



**FIOCRUZ**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina  
Investigativa (PGBSMI)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO DA IgG TOTAL ANTI-MCE1A COMO POTENCIAL  
BIOMARCADOR DA TUBERCULOSE ATIVA E LATENTE**

**CAROLINA CAVALCANTE DE OLIVEIRA**

**Salvador – Brasil**

**2014**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina**  
**Investigativa**

**AVALIAÇÃO DA IgG TOTAL ANTI-MCE1A COMO POTENCIAL**  
**BIOMARCADOR DA TUBERCULOSE ATIVA E LATENTE**

**CAROLINA CAVALCANTE DE OLIVEIRA**

Orientador: Dr Sérgio Marcos Arruda

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para obtenção do grau Mestre.

**Salvador – Brasil**

**2014**

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do  
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

O48a Oliveira, Carolina Cavalcante de  
Avaliação da IgG total Anti-Mce1A como potencial biomarcador da tuberculose  
ativa e latente. / Carolina Cavalcante de Oliveira. - 2014.  
82 f.; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Marcos Arruda, Laboratório Avançado de Saúde  
Pública.

**Dissertação ( Mestrado) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de  
Pesquisas Gonçalo Moniz, 2014.**

1. Tuberculose 2. Mce1A 3. IgG total 4. Biomarcadores 5. Diagnóstico .  
I. Título.

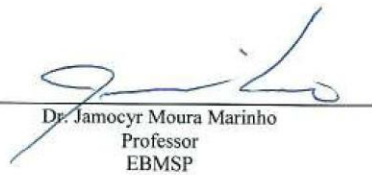
CDU 616-002.5-078

“Avaliação da IgG Total Anti-MCE1A na Tuberculose Ativa e Latente”

**CAROLINA CAVALCANTE DE OLIVEIRA**

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Jamocyr Moura Marinho  
Professor  
EBMSP



Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro  
Professor Adjunto  
UFBA



Dra. Jolce Neves Reis Pedreira  
Professora  
UFBA

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Zelia Cavalcante e Daladier Oliveira, ao meu irmão, Raphael Cavalcante, ao meu “pai-drasto” Kleber Morbeck e ao meu noivo, Alexandre Aragão, pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho. Pela compreensão que demonstraram e por me ajudarem a ultrapassar todos os obstáculos que foram surgindo ao longo da minha formação.

Ao Prof. Dr. Sérgio Arruda, meu orientador, pela grande contribuição na minha formação científica, pelo incentivo, pelos ensinamentos e pela confiança depositada ao longo desses anos.

À Iukary Takenami, pela amizade, companheirismo e incentivo desde o início. Você foi essencial para a minha formação profissional. Eu tenho muito orgulho de tê-la como presente na minha vida profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Almério Machado Jr., pela imensa colaboração no projeto.

Ao Dr. Lee Riley pela confiança.

Aos meus queridos amigos do LASP/CPqGM, em especial a Antônio Muniz, Théssika Hialla, Filipe Rego, Luciane Santos, Marina Loyola, Juliana Gomes, Raimundo Coutinho e Tonya Duarte, obrigada pelo apoio, amizade e pela companhia diária.

À Luana Leandro, Jéssica Petrilli e Fernanda Khouri por toda cumplicidade, pelas conversas, risadas, sempre presentes com uma palavra de carinho, apoio, incentivo e amizade.

Aos meus amigos, em especial a Jordana Rocha, Luanda Mattos, Michelle Palma, Leila Costa, Miguel Calmon e Mateus Dias, por compreenderem a minha ausência, falta de tempo, cansaço e desabafos. Vocês são amigos mais que especiais!

Aos estudantes de iniciação científica Carolina Cunha, Tomás Viana, Marília Moraes, Nana Guimarães, Lara Andrade, Ana Luísa, Raquel Oliveira, Raphael Lobo, Karen Araújo, Arielle Bomfim, Filipe Rocha e Jéssica Soares, obrigada pela ajuda imprescindível nas entrevistas e busca ativa dos pacientes índices. As dificuldades do trabalho ficaram menores com a dedicação e amizade de vocês.

Aos colaboradores do 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, em especial a Eurides Barbosa, Terezinha Siquara, Simone Costa, Antônio Malaquias, Zelmira Pimentel, Flaviana Costa e Ieda Lopes pela colaboração com a realização desta pesquisa.

A todos os colegas e Professores da Pós Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa pelo convívio e aprendizado.

À Rita Santana, Taise Caires e Iumara Oliveira por toda a paciência ao longo desses dois anos. Obrigada pela assistência.

Ao Programa de demanda social / CAPES (DS/CAPES) pelo apoio financeiro.

E como não poderia deixar de ser, agradeço imensamente aos voluntários que participaram deste estudo, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

OLIVEIRA, Carolina Cavalcante de. Avaliação da IgG total Anti-Mce1A como potencial biomarcador da tuberculose ativa e latente. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Monuz, Salvador, 2014.

## RESUMO

**Introdução:** A tuberculose (TB), doença crônica causada por *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), é uma das doenças infecciosas que mais acomete a população brasileira, com 2.832 óbitos em 2010. Na infecção causada pelo *Mtb*, a interação das células T com os macrófagos (MØs) infectados é fundamental na imunidade protetora contra o bacilo. A Mce1A é uma proteína da parede celular do *Mtb* que confere grande capacidade de aderência, invasão e sobrevivência em MØs. Contudo, a caracterização da proteína Mce1A pode fornecer um biomarcador para diagnóstico e monitoramento do tratamento. Nosso objetivo é avaliar a produção de IgG total anti-Mce1A em pacientes com TB e seus comunicantes domiciliares (CDTB). **Material e métodos:** Indivíduos diagnosticados com TB pulmonar e CDTB foram submetidos a coleta de sangue por punção venosa. O diagnóstico da TB foi baseado em quadro clínico e/ou radiografia sugestiva e/ou baciloscopia do escarro positiva. Nos CDTB, a infecção foi determinada a partir da reação do teste tuberculínico (TT) e avaliação radiográfica. Soro dos três grupos foi coletado e armazenado a -20°C, até a determinação dos níveis de IgG total anti-Mce1A por meio de um ensaio imunoenzimático (ELISA). **Resultados:** Entre janeiro de 2012 e outubro de 2013 foram identificados 50 pacientes com TB pulmonar e 50 CDTB, dentre os quais 23 foram TT positivo e 27 foram TT negativo. A média de idade da população estudada foi de 37,8 anos (DP  $\pm$  20,4). O gênero masculino prevaleceu entre os pacientes com TB (68%), porém nos CDTB, o gênero feminino prevaleceu (62%). A maioria dos indivíduos incluídos foram vacinados com BCG (71,4%). Cerca de 20% dos CDTB, TT negativo (18,5%) e TT positivo (20,8%), relataram que tiveram contato prévio com um doente com TB. Pacientes com TB tinham níveis de IgG anti-Mce1A ( $1,380 \pm 0,2950$ ) estatisticamente maiores que indivíduos TT negativo (IgG anti-Mce1A:  $1,049 \pm 0,2666$ ). A diferença entre os grupos TT positivo (IgG anti-Mce1A  $2,018 \pm 0,2807$ ) e TT negativo (IgG anti-Mce1A:  $1,049 \pm 0,2666$ ) também foi estatisticamente diferente. Todos os grupos estudados tiveram diferença estatística na produção de anticorpos ( $p < 0,0001$ ). Não houve diferença estatística entre os pacientes com TB e indivíduos TT positivo ( $p > 0,05$ ). **Conclusão:** A produção de IgG total anti-Mce1A ocorreu em pacientes com TB e seus comunicantes domiciliares. Pacientes com TB e indivíduos TT positivo apresentam maior produção de anticorpos IgG total anti-Mce1A em comparação aos indivíduos TT negativo, sugerindo o potencial papel desta imunoglobulina como biomarcador de doença e de infecção tuberculosa.

**Palavras-chave:** Tuberculose, Mce1A, IgG total, biomarcadores, diagnóstico.

OLIVEIRA, Carolina Cavalcante de. Evaluation of the anti-Mce1A total IgG as a potential biomarker of active and latent tuberculosis. 82 f. il. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Monuz, Salvador, 2014.

