



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



William Marco Vicente da Silva

**Descrição espacial das micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) no Brasil,
2006 a 2018**

Rio de Janeiro

2020

William Marco Vicente da Silva

**Descrição espacial das micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) no Brasil,
2006 a 2018**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Gestão e Saneamento Ambiental

Orientador: Dr. Jesus Pais Ramos

Rio de Janeiro

2020

Catálogo na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
Biblioteca de Saúde Pública

S586d Silva, William Marco Vicente da.
Descrição espacial das micobactérias não causadoras de
tuberculose (MNT) no Brasil, 2006 a 2018 / William Marco
Vicente da Silva. -- 2020.
58 f. : il. color. ; graf. ; mapas ; tab.

Orientador: Jesus Pais Ramos.
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Na-
cional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2020.

1. Micobactérias não Tuberculosas. 2. Demografia. 3. Infecções
por Mycobacterium. 4. Epidemiologia. 5. Brasil. 6. Diversidade de
Espécies. I. Título.

CDD – 23.ed. – 616.9950981

William Marco Vicente da Silva

**Descrição espacial das micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) no Brasil,
2006 a 2018**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Gestão e Saneamento Ambiental

Aprovada em: 12 de março de 2020

Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Redner

Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof^a. Dra. Shênia Patrícia Corrêa Novo

Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof. Dr. Jesus Pais Ramos (Orientador)

Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Rio de Janeiro

2020

Dedico este trabalho, bem como todas às minhas demais conquistas, a meus amados pais, Celso e Sandra.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me dado forças durante todo esse período mesmo em meio a tantas outras dificuldades, por me permitir vir ao mundo e dar início a essa jornada.

Aos meus pais, Celso e Sandra, por todo investimento desde o início da minha trajetória, por se abdicarem de desejos pessoais para que eu conseguisse alcançar os meus objetivos, por todo incentivo e por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu orientador, Jesus Pais Ramos, por todas as oportunidades que me ofereceu desde o início do meu estágio, além de todos os conselhos, ensinamentos e paciência durante esse tempo. E principalmente por me tornar o profissional que sou hoje.

A Dra. Adriana Sotero, por ter tido paciência de me ensinar a como realizar todos os passos de geoprocessamento, por toda a disponibilidade e atenção.

Aos amigos que fiz no mestrado, Lucas Lopes, Bruna Barbosa, Gabriel da Silveira e Mayara Calixto, por ter tornado todo o processo do mestrado mais tranquilo, por sempre me apoiarem nas minhas apresentações, por todos os momentos de descontração e pelos momentos em que estudamos juntos.

Aos meus amigos, Carlos Alessandro e João Araújo, por todo apoio e compreensão das vezes em que tive que ser um amigo ausente. Por sempre estarem presentes nos momentos mais difíceis da minha vida pessoal e dessa trajetória. Pelas palavras de incentivo e longas conversas, por me ajudarem nas minhas crises de ansiedade e por sempre tentarem me deixar motivado e feliz.

As minhas amigas e colegas de trabalho, Luciana Distásio de Carvalho, Tairini Trespadini Moura, Aila Maronna e Bianca Porfírio da Costa, por toda paciência e me receberem tão bem desde o início. Por sempre ouvirem minhas reclamações e me cercarem de palavras positivas.

Aos meus amigos de setor, Júlio Cesar de Jesus Barbosa e Louise Sousa de Oliveira, por terem me acompanhado durante todo esse período, sempre me ajudando em tudo que fosse possível.

A Fátima Moreira Martins, chefe do Laboratório de Referência Nacional de Bacteriologia da Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck, pela credibilidade e permissão para realização desse trabalho.

A todos do Laboratório de Referência Nacional de Bacteriologia da Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck do Centro de Referência Professor Hélio Fraga

ENSP/FIOCRUZ, que me ajudaram direta ou indiretamente, seja com uma palavra de incentivo ou dando ideias.

A Dra. Eliana Napoleão, por ter acompanhado o desenvolvimento desse trabalho durante as disciplinas de seminários avançados e desempenhar a profissão de professora com excelência. Além de se preocupar com o andamento mesmo após ao término da disciplina. Por sempre se dispor a ajudar, por todas conversas e ensinamentos.

Ao Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente ENSP/FIOCRUZ e a todo corpo docente, por todo ensinamento e por me apresentarem as ferramentas necessárias para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos os meus familiares e amigos, que participaram de alguma etapa desse processo. Por todo amor, carinho, incentivo e compreensão.

“O que adquire entendimento ama a sua alma;
o que conserva a inteligência achará o bem.”

Bíblia Sagrada, Provérbios 19.8.

RESUMO

As micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) são geralmente isoladas do meio ambiente, sendo as espécies classificadas como não patogênicas, potencialmente patogênicas e patogênicas. Atualmente, são mais de 170 espécies descritas. As MNT são facilmente aerossolizadas, sendo subsequentemente inaladas, o que é a principal rota para infecção pulmonar. Apesar das infecções pulmonares corresponderem ao maior número de infecções por MNT, essas micobactérias são responsáveis também por infecções extrapulmonares. O presente estudo tem como objetivo analisar a diversidade e a distribuição das MNT no Brasil, recebidas pelo Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck do Centro de Referência Professor Hélio Fraga/ ENSP/ Fio-cruz, identificando as espécies mais frequentes no período de 2006 a 2018, além de analisar os dados epidemiológicos disponíveis. O estudo mostrou que as espécies mais encontradas foram *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium gordonae*, respectivamente. Dos 2937 casos de MNT estudados, 51,5% são do sexo masculino e 47,1% do total de casos apresentaram idade superior a 50 anos. As regiões sul e sudeste concentram a maior parte dos casos descritos. Os resultados apresentados nesse estudo, mostram as infecções por MNT como um importante problema de saúde pública, ressaltando a importância dos estudos epidemiológicos como ferramenta de monitoramento dos casos de MNT, prevenção de novos surtos no Brasil e organização dos serviços.

Palavras-chave: Micobactérias não causadoras de tuberculosas; Distribuição geográfica; Diversidade; Micobacterioses.

ABSTRACT

Non-tuberculous mycobacteria (NTM) are generally isolated from the environment, and some species are non-pathogenic, potentially pathogenic and pathogenic. Currently more than 170 species have been described. NTM are easily aerosolized and are subsequently inhaled, which is the main route for pulmonary infection. Although pulmonary infection corresponds to the largest number of infections by NTM, these mycobacteria are also responsible for extrapulmonary infections. The study aims to analyze the diversity and distribution of NTM in Brazil, received by National Reference Laboratory for Tuberculosis and other Mycobacteriosis Ângela Maria Werneck of Centro de Referência Professor Hélio Fraga / ENSP / Fiocruz, identifying the most frequent species in the period from 2006 to 2018, besides analyzing the epidemiological data available. The study showed that the species most found were *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium fortuitum* and, *Mycobacterium gordonae*, respectively. Of the 2937 NTM cases studied, 51.5% are male and 47.1% of the total cases were over 50 years old. The south and southeast regions concentrate the majority of cases described. The results presented in this study show NTM infections as an important public health problem, emphasizing the importance of epidemiological studies as a tool for monitoring NTM cases, preventing new outbreaks in Brazil and organizing services.

Keywords: Non-tuberculous mycobacteria; Geographic distribution; Diversity; Mycobacteriosis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Cidades em sete estados brasileiros nos quais ocorreram infecções pós-cirúrgicas por MCR	23
Figura 2 – Malha digital das Unidades Federativas Estaduais do Brasil. QGIS 2.18.17; EPSG: 4674; Sirgas: 2000.	32
Figura 3- Plugin de mapa de calor para análise de densidade de kernel.	33
Figura 4- Distribuição espacial dos casos de MNT no período de 2006 – 2018 nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil.	35
Figura 5- Distribuição dos casos de MNT em quatro períodos agrupados: (1) de 2006 a 2008; (2) de 2009 a 2011; (3) de 2012 a 2014; (4) de 2015 a 2018; nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil.....	37
Figura 6 - Distribuição temporal dos casos de MNT das espécies mais frequentes, 2006-2018.	40
Figura 7- Análise estatística espacial de Kernel dos casos de MNT no período de 2006 a 2018.	42
Figura 8 - Análise estatística espacial de Kernel dos casos de MNT no período de 2006 a 2009.	43
Figura 9 - Distribuição espacial dos casos de MNT no período de 2006 – 2009 nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil.	44

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1- Classificação das micobactérias por pigmentação e tempo de crescimento..... 19
- Quadro 2- Classificação das MNT de acordo com a patogenicidade em humanos.....20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Distribuição dos casos de infecção por MNT registrados no CRPHF, segundo estado de notificação, Brasil, 2006 - 2018.....	36
Tabela 2- Espécies de micobactérias não tuberculosas (MNT) mais prevalentes	38
Tabela 3- Espécies de MNT com baixa frequência	38
Tabela 4- Distribuição das espécies mais frequentes por Unidade da Federação, Brasil	41
Tabela 5- Avaliação de aspectos sociodemográficos de acordo com as regiões geográficas	45
Tabela 6- Frequência dos tipos de materiais biológicos coletados de pacientes com infecção por MNT	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, de “Acquired Immune Deficiency Syndrome”
ATS	Sociedade Torácica Americana, de “American Thoracic Society”
BAAR	Bacilo álcool-ácido resistente
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CRPHF	Centro de Referência Professor Hélio Fraga
CMTB	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca
EPSG	<i>European Petroleum Survey Group</i>
EUA	Estados Unidos da América
FC	Fibrose Cística
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GA	Glutaraldeído
GAL	Gerenciador de Ambiente Laboratorial
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, de “Human Immunodeficiency Virus”
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance, de “High Performance Liquid Chromatography”
<i>HSP 65</i>	Proteínas de Choque Térmico de 65 kd, de “Heat Shock Protein”
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LACEN	Laboratório Central
L-J	Löwenstein Jensen
M.	<i>Mycobacterium.</i>
MAC	Complexo <i>Mycobacterium avium</i>
MCR	Micobactérias de crescimento rápido
MNT	Micobactérias não causadoras de tuberculose
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
PNB	p-nitrobenzônico
PRA-hsp65	PCR com Análise de Enzima de Restrição da Proteínas de Choque Térmico de 65-kDa

RIF	Rifampicina
SIG	Sistema de Informação Geográfica
SIRGAS	Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas
SUS	Sistema Único de Saúde
SRC	Sistema de Referência de Coordenadas
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
UF	Unidade da Federação
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	BREVE HISTÓRICO	17
2.2	CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS MICOBACTÉRIAS.....	18
2.2.1	Classificação das Micobactérias	18
2.3	PATOGENICIDADE DAS MNT	19
2.4	FONTES AMBIENTAIS DE INFECÇÃO	21
2.4.1	Fontes Naturais	21
2.4.2	Ambiente doméstico	21
2.4.3	Ambiente hospitalar e Estético	22
2.5	SÍTIOS DE INFECÇÃO CLÍNICA	24
2.5.1	Infecção Pulmonar	24
2.5.2	Linfadenite Crônica	25
2.5.3	Infecção Tecidual	25
2.6	IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS.....	26
2.7	EPIDEMIOLOGIA.....	27
3	JUSTIFICATIVA	28
4	OBJETIVOS	29
4.1	OBJETIVO GERAL	29
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
5	METODOLOGIA	30
5.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO	30
5.2	FONTE DOS DADOS.....	30
5.3	CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	30
5.4	POPULAÇÃO DO ESTUDO	30
5.5	VARIÁVEIS DO ESTUDO	31
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5.7	PLOTAGEM DOS MAPAS	31
6	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	34
7	RESULTADOS	35
8	DISCUSSÃO	47

9	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Mycobacterium* é composto pelos seguintes grupos de espécies: as pertencentes ao “complexo” *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), que incluem *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium africanum* e *Mycobacterium microti*. Outro grupo que é composto por mais de 170 espécies, denominadas micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT), que apresentam diferentes características fenotípicas, genotípicas e patogênicas. E por fim, a espécie *Mycobacterium leprae* que não pertence a nenhum dos grupos supracitados (GRIFFITH *et al.*, 2007; TORTOLI, 2014).

As MNT já foram isoladas em todo o mundo. Esses organismos podem ser encontrados em diferentes ambientes como solo, água natural e potável. Essas micobactérias já foram isoladas de diversas espécies animais e de diferentes sítios do corpo humano. A importância das doenças causadas por MNT tem crescido progressivamente, além de apresentar ampla distribuição geográfica, o que favorece o aumento da relevância dessas infecções, não somente no aspecto clínico como também na saúde pública (HOEFSLOOT *et al.*, 2013; TORTOLI, 2014).

As infecções causadas por MNT pode tanto ser assintomáticas, como pode também gerar interações sintomáticas, cujas manifestações clínicas são pulmonares, linfáticas, cutâneas ou disseminada pelo corpo (GRIFFITH *et al.*, 2007). A infecção pulmonar é a forma mais comum pela qual se apresentam infecções ocasionadas por MNT (DALEY; GRIFFITH, 2010; CARNEIRO *et al.*, 2018). As MNT são encontradas em reservatórios ambientais, e tem como principais meios de transmissão a inalação de aerossóis, traumas e infecções ocasionadas a partir de instrumentos cirúrgicos contaminados (JEON, 2018). A transmissão das doenças causadas por MNT, até onde se sabe, ocorre na relação entre ambiente e ser suscetível. Apesar de haver estudos que sugerem uma possível transmissão de pessoa-pessoa, ainda não há evidências o suficiente que a confirmem (BRYANT *et al.*, 2016; TORTOLI *et al.*, 2017).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BREVE HISTÓRICO

O gênero *Mycobacterium* foi proposto por Lehmann e Neumann em 1896, no intuito de incluir bacilos da tuberculose e hanseníase que até então eram classificados como *Bacterium tuberculosis* e *Bacterium leprae*. O gênero é classificado como parte da família Mycobacteriaceae, sendo posicionado taxonomicamente na subordem Corynebacterineae, ordem Actinomycetales e subclasse Actinobacteridae, de classe e filo Actinobacteria (WILDNER *et al.*, 2011). Depois de confirmados que os agentes etiológicos da tuberculose e da hanseníase apresentavam características morfológicas de bacilo e álcool-ácido resistência (BAAR), agruparam-se as espécies como pertencentes ao gênero *Mycobacterium* (COLLINS *et al.*, 1997).

