, 1950, 62(6):632-637

Rodrigues, Inês João dos Santos da Silva. Validação de um algoritmo para identificação de *Mycobacterium* spp. no diagnóstico laboratorial. Mestrado em Microbiologia Clínica. Universidade de Lisboa. Faculdade de Medicina de Lisboa, 2012

Rodriguez G. *Mycobacterias*. Temas de Bacteriología y Virologia. Universidad de La Republica/Facultad de Medicina/Departamento de Bacteriología y Virologia/ Instituto de Higiene. 2006, 2ed, 381-400

Silva, Juliano de Moraes Ferreira. Micobactérias de Crescimento Rápido de Importância Médica no Brasil: Eficácia Antimicrobiana de Desinfetantes e Sistema de Esterilização por Plasma. Universidade de São Paulo. Programa de pós Graduação em Fármacos e Medicamentos, 2010

Santos, Mariana de Oliveira. Micobactérias: Identificação e perfil de sensibilidade a tuberculostáticos em amostras isoladas no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Piauí, 2015

Senna SG, Marsico AG, Betzler G, Vieira DO, Sobral LF, Suffys PN, et al. Identification of nontuberculous mycobacteria isolated from clinical sterile sites in patients at a university hospital in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *J Bras Pneumol* 2011;37:521e6;

Silva, J M I. Caracterização morfológica de micobactérias não tuberculosas ambientais por ensaios neutrográficos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

Silva, Roberto. Detecção do fator corda: utilização de diferentes metodologias com e sem coloração para uma rápida identificação presuntiva do complexo *Mycobacterium tuberculosis*. Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical, 2012

Simeão F C; Chimara, E; Oliveira, R S; Yamauchi, J U; Latrilha, F O; Telles M A. Cord factor detection and macroscopic evaluation of mycobacterial colonies: an efficient combined screening test for the presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex on solid media. *J Bras Pneumol*, 2009, 35(12): 1212-1216

Trench, Belkis; Santos, Claudete Gomes dos. Menopausa ou Menopausas? *Saude sociedade*, 2005,vol(1):91-100.

Ueki S M Y et al, Micobactérias não tuberculosas: diversidade das espécies no estado de São Paulo. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2005, 41(1): 1-8

Wassilew, Nasstasja; Harald Hoffmann; Claire Andrejak; Christoph Lange .Pulmonary Disease Caused by Non-Tuberculous Mycobacteria.. Respiration 2016, 91(1):386–402

Wildner, Letícia Muraro et al. MICOBACTÉRIAS: EPIDEMIOLOGIA E DIAGNÓSTICO. Revista de Patologia Tropical, 2011, 40(3):207-230

Wildner, Letícia Muraro. Isolamento e Identificação de Micobactérias Não-Tuberculosas em Laboratório e Hospital de Referência do Estado de Santa Catarina. Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

Winthrop, Kevin L. ; Varley Cara D. ; Ory, Jill et al. Pulmonary disease associated with nontuberculous mycobacteria, Oregon, USA. Emerg Infect Dis, 2011, 17(9): 1760–1761

Zamarioli LA, Coelho AG, Pereira CM, Nascimento AC, Ueki SY, Chimara E. Descriptive study of the frequency of nontuberculous mycobacteria in the Baixada Santista region of the state of São Paulo, Brazil. J Bras Pneumol, 2008, 34(8): 590-594

ANEXOS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
PIAUÍ - UESPI



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFECÇÕES POR MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS ISOLADAS EM CULTURAS POSITIVAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO PIAUÍ

Pesquisador: Liline Maria Soares Martins

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56484916.9.0000.5209

Instituição Proponente: Universidade Estadual do Piauí - UESPI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.893.057