## ABSTRACT

**Introduction:** Tuberculosis (TB), a chronic disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), is an infectious disease that affects the Brazilian population, with 2,832 deaths in 2010. In *Mtb* infection, the interaction of T cells with infected macrophages (MØs) is critical in protective immunity against the bacillus. The Mce1A is a cell wall protein of *Mtb* which gives great adhesion characteristics, invasion and survival in MØs. However, the characterization of protein Mce1A can provide a biomarker for diagnosis and monitoring of treatment. Our goal is to evaluate the production of total IgG anti-Mce1A TB patients and their household contacts (HHC). **Material and Methods:** Individuals diagnosed with pulmonary TB and HHC were subjected to blood collection by venipuncture. The diagnosis of TB was based on clinical and/or suggestive radiography and/or positive sputum smear. In HHC, infection was determined from the reaction of the tuberculin skin test (TST) and radiographic evaluation. Three groups of serum was collected and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until determination of the levels of anti-Mce1A total IgG by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Between January 2012 and October 2013, 50 patients were identified with pulmonary TB and 50 HHC, of which 23 were positive TST and 27 were negative TST. The average age of the study population was 37.8 years ( $\text{SD} \pm 20.4$ ). The males predominated among patients with TB (68%), but the HHC, the prevailed females (62%). Most individuals vaccinated with BCG were included (71.4%). About 20% of HHC, negative TST (18.5%) and positive TST (20.8%) reported that they had previous contact with a TB patient. TB patients had levels of IgG anti-Mce1A ( $1.380 \pm 0.2950$ ) statistically higher than individuals negative TST (anti-Mce1A IgG:  $1.049 \pm 0.2666$ ). The difference between the positive TST groups (anti-Mce1A IgG  $2.018 \pm 0.2807$ ) and negative TST (anti-Mce1A IgG:  $0.2666 \pm 1.049$ ) was also statistically different. All groups had statistically difference in antibody production ( $p < 0.0001$ ). There was no statistical difference between patients with TB and positive TST individuals ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** The production of anti-Mce1A total IgG occurred in TB patients and their household contacts. TB patients and TST positive individuals have a higher production of anti-Mce1A IgG antibodies overall compared to individuals negative TST, suggesting the potential role of immunoglobulin biomarker for TB disease and infection.

Keywords: Tuberculosis, Mce1A, the total IgG, biomarkers, diagnostic.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Número de novos casos de tuberculose registrados no mundo durante o ano de 2012.	15
Figura 1.2	Ciclo do <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .	17
Figura 1.3	Mecanismo de modulação das respostas imunes contra o <i>Mtb</i> pelas células B.	19
Figura 1.4	Avaliação dos pacientes do 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo.	25
Figura 1.5	Crítérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia de escarro, após concentração ou não, corada pelo método de Ziehl-Neelsen.	27
Figura 1.6	Técnica de inoculação do PPD.	28
Figura 1.7	Leitura do PPD pelo método de palpação do diâmetro transversal máximo de induração.	28
Figura 1.8	Diagrama de fluxo mostrando o seguimento clínico da população de estudo.	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características sócio-demográficas dos pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, período entre 2012 e 2013 (n=50).	32
Tabela 2	Características clínicas dos pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo (n=50).	33
Tabela 3	Características sócio-demográficas dos comunicantes domiciliares de pacientes com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo (n=50).	34
Tabela 4	Características clínicas dos comunicantes domiciliares de pacientes com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo (n=50).	35

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>BAAR</b>	Bacilo álcool-ácido resistente
<b>BCG</b>	Bacilo Calmette-Guérin
<b>CD4+</b>	Linfócitos com Receptor CD4
<b>CD8+</b>	Linfócitos com Receptor CD8
<b>CDC</b>	<i>Centers for Disease Control</i>
<b>CDTB</b>	Comunicante domiciliar de pacientes com tuberculose
<b>CEP</b>	Conselho de Ética em Pesquisa
<b>CPqGM</b>	Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz
<b>DC</b>	Células dendríticas
<b>DOTS</b>	Estratégia de Tratamento Diretamente Observado
<b>E</b>	Etambutol
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme linked immuno sorbent assay</i>
<b>FIOCRUZ</b>	Fundação Oswaldo Cruz
<b>H</b>	Isoniazida
<b>HEOM</b>	Hospital Especializado Octávio Mangabeira
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana
<b>H37Ra</b>	cepa atenuada do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>IgA</b>	Imunoglobulina A
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina M
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferon-gama
<b>IGRA</b>	Ensaio de liberação de interferon-gama
<b>IL</b>	Interleucina
<b>ILTb</b>	Infecção latente pelo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<b>INH</b>	Isoniazida
<b>Mce1A</b>	<i>Mammalian cell entry protein</i>
<b>MHC</b>	Complexo principal de histocompatibilidade
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>MNT</b>	Micobactérias não tuberculosas
<b>MØs</b>	Macrófagos
<b>NK</b>	Células assassinas naturais

<b>ODP</b>	Pacientes diagnosticados com outras doenças pulmonares
<b>PNCT</b>	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
<b>PPD</b>	Derivado protéico purificado
<b>PT</b>	Prova tuberculínica
<b>QFT-IT</b>	QuantiFERON-TB® Gold in Tube
<b>R</b>	Rifampicina
<b>S</b>	Estreptomicina
<b>SIDA</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>SINAN</b>	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
<b>TB</b>	Tuberculose
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>Th1</b>	Linfócito T auxiliar do tipo 1
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral
<b>TT</b>	Teste cutâneo tuberculínico
<b>TT -</b>	Teste cutâneo tuberculínico negativo
<b>TT +</b>	Teste cutâneo tuberculínico positivo
<b>VPN</b>	Valor preditivo negativo
<b>VPP</b>	Valor preditivo positivo
<b>WHO</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>Z</b>	pirazinamida

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	TUBERCULOSE: ASPECTOS GERAIS E EPIDEMIOLOGIA .....	14
1.2	TB ATIVA VERSUS TB LATENTE .....	16
1.3	RESPOSTA IMUNE .....	16
1.4	PROTEÍNA Mce1A .....	19
1.5	CONTROLE DA TRANSMISSÃO DA TB .....	20
1.5.1	DIAGNÓSTICO DA TB ATIVA E TB LATENTE .....	20
1.5.2	TRATAMENTO DA TB ATIVA E TB LATENTE .....	22
1.6	JUSTIFICATIVA .....	22
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	24
2.1	OBJETIVO GERAL .....	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>3</b>	<b>POPULAÇÃO DE ESTUDO, MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
3.1	MODELO DO ESTUDO .....	25
3.2	LOCAL DO ESTUDO .....	25
3.3	POPULAÇÃO DE ESTUDO .....	26
3.4	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	26
3.5	ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS AVALIADOS .....	26
3.5.1	Questionário e Radiografia do Tórax .....	26
3.5.2	Baciloscopia do Escarro .....	27
3.5.3	Teste Cutâneo Tuberculínico .....	28
3.5.4	Determinação dos Títulos de Anticorpos .....	28
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	30
4.1	DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO .....	30
4.1.1	Pacientes com Tb .....	32
4.1.2	Comunicantes Domiciliares .....	34
4.2	DETERMINAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS .....	36
4.2.1	Níveis de Igg Total Anti-Mce1a no Diagnóstico .....	36
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	52
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	55
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	56
	<b>APÊNDICE</b> .....	60
	ARTIGO 1: DESCRIÇÃO DOS CASOS DE TUBERCULOSE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES RESIDENTES EM UMA ÁREA ENDÊMICA DE TRANSMISSÃO POR <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> .....	61
	ARTIGO 2: DESCRIÇÃO DOS CASOS DE TUBERCULOSE DIAGNOSTICADOS EM UM CENTRO DE SAÚDE DE SALVADOR, BAHIA .....	78
	<b>ANEXOS</b>	
	PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA .....	90

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TUBERCULOSE: ASPECTOS GERAIS E EPIDEMIOLOGIA

Tuberculose (TB), doença crônica causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) é um problema de saúde pública mundial, constituindo uma das principais causas de morbimortalidade no mundo e no Brasil. Esta patologia está relacionada com as condições socioeconômicas da população, acomete principalmente adultos jovens, em idade economicamente ativa. Desta forma, condições precárias de habitação, baixa renda familiar e famílias com elevado número de integrantes, associados à falta de educação e higiene pessoal são fatores que favorecem a propagação e transmissão do bacilo (BRASIL, 2011a).