Posteriormente, foram isolados diversos outros bacilos com a mesma característica de álcool-ácido resistência do *M. tuberculosis*, tendo sido isolados tanto do meio ambiente como do homem, apresentando diferentes tempos de crescimento *in vitro*, pigmentação e patogenicidade em humanos. Porém, foram incluídos no mesmo gênero e chamados de micobactérias atípicas ou micobactérias não causadoras de tuberculose (BRASIL, 2008; COLLINS *et al.*, 1997).

O interesse nas doenças causadas por MNT teve seu advento a partir da atenção a dois eventos: a associação de infecções por MNT em pessoas vivendo com HIV/AIDS e o aumento de doenças pulmonares causadas por MNT na população, sendo caracterizada no âmbito de doenças oportunistas (AGIZEW *et al.*, 2017; GRIFFITH *et al.*, 2007; TORTOLI, 2014).

Quando o relatório da *American Thoracic Society* (ATS) foi elaborado em 1997, havia cerca de 50 espécies de micobactérias não causadoras de tuberculose descritas. Com o avanço das técnicas moleculares nos estudos taxonômicos, o relatório da ATS de 2007 mostrou um aumento para 150 espécies descritas (GRIFFITH *et al.*, 2007). Atualmente esse número é ainda mais elevado, havendo mais de 170 espécies (<http://www.bacterio.net/mycobacterium.html>). Além do aumento significativo de espécies ambientais, houve também o aumento das descrições de espécies patogênicas. Embora ainda não seja claro o porquê do aumento das doenças associadas as MNT, acredita-se que fatores como o aumento das contaminações em fontes ambientais, de pessoas susceptíveis e a melhora no diagnóstico tenha

contribuído significativamente para esse quadro (NISHIUCHI; IWAMOTO; MARUYAMA, 2017).

2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS MICOBACTÉRIAS

O gênero *Mycobacterium* é constituído de bacilos imóveis, não esporulados, não encapsulados, com 0,2 a 0,6 micrômetros de largura e 1 a 10 micrômetros de comprimento. Além de apresentar propriedade de álcool-ácido resistência, efeitos biológicos importantes no hospedeiro podem ocorrer devido ao alto conteúdo lipídico da parede celular dessas micobactérias, como antigenicidade, formação de granuloma, atividade adjuvante, etc. São resistentes a agentes químicos, porém sensíveis a agentes físicos como ultravioleta e o calor (BRASIL, 2005).

2.2.1 Classificação das Micobactérias

As MNT são classificadas em quatro grupos baseados na pigmentação e tempo de crescimento das colônias segundo Runyon (1959). Micobactérias que apresentam crescimento em meio sólido após sete dias são classificadas como micobactérias de crescimento lento (MCL) e aquelas que apresentam crescimento em menos de sete dias são classificadas como micobactérias de crescimento rápido (MCR). Quanto a produção de pigmentação, as micobactérias são divididas em: Não cromogênicas, fotocromogênicas e escotocromogênicas; podendo ser assim divididas em quatro grupos (Quadro 1). Esse tipo de classificação ainda é utilizado para identificação de MNT (BRASIL, 2005; GRIFFITH *et al.*, 2007).

Quadro 1- Classificação das micobactérias por pigmentação e tempo de crescimento

Grupos	Pigmentação	Tempo de crescimento
Grupo I	Fotocromogênica (Adquirem pigmentação quando expostas a luz)	Lento
Grupo II	Escotocromogênica (Adquirem pigmentação mesmo na ausência de luz)	Lento
Grupo III	Não cromogênicas (Não apresentam pigmentação)	Lento
Grupo IV	Produtoras ou não de pigmentos	Rápido

Fonte: adaptado de Runyon (1959)

2.3 PATOGENICIDADE DAS MNT

As MNT são parasitas intracelulares facultativos e/ou parasitas saprofiticos. Os parasitas saprofiticos são em sua maioria espécies não patogênicas, que sobrevivem absorvendo substâncias orgânicas provenientes de matéria orgânica em decomposição, como *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium smegmatis* e *Mycobacterium butyricum*. Já os parasitas intracelulares facultativos são aqueles que não dependem do hospedeiro para sobreviver. Quando essas infecções ocorrem, geralmente os macrófagos são as principais células alvo, como ocorre na maioria das micobactérias patogênicas (*Mycobacterium fortuitum*; *Mycobacterium avium*; *Mycobacterium kansasii*; *Mycobacterium scrofulaceum*) podendo subverter a resposta imune do hospedeiro (HENKLE; WINTHROP, 2015). Dentre os mecanismos de invasão imunológica que possibilitam a sobrevivência das MNT nos macrófagos, está a inibição da fusão do fagossoma com o lisossoma na formação do fagolisossomo. Além disso, algumas dessas infecções podem suprimir a produção de IFN γ e TNF α que são citocinas importantes no controle de infecções de MNT (HONDA *et al.*, 2015; POURSHAFIE *et al.*, 1999).

A maioria das espécies de MNT são saprofiticas e se replicam em ambientes naturais, poucas espécies se adaptam ao ambiente intracelular causando doença em humanos e o fato de os humanos não serem hospedeiros definitivos, torna essas infecções oportunistas (PEDRO *et al.* 2017). A classificação das MNT de acordo com a patogenicidade em humanos, se dá a partir da capacidade de causar doença no homem, sendo caracterizada

como potencialmente patogênicas ou raramente patogênicas (Quadro 2), o que está diretamente relacionado a frequência de isolamento das MNT em humanos (BRASIL, 2008).

Quadro 2- Classificação das MNT de acordo com a patogenicidade em humanos

POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS				
<i>M. avium</i>	<i>M. branderi</i>	<i>M. genavense</i>	<i>M. malmoense</i>	<i>M. simae</i>
<i>M. avium subsp paratuberculosis</i>	<i>M. celatum</i>	<i>M. szulgai</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. haemophilum</i>
<i>M. abscessus</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. ulcerans</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. intracellulare</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. scrofulaceum</i>
RARAMENTE PATOGÊNICAS				
<i>M. agri</i>	<i>M. cooki</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. phlei</i>	<i>M. mucogenicum</i>
<i>M. aichiense</i>	<i>M. diernhoferi</i>	<i>M. hassiacum</i>	<i>M. porcinum</i>	<i>M. thermoresistibile</i>
<i>M. alvei</i>	<i>M. duvalii</i>	<i>M. komossense</i>	<i>M. pulveris</i>	<i>M. farcinogenes</i>
<i>M. aurum</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. gastris</i>	<i>M. rhodesiae</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>
<i>M. brumae</i>	<i>M. triviale</i>	<i>M. terrae</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>M. lepraemurium</i>
<i>M. tokaiense</i>	<i>M. flavescens</i>	<i>M. chitae</i>	<i>M. shimoidei</i>	<i>M. senegalense</i>
<i>M. gadium</i>	<i>M. neoaurum</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>M. chubuense</i>	<i>M. austroafricanum</i>
<i>M. obuense</i>	<i>M. sphagni</i>	<i>M. confluentis</i>	<i>M. gilvum</i>	

Fonte: adaptado de Brasil (2008)

2.4 FONTES AMBIENTAIS DE INFECÇÃO

2.4.1 Fontes Naturais

As MNT são encontradas em fontes naturais de água e até mesmo em fontes de água tratada e solo. As características da membrana das micobactérias rica em lipídios e ácido micólico e a formação de biofilme são os maiores determinantes para sobrevivência e proliferação das MNT no meio ambiente (GRIFFITH *et al.*, 2007; NISHIUCHI; IWAMOTO; MARUYAMA, 2017; TORTOLI, 2014).

A formação de biofilmes nas MNT ocorre mesmo com a ausência de apêndices como flagelos e pili. Esses apêndices exercem um papel importante nos primeiros passos de formação de biofilmes como quimiotaxia e fixação em superfícies. Apesar de muitos estudos relacionados a formação de biofilmes em micobactérias, questões relacionadas a como micobactérias de crescimento lento se aderem a superfícies e formam biofilmes; sobretudo como competem com outros micróbios de crescimento rápido ainda não foram respondidas (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004).

Uma outra forma de garantir a sobrevivência no meio ambiente é dentro de amebas de vida livre, onde as MNT podem se proteger de ataques de outros microrganismos. Um exemplo de ameba capaz de fornecer um ambiente ideal para multiplicação das MNT é *Legionella pneumophila*. Amebas de vida livre podem garantir a sobrevivência mesmo dentro de macrófagos. Estudos *in vitro* comprovam que micobactérias patogênicas podem se proliferar dentro de amebas de vida livre e demonstram que *M. avium* se replica dentro de vacúolos de cistos de *Acanthamoeba castellanii* (CIRILLO *et al.*, 1997; NISHIUCHI; IWAMOTO; MARUYAMA, 2017).

2.4.2 Ambiente Doméstico

A distribuição de água é uma das principais rotas de transmissão a partir de reservatórios de fontes naturais de água em ambiente doméstico. A colonização em chuveiros e torneiras indicam que MNT se ligam a superfícies, suportando o fluxo da água através da formação de biofilmes, crescendo em chuveiros e tubulações. Um estudo longitudinal, comprovou a colonização por um único clone em reservatórios de uso de água potável por até 26 meses (HILBORN *et al.*, 2006). A resistência das MNT aos desinfetantes convencionais utilizados no tratamento de água, favorece a seleção dessas micobactérias e

aumentam a exposição humana a esses microrganismos. Alguns estudos de genotipagem mostraram que os isolados de MNT de pacientes são idênticos aos do ambiente, isto é, daqueles coletados do chuveiro em ambiente doméstico (FALKINHAM *et al.*, 2008; THOMSON *et al.*, 2013). Já a infecção proveniente a partir da exposição ao solo seco, se torna um problema devido ao potencial das partículas do solo serem aerossolizadas, e assim, serem inalados pelo indivíduo (JEON, 2018).

2.4.3 Ambiente Hospitalar e Estético

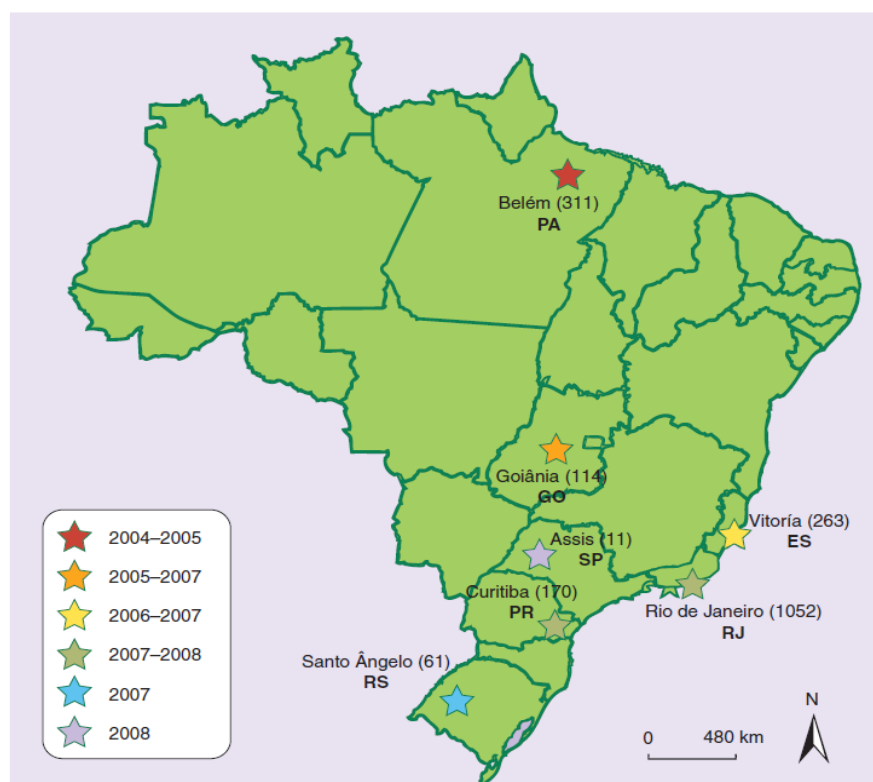
O sistema de distribuição de água hospitalar também pode servir como reservatório de MNT. Esses microrganismos podem contaminar materiais hospitalares, principalmente aqueles utilizados em procedimentos cirúrgicos invasivos, devido a desinfecção inadequada dos materiais utilizados, reutilização de material, e contato desses materiais com água contaminada no processo de lavagem. Diversos surtos associados a contaminação hospitalar foram relatados, sendo alguns deles acarretados por procedimentos correlacionados com o uso de água contaminada com micobactérias (ALLEN *et al.*, 2017; BURGESS *et al.*, 2017; JEON, 2018). As infecções nosocomiais por MNT apresentam diferentes sítios de infecção, causas e espécies associadas a essas infecções, apesar da maioria dos surtos nosocomiais estarem associados a infecções por micobactérias de crescimento rápido (MCR) como *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum* (DUARTE *et al.*, 2009).

No Brasil, surtos nosocomiais de *Mycobacterium abscessus subsp. massiliense* alcançaram proporções epidêmicas entre 2004 – 2008 (Figura 1). Essas infecções ocorreram através de procedimentos de laparoscopia e de procedimentos estéticos. Sobretudo ocorreram 2,000 possíveis casos em 15 estados, sendo reportados em 86 hospitais. Todos os casos ocorreram devido a infecção por uma única cepa de *M. abscessus subsp. massiliense*, que foi nomeada como BRA100 (LEÃO *et al.*, 2010). Um desses surtos aconteceu no estado do Rio de Janeiro entre agosto de 2006 e julho de 2007, onde foram contabilizados 1051 possíveis casos de infecções por *M. abscessus subsp. massiliense* após a realização de cirurgia vídeo assistida, envolvendo 63 hospitais (DUARTE *et al.*, 2009).