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não



REQUISIÇÃO	1) Nº Requisição					
	2) Unidade de Saúde (ou outra fonte)*			3) Estado*		
	4) Município de Residência			5) UF		
				6) Código IBGE*		
	7) Nome do Profissional de Saúde*			8) Registro Profissional/Matricula*		
	9) Assessoria					
PACIENTE	10) Data de Nascimento*		11) Data dos Primeiros Sintomas		12) Sexo	
	13) 1 x Masculino 2 x Acompanhante 3 x Ignorado		14) 1 x Masculino 2 x Comunkante 3 x Acompanhante 4 x Ignorado		15) Tratamento	
	16) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado		17) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado		18) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	19) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		20) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		21) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	22) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		23) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		24) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	25) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		26) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		27) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	28) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		29) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		30) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	31) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		32) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		33) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	34) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		35) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		36) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
	37) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		38) 1 x Profissional 2 x Tratamento 3 x Acompanhante 4 x Associação de Pacientes		39) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
ANAMNESE / EXAME	40) Exame Solicitado*		41) Material Enviado*		42) Análise* (Hem, P, P, P, P, P)	
					43) Data da coleta*	
					44) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
					45) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
					46) 1 x Sim 2 x Não 3 x Ignorado	
SIGNA	47) Agravamento		48) CID 10*		49) Nº Notificação de SINAN*	
					50) Data de Notificação*	
	51) Unidade de Saúde Notificante				52) Estado*	
53) Município de Notificação				54) UF		
				55) Código IBGE*		
PROCS COMPLETADOS	56) Contas Clínicas elaboradas					

*Campos preenchimento obrigatório

CRITÉRIO LABORATORIAL - é todo caso que, independentemente da forma clínica, apresenta pelo menos uma amostra positiva de baciloscopia, ou de cultura, ou de teste rápido molecular para tuberculose.
CRITÉRIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO - é todo caso que não preencha o critério de confirmação laboratorial acima descrito, mas que recebeu o diagnóstico de tuberculose ativa. Essa definição leva em consideração dados clínico-epidemiológicos associados à avaliação de outros exames complementares (como os de imagem, histológicos, entre outros).

Dados Gerais	1	Tipo de Notificação		2 - Individual			
	3	Agravamento		TUBERCULOSE			
	4	UF	Município de Notificação		Código (BGE)		
	6	Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código	7	Data de Diagnóstico	
Notificação Laboratorial	8	Nome do Paciente			9	Data de Nascimento	
	10	(ou) Idade	11	Sexo	12	Cor	
	14	Escolaridade			15	Número do Cartão SUS	
	17	UF	Município de Residência		Código (BGE)	19	Distrito
Dados de Localização	20	Bairro		21	Logradouro (rua, avenida, ...)		
	22	Número	Complemento (apto., casa, ...)		24		Geo campo 1
	25	Geo campo 2		26	Ponto de Referência		
	28	(DDD) Telefone		29	Zona - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado	30	País (em residente fora do Brasil)
Dados Complementares do Caso							
Dados Complementares	31	Nº do Prontuário		32	Tipo de Entrada		
	33	População Especial		34	Beneficiário de programa de transferência de renda do governo		
	35	Forma		36	Sítio Extrapulmonar		
	37	Doença e Agravos Associados		38	Doença Mental		
	39	Baciloscopia de Escarro (diagnóstico)		40	Radiografia do Tórax		
	41	Terapia Antiretroviral Durante o Tratamento para a TB		42	Histopatologia		
	43	Cultura		44	Teste de Sensibilidade		
	45	Data de Início do Tratamento Atual		46	Total de Contatos Identificados		
	Município/Unidade de Saúde		Nome		Função		Cód. da Unit. de Saúde
	Tuberculose		Sinan NET		Assinatura		SVS 02/10/2014

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

PROJETO: INFECÇÕES POR MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS ISOLADAS EM CULTURAS POSITIVAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO PIAUÍ

1) IDENTIFICAÇÃO

NOME: _____

DATA DE NASCIMENTO: _____

OCUPAÇÃO: _____

MUNICÍPIO DE RESIDÊNCIA: _____

SERVIÇO DE ORIGEM: _____

ANO DO DIAGNÓSTICO: _____

OBSERVAÇÕES _____

2) SINAIS E SINTOMAS

PRIMEIRO DIAGNÓSTICO () PACIENTE TEVE TB ()

CONTATO DE TB () PACIENTE TTO TB ()

ACHADOS RADIOLÓGICOS ()

PPD POSITIVO () NEGATIVO ()

AGRAVOS ASSOCIADOS _____

AMOSTRA PULMONAR () _____

AMOSTRA EXTRAPULMONAR () _____

OBSERVAÇÕES: _____

3) METODOLOGIA LABORATORIAL

GENEXPERT DETECTÁVEL () NÃO DETECTÁVEL () RIF

OGAWA KUDOH () LOWENSTEIN JENSEN () MGIT7H9 ()

PNB POSITIVO () NEGATIVO ()

FATOR CORDA POSITIVO () NEGATIVO ()

NIACINA POSITIVO () NEGATIVO ()

MPT64 REAGENTE () NÃO REAGENTE ()

CMTB () MNT () ESPÉCIE _____

OBSERVAÇÕES _____