A fonte de transmissão da TB é qualquer indivíduo com a forma pulmonar ou laríngea da doença, que, por via aérea, por meio de gotículas expelidas pela tosse, espirro, canto ou fala, elimina bacilos para o ambiente. Após o contágio, cinco a dez por cento das pessoas podem desenvolver a doença ao longo de suas vidas (WHO, 2013a). A apresentação da TB na forma pulmonar, além de ser mais frequente, é também a mais relevante para a saúde pública, pois é a forma pulmonar, especialmente a bacilífera, a responsável pela manutenção da cadeia de transmissão da doença. A busca ativa dos sintomáticos respiratórios é a principal estratégia para o controle da TB, uma vez que permite a detecção precoce das formas pulmonares (BRASIL, 2011a).

A cura da TB é alcançada quando a terapia medicamentosa adequada é seguida, tanto em regime ambulatorial, acompanhando por profissionais de enfermagem – Tratamento diretamente observado (TDO) ou por tratamento auto-administrado (BRASIL, 2011b).

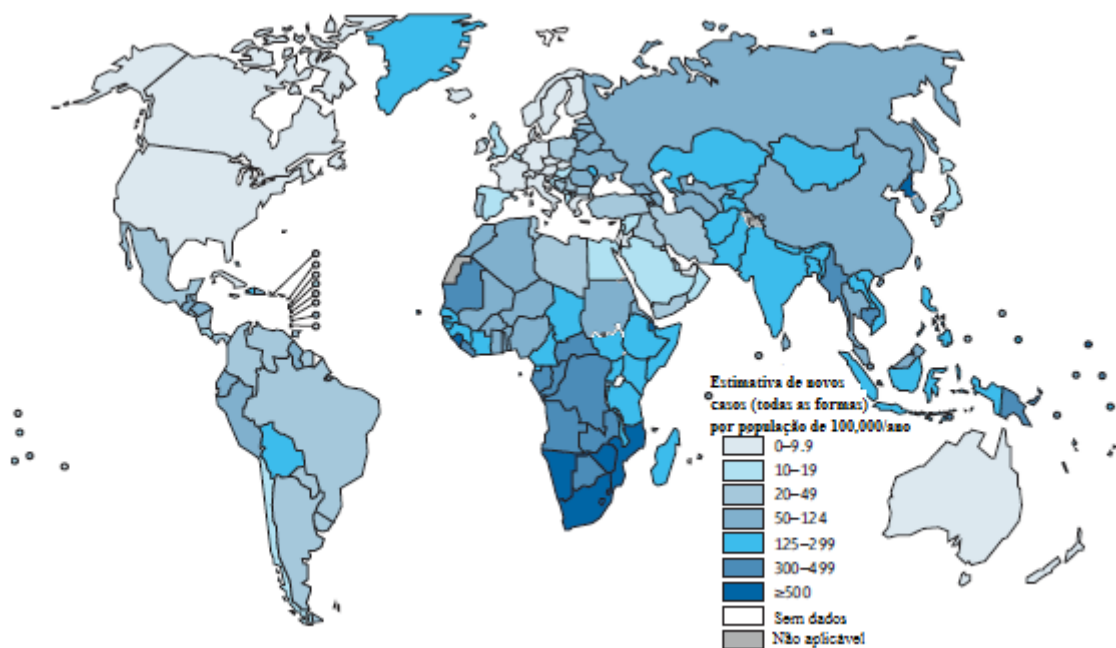
O esquema atual de tratamento da TB consiste na administração de quatro drogas: rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol. Os fatores relacionados às reações adversas no tratamento são de natureza multifatorial, mas uma das possíveis causas é a toxicidade desses fármacos devido ao longo período de terapia, sendo este um fator para a desistência ou abandono do tratamento (ROCHA; ADORNO, 2012).

Em 2012, cerca de 8,6 milhões de novos casos de TB e 1,3 milhões de mortes por TB (pouco menos de 1,0 milhão entre as pessoas HIV-negativas e 0,3 milhões de mortes por TB associadas ao HIV foram notificadas) (WHO, 2013b).

O risco de adoecimento é maior nos dois primeiros anos após a infecção (BRASIL, 2011b). A maioria dos casos de TB ativa origina-se nos indivíduos já infectados. Sendo assim, uma das estratégias para se controlar a TB é a identificação e tratamento precoce dos

indivíduos com infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (ILTb), forma latente ou infectados.

O Brasil é um dos 22 países priorizados pela OMS, os quais concentram 80% da carga mundial de TB. No Brasil, em 2009, foram notificados 72 mil casos novos, correspondendo a um coeficiente de incidência de 38/100.000 habitantes, destes, 41 mil foram bacilíferos (casos com baciloscopia de escarro positiva). Esses indicadores colocam o Brasil na 19ª posição em relação ao número de casos e na 104ª posição em relação ao coeficiente de incidência (BRASIL, 2011a).



**Figura 1.1** Número de novos casos de tuberculose registrados no mundo durante o ano de 2012, de acordo com a OMS (Figura adaptada).

Fonte: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656_eng.pdf)

Na Bahia, em 2012, foram confirmados 5.812 casos de TB segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN NET, o que confere ao Estado o 4º lugar do país dentre os estados com maior incidência da TB, ficando atrás apenas de São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. Salvador é considerada pelo Ministério da Saúde (MS) cidade prioritária para o controle da TB, visto que é o município mais acometido pela doença na Bahia. Em 2012, Salvador apresentou 2.554 casos novos de TB, destes apenas 63,1% obtiveram alta por cura, valor bem abaixo do recomendado pelo MS que é de 85% (SINAN NET, 2013).

## 1.2 TB ATIVA VERSUS TB LATENTE

A diferenciação entre TB ativa e ILTB constitui um dos grandes desafios encontrados na evolução da TB (MARAIS et al., 2005). A sintomatologia tosse e febre que define em parte a doença ativa ocorre tardiamente, portanto há um período de transição entre infecção e manifestação dos sintomas que torna difícil afirmar que já é doença ativa. Pessoas com tuberculose latente são assintomáticas, embora estejam infectados com o *Mtb*.

O diagnóstico da ILTB é obtido a partir da reação positiva ao teste cutâneo tuberculínico (TT); avaliação positiva do teste sanguíneo (ensaios de produção de interferon gama – IGRA); baciloscopia negativa e nenhuma evidência clínica ou radiográfica da TB ativa. Pessoas com ILTB não são contagiosas e não podem transmitir a infecção TB para os outros indivíduos (CDC, 2013).

Indivíduos com ILTB podem permanecer saudáveis por décadas, ou, em uma proporção desconhecida, resolvem a infecção espontaneamente, contudo, existe um risco significativamente elevado de desenvolver TB durante seu tempo de vida (HUR et al, 2013). Portanto, um dos desafios do controle da TB inclui diagnóstico e tratamento de indivíduos infectados pela forma latente, que podem atuar como reservatórios para novos casos de TB, principalmente em áreas onde a TB é endêmica.