Os objetos cirúrgicos utilizados nos procedimentos laparoscópicos eram submetidos à desinfecção por imersão em solução de glutaraldeído (GA) a 2% por 30 minutos. O GA foi utilizado em todos os hospitais que apresentaram casos suspeitos e confirmados, com isso foi levantada a hipótese de tolerância / não suscetibilidade das cepas do surto a este agente.

Um estudo experimental foi realizado para se verificar a relação entre o tempo de exposição/ tempo de tolerância dessas cepas. Sendo desinfecção de alto nível de 30 minutos a 60 minutos e esterilização de 6 horas a 10 horas de exposição. No estudo, foi relatada tolerância dessa cepa a GA mesmo após 10 horas de exposição (LORENA; DUARTE; PITOMBO, 2009).

Figura 1- Cidades em sete estados brasileiros nos quais ocorreram infecções pós-cirúrgicas por MCR



Fonte: Leão *et al.*, 2010

No estudo realizado por Sampaio e colaboradores (2006) no Estado de São Paulo, em Campinas, 11 pacientes apresentaram infecções por *M. fortuitum* após realização de cirurgia para colocação de prótese mamária entre 2002 e 2004. A mamoplastia de aumento segundo os autores é um dos procedimentos cirúrgicos estéticos mais realizados no Brasil. A apresentação clínica dessas infecções teciduais por MCR em sua maioria se manifestaram como celulites localizadas, presença de abscesso, nódulo ou úlcera crônica (FONTANA, 2008).

Em São Paulo, entre dezembro de 2011 e fevereiro de 2012, foram identificados 8 pacientes com ceratite ocasionada por *M. chelonae* após serem submetidos a cirurgia

refrativa da córnea. Todas essas infecções ocasionadas através da contaminação da água destilada utilizada na cirurgia oftalmológica (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

As infecções após realização de tatuagens estão associadas geralmente a contaminação da água utilizada na diluição das tintas. Na Flórida, em abril de 2015, foram registrados 3 pacientes com infecções de pele. Todos os pacientes relataram que estiveram no mesmo estúdio de tatuagem entre fevereiro e março de 2015. O proprietário do estúdio relatou que havia adquirido uma tinta à base de água, que era pré-diluída pelo fabricante para que houvesse uma maior gama de cores cinza em uma tatuagem. Além disso, essa tinta havia sido aberta no momento da compra e utilizada por vários meses. Após a realização de diversas metodologias foi confirmada a infecção por MNT e a contaminação da água utilizada no processo de diluição da tinta (GRIFFIN *et al.*, 2019).

Infecções por MNT provenientes de procedimentos cirúrgicos estéticos, como infecção em prótese mamária, em realização de tatuagens e inserção de piercings, são descritos sob condições de contaminação semelhantes ao do ambiente hospitalar (SHIH *et al.*, 2018).

2.5 SÍTIOS DE INFECÇÃO CLÍNICA

2.5.1 INFECÇÃO PULMONAR

Muitas infecções pulmonares causadas por MNT ocorrem associadas a outras doenças, como: a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), bronquiectasia, fibrose cística (FC), pneumoconioses, tuberculose primária, proteinose alveolar e distúrbios de motilidade esofágica (GRIFFITH *et al.*, 2007; OLIVIER *et al.*, 2003). Bronquiectasia e infecção por MNT, geralmente infecção pelo Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) coexistem, dificultando assim a determinação de causalidade. Esses pacientes podem carrear múltiplas cepas de MAC, sugerindo infecção policlonal ou infecções recorrentes por diferentes cepas (WALLACE *et al.*, 1998). As infecções pulmonares são provenientes da inalação de aerossóis produzidas por essas micobactérias.

Um fator limitante no diagnóstico de infecções pulmonares causadas por MNT é a sintomatologia muito semelhante a outras infecções pulmonares, principalmente a tuberculose. Estudo realizado em 408 pacientes vivendo com HIV/AIDS com infecção pulmonar presuntiva de tuberculose, que realizaram radiográfica de tórax e que apresentavam mais de um sintoma de tuberculose, foram coletados 2 amostras de escarro

para que fosse realizado métodos de confirmação como cultura; Xpert MTB/RIF, teste de sensibilidade e outros métodos de identificação. Como resultado, 180 pacientes tiveram resultado confirmado para tuberculose e 228 apresentaram infecção por MNT, mostrando que pessoas vivendo com HIV/AIDS e com infecção por MNT podem apresentar um ou mais sintomas característicos da tuberculose, tosse muco-sanguinolenta ou não, sudorese noturna, perda de peso e febre (AGIZEW *et al.*, 2017).

2.5.2 Linfadenite Crônica

Casos de linfadenite cervical crônica em crianças, causadas por infecção por MNT tem sido relatada em diversas partes do mundo. As linfadenites são causadas por MNT em 95% dos casos, tendo como principais agentes: *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium haemophilum*, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium scrofulaceum* (GRIFFITH *et al.*, 2007; MCNABB *et al.*, 2004). As crianças infectadas geralmente são imunossuprimidas e apresentam idade entre 1-5 anos. Apesar do tratamento das linfadenites causadas por MNT ainda não serem muito bem determinadas, a excisão cirúrgica é amplamente recomendada (SPINELLI *et al.*, 2018).

2.5.3 Infecção Tecidual

As infecções teciduais podem acontecer através de trauma, procedimentos cirúrgicos, cirurgia plástica, injeções, acupuntura, tatuagem e utilização de piercing. As espécies de MNT causadoras de danos teciduais são diversas: *M. ulcerans*, *M. marinum*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. haemophilum*, *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum*. Essas micobactérias causam diferentes danos ao hospedeiro, com diferentes manifestações clínicas e sítios de infecção (ROMERO *et al.*, 2017; ZHANG; FENG; HE, 2017).

M. ulcerans é o principal agente infeccioso da úlcera de Buruli. Essa micobactéria é capaz de produzir uma toxina que destrói tecidos subcutâneos produzindo profundas ulcerações, causando também imunossupressão. As manifestações clínicas tem início com nódulo subcutâneo indolor, que posteriormente se tornam ulcerações. Apesar da baixa taxa de mortalidade, tem um grande impacto nas populações de zona rural e é um grave problema de saúde pública em termos de morbidade, tratamento e incapacidades funcionais (ROMERO *et al.*, 2017; SIZAIRE *et al.*, 2006).

Apesar das infecções por *Mycobacterium marinum* serem incomuns em humanos, casos de infecções teciduais causadas por essa micobactéria já foram relatados. As manifestações clínicas presentes são a formação de pápulas, lesões granulomatosas e nódulos. Essas manifestações clínicas também são comuns a outras infecções teciduais (RALLIS; KOUMANTAKI-MATHIOUDAKI, 2007; SETTE *et al.*, 2015)

As micobactérias de crescimento rápido como *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum* estão mais associadas a infecções a partir de procedimentos estéticos. *M. fortuitum* é o principal agente de infecções teciduais provenientes de cirurgias em reconstituição de mama (SAMPAIO *et al.* 2006).

As manifestações clínicas em infecções teciduais incluem celulites, lesões papulares, nódulos, abscessos, drenagem sinusal, nódulos subcutâneos e ulcerações. Podem apresentar lesão única ou lesões múltiplas dependendo da imunidade do hospedeiro. As infecções teciduais quando em estágio avançado podem acarretar tenossinovite, miosite, osteomielite e artrite séptica (GRIFFITH *et al.*, 2007; ROMERO *et al.*, 2017; TORTOLI, 2014; ZHANG; FENG; HE, 2017).

2.6 IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS

A identificação do agente etiológico é extremamente necessária para que haja a correta formulação do esquema quimioterápico ou procedimento necessário para o tratamento, além do gerenciamento de controle dessas infecções e identificação de surtos (TORTOLI, 2014).

A diferenciação do CMTB e MNT se dá a partir testes fenotípicos, bioquímicos, imunocromatográficos e de biologia molecular. A identificação realizada com base nas características bioquímicas e fenotípicas de aspecto de cultura, utilizam ensaios cujo tempo de realização é longo, principalmente pela necessidade de espera do tempo de crescimento das bactérias no meio de cultura. Atualmente são utilizados também outros tipos de metodologias, como a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) que analisa a concentração e estrutura do ácido micólico presente na parede celular; utilização de métodos de biologia molecular como a análise do PCR de restrição (PRA-*hsp65*) e o sequenciamento (GRIFFITH *et al.*, 2007; TORTOLI, 2014).

O MPT64 é um teste imunocromatográfico, qualitativo, que consiste na produção da proteína MPT64 produzida e secretada pelo CMTB. O teste utiliza um anticorpo monoclonal anti-MPT64 que é fixado na membrana de nitrocelulose. Quando em contato com o CMTB

o antígeno é reconhecido, sendo expressas duas linhas indicativas de positividade na membrana (BRASIL, 2008).

O PNB (p-nitrobenzônico) é um teste de inibição de crescimento em LJ que contém 500 µg/mL de ácido nitrobenzônico. Sendo capaz de inibir o crescimento de CMTB, mas não o crescimento de MNT. O que permite a diferenciação dos dois grupos. Esse teste leva cerca de 15 dias para obtenção do resultado (BRASIL, 2005).

O Sistema Único de Saúde (SUS) em 2013, implantou o método rápido molecular de diagnóstico de tuberculose (TB). O Xpert MTB/RIF, além de detectar a sequência específica do gene *rpob* no CMTB, ainda é capaz de detectar resistência a Rifampicina (RIF) através das mutações presentes no gene, apresentando resultado em 2 horas. Todavia a metodologia tem limite de detecção de 131 UFC/ml da amostra (LIMA *et al.*, 2017; MARLOWE *et al.*, 2011).

Uma combinação de alguns testes moleculares como PRA-*hsp65*, sequenciamento e alguns testes fenotípicos (tempo de crescimento, produção ou não de pigmentos e provas bioquímicas) tem sido utilizado na identificação de MNT. A aplicação de métodos moleculares proporcionou além de uma identificação mais rápida e precisa das MNT, também possibilitou a detecção de novas espécies que ainda não haviam sido caracterizadas fenotipicamente (RAMOS *et al.*, 2013; TORTOLI, 2014).

2.7 EPIDEMIOLOGIA

As MNT são amplamente encontradas em todo o mundo. As características dos componentes estruturais da parede celular das MNT permitem um alto poder adaptativo a diferentes climas, e as particularidades de cada espécie quanto a sua adaptação ambiental e fatores de resistência, garantem a sobrevivência e a sua dispersão (GRIFFITH *et al.*, 2007).

Quanto a epidemiologia das doenças ocasionadas por MNT no Brasil, ainda há necessidade de estudos que abranjam a situação da prevalência dessas doenças. Existem muitos estudos no âmbito regional, porém, devido a alguns fatores como, a complexidade da coleta de dados, dificuldade de diagnóstico, o fato de não ser um agravo de notificação compulsória e ausência de um sistema de informação de acesso livre com dados epidemiológicos, acabam dificultando a realização de trabalhos com abrangência nacional (CARNEIRO *et al.*, 2018; DA COSTA *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2013; PEDRO *et al.*, 2017).

3. JUSTIFICATIVA

O aumento das doenças atribuídas as micobactérias não causadoras de tuberculose, tem gerado preocupação no cenário internacional nos últimos anos e os estudos epidemiológicos no âmbito da ocorrência de MNT no Brasil ainda são escassos (PEDRO *et al.*, 2017).

O difícil diagnóstico das MNT, sua característica oportunista e a similaridade sintomatológica em infecções pulmonares como a tuberculose, dificultam o diagnóstico e a elaboração do esquema quimioterápico (KOH; KWON; LEE, 2002).

O Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (ENSP/FIOCRUZ), de onde foram retiradas as informações propostas neste trabalho, é de fundamental importância para o controle da tuberculose e das infecções causadas por MNT no âmbito nacional. Considerando que o mesmo recebe amostras provenientes dos LACENs da maioria dos estados do Brasil e outros laboratórios nacionais, o que permitiu o levantamento espacial adequado das informações que foram utilizadas neste trabalho.

Este estudo pode contribuir para uma melhor rastreabilidade das espécies de MNT de acordo com a sua frequência por Unidade de Federação, permitindo uma melhor visualização da distribuição geográfica das MNT e possíveis regiões alvo de surtos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a diversidade, distribuição espacial das micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) e os dados epidemiológicos disponíveis no Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (ENSP/FIOCRUZ) no período de 2006 a 2018.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Identificar as espécies mais frequentes das MNT por Unidades da Federação do Brasil, coletadas no Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período de 2006 a 2018;

✓ Determinar a distribuição espacial das MNT por Unidades da Federação do Brasil, coletadas no Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período de 2006 a 2018;

✓ Identificar quais os sítios clínicos dos quais foram isoladas as MNT, coletadas no Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período de 2006 a 2018.

✓ Descrever os dados sociodemográficos disponíveis dos pacientes, dos quais foram isoladas as MNT coletadas no Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período de 2006 a 2018.

5. METODOLOGIA

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo descritivo dos casos de MNT identificados pelo Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses Ângela Maria Werneck do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF), onde foi analisada a diversidade de espécies e a distribuição espacial dos casos de MNT por UF do Brasil, no período de 2006 a 2018.

5.2 FONTE DOS DADOS

Para este estudo foram utilizados os dados laboratoriais disponíveis no software interno do Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do CRPHF (Mycosoft) e os dados do sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). O Mycosoft antecede a implementação do GAL no Laboratório de Referência Nacional do CRPHF, que ocorreu em 2012. O GAL administra os processos laboratoriais de amostras biológicas humanas e não humanas, tendo por objetivo gerenciar o funcionamento e o controle de qualidade dos laboratórios, melhorar o fornecimento de resultados de exames laboratoriais a outros sistemas de informação, e por fim, auxiliar os laboratórios, as secretarias de Vigilância Epidemiológica e Vigilância em Saúde no controle de doenças (JESUS *et al.*, 2013).

5.3 CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram excluídos os registros que não foram possíveis identificar a espécie de MNT. Pacientes que apresentavam mais de uma amostra, os resultados das amostras foram analisados e, em caso de incongruência entre os resultados as amostras foram excluídas do estudo. Foram selecionadas apenas uma amostra por paciente para representação dos casos.

5.4 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram coletadas informações de 6.440 amostras de MNT de pacientes da população residente no Brasil, independente do sexo ou idade, registrados no Mycosoft no período de 2006 a 2012 e no GAL do Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, no período 2013 a 2018.

Das 6.440 amostras disponíveis, foram excluídas da pesquisa todas que não foram

possíveis identificar a espécie de MNT e que apresentaram resultado incongruente. Como resultado obtivemos 4.276 amostras de 2.937 pacientes. Nos casos cujos pacientes apresentaram mais de um registro notificado, apenas uma das amostras do mesmo foi selecionada para a confecção das tabelas, gráfico e mapas deste trabalho. Então, foram incluídos um total de 2.937 isolados de MNT.

5.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis utilizadas neste estudo foram: espécie, idade, sexo, UF de residência do paciente, ano de liberação do resultado e material coletado.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

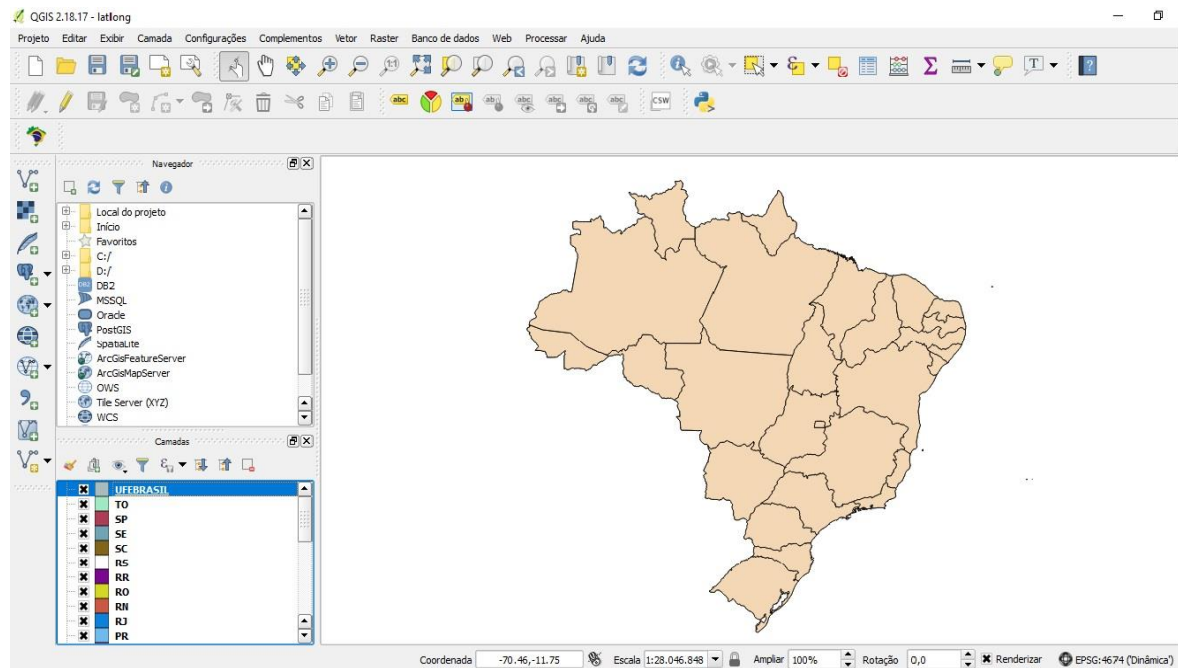
Foi realizada a análise descritiva da ocorrência de MNT na área de abrangência do estudo, considerando as variáveis de interesse listadas anteriormente. As frequências absolutas e relativas foram apresentadas através de tabelas e gráficos, além de se indicar eventuais perdas de informação. As análises estatísticas deste estudo foram implementadas no ambiente livre R 3.1.3 (*R Development Core Team, 2015*).

5.7 PLOTAGEM DOS MAPAS

Para a descrição espacial, foram plotados mapas dos dados por área com todas as espécies de MNT identificadas no período de estudo, segundo UF do Brasil. Posteriormente, após a identificação das espécies mais frequentes na análise descritiva, foram plotados mapas com as espécies de MNT mais frequentes segundo UF do Brasil.

Os mapas temáticos foram construídos no Programa QGIS versão 2.18.17, utilizando o sistema de referência de coordenadas (SRC): EPSG: 4674, SIRGAS 2000. Sendo plotados os 2937 casos de MNT, baseados nas coordenadas geográficas correspondentes as informações de cada Município do endereço do paciente, sendo plotados em shapefile (*SHP) das Unidades Federativas (UF) dos Estados do Brasil com a malha digital obtida através do site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (Figura 2).

Figura 2 – Malha digital das Unidades Federativas Estaduais do Brasil. QGIS 2.18.17; EPSG: 4674; Sirgas: 2000.



Fonte: O autor (2020)

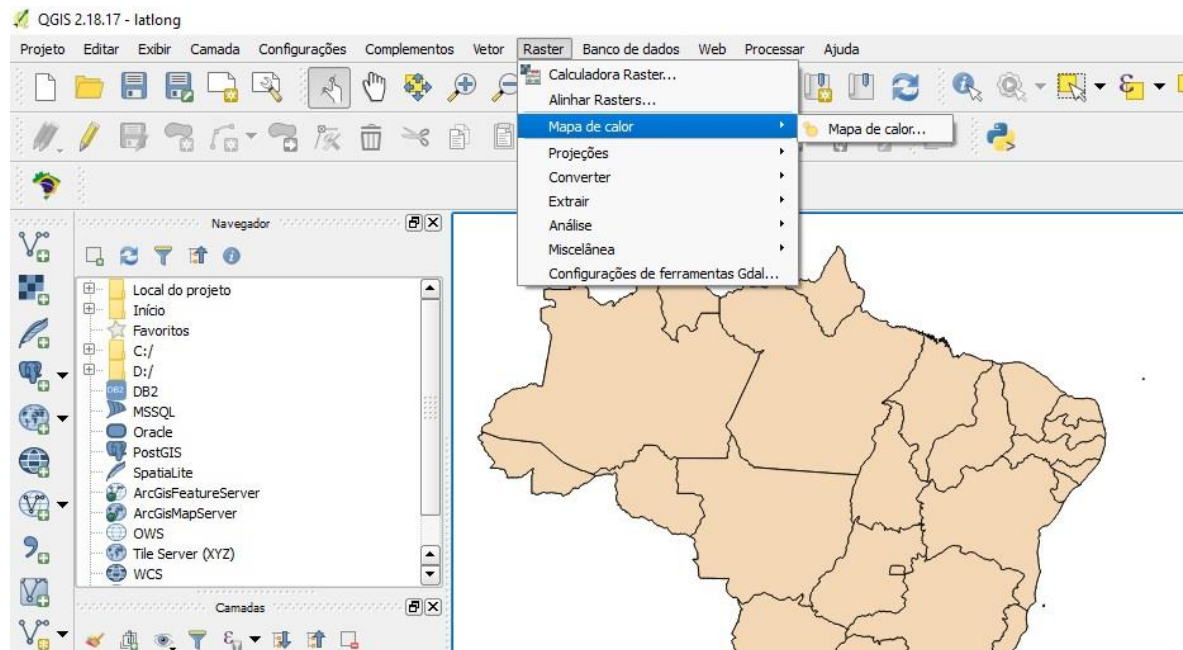
No software QGIS foi utilizado um plugin de análise de densidade de *Kernel* (Mapa de calor) que realiza uma análise geográfica do comportamento de padrões (Figura 3). Assim, foi gerado no mapa, por meio de métodos de interpolação, a intensidade dos pontos das ocorrências de MNT em toda a área de estudo. Portanto, a construção do mapa de *Kernel*, método estatístico de estimação de curvas de densidades através do uso de Sistema de Informação Geográfica (SIG), foi empregado para aprimorar a interpretação dos padrões de distribuição dos casos de MNT. Os mapas de calor (nível de *Kernel*), verificaram em quais regiões estão mais concentrados os casos de MNT dentro do período de abrangência. A partir da função Mapa de Calor, obtém-se um arquivo matricial como resultado da soma do empilhamento do “n” outros “raster” circulares de raio “h” para cada ponto do dado de entrada segundo a fórmula (1) abaixo:

$$\hat{f}_h(x) = \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{x - X_i}{h}\right) \quad (1)$$

K = função de *kernel*; h = raio de busca; x = posição do centro de cada célula do raster de saída; Xi = posição do ponto i proveniente do centroide de cada polígono; e n =

número total de focos de calor.

Figura 3- Plugin de mapa de calor para análise de densidade de kernel.



Fonte: O autor (2020)

Tanto os mapas de distribuição quanto os mapas de calor (*kernel*) no período de abrangência completo (2006 – 2018), não apresentam os dados referentes ao estado de São Paulo. No intuito de tornar os resultados o mais fidedigno no processo de distribuição espacial, foram incorporados dados de São Paulo do estudo realizado por Pedro e colaboradores (2017), para que fosse possível elaborar um mapa de distribuição e um mapa de calor com os dados de São Paulo. Porém, em um período de abrangência menor (2006 – 2009), já que o estudo apresenta uma cobertura temporal menor que o proposto nesse trabalho.

6. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

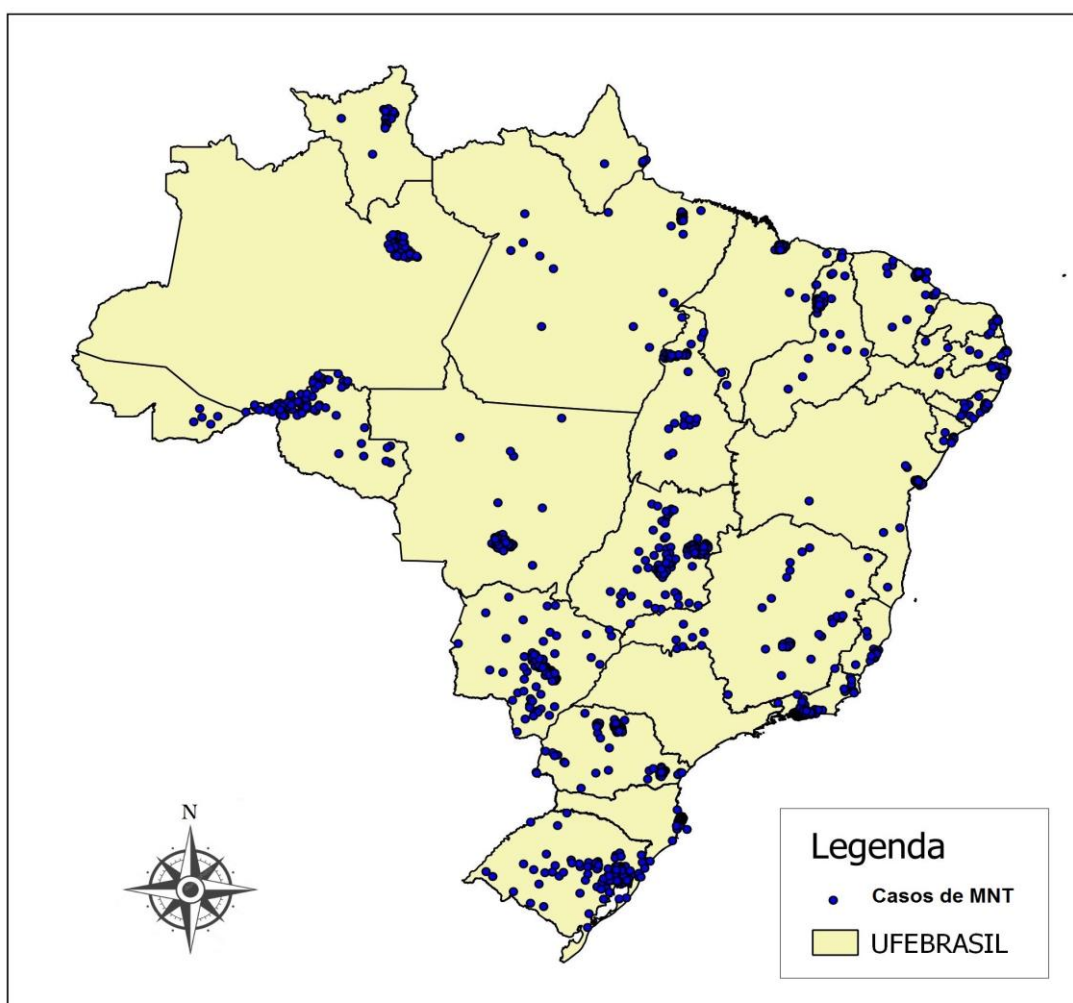
A pesquisa proposta desde sua concepção, passando pelo estabelecimento dos objetivos, a elaboração da metodologia foi desenvolvida de acordo com os princípios éticos de respeito pela pessoa, beneficência e justiça, seguindo as diretrizes e normas regulamentares da resolução nº 466/2012. Nesse projeto de pesquisa não foi necessário o uso de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), pois foram utilizados apenas dados secundários de notificação de MNT, sendo esses dados de acesso restrito. Portanto, ressalta-se que em nenhum momento houve contato do pesquisador responsável com qualquer sujeito de pesquisa.

Este projeto somente teve início mediante aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ (CEP/ENSP), cujo o número do parecer de aprovação é 3.401.796.

7. RESULTADOS

Foram plotados 2937 casos de infecções por micobactérias não causadoras de tuberculose (MNT) identificadas no laboratório do Centro de Referência Professor Hélio Fraga (CRPHF) no período de 2006 a 2018, para construção do mapa de distribuição dos casos por UF mostrando a ampla distribuição dos casos no país (Figura 4). A tabela 1 mostra além da distribuição dos casos no Brasil, a frequência dos casos por Unidades de Federação. O Rio de Janeiro apresenta a maior frequência dos casos (25,9 %), seguido do Rio Grande do Sul (15,5%), Goiás (10,6%), Paraná (6,2%), Espírito Santo (4%) e Pernambuco (3,8%), respectivamente.

Figura 4- Distribuição espacial dos casos de MNT no período de 2006 – 2018 nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil.