## 1.3 RESPOSTA IMUNE

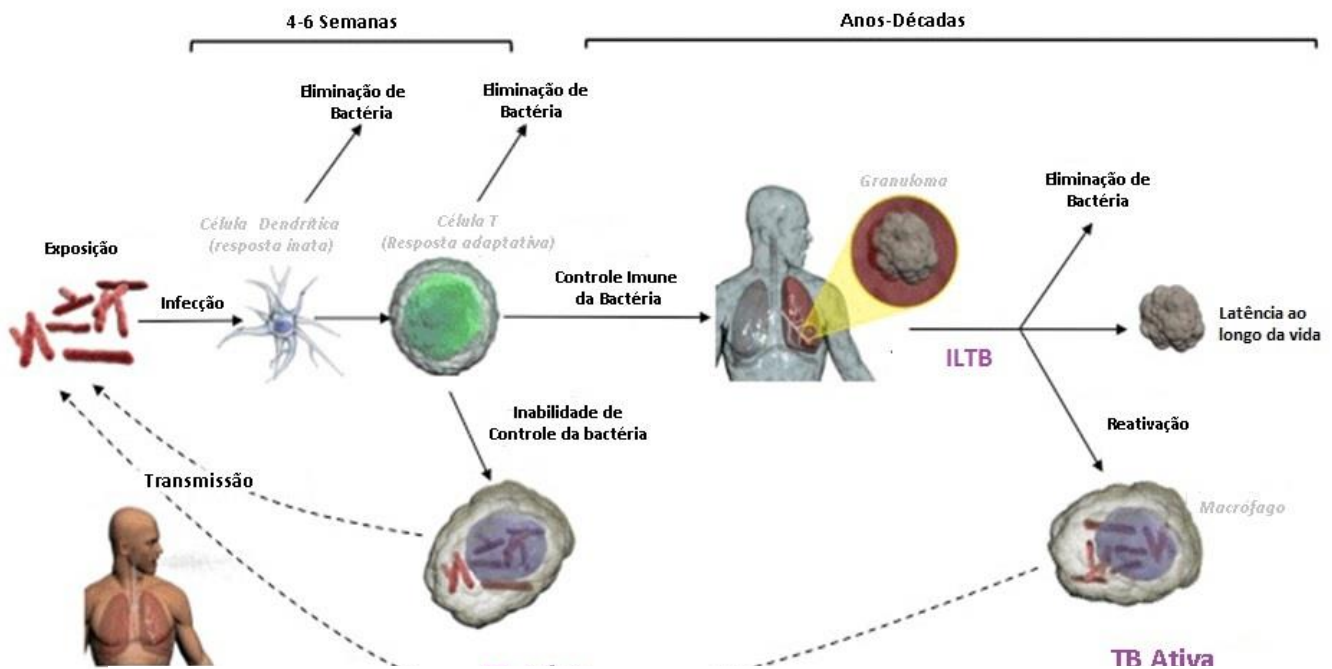
A infecção ocorre quando indivíduos inalam partículas de aerossóis contendo bacilos expelidas dos doentes pulmonares para o meio ambiente. Essas pequenas perdigotas penetram nas vias aéreas inferiores, levando os bacilos diretamente aos alvéolos, local onde os macrófagos (MØs) os fagocitam. Após inalação, há a formação de uma lesão primária parenquimatosa pulmonar conhecida como Gohn, complexo de lesão pulmonar e acometimento de linfonodo peri hilar (MOUTINHO, 2011), onde os bacilos ficam contidos pela resposta imune celular do hospedeiro, configurando o quadro de infecção latente (positivação do teste tuberculínico intradérmico – TT). A partir deste estágio, bacilos podem permanecer no pulmão do indivíduo, em sua forma latente ou disseminar-se através dos linfonodos regionais, podendo até circular sistemicamente e assim atingir órgãos mais distantes - TB extrapulmonar.

MØs são as células hospedeiras primárias para as micobactérias, são fontes de citocinas e importantes no recrutamento de outras células para o foco da infecção. Com



aumento progressivo de linfócitos T e B, que circundam os MØs ou células dendríticas (DCs) infectadas, formam-se granulomas (ALTENA, 2011). Por vezes, no centro dos granulomas, surge necrose caseosa, que resulta da destruição tecidual irreversível contribuindo para a formação de cavernas pulmonares. A necrose também permite que bacilos sejam liberados para os bronquíolos e brônquios, facilitando a contaminação aérea e infecção de novos indivíduos saudáveis, assim perpetuando a doença (FLORIDO; COOPER; APPELBERG, 2002).

Granulomas são considerados os mecanismos pelos quais os hospedeiros limitam o crescimento e a disseminação dos bacilos. Mesmo dentro dos granulomas, bacilos permanecem viáveis de forma latente por décadas – ILTB, mas em algum momento podem reativar e evoluir para doença ativa (Figura 1.2).



**Figura 1.2** Ciclo do *Mycobacterium tuberculosis*.

Fonte: <http://www.infectionlandscapes.org/2013/04/tuberculosis.html>

A imunidade celular é o principal mecanismo de defesa dos hospedeiros contra os bacilos intracelulares. O reconhecimento da infecção se dá pelo reconhecimento de antígenos pelos receptores em células da imunidade inata e adquirida. Células T, uma vez comprometidas com esses peptídeos micobacterianos, na presença de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) classe I ou II, ou mesmo pela apresentação de linfócitos B, secretam citocinas imunorreguladoras que por fim ativam as células infectadas.

Linfócitos Th1 CD4+, particularmente produzem interferon gama (IFN- $\gamma$ ), a principal citocina inflamatória contra o *Mtb* (MOUTINHO, 2011).

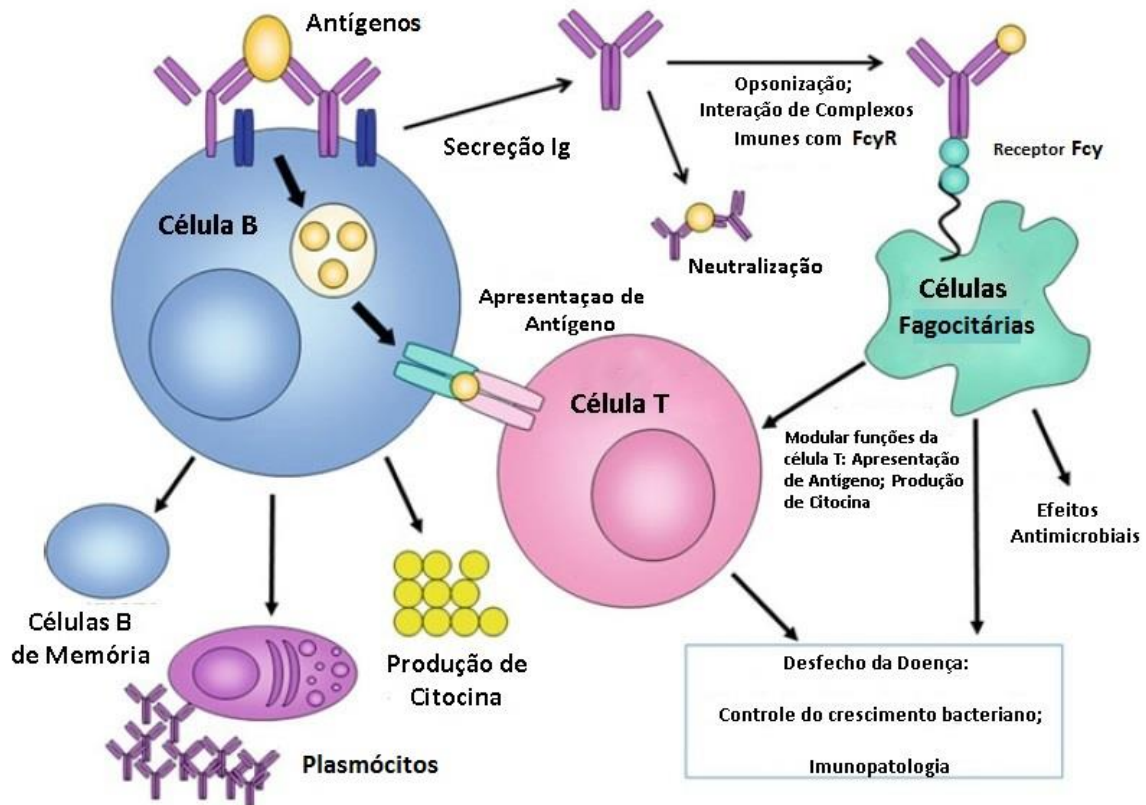
Células Th1 secretam citocinas IFN-  $\gamma$ , que somadas ao fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) produzidos pelos macrófagos são cruciais contra o crescimento das micobactérias. Sabe-se que uma vez no interior do fagossoma das células apresentadoras, os antígenos micobacterianos são processados e acoplados às moléculas do MHC classe I e II que serão reconhecidas por linfócitos T CD8+ e CD4+ respectivamente, em resposta a infecção intracelular. A indução de IFN- $\gamma$  é regulada com Interleucina-12 (IL-12), a qual é secretada pelos macrófagos ativados. Células T CD4+ reconhecem antígenos do *Mtb* via MHC classe II, presentes na superfície de fagócitos tais como DCs e MØs (OTTENHOFF, 2012).

IFN- $\gamma$  é produzido por linfócitos T CD4+, linfócitos T CD8+, células natural killer (NK) e por MØs. IFN- $\gamma$  ativa MØs infectados, induzindo atividade microbicida, através da produção de reativos do metabolismo do oxigênio e do nitrogênio que são tóxicos para o bacilo (COOPER et al, 2002).

A imunidade humoral é geralmente considerada insignificante para a resposta protetora contra o bacilo da TB. Células B são as principais células da imunidade humoral, que com sua diferenciação em plasmócitos produtores de Ig (imunoglobulinas) ou regulam a resposta das células T através da apresentação de antígenos e produção de citocinas regulatórias. Os efeitos protetores dos anticorpos manifestam-se com a diminuição da carga bacilar ou alteração da resposta inflamatória (KOZAKIEWICZ et al, 2013).