Fonte: O autor (2020)

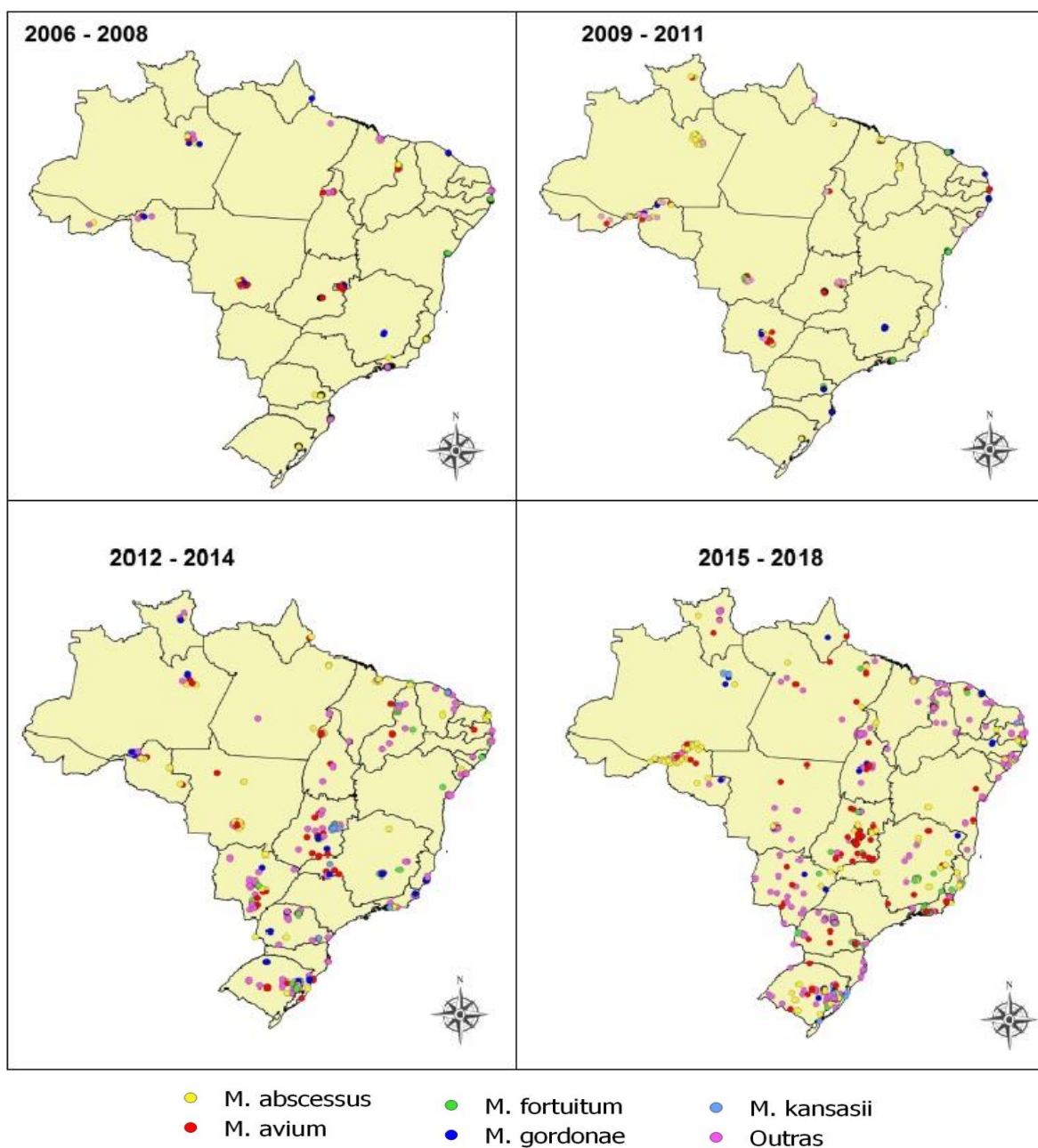
Tabela 1- Distribuição dos casos de infecção por MNT registrados no CRPHF, segundo estado de notificação, Brasil, 2006 - 2018

Estado de notificação	Nº casos	%	% Acumulado
RJ	760	25,9	25,9
RS	454	15,5	41.4
GO	312	10,6	52.0
PR	181	6,2	58.2
ES	119	4,0	62.2
CE	117	4,0	66.2
PE	111	3,8	70.0
SC	106	3,6	73.6
MT	89	3,0	76.6
MS	81	2,7	79.3
RO	81	2,7	82.0
MG	76	2,6	84.6
PI	64	2,2	86.8
DF	59	2,0	88.8
BA	48	1,6	90.4
AL	47	1,6	92.0
MA	46	1,6	93.6
TO	44	1,5	95.1
AM	36	1,2	96.3
PA	26	0,9	97.2
PB	25	0,9	98.1
RR	16	0,5	98.6
RN	15	0,5	99.1
SE	11	0,4	99.5
AP	8	0,3	99.8
AC	5	0,2	100
Total	2937		

Fonte: O autor (2020)

Os casos de MNT foram agrupados de 3 em 3 anos para a construção do mapa de distribuição sazonal, com excessão do último agrupamento que foi de 4 anos. O mapa de distribuição sazonal evidencia o aumento do número de casos no decorrer dos anos (Figura 5).

Figura 5- Distribuição dos casos de MNT em quatro períodos agrupados: (1) de 2006 a 2008; (2) de 2009 a 2011; (3) de 2012 a 2014; (4) de 2015 a 2018; nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil



Fonte: O autor (2020)

As espécies *M. avium* e as pertencentes ao grupo *M. abscessus* foram mais prevalentes, correspondendo 30.27% e 26.86% do total de casos, respectivamente (Tabela 2). Outras espécies de MNT apresentaram baixa frequência dentro do período de abrangência, sendo consideradas infecções raras (Tabela 3).

Tabela 2- Espécies de micobactérias não tuberculosas (MNT) mais prevalentes

Espécie	Frequência absoluta 2006-2018	Frequência Relativa (%) 2006-2018
<i>M. avium</i>	889	30.27%
<i>M. abscessus</i>	789	26.86%
<i>M. kansasii</i>	386	13.14%
<i>M. fortuitum</i>	308	10.49%
<i>M. gordonae</i>	102	3.47%
Total	2474	84.24%

Fonte: O autor (2020)

Tabela 3- Espécies de MNT com baixa frequência

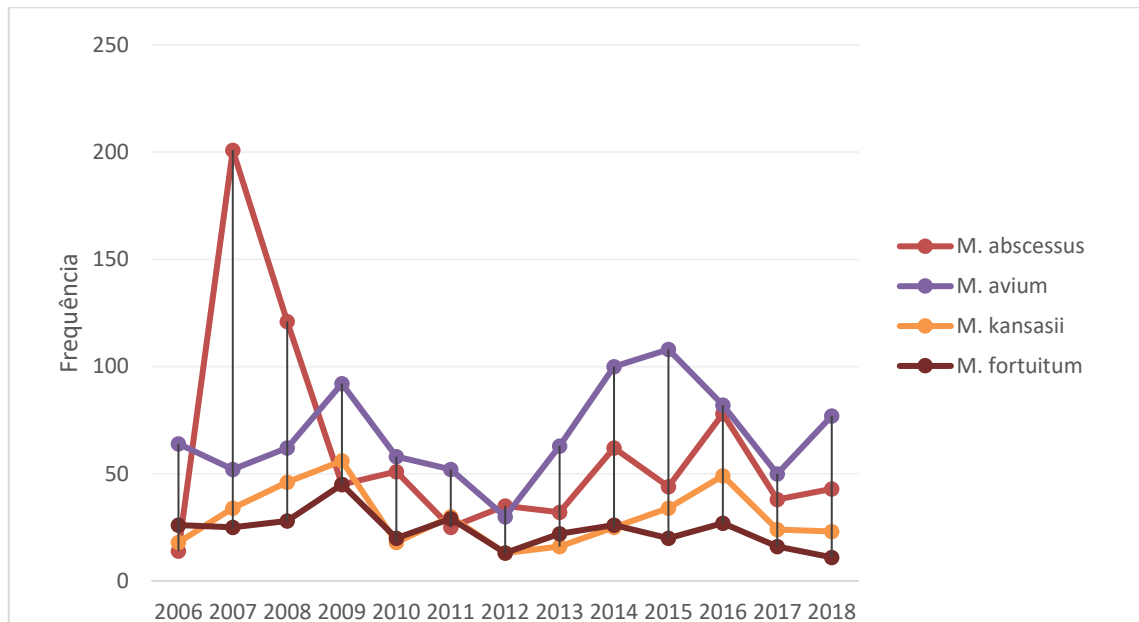
Espécies	Frequência (n)	Frequência Relativa (%)
<i>M. chelonae</i>	55	1,87%
<i>M. terrae</i>	41	1,40%
<i>M. asiaticum</i>	32	1,09%
<i>M. simae</i>	29	0,99%
<i>M. szulgai</i>	29	0,99%
<i>M. peregrinum</i>	22	0,75%
<i>M. colombiense</i>	18	0,61%
<i>M. mucogenicum</i>	17	0,58%
<i>M. nonchromogenicum</i>	15	0,51%
<i>M. brisbanense</i>	15	0,51%
<i>M. flavescens</i>	15	0,51%
<i>M. conceptionense</i>	14	0,48%
<i>M. sherrisii</i>	14	0,48%
<i>M. lentiflavum</i>	12	0,41%
<i>M. senegalense</i>	10	0,34%
<i>M. boenickei</i>	8	0,27%
<i>M. interjectum</i>	8	0,27%
<i>M. scrofulaceum</i>	8	0,27%
<i>M. celatum</i>	7	0,24%
<i>M. mageritense</i>	6	0,20%
<i>M. parmense</i>	6	0,20%
<i>M. parascrofulaceum</i>	6	0,20%
<i>M. neoaurum</i>	5	0,17%

<i>M. immunogenum</i>	4	0,14%
<i>M. confluentis</i>	4	0,14%
<i>M. monacense</i>	4	0,14%
<i>M. novocastrense</i>	4	0,14%
<i>M. holsaticum</i>	4	0,14%
<i>M. marseillense</i>	4	0,14%
<i>M. porcinum</i>	4	0,14%
<i>M. komossense</i>	3	0,10%
<i>M. marinum</i>	3	0,10%
<i>M. goodii</i>	3	0,10%
<i>M. palustre</i>	3	0,10%
<i>M. gilvum</i>	2	0,07%
<i>M. haemophilum</i>	2	0,07%
<i>M. murale</i>	2	0,07%
<i>M. phocaicum</i>	2	0,07%
<i>M. malmoense</i>	2	0,07%
<i>M. montefiorensense</i>	2	0,07%
<i>M. shimoidei</i>	1	0,03%
<i>M. arupense</i>	1	0,03%
<i>M. aubagnense</i>	1	0,03%
<i>M. bohemicum</i>	1	0,03%
<i>M. botniense</i>	1	0,03%
<i>M. branderi</i>	1	0,03%
<i>M. brumae</i>	1	0,03%
<i>M. carantisense</i>	1	0,03%
<i>M. fallax</i>	1	0,03%
<i>M. fragae</i>	1	0,03%
<i>M. gadium</i>	1	0,03%
<i>M. hadleri</i>	1	0,03%
<i>M. paraffinicum</i>	1	0,03%
<i>M. poriferae</i>	1	0,03%
<i>M. duvalii</i>	1	0,03%
<i>M. heidelbergense</i>	1	0,03%
<i>M. kubicae</i>	1	0,03%
<i>M. phlei</i>	1	0,03%
<i>M. septicum</i>	1	0,03%
Total	463	15.76%

Fonte: O autor (2020)

A análise temporal das espécies mais frequentes encontradas no estudo, mostra que *M. avium* é a espécie mais prevalente no decorrer dos anos, seguido de *M. abscessus*, *M. kansasii* e *M. fortuitum*, com exceção entre 2006 e 2009, que *M. abscessus* foi mais frequente (Figura 6).

Figura 6 - Distribuição temporal dos casos de MNT das espécies mais frequentes, 2006-2018.



Fonte: O autor (2020)

A análise da distribuição das espécies mais frequentes por UF, se dá a partir da observação do número de casos e do percentual encontrado por agravo em cada UF. Sendo dados comparáveis entre agravos somente o número de casos. Os estados com maior concentração de casos foram Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Goiás e Paraná (Tabela 4).

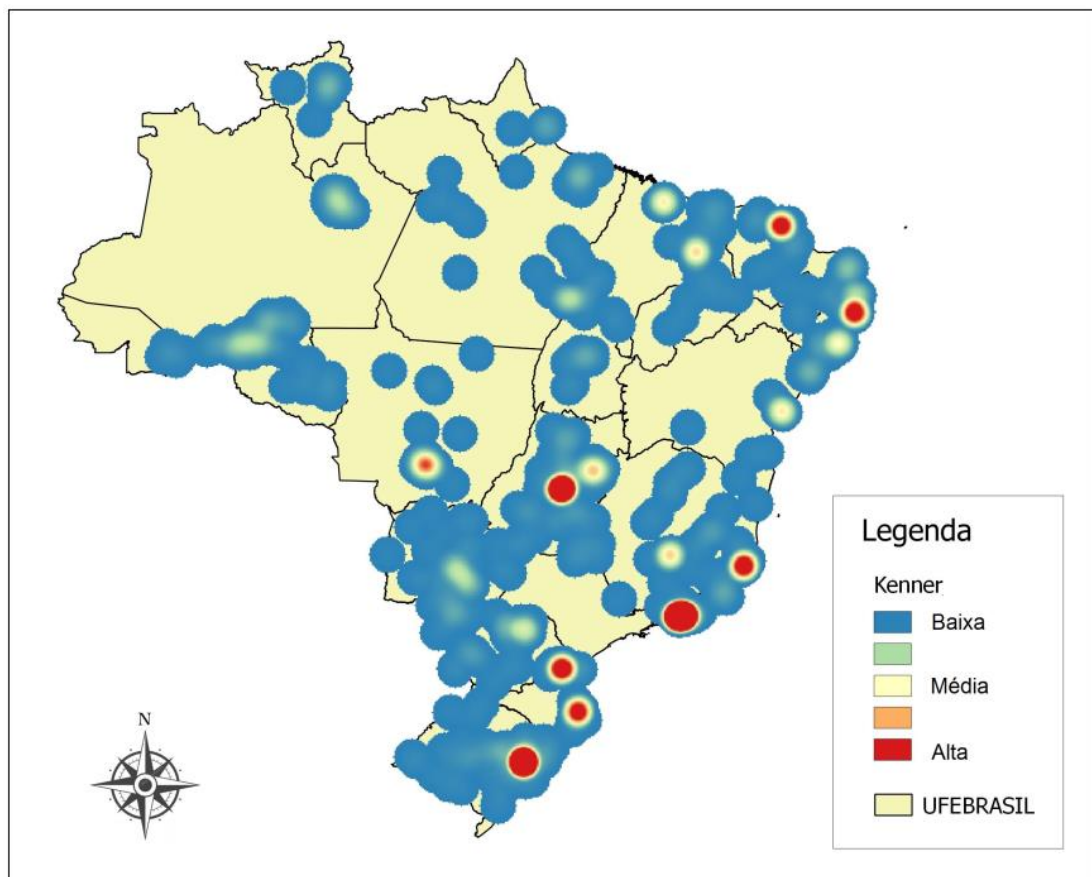
Tabela 4- Distribuição das espécies mais frequentes por Unidade da Federação, Brasil

Estados	<i>M. avium</i>		<i>M. abscessus</i>		<i>M. kansasii</i>		<i>M. fortuitum</i>		<i>M. gordonae</i>		Total
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)
RJ	214	24,07	179	22,69	170	44,04	91	29,55	17	16,67	671
RS	184	20,70	97	12,29	55	14,25	26	8,44	40	39,22	402
GO	127	14,29	63	7,98	7	1,81	49	15,91	9	8,82	255
PR	47	5,29	62	7,86	20	5,18	15	4,87	16	15,69	160
ES	3	0,34	98	12,42	7	1,81	7	2,27	0	0,00	115
CE	44	4,95	30	3,80	13	3,37	15	4,87	0	0,00	102
PE	20	2,25	28	3,55	33	8,55	17	5,52	0	0,00	98
SC	43	4,84	7	0,89	14	3,63	8	2,60	1	0,98	73
MT	32	3,60	38	4,82	3	0,78	7	2,27	1	0,98	81
MS	37	4,16	9	1,14	3	0,78	7	2,27	5	4,90	61
RO	17	1,91	40	5,07	0	0,00	10	3,25	2	1,96	69
MG	20	2,25	13	1,65	17	4,40	16	5,19	0	0,00	66
PI	12	1,35	23	2,92	6	1,55	5	1,62	0	0,00	46
DF	12	1,35	14	1,77	3	0,78	4	1,30	2	1,96	35
BA	12	1,35	3	0,38	19	4,92	2	0,65	2	1,96	38
AL	5	0,56	13	1,65	9	2,33	4	1,30	0	0,00	31
MA	11	1,24	15	1,90	3	0,78	5	1,62	0	0,00	34
TO	16	1,80	9	1,14	0	0,00	4	1,30	1	0,98	30
AM	4	0,45	18	2,28	1	0,26	6	1,95	0	0,00	29
PA	9	1,01	8	1,01	1	0,26	2	0,65	0	0,00	20
PB	5	0,56	3	0,38	0	0,00	3	0,97	6	5,88	17
RR	5	0,56	6	0,76	0	0,00	1	0,32	0	0,00	12
RN	1	0,11	7	0,89	1	0,26	1	0,32	0	0,00	10
SE	4	0,45	3	0,38	1	0,26	1	0,32	0	0,00	9
AP	4	0,45	2	0,25	0	0,00	2	0,65	0	0,00	8
AC	1	0,11	1	0,13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2
Total	889	100	789	100	386	100	308	100	102	100	2474

Fonte: O autor (2020)

A análise espacial das ocorrências de infecções por MNT de 2006 a 2018, a partir dos mapas de calor de *Kernel* mostra a densidade dos casos de MNT por regiões geográficas. A frequência dos casos é caracterizada em baixa, média ou alta densidade de acordo com o mapa de calor. As regiões sul e sudeste tiveram as maiores densidades de casos dentro do período de abrangência (Figura 7).

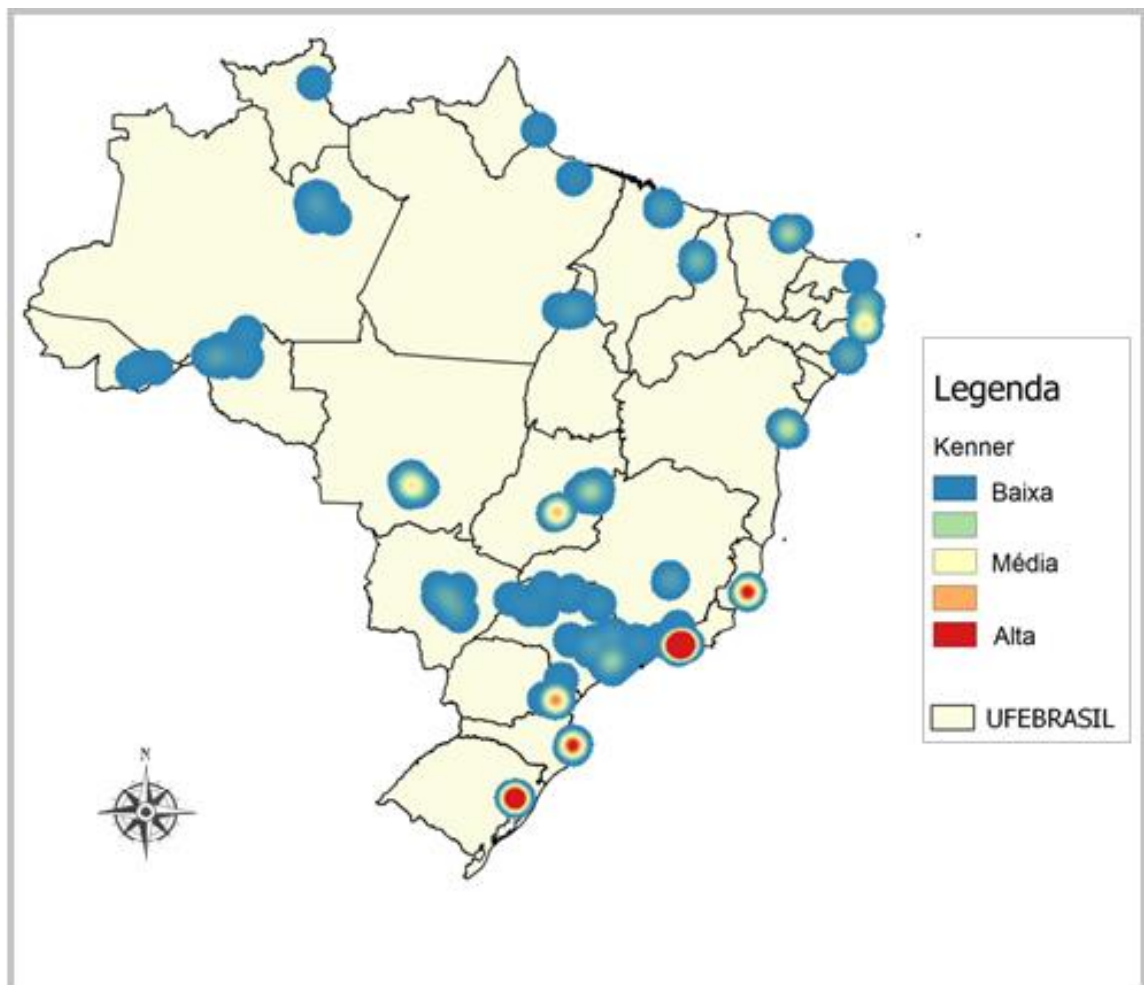
Figura 7- Análise estatística espacial de Kernel dos casos de MNT no período de 2006 a 2018.



Fonte: O autor (2020)

O mapa de calor de *Kernel* dos casos de MNT por regiões geográficas de 2006 a 2009 com dados comparativos de São Paulo, também foi caracterizado em baixa, média ou alta densidade de casos, mantendo as densidades mais elevadas nas regiões sul e sudeste (Figura 8).

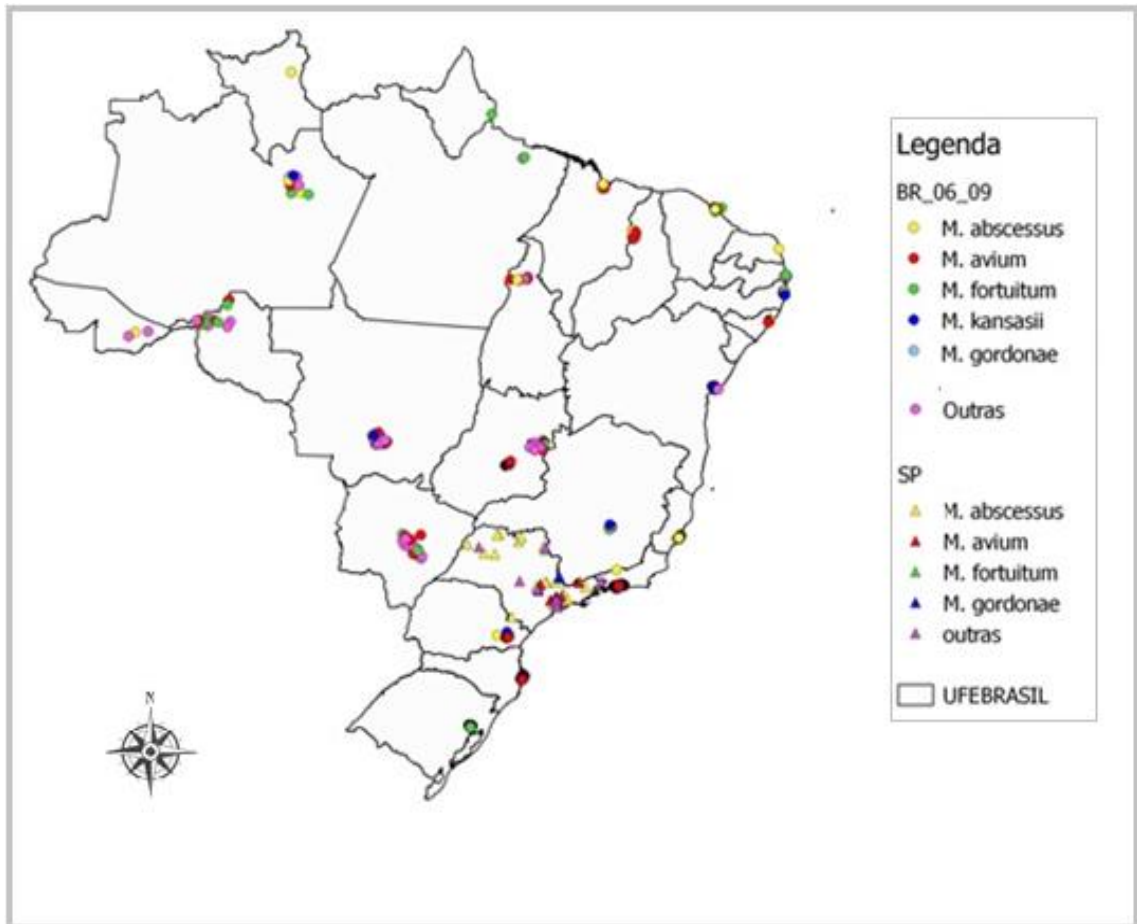
Figura 8 - Análise estatística espacial de Kernel dos casos de MNT no período de 2006 a 2009.



Fonte: O autor (2020)

A distribuição espacial das MNT de 2006 a 2009, mostra que as espécies mais frequentemente encontradas tanto nos dados de São Paulo como nos dados do CRPHF, foram as mesmas (Figura 9).

Figura 9 - Distribuição espacial dos casos de MNT no período de 2006 – 2009 nas Unidades Federativas Estaduais do Brasil.



Fonte: O autor (2020)

A comparação entre os aspectos sociodemográficos e as regiões geográficas mostrada na tabela 5, evidencia que cerca de 51% do total de casos apresentados nesse trabalho são do sexo masculino e 47% do total de casos são pessoas com idade acima de 50 anos.

Tabela 5- Avaliação de aspectos sociodemográficos de acordo com as regiões geográficas

Variáveis	Regiões Geográficas					Total (%)
	Norte	Nordeste	Centro-oeste	Sul	Sudeste	
Sexo						
Masculino	104 (48%)	240 (49,6%)	270 (49,9%)	399 (53,8%)	500 (52,3%)	1513 (51,5%)
Feminino	112 (52%)	244 (50,4%)	271 (50,1%)	342 (46,2%)	455 (47,7%)	1424 (48,5%)
Idade						
0 - 14	17 (7,9%)	18 (3,7%)	29 (5,4%)	34 (4,6%)	39 (4,1%)	137 (4,6%)
15 - 35	42 (19,4%)	72 (14,9%)	120 (22,2%)	134 (18,1%)	128 (13,4%)	496 (16,9%)
36 - 50	56 (25,9%)	150 (31%)	183 (33,8%)	224 (30,2%)	310 (32,4%)	923 (31,4%)
>50	101 (46,8%)	244 (50,4%)	209 (38,6%)	349 (47,1%)	478 (50,1%)	1381 (47,1%)
Total	216	484	541	741	955	2937

Fonte: O autor (2020)

Os tipos de materiais biológicos mais frequentes encontrados no estudo foram escarro (47.36%) e lavado brônquico (10.28%), respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6- Frequência dos tipos de materiais biológicos coletados de pacientes com infecção por MNT

Material Biológico	Frequência (n)	Frequência (%)
Escarro	1391	47.36%
Lavado Brônquico	302	10.28%
Sangue	153	5.20%
Tecido	118	4.10%
Biópsia	124	4.22%
Mama	113	3.84%
Outros	736	25%

Fonte: O autor (2020)

8. DISCUSSÃO

Hoefsloot e colaboradores (2013) desenvolveram um estudo pra verificar a distribuição das MNT no mundo. No estudo, foram coletadas informações de 62 laboratórios de 30 países de 6 continentes quanto a identificação de espécies de MNT realizadas em 2008, no qual, foram recebidos dados referentes a 20.182 isolados pulmonares de pacientes. O grupo observou que 47% do total dos dados recebidos foram identificados como pertencentes ao Complexo *M. avium* (MAC). Além disso, mostrou que cerca de 44% dos dados do norte da Europa e 33% do sul da Europa foram identificadas como MAC. Altas taxas de isolamento de MAC na América do Norte e América do Sul também foram descritas pelo grupo, cerca de 52% e 31,3%, respectivamente. Sobretudo, as espécies mais isoladas do total de casos apresentados pelo grupo, foram: *M. avium*, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. abscessus* e *M. fortuitum*.