As imunoglobulinas podem ser divididas em cinco classes diferentes, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, com bases nas diferenças em seqüências de aminoácidos na região constante das cadeias pesadas. As imunoglobulinas IgG e IgA podem ainda ser subdivididas em subclasses baseadas em pequenas diferenças nas seqüências de aminoácidos nas regiões constantes das cadeias pesadas. Todas as imunoglobulinas de uma subclasse têm seqüências de aminoácidos de região constante de cadeia pesada muito similares (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

A imunidade mediada por anticorpos pode regular a resposta do hospedeiro aos agentes patogênicos de diversas formas (Figura 1.3), pela neutralização direta antígeno-específica, através da ativação do sistema complemento, ou ainda mediando fagocitose via ligação de receptores Fc a Ig ligada aos bacilos, cuja ligação induz atividade anti-microbiana pela ação dos reativos do oxigênio e /ou óxido nítrico (CASADEVALL; PIROFSKI, 2006; CASADEVALL; PIROFSKI, 2012).



**Figura 1.3** Mecanismo de modulação das respostas imunes contra o *Mtb* pelas células B.  
 Fonte: KOZAKIEWICZ et al, 2013

#### 1.4 PROTEÍNA MCE1A

A mammalian cell-entry protein (proteína Mce1A) está presente na parede de *Mtb* e *Mycobacterium bovis*. Essa proteína é expressa através do gene *mce1*, com 1535 aminoácidos, aproximadamente 52 kD de peso molecular. Inicialmente descrita como proteína associada a penetração de micobactéria nas células, devido a sua facilitação na aderência e invasão em células não-fagocíticas (HeLa) e possível mediadora da invasão e sobrevivência dos bacilos em macrófagos (ARRUDA et al, 1993).

Experimentos em modelo animal demonstram que a alteração do gene *mce1A* no *Mtb*, através da deleção do promotor do gene *mce*, resultou em uma micobactéria hipervirulenta. A micobactéria mutante induz uma formação de granuloma desorganizado nos pulmões dos camundongo infectados, diminui a sobrevivência dos mesmos quando comparados a infecção com a cepa H37Rv do tipo selvagem do *Mtb* (SHIMONO et al, 2003).

Em um estudo pulmonar com células humanas sugere que a proteína Mce1A estaria relacionada com estabelecimento da infecção latente no hospedeiro, podendo ser facilitada

pela inibição da resposta imune celular pela produção de TGF- $\beta$  por células mononucleadas (NASCIMENTO, 1999).

Embora a imunidade celular seja induzida com a interação bacilo-hospedeiro, a imunidade humoral sempre ocorre. Os anticorpos anti-*Mtb* não têm capacidade de penetrar em macrófagos infectados e destruir o bacilo, o que sugere que a resposta imune humoral participe de forma menos efetiva na resposta imune contra a TB (MAGLIONE; CHAN, 2009).

## 1.5 CONTROLE DA TRANSMISSÃO DA TB

### 1.5.1 Diagnóstico da TB Ativa e TB Latente

TB pulmonar é a mais frequente, e também a mais relevante para a saúde pública, pois é nesta forma, especialmente a bacilífera, a responsável pela manutenção da cadeia de transmissão da doença. A busca ativa de sintomáticos respiratórios é a principal estratégia para o controle da TB, uma vez que permite a detecção precoce das formas pulmonares (BRASIL, 2001a).

A TB pode também manifestar-se de formas clínicas não pulmonares, que podem estar relacionadas com o órgão acometido. Desta forma, outros sinais e sintomas, além da tosse, podem ocorrer e devem ser valorizados nessas formas extra-pulmonares (PALOMINO; LEÃO; RITACCO, 2007).

O diagnóstico da TB ativa preconizado pelo MS consiste na avaliação da história clínica, onde são colhidas informações sobre contato prévio e exposição ao bacilo, além dos sinais e sintomas; exames bacteriológicos e exames radiológicos. Os sintomas clássicos da TB pulmonar são: tosse persistente, produtiva ou não (com muco e eventualmente sangue), febre vespertina, sudorese noturna e emagrecimento.

O diagnóstico mais usado é a pesquisa de bacilos diretamente no escarro. Se executada corretamente em todas as suas fases, a baciloscopia do escarro permite detectar de 60 a 80 % dos casos de TB pulmonar, o que é importante no controle da transmissão, já que os casos bacilíferos são os responsáveis pela manutenção da cadeia de transmissão (BRASIL, 2011a). O padrão-ouro das avaliações bacteriológicas é o cultivo do escarro para micobactéria, que é um método de elevada especificidade e sensibilidade no diagnóstico da TB. Nos casos pulmonares com baciloscopia negativa, a cultura do escarro pode aumentar em até 30 % o

diagnóstico bacteriológico da doença. Contudo, a cultura tem a desvantagem do tempo de detecção do crescimento do bacilo pode chegar a oito semanas. (BRASIL, 2011a)

A radiografia de tórax é um exame complementar de grande importância na investigação da TB (BURRIL et al, 2007; DALEY; GOTWAY; JASMER, 2011). Diferentes achados radiológicos apontam para a suspeita de doença em atividade ou doença no passado, além do tipo e extensão do comprometimento pulmonar. A radiografia é solicitada para todo o paciente com suspeita clínica de TB pulmonar. No entanto, até 15 % dos casos de TB pulmonar não apresentam alterações radiológicas, principalmente pacientes imunossuprimidos. Nos pacientes com suspeita clínica, o exame radiológico permite a diferenciação de imagens sugestivas de TB ou de outras doenças, no entanto é indispensável também realizar exames bacteriológicos (BRASIL, 2011a).

O diagnóstico da ILTB consiste na avaliação da história clínica (elucidar tipo de contato, avaliar tempo de exposição, possíveis sinais e sintomas), radiografia do tórax, com objetivo de descartar achados radiológicos compatíveis com a TB ativa, e o TT. O TT avalia a hipersensibilidade tardia em resposta a inoculação intradérmica do derivado protéico purificado (PPD). O teste é simples e de baixo custo. No entanto, sua especificidade é limitada devido à reação cruzada com micobactérias não-tuberculosas (MNT) e com cepas vacinais do *Mycobacterium bovis* (BCG), o que faz com que ocorra a existência de resultados falso-positivos na população (ANDERSEN et al, 2000; BROOKE et al, 2004).

Diante dessas dificuldades, foram desenvolvidos novos testes de realização *in vitro* denominados testes de liberação de interferon gama (IGRA), que se baseiam na avaliação da capacidade de produção de IFN- $\gamma$  pelos linfócitos T, em resposta à estimulação com antígenos presentes nas cepas patogênicas do *Mtb*. Peptídeos antigênicos utilizados no IGRA são específicos das cepas virulentas e estão ausentes na cepa vacinal (BCG) e na maioria das micobactérias não tuberculosas, o que confere maior especificidade ao IGRA (LALVANI; MILLINGTON, 2008). O IGRA é habitualmente utilizado simultaneamente com o TT, para melhorar a capacidade de detecção da tuberculose latente. No entanto, o TT vem sendo substituído pelo IGRA em alguns países.

### 1.5.2 Tratamento da TB Ativa e TB Latente

A transmissibilidade está presente desde os primeiros sintomas respiratórios, caindo rapidamente após o início de tratamento efetivo. Durante muitos anos considerou-se que, após 15 dias de tratamento o paciente já não transmitia a doença. Na prática, quando o paciente não

tem história de tratamento anterior nem outros riscos conhecidos de resistência, pode-se considerar que, após 15 dias de tratamento e havendo melhora clínica, o paciente pode ser considerado não infectante (BRASIL, 2011a).

O esquema básico para o tratamento da TB ativa, indicado pela OMS, possui apresentação farmacológica em comprimidos de doses fixas combinadas dos quatro medicamentos - Isoniazida (H), Rifampicina (R), pirazinamida (Z) e etambutol (E). Por outro lado, o tratamento da ILTB consiste apenas na administração de uma droga, a H, a qual reduz em 60 a 90% o risco de adoecimento (SMIEJA et al, 2000). Esta variação se deve a duração e a adesão ao tratamento. A terapia com isoniazida deve ser realizada por um período mínimo de 6 meses (BRASIL, 2011a).

## 1.6 JUSTIFICATIVA

A identificação de biomarcadores na tuberculose é de grande importância, pois podem fornecer informações prognósticas sobre o estado de saúde do paciente e podem indicar processos normais, patogênicos ou respostas farmacológicas às intervenções terapêuticas (KAUFMANN; PARIDA, 2008). Assim, eles podem fornecer informações sobre o estado da doença, o risco de progressão, a probabilidade de resposta ao tratamento ou de toxicidade de drogas e de proteção imunidade após a vacinação (WALLIS, 2013). Assim, a busca por biomarcadores entre os indivíduos com TB ativa será importante para indicar o estágio inicial da doença e prever o sucesso do tratamento (não recidivante), bem como para interromper a cadeia de transmissão precocemente, evitando o desenvolvimento da doença nos portadores da infecção latente.

Na infecção causada pelo *Mtb*, a interação das células T com os MØs infectados é fator central da imunidade protetora contra o bacilo. As citocinas produzidas pelas células T são mediadores importantes que regulam a resposta imunológica e inflamatória (RAJA, 2004). Sabe-se que o estabelecimento da infecção latente e o desenvolvimento da forma ativa da doença dependem de um desequilíbrio da resposta imunológica do hospedeiro, mediada por citocinas, e dos fatores de virulência do bacilo.

Fundamental para a resolução do problema da TB é a capacidade para reconhecer esta doença através de métodos de diagnóstico de baixo custo e facilmente aplicado em áreas de alta prevalência da doença, levando em consideração as condições existentes no local. O diagnóstico da TB em sua fase inicial é difícil. Muitas vezes, as características clínicas da doença não são específicas em zonas endêmicas. Ao mesmo tempo, a baciloscopia não pode

ser aplicada em crianças, porque eles raramente produzem escarro. A cultura de escarro é demorada. Embora lesões cavitárias nos casos de TB ativa sejam visualizadas nas radiografias do tórax e o paciente tenha a doença clinicamente, baciloscopias de escarro negativas são comuns.

Considerando a falta de estudos em modelo humano utilizando a Mce1A como estímulo para se avaliar a resposta imune do hospedeiro e as sugestões de estudos anteriores do papel da Mce1A no estabelecimento da infecção latente, essa proteína tem grande potencial como biomarcador. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a proteína Mce1A, em pacientes com TB e seus contatos domiciliares, como biomarcador de progressão para a TB ativa, bem como método diagnóstico e monitoramento do tratamento da TB ativa e TB latente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação da IgG total anti-Mce1A no diagnóstico da tuberculose pulmonar e tuberculose latente.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

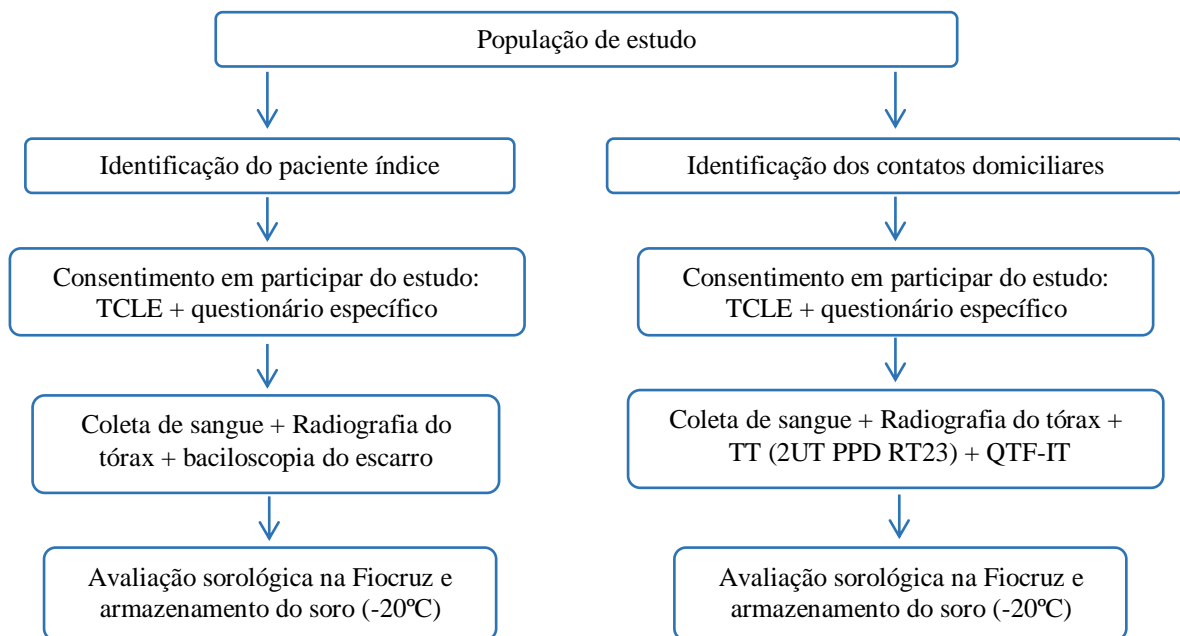
- Caracterizar o perfil clínico e epidemiológico das populações de estudo;
- Quantificar por ELISA os níveis de IgG total anti-Mce1A em pacientes com tuberculose pulmonar, indivíduos infectados (TT positivo) e não infectados (TT negativo);
- Correlacionar achados radiográficos cavitários e classificação de gravidade pela avaliação radiográfica com a produção de anticorpos;
- Correlacionar resultado da baciloscopia com a produção de anticorpos;
- Correlacionar exposição dos comunicantes domiciliares com a produção de anticorpos;
- Correlacionar resultado do TT e do IGRA com a produção de anticorpos;
- Relacionar vacinação pela BCG e a produção de anticorpos nos comunicantes domiciliares.



### 3 POPULAÇÃO DE ESTUDO, MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MODELO DO ESTUDO

Este trabalho trata-se de um estudo de corte transversal, cujos voluntários que consentiram em participar do estudo responderam a um questionário específico e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Em seguida, foram submetidos à coleta de sangue para avaliação sorológica em resposta a proteína Mce1A. Adicionalmente, apenas para os comunicantes dos pacientes TB, foi feita a aplicação do TT, que será utilizado como método diagnóstico para a indicação do tratamento da ILTB, como preconizado pelo MS.



**Figura 1.4** Avaliação dos pacientes do 6º Centro de Saúde Dr Rodrigo Argolo. TT = teste cutâneo tuberculínico; TCLE = termo de consentimento livre e esclarecido. Fonte: do próprio autor.

#### 3.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no 6º Centro de Saúde Dr Rodrigo Argolo, no bairro de Tancredo Neves, no período entre 2012 e 2013. Este centro de saúde pertence ao Distrito Sanitário Cabula-Beiru, da rede pública de saúde do município de Salvador. Em 2010, foram notificados 345 casos de TB, o que confere ao distrito o primeiro lugar em número de casos.

### 3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Uma vez que o nosso objetivo principal foi avaliar o potencial da proteína Mce1A como biomarcador para diagnóstico da TB e ILTB foram avaliados e incluídos no estudo todos os indivíduos notificados no 6º Centro de Saúde, no período estudado e que se enquadravam nos critérios da pesquisa.

Pacientes índices (PIs) foram definidos como pacientes com baciloscopia do escarro positivo, recém diagnosticados pela coloração de Ziehl-Neelsen e/ou avaliação clínica e radiológica sugestiva de TB pulmonar e resposta positiva/melhora ao tratamento para TB, no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo. Foram considerados comunicantes domiciliares (CDTB) todos que convivem no mesmo domicílio, ou tenham relatado, pelo menos, 100 horas de contato com o paciente bacilífero.

Foram excluídos do estudo os indivíduos imunossuprimidos (sorologia positiva para HIV, doenças crônicas com uso de corticóides, tratamento de neoplasia com quimioterapia) e aqueles que relataram história pregressa de TB. Os CDTB recrutados foram classificados em infectados (indivíduos com ILTB) e não infectados (indivíduos saudáveis, sem ILTB).

### 3.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi submetido a avaliação do Conselho de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), parecer 365/2011. Seguindo as normas básicas do CEP, resolução 196-96, todos os indivíduos envolvidos foram informados sobre o objetivo do projeto e sua importância para a comunidade científica e para a Saúde Pública. Os voluntários que consentiram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A participação de todos os indivíduos foi totalmente voluntária e confidencial. Nenhuma compensação financeira foi oferecida.

### 3.5 ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS AVALIADOS

#### 3.5.1 Questionário e Radiografia do Tórax

Após a assinatura do TCLE, foi aplicado um breve questionário, o qual foi testado e ajustado previamente para esta população. O questionário foi criado com o objetivo de

determinar dados demográficos, idade, gênero, contatos prévios com pacientes TB, exposição ao paciente índice no domicílio, histórico médico, estado imunológico, fatores de risco e vacinação prévia com BCG.

Em seguida, todos os voluntários foram submetidos à radiografia do tórax. A avaliação do resultado radiográfico dos pacientes com TB ativa foi realizada por um único observador, sendo discriminada neste estudo de acordo com a gravidade da doença: normal (sem achados radiográficos), leve (sem cavidade com achados radiográficos unilaterais), moderada (com cavidade unilateral <4cm, achados radiográficos unilaterais) ou grave (com cavidade bilateral >4 cm, achados radiográficos bilaterais); ou de acordo com os achados radiográficos: normal: quando não se observa nenhuma lesão pulmonar; não-cavitário: quando se observa o infiltrado pulmonar sem cavidade ou cavitário: quando observa-se infiltração pulmonar com cavitação. Para a avaliação dos comunicantes domiciliares (CDTB), a avaliação radiográfica consistiu em classificá-los em: normal ou com evidência de cicatriz (DLUGOVITZKY et al, 1997).

### 3.5.2 Baciloscopia do Escarro

A baciloscopia do escarro foi realizado através da pesquisa direta do bacilo álcool ácido resistente através da coloração de Ziehl-Neelsen e classificado como negativa, positiva com uma cruz (1+), positiva com duas cruzes (2+) ou positiva com três cruzes (3+), recomendado pelo MS (Figura 1.5).

<b>QUANDO</b>
• não são encontrados BAAR em 100 campos = relata-se o resultado como NEGATIVO;
• são encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos = relata-se apenas a quantidade de BAAR encontrada;
• são encontrados de 10 a 99 BAAR, em 100 campos = relata-se o resultado como POSITIVO +;
• é encontrada em média de 1 a 10 BAAR por campo, nos primeiros 50 campos observados = relata-se o resultado como POSITIVO ++;
• é encontrada em média mais de 10 BAAR por campo, nos primeiros 20 campos observados = relata-se o resultado como POSITIVO +++.

**Figura 1.5** Critérios para leitura e interpretação dos resultados da baciloscopia de escarro, após concentração ou não, corada pelo método de Ziehl-Neelsen.

Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde/MS, 2008.

### 3.5.3 Teste Cutâneo Tuberculínico (TT)

O teste foi realizado apenas nos CDTB, após a coleta do sangue, foi feita a inoculação de 0,1 mL (2UT) do PPD RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Dinamarca), utilizando-se a técnica de Mantoux, por pessoal treinado segundo as normas do MS (BRASIL, 2011a).

A leitura do resultado do TT foi feita 48 horas após a aplicação, pelo método de palpação do diâmetro transverso máximo da endureção cutânea. A resposta ao PPD foi categorizada como: 0 a 5 mm, negativo;  $\geq 5$  mm, positivo e sugestivo de ILTB.



**Figura 1.6** Técnica de inoculação do PPD.  
Fonte: <http://www.clinicalcorrelations.org>



**Figura 1.7** Leitura do PPD pelo método de palpação do diâmetro transverso máximo de endureção.  
Fonte: do próprio autor.

### 3.5.4 Determinação dos Títulos de Anticorpos Anti-Mce1a

O sangue total foi coletado por punção venosa utilizando um tubo de 5 mL a vácuo. As amostras foram centrifugadas para separação do soro e armazenadas à  $-20^{\circ}\text{C}$ , até a determinação dos títulos de anticorpos anti-Mce1A, por meio de um ensaio imunoenzimático - ELISA indireto.

Para a determinação dos títulos de anticorpos anti-Mce1A foram utilizados soros de pacientes TB, TT positivo e TT negativo.

Utilizou-se placas de poliestireno, fundo chato, 96 poços (TPP, St. Louis, EUA). Estas placas foram previamente sensibilizadas com 10  $\mu\text{g/ml}$  do antígeno solúvel de Mce1A diluído em álcool anidro P.A., seguindo de uma incubação a  $4^{\circ}\text{C}$  durante a noite. As placas foram lavadas com tampão fosfato-salino (PBS 1x) e os sítios livres foram bloqueados com PBS 1x contendo 3% de soro albumina bovina (BSA) (Sigma) a temperatura ambiente por 1 hora. Os

soros diluídos em PBS 1x contendo 3% de BSA foram colocados nos poços em diluição única de 1:100 e incubados a temperatura ambiente por 1h.

A anti-IgG humana conjugada à peroxidase (HRP) (Sigma) foi acrescentada na diluição de 1:5000 em salina tamponada (STF) por 1 hora a temperatura ambiente. Cada uma destas incubações foi seguida por três lavagens com PBS 1x. As placas foram reveladas com 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina – TMB (substrato da peroxidase) e as reações interrompidas com 50 uL/ poço de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2N). A leitura das amostras foi realizada com comprimento de onda de 450 nm.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

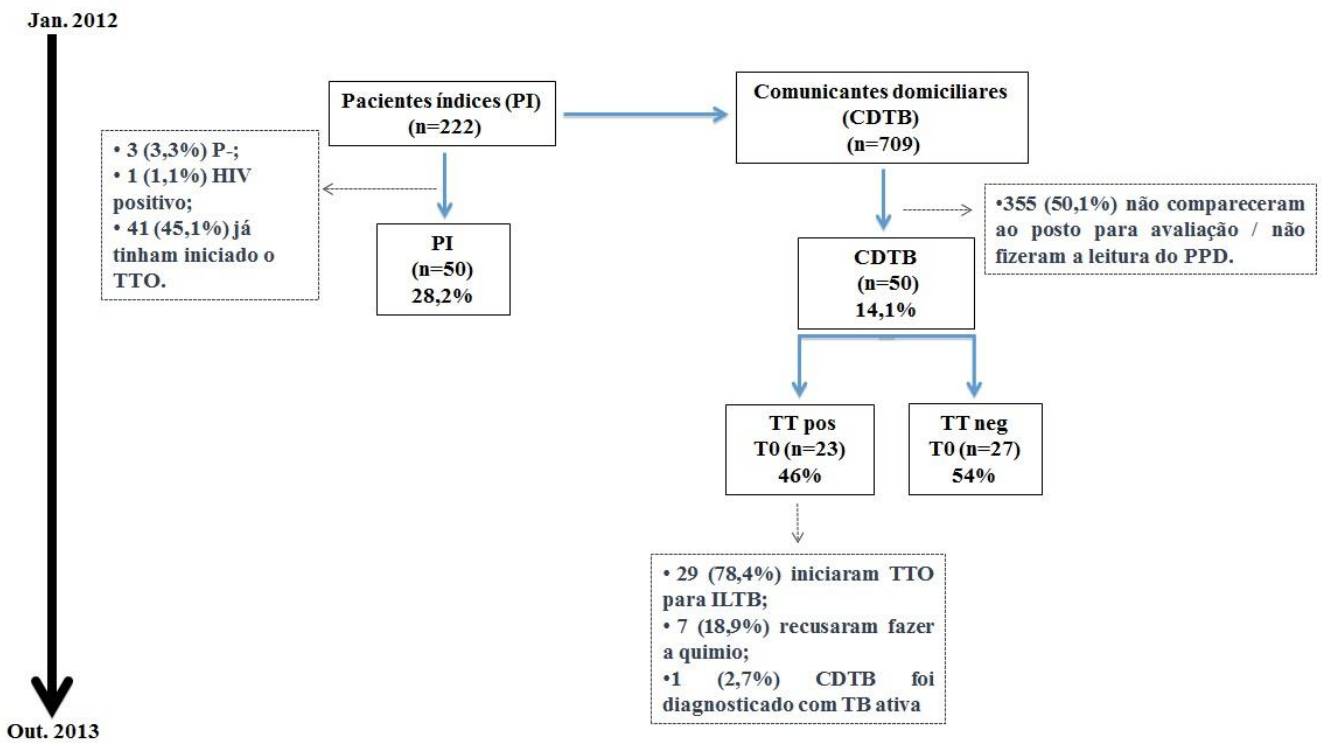
Os dados foram analisados utilizando o GraphPad Prism v.5.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA). Foram calculadas frequências absolutas e relativas dos indivíduos em relação às variáveis estudadas e a positividade dos testes, apresentados em gráficos e tabelas. As variáveis que seguem distribuição normal foram descritas pela média e desvio-padrão, enquanto que as variáveis com distribuição não-normal foram expressas pela mediana e intervalo interquartil (IQR). Para comparação de medianas entre duas ou três populações de estudo foi utilizado o teste Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, respectivamente. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes para valores de  $p \leq 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

Os resultados encontram-se dispostos em seções, conforme tipo de estudo, e descritos nos artigos abaixo e no apêndice.

### 4.1 DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

No período de janeiro de 2012 a outubro de 2013 foram atendidos no 6º CS, 222 pacientes com TB pulmonar e 709 CDTB foram registrados, dos quais, 354 foram examinados na unidade de saúde. Apenas 50 (28,2%) pacientes com TB pulmonar e 50 (14,1%) CDTB atendiam aos critérios de inclusão e aceitaram participar do estudo. Dentre os pacientes com TB que não atenderam os critérios para participar do estudo, 56 indivíduos foram diagnosticados com TB extra-pulmonar; seis pacientes foram diagnosticados com o HIV e 41 indivíduos já tinham iniciado o tratamento contra a TB, pois haviam sido identificados no Hospital Especializado Octávio Mangabeira (HEOM) e encaminhados ao 6º CS. O tratamento da TB foi oferecido a todos os indivíduos diagnosticados.



**Figura 1.8** Diagrama de fluxo mostrando o seguimento clínico da população de estudo.

PI = caso índice; CDTB = comunicante domiciliar dos pacientes com tuberculose; TTO = tratamento; TT = teste cutâneo tuberculínico; ILTB = infecção latente tuberculosa; TB = tuberculose.

Com relação aos CDTB, apenas 354 (49,9%) indivíduos compareceram a unidade de saúde para avaliação da TB latente. Após avaliação, identificou-se 23 (46%) pessoas com TB latente e 27 (54%) dos indivíduos não reatores ao TT, portanto, indivíduos sem ILTB. O tratamento da ILTB foi oferecido a todos os indivíduos TT positivo e apenas 20 (87%) aceitaram o tratamento, 3 (13%) recusaram o tratamento.

## 4.1.1 Pacientes com TB

Sessenta e oito por cento dos pacientes com TB foram do gênero masculino (n=34) e 46% deles eram pardos (n=23). A faixa etária mais acometida foi a de 31 a 45 anos, com 18 (36%) indivíduos, seguido da faixa etária de 15 a 30 anos, com 34% (n=17). A renda familiar prevalente foi de 1 a 2 salários mínimos, com 68% (n=34) dos estudados e a maioria dos casos estavam desempregados, totalizando 68,8% (n=33). Quando questionados sobre a escolaridade, 42% dos indivíduos possuíam o 1º grau incompleto, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Características sócio-demográficas dos pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar, atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, período entre 2012 e 2013.

<b>Características</b>	<b>n (%)</b>
<b>Gênero (n=50)</b>	
Masculino	34 (68)
Feminino	16 (32)
<b>Idade (n=50)</b>	
15-30 anos	17 (34)
31-45 anos	18 (36)
46-60 anos	09 (18)
> 60 anos	06 (12)
<b>Raça (auto-informada) (n=50)</b>	
Branca	06 (12)
Negro	19 (38)
Parda	23 (46)
x Outro/não sabe	02 (04)
<b>Empregado (n=48)</b>	
Sim	15 (31,3)
Não	33 (68,7)
<b>Renda familiar (n=50)</b>	
< 1 salário	9 (18)
Entre 1 e 2 salários	34 (68)
≥ 3 salários	7 (14)
<b>Anos de escolaridade (n=50)</b>	
Analfabeto	4 (8)
1º Grau incompleto	21 (42)
1º Grau completo	13 (26)
2º Grau incompleto	4 (8)
2º Grau completo	8 (16)



Em relação aos dados clínico-epidemiológicos, todos os recrutados eram casos novos de TB e 58% deles eram bacilíferos (n=29). Ao indagar sobre os sintomas/sinais clínicos indicativos de TB, observou-se que 96% eram sintomáticos respiratórios (n=48), 80% relataram dispnéia (n=40) e 68% queixaram-se de febre (n=34) antes de procurarem o centro de saúde. Em relação a vacinação com a BCG, 66% possuíam a cicatriz vacinal. Quando investigado os agravos associados à TB, encontrou-se que apenas um caso possuía diabetes e já estava inscrito no programa Hiperdia do MS; 28% eram tabagistas (n=14); 52% possuíam o hábito de beber (n=26) e 20% tiveram alguma relação com drogas ilícitas (n=10), vide Tabela 2.

**Tabela 2.** Características clínicas dos pacientes diagnosticados com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, período entre 2012 e 2013.

<b>Características</b>	<b>n (%)</b>
<b>Hábito de fumar (n=50)</b>	
Sim	14 (28)
<b>Hábito de beber (n=50)</b>	
Sim	26 (52)
<b>Uso de drogas (n=50)</b>	
Sim	10 (20)
<b>Cicatriz BCG (n=50)</b>	
Sim	33 (66)
<b>BAAR (n=50)</b>	
Negativo	21 (42)
1+	15 (30)
2+	6 (12)
3+	8 (16)
<b>IMC* (n=44)</b>	
Abaixo do peso	16 (36,4)
Eutrófico	26 (59,1)
Sobrepeso	2 (4,5)
Obesidade	0
<b>Sintomas (n=50)</b>	
Tosse	48 (96)
Dispneia	40 (80)
Febre	34 (68)
Dor torácica	18 (36)
Hemoptise	6 (12)
Outros sintomas	12 (24)

BCG = Bacilo Calmette-Guérin; BAAR = Bacilo ácido-resistente

#### 4.1.2 Comunicantes Domiciliares

Dentre os comunicantes domiciliares que aceitaram participar do estudo, 62% foram do gênero feminino (n=31) e 48% deles eram pardos (n=24). A faixa etária mais acometida foi a de 0 a 14 anos, totalizando 38% dos usuários recrutados (n=12); seguidos da faixa etária de 46-60 anos, com 24% dos indivíduos (n=9) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Características sócio-demográficas dos comunicantes domiciliares de pacientes com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, período entre 2012 e 2013.

<b>Características</b>	<b>n (%)</b>
<b>Gênero (n=50)</b>	
Masculino	19 (38,0)
Feminino	31 (62,0)
<b>Idade (n=46)</b>	
0-14 anos	19 (41,3)
15-30 anos	5 (10,9)
31-45 anos	7 (15,2)
46-60 anos	12 (26,1)
> 60 anos	3 (6,5)
<b>Raça (Auto-informada) (n=44)</b>	
Branco	3 (6,0)
Negro	17 (34,0)
Pardo	24 (48,0)
Ignorado/Em branco	6 (12,0)

Em relação a vacinação com a BCG, 74% possuíam a cicatriz vacinal. Em relação a taxa de transmissão entre os comunicantes domiciliares, segundo o TT, observou-se que 46% dos indivíduos estavam infectados com o *Mtb*. Ao se avaliar os indivíduos a partir do IGRA, identificamos 52,1% infectados pelo *Mtb*, conforme Tabela 4.

A concordância dos testes foi calculada a partir da estatística Kappa, cujo índice foi de 0,43 (IC 95%: 0,68-0,25), interpretando-se como concordância moderada.

**Tabela 4.** Características clínicas dos comunicantes domiciliares de pacientes com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, período entre 2012 e 2013.

<b>Características</b>	<b>n (%)</b>
<b>Cicatriz BCG (n=48)</b>	
Sim	37 (74,0)
<b>IGRA (n=48)</b>	
Positivo	25 (52,1)
Negativo	20 (41,7)
Indeterminado	3 (6,3)
<b>Teste tuberculínico (n=50)</b>	
Não reator (< 5 mm)	27 (54)
Reator ( $\geq$ 5 mm)	23 (46)

BCG = Bacillo Calmette-Guérin.

## 4.2 DETERMINAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-MCE1A

### 4.2.1 Níveis de Igg Total Anti-Mce1a no Diagnóstico

Os resultados encontram-se descritos no artigo abaixo.

#### **Anti-Mce1a total IgG in patients with active and latent tuberculosis in Salvador, Brazil.**

Running head: **Anti-Mce1a total IgG in patients with tuberculosis.**

Manuscrito em processo de submissão para a revista eletrônica: The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.

**C. C. Oliveira**<sup>1</sup>, I. Takenami<sup>1</sup>, A. Machado Jr.<sup>3,4</sup>, L. W. Riley<sup>2</sup>, Sérgio Arruda<sup>1,3/+</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil; <sup>2</sup>School of Public Health, University of California, Berkeley, California, USA; <sup>3</sup>Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, <sup>4</sup>Hospital Especializado Octávio Mangabeira, Salvador, Bahia, Brazil

<sup>+</sup>Correspondence to: Sérgio Arruda, Laboratório Avançado de Saúde Pública