No estudo de revisão realizado por Nunes-Costa e colaboradores (2016), foram avaliadas as frequências de infecções ocasionadas por MNT em Portugal e no Brasil. As espécies mais isoladas no país europeu foram, *M. avium*, *M. gordonae*, *M. fortuitum* e *M. kansasii*, respectivamente. O ranqueamento das espécies em Portugal se diferiu do levantado no Brasil, que foi *M. avium*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. gordonae* e *M. abscessus*, respectivamente. No Brasil, outros estudos mostraram a alta taxa de isolamento dessas mesmas espécies. No trabalho de Barreto e Campos (2000) 590 culturas de 19 Estados da Federação enviadas ao Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e Outras Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga foram analisadas, no período de 1994 a 1999. O grupo observou que as espécies mais isoladas foram *M. avium* (44,4%), *M. kansasii* (13,7%), *M. fortuitum* (10,8%) e *M. abscessus* (9,5%), respectivamente, em concordância com os resultados apresentados neste estudo. Observamos que as espécies mais isoladas no Brasil são as mesmas em todos os estudos supracitados, porém, identificamos diferenças no ranqueamento das espécies entre os estudos e em comparação com este estudo. Isso acontece porque a frequência se difere significativamente entre os Estados, dependendo do período analisado e das amostras populacionais. Observamos que *M. abscessus* foi a segunda espécie mais frequente no Brasil, segundo este estudo. O que pode ser explicado pelo aumento das infecções pós-cirúrgicas por micobactérias de crescimento rápido e os diversos surtos associados a essas infecções dentro do período de abrangência do estudo (BRASIL, 2011), como mostra o pico de infecções por *M. abscessus* entre 2006 e 2009 na análise temporal das espécies mais

frequentes. Observa-se que as cinco espécies mais frequentes permanecem desde 1994 até os dias de hoje sendo responsáveis por um maior número de infecções.

Quando analisada a distribuição das espécies mais frequentes por UF, observamos que a maioria dos Estados apresentaram maior taxa de isolamento de *M. avium*, principalmente o Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. Carneiro e colaboradores (2018) avaliaram infecções pulmonares ocasionadas pro MNT em 100 pacientes atendidos no ambulatório de tuberculose/MNT do Hospital Sanatório Partenon (HSP), no Rio Grande do Sul. Cerca de 35% tiveram resultado de infecção ocasionada por *M. avium*. Outros estudos de abrangência nacional como o de Barreto e Campos (2000), também evidenciam que há um maior número de casos de infecções por *M. avium* nas regiões sul e sudeste. Essa espécie é considerada um importante patógeno no cenário de infecções oportunistas em pessoas vivendo com HIV/AIDS, desde a década de 80 (VARLEY *et al.*, 2017). No Rio Grande do Sul (RS), a taxa de detecção do HIV/AIDS é a maior do Brasil. Em 2015, segundo o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde, a taxa de detecção da doença foi de 34,7 casos/100.000 habitantes. Na capital do estado, Porto Alegre, a taxa de detecção chegou a 74 casos/100.000 habitantes (BRASIL, 2015). Apesar de não ter sido possível incorporar nas nossas análises a informação de quantos dos pacientes vivem com HIV/AIDS, acreditamos que à alta taxa de detecção de AIDS no Estado, talvez, seja um dos motivos pelo qual observamos alta frequência dos casos de infecção por *M. avium* no Rio Grande do Sul, segundo este estudo.

Alguns Estados do Nordeste como, Alagoas, Maranhão, Piauí e Rio Grande do Norte tiveram mais casos de *M. abscessus*. Os Estados da região Norte e alguns do Nordeste tiveram pouca representação de casos neste estudo, considerando o baixo envio de amostras ao laboratório de referência nacional no período de abrangência. Bahia e Pernambuco, foram os únicos Estados que tiveram *M. kansasii* como espécie mais frequente, 12/48 e 33/111, respectivamente. Estudo realizado anteriormente na Bahia por Matos e colaboradores (2004), relatam uma maior frequência de *M. abscessus* (11/19). No Estado do Rio de Janeiro, apesar de *M. kansasii* não ter sido a espécie mais isolada, cerca de 44% do total de casos de infecções por *M. kansasii* descritas no estudo ocorreram no Rio de Janeiro. De Mello e colaboradores (2013) realizaram um estudo em pacientes residentes do Estado do Rio de Janeiro, que haviam realizado o tratamento de infecções pulmonares ocasionadas por MNT no ambulatório do CRPHF, no período de 1993 a 2011. *M. kansasii* foi a espécie mais frequente. Dos 174 pacientes observados, cerca de 33,9% foram acometidos por infecção

por *M. kansasii*. Estes dados enfatizam a magnitude das infecções por *M. kansasii* no Estado do Rio de Janeiro, considerando as altas taxas de isolamento. As infecções pulmonares causadas por *M. kansasii* apresentam sintomatologia muito parecida com a da tuberculose. Os autores enfatizam, que no Brasil, há uma alta prevalência de tuberculose, e que o erro de diagnóstico, no que tange a não identificação precoce de doenças pulmonares causadas por MNT, e o confundimento com a tuberculose, impactam diretamente no tratamento destes agravos e até mesmo na determinação da prevalência desses agravos em muitos Estados do Brasil.

Diferentes fatores podem estar associados ao fato dos maiores índices de calor (densidade das infecções) apresentados na estatística de *Kernel* estarem concentrados nas regiões Sul e Sudeste, como a possibilidade desses Estados enviarem mais amostras para o Centro de Referência Nacional e até mesmo existir um maior número de infecções nesses Estados. Além da possibilidade de uma maior cobertura laboratorial devido a prevalência de tuberculose nessas regiões, podendo até mesmo estar associado com as altas taxas de pessoas vivendo com HIV/AIDS. As regiões sul e sudeste foram responsáveis por 57, 8% dos casos descritos neste estudo. A estatística de *Kernel* foi realizada duas vezes, uma apresentando somente os dados dispostos nos bancos do CRPHF e outro acrescentando os dados de São Paulo. Vale salientar que o Laboratório de Referência Nacional de Tuberculose e outras Micobacterioses não obtiveram nenhum registro do Estado, por não haver envio de amostras dentro do período de abrangência descrito neste trabalho. Apesar dos dados de São Paulo corresponderem a um período de abrangência menor (2006-2009) do que o período proposto nesse trabalho (2006-2018) para a plotagem do mapa de *kernel*, a maior concentração dos casos permaneceu nas regiões sul e sudeste. Outros trabalhos evidenciam as regiões sul e sudeste do Brasil como as regiões com maior concentração de casos de infecção por MNT (BARRETO *et al.*, 2000; NUNES *et al.*, 2014).

Como as amostras enviadas pelos LACENs e outros laboratórios nacionais ao laboratório de referência nacional não correspondem ao total de casos identificados por esses laboratórios, torna-se inviável a realização de uma análise de tendência temporal do total de casos de infecções por MNT nesse estudo, já que a frequência de envio anual é irregular. Porém, através do mapa de distribuição sazonal é possível nitidamente observar o aumento das infecções por MNT ao longo dos anos, considerando os agrupamentos de anos. Os mapas de distribuição sazonal mostraram que a partir de 2012 houve um maior número de registros de casos no laboratório de referência nacional do CRPHF. No relatório da ATS de 2007 já

havia mais de 150 espécies de micobactérias não tuberculosas descritas no mundo. Apesar disso, a frequência dos casos notificados nesse período ainda era baixa, o que mostra que não houve uma grande relação entre o número de registros e o aumento do número de espécies descritas. Vários países como, Canadá, Estados Unidos, Dinamarca, tem relatado o aumento da frequência de isolamento de MNT ao longo dos anos. Marras e colaboradores (2013), descreveram um aumento de infecções pulmonares por MNT, em Ontario, Canadá. A prevalência encontrada em 1997 era de 9.1 por 100 mil habitantes e em 2003 estimaram a prevalência em 14.1 por 100 mil habitantes. O estudo de base populacional realizado na Dinamarca por Andréjak e colaboradores (2010), mostrou que a taxa de incidência entre 1997 e 2008 era de 1.08 por 100 mil habitantes, e que a taxa de aumento foi de 0,58, o que mostra que a incidência entre 2003 e 2008 era de 1,5/100 000.

Este estudo evidencia a grande diversidade de espécies de MNT isoladas em hospedeiros humanos, tendo sido identificadas 63 espécies de MNT, onde 58 espécies apresentaram baixa frequência de isolamento. Das espécies menos frequentes, apenas *M. asiaticum*, *M. terrae* e *M. chelonae* representam mais de 1% dos casos, variando entre 1-2% do total de casos presentes nesse trabalho. Foram consideradas menos frequentes, todas as espécies com percentual de infecção inferior a 2%.

Na avaliação dos aspectos sociodemográficos, verificamos que no Brasil como um todo, 51% dos casos eram do sexo masculino. Porém, a análise da distribuição por regiões geográficas, evidencia que o sexo masculino só apresenta maior frequência nas regiões sul e sudeste. Além disso, verificamos que nas regiões geográficas os valores entre indivíduos do sexo masculino e feminino foram próximos de 50%, variando de 48% a 54% e de 46% a 52%, respectivamente. Estes dados, mostram que possivelmente há pouca associação entre o sexo e as infecções. No trabalho de Pedro e colaboradores (2017), realizado no Estado de São Paulo, observa-se uma maior prevalência de homens com infecções por MNT (90/135 ,66,7%). No relatório da ATS (2007), diz que a predominância de pessoas infectadas por MNT são do sexo masculino. Porém, existem estudos que relatam a predominância de infecções pulmonares causadas por MAC em mulheres em período de pós menopausa (MARRAS et al., 2018). O que torna a associação entre o sexo e as infecções ainda um fator incerto.

Do total de casos de infecções por MNT descritos no estudo, cerca de 47% apresentaram idade superior a 50 anos, mesmo quando analisados por regiões geográficas, corroborando com dados apresentados em outros trabalhos realizados no Brasil, onde a

média de idade é igual ou superior a 50 anos (BONA *et al.*, 2011; CARNEIRO *et al.*, 2018; PREVOTS *et al.* 2015). Estudos internacionais também apontam uma maior prevalência dessas infecções em populações idosas. Segundo o trabalho de Lee e colaboradores (2019), no estudo realizado na Coreia do sul, foram avaliados 33.974 casos de MNT no país de 2006-2016 e cerca de 83,4% dos casos apresentavam idade superior a 50 anos, mostrando que as infecções por MNT, são fortemente associadas a pessoas idosas.

Os materiais biológicos encontrados nesse estudo, foram predominantemente escarro e lavado brônquico, representando mais de 50% dos casos. O que mostra que a maior parte dos materiais clínicos coletados são de espécimes que causam infecções pulmonares. Altas taxas de isolamento de espécies de MNT provenientes de infecções pulmonares, também, foram encontradas em outros estudos no Brasil. Como no estudo de Marques e colaboradores (2019), que realizaram a identificação de 448 isolados de espécimes pulmonares causados por MNT, no Estado de São Paulo, entre 2011-2014. No Rio Grande do Sul, Carneiro e colaboradores (2018) avaliaram 100 casos de infecções pulmonares causadas por MNT. Os autores relatam a dificuldade de se realizar o diagnóstico precoce de infecções pulmonares causadas por MNT, principalmente em pacientes com diagnóstico presuntivo de tuberculose, já que em muitos Estados do Brasil não são realizadas culturas de micobactérias como procedimento de rotina para o diagnóstico de tuberculose, o que acaba impedindo a detecção precoce de infecções por MNT.

A situação epidemiológica das doenças causadas por MNT no mundo é pouco conhecida, considerando que na maioria dos países não são considerados agravos de notificação compulsória (DALEY; GRIFFITH, 2010). A notificação também não é compulsória no Brasil, e isso é fator limitante para determinação da prevalência dessas infecções. A prevalência se difere significativamente entre os Estados, dependendo do período analisado e das amostras populacionais. Em 2009, foi criada e regulamentada a RDC 08/2009, resolução essa que visa o controle de surtos de micobacterioses nos serviços de saúde do país e a investigação epidemiológica. Sendo de “Notificação de infecção relacionada à assistência à saúde por micobacteriose não tuberculosa” somente os casos de surtos e/ou casos de procedimentos invasivos e cirúrgicos (BRASIL, 2011). A prevalência encontrada nesse trabalho foi de 2.93 por mil pacientes. Vale a pena salientar que só foram inclusos no estudo casos de infecções por MNT, nas quais houvesse a identificação da espécie. Como os casos apresentados nesse estudo não representam exatamente os casos totais do Brasil, não foi possível calcular a prevalência com base populacional. Em outros

países como, Canadá, a prevalência da doença foi estimada em 9,8 por 100.000 habitantes (MARRAS *et al.*, 2013). Já no Oregon (EUA), estimou-se uma prevalência de 8,6 por 100.000 habitantes. Tendo sido encontrado em outras partes dos EUA a estimativa de 1,4 a 6,6 por 100.000 habitantes (STOUT; KOH; YEW, 2016).

O monitoramento dos casos de MNT é de extrema importância, para que haja o correto levantamento da distribuição regional, espécie, o tempo de resposta ao tratamento, sítios clínicos e entre outras informações. Dados esses, fundamentais para elucidação das lacunas ainda existentes nos estudos epidemiológicos de MNT e para organização dos serviços de saúde no combate a essas infecções.

9. CONCLUSÃO

Neste estudo foi verificado a distribuição espacial das MNT no Brasil, a partir dos casos registrados no Laboratório de Referência Nacional de Bacteriologia da Tuberculose e Outras Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga no período de 2006-2018.

Verificou-se que a frequência dos casos é maior nas regiões sul e sudeste, segundo os mapas de calor da estatística de *Kernel*. A representatividade dessas regiões é cerca de 57,75% do total de casos presentes nesse trabalho.

A maior parte dos casos encontrados nesse estudo são do sexo masculino e com idade acima de 50 anos.

No presente estudo foram observados um total de 63 espécies de MNT, sendo *M. avium* a espécie mais prevalente.

Esse estudo mostrou também a importância do Laboratório de Referência Nacional de Bacteriologia da Tuberculose e Outras Micobacterioses do Centro de Referência Professor Hélio Fraga, para a realização de estudos epidemiológicos a partir de infecções causadas por MNT, considerando toda a dificuldade de realizá-los já que são agravos de notificação não compulsória. O Laboratório de Referência Nacional recebe amostras dos laboratórios centrais da maioria dos Estados do Brasil, tendo sido obtidos dados de 26 unidades federativas do Brasil.

No entanto, todos os dados apresentados são uma representação parcial do total de casos do Brasil. Apesar de nem todas as amostras diagnosticadas como MNT, terem sido enviadas ao Laboratório de Referência Nacional de Bacteriologia da Tuberculose e Outras Micobacterioses no período estudado, a grande maioria destas foram, o que faz com que o mesmo tenha um grande banco de cepas, que possivelmente é o maior do país. Além do que, acredita-se que o valor real dos casos de infecções por MNT diagnosticado seja inferior ao real existente no Brasil (CARNEIRO *et al.*, 2018)

Pouco ainda se sabe quanto a prevalência das doenças causadas por MNT, porém, esse trabalho apresenta dados importantes para o entendimento das doenças causadas por essas micobactérias. Os dados aqui apresentados podem ser utilizados pelos gestores de saúde pública como uma ferramenta de combate as doenças causadas por MNT, prevenção de novos surtos e organização dos serviços.

REFERÊNCIAS

AGIZEW, T. *et al.* Higher-than-expected prevalence of non-tuberculous mycobacteria in HIV setting in Botswana: Implications for diagnostic algorithms using Xpert MTB/RIF assay. **PLOS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0189981, 22 dez. 2017.

ALLEN, KB. *et al.* Nontuberculous *Mycobacterium* infections associated with heater-cooler devices. **The Annals Thoracic Surgery**; 104:1237-42. 2017.

ANDRÉJAK, C. *et al.* Nontuberculous Pulmonary Mycobacteriosis in Denmark: Incidence and Prognostic Factors. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [S. l.], v. 181, n. 5, p. 514–521, mar. 2010.

BARRETO, A. M. W.; CAMPOS, C. E. D. Micobactérias “não tuberculosas” no Brasil. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 8, n. 1, jun. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Bacteriologia da Tuberculose**. 3. ed. Rio de Janeiro, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Nacional de Vigilância da Tuberculose e outras Micobactérias**. 1. ed. Brasília, 2008.

BRASIL/MS/ AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Relatório descrito de investigação de casos de infecção por micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido (MCR) no Brasil no período de 1998 a 2009**; Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico AIDS/DST**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRYANT, JM. *et al.* Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant nontuberculous *mycobacterium*. **Science**, 354:751-7. 2016.

BONA, M. DAS G. M. E *et al.* Análise de restrição enzimática do gene hsp65 de isolados clínicos de pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar em Teresina, Piauí. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 37, n. 5, p. 628–635, out. 2011.

BURGESS, W. *et al.* Disinfectant Susceptibility Profiling of Glutaraldehyde-Resistant Nontuberculous Mycobacteria. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 38, n. 7, p. 784–791, jul. 2017.

CARNEIRO, M. DOS S. *et al.* Nontuberculous mycobacterial lung disease in a high tuberculosis incidence setting in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, n. 2, p. 106–111, abr. 2018.

CIRILLO, J. D. *et al.* Interaction of *Mycobacterium avium* with environmental amoebae enhances virulence. **Infection and Immunity**, v. 65, n. 9, p. 3759–3767, set. 1997.

COLLINS CH *et al.* Tuberculosis Bacteriology: Organization and Practice. **Butter Worth-**

Heinemann. Oxford, 2nd edition; p.139, 1997.

DA COSTA, A. R. F. *et al.* Occurrence of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Infection in an Endemic Area of Tuberculosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 7, p. e2340, 18 jul. 2013.

DALEY CL, GRIFFITH DE. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.**;14(6):665-71. 2010.

DE MELLO, K. G. C. *et al.* Clinical and therapeutic features of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Brazil, 1993-2011. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 393–399, mar. 2013.

DUARTE, R. S. *et al.* Epidemic of postsurgical infections caused by *Mycobacterium massiliense*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2149–2155, 1 jul. 2009.

FALKINHAM, J. O. *et al.* *Mycobacterium avium* in a shower linked to pulmonary disease. **Journal of Water and Health**, v. 6, n. 2, p. 209–213, jun. 2008.

FONTANA, R. T. As Micobactérias de Crescimento Rápido e a infecção hospitalar: um problema de saúde pública. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 3, p. 371–376, jun. 2008.

GRIFFIN, I. *et al.* Outbreak of Tattoo-associated Nontuberculous Mycobacterial Skin Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. 6, p. 949–955, 30 ago. 2019.

GRIFFITH, D. E. *et al.* An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 175, n. 4, p. 367–416, 15 fev. 2007.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 95–108, fev. 2004.

HENKLE, E.; WINTHROP, K. L. Nontuberculous Mycobacteria Infections in Immunosuppressed Hosts. **Clinics in Chest Medicine**, [S. l.], v. 36, n. 1, p. 91–99, mar. 2015.

HILBORN, E. D. *et al.* Persistence of Nontuberculous Mycobacteria in a Drinking Water System after Addition of Filtration Treatment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 9, p. 5864–5869, 1 set. 2006.

HONDA, J. R.; KNIGHT, V.; CHAN, E. D. Pathogenesis and Risk Factors for Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease. **Clinics in Chest Medicine**, v. 36, n. 1, p. 1–11, mar. 2015.

HOEFSLOOT, W. *et al.* The geographic diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary samples: an NTM-NET collaborative study. **European Respiratory Journal**, v. 42, n. 6, p. 1604–1613, dez. 2013.

JEON, D. Infection source and epidemiology of nontuberculous mycobacterial lung disease. **Tuberculosis and Respiratory Diseases**, v. 81, 2018.

JESUS, R. *et al.* Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial: relato de experiência de uma ferramenta transformadora para a gestão laboratorial e vigilância em saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. jul-set;22(3):525-9. 2013

KOH, W.-J.; KWON, O. J.; LEE, K. S. Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Diseases in Immunocompetent Patients. **Korean Journal of Radiology**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 145, 2002.

LEÃO, S. C. *et al.* Epidemic of surgical-site infections by a single clone of rapidly growing mycobacteria in Brazil. **Future Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 971–980, jun. 2010.

LEE, H. *et al.* Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Infection, South Korea, 2007–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 3, p. 569–572, mar. 2019.

LIMA, C. A. M. DE *et al.* Nontuberculous mycobacteria in respiratory samples from patients with pulmonary tuberculosis in the state of Rondonia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 4, p. 457–462, jun. 2013.

LIMA, T. M. DE *et al.* Teste rápido molecular GeneXpert MTB/RIF para diagnóstico da tuberculose. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 2, p. 65–76, jun. 2017.

LORENA, N. S. DE O.; DUARTE, R. S.; PITOMBO, M. B. Infecção por micobactérias de crescimento rápido após procedimentos videocirúrgicos - a hipótese do glutaraldeído. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 36, n. 3, p. 266–267, jul. 2009.

MARLOWE, E. M. *et al.* Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF Assay for Direct Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Respiratory Specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 1621–1623, 1 abr. 2011.

MARQUES, L. R. M.; FERRAZOLI, L.; CHIMARA, É. Pulmonary nontuberculous mycobacterial infections: presumptive diagnosis based on the international microbiological criteria adopted in the state of São Paulo, Brazil, 2011-2014. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 45, n. 2, p. e20180278, 2019.

MARRAS TK, *et al.*, Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Ontario, Canada, 1998-2010. **Emerging Infectious Diseases**, v.19, p.1889-91, 2013.

MARRAS, T. K. *et al.* Relative risk of all-cause mortality in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease in a US managed care population. **Respiratory Medicine**, [S. l.], v. 145, p. 80–88, dez. 2018.

MATOS, E. D. *et al.* Nontuberculosis mycobacteria at a multiresistant tuberculosis reference center in Bahia: clinical epidemiological aspects. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 8, n. 4, p. 296–304, ago. 2004.

MCNABB, A. *et al.* Assessment of Partial Sequencing of the 65-Kilodalton Heat Shock Protein Gene (*hsp65*) for Routine Identification of *Mycobacterium* Species Isolated from

Clinical Sources. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 7, p. 3000–3011, 1 jul. 2004.

NAMKOONG, H. *et al.* Epidemiology of Pulmonary Nontuberculous Mycobacterial Disease, Japan1. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 6, p. 1116–1117, jun. 2016.

NASCIMENTO, H. *et al.* Identification of the Infection Source of an Outbreak of *Mycobacterium Chelonae* Keratitis after Laser in Situ Keratomileusis: **Cornea**, v. 37, n. 1, p. 116–122, jan. 2018.

NISHIUCHI, Y.; IWAMOTO, T.; MARUYAMA, F. Infection Sources of a Common Nontuberculous Mycobacterial Pathogen, *Mycobacterium avium* Complex. **Frontiers in Medicine**, v. 4, 7 mar. 2017.

NUNES, L. DE S. *et al.* Outbreaks due to *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* in southern Brazil: persistence of a single clone from 2007 to 2011. **Journal of Medical Microbiology**, v. 63, n. 10, p. 1288–1293, 1 out. 2014.

NUNES-COSTA, D. *et al.* The looming tide of nontuberculous mycobacterial infections in Portugal and Brazil. **Tuberculosis**, v. 96, p. 107–119, jan. 2016.

OLIVIER, K. N. *et al.* Nontuberculous Mycobacteria: I: Multicenter Prevalence Study in Cystic Fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 167, n. 6, p. 828–834, 15 mar. 2003.

PEDRO, H. P. *et al.* Epidemiological and laboratorial profile of patients with isolation of nontuberculous mycobacteria. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 6, n. 3, p. 239, 2017.

PREVOTS, D. R.; MARRAS, T. K. Epidemiology of Human Pulmonary Infection with Nontuberculous Mycobacteria. **Clinics in Chest Medicine**, v. 36, n. 1, p. 13–34, mar. 2015.

POURSHAFIE; SONNENFELD; BARROW. Immunological and Ultrastructural Disruptions of T Lymphocytes Following Exposure to the Glycopeptidolipid Isolated from the *Mycobacterium avium* Complex. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 49, n. 4, p. 405–410, abr. 1999.

RALLIS, E.; KOUMANTAKI-MATHIOUDAKI, E. Treatment of *Mycobacterium marinum* cutaneous infections. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 8, n. 17, p. 2965–2978, dez. 2007.

RAMOS, J. P. *et al.* *Mycobacterium fragae* sp. nov., a non-chromogenic species isolated from human respiratory specimens. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, n. Pt 7, p. 2583–2587, 1 jul. 2013.

ROMERO, F. A. *et al.* Nontuberculous Mycobacterial Infections After Silicone Breast Implant Reconstruction Emphasize a Diversity of Infecting Mycobacteria. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 4, n. 4, 1 out. 2017.

RUNYON, E.H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. **Medical Clinics of**

North America, Philadelphia, v.43, p.273-290, 1959

SAMPAIO, J. L. M. *et al.* Application of four molecular typing methods for analysis of *Mycobacterium fortuitum* group strains causing post-mammoplasty infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, n. 2, p. 142–149, fev. 2006.

SETTE, C. S. *et al.* *Mycobacterium marinum* infection: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 21, n. 1, p. 7, dez. 2015.

SHIH, D. C. *et al.* Extrapulmonary Nontuberculous Mycobacterial Disease Surveillance Oregon, 2014–2016. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 67, n. 31, p. 854–857, 10 ago. 2018.

SIZAIRE, V. *et al.* *Mycobacterium ulcerans* infection: control, diagnosis, and treatment. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 6, n. 5, p. 288–296, maio 2006.

STOUT, J. E.; KOH, W.-J.; YEW, W. W. Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 45, p. 123–134, abr. 2016.

SPINELLI, G. *et al.* Surgical treatment for chronic cervical lymphadenitis in children. Experience from a tertiary care paediatric centre on non-tuberculous mycobacterial infections. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 108, p. 137–142, maio 2018.

THOMSON, R. *et al.* Isolation of Nontuberculous Mycobacteria (NTM) from Household Water and Shower Aerosols in Patients with Pulmonary Disease Caused by NTM. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 9, p. 3006–3011, 1 set. 2013.

TORTOLI, E. Microbiological Features and Clinical Relevance of New Species of the Genus *Mycobacterium*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 727–752, out. 2014.

TORTOLI E. *et al.* *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis: low impact of inter-human transmission in Italy. **European Respiratory J**; 50: 1602525. 2017.

VARLEY, C. D. *et al.* Disseminated Nontuberculous Mycobacteria in HIV-Infected Patients, Oregon, USA, 2007–2012. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 533–535, mar. 2017.

WALLACE, R. J. *et al.* Polyclonal *Mycobacterium avium* Complex Infections in Patients with Nodular Bronchiectasis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 158, n. 4, p. 1235–1244, out. 1998.

WILDNER, L. M. *et al.* Micobactérias: epidemiologia e diagnóstico. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 3, p. 207–230, 17 out. 2011.

ZHANG, M.; FENG, M.; HE, J.-Q. Disseminated *Mycobacterium kansasii* infection with cutaneous lesions in an immunocompetent patient. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 62, p. 59–63, set. 2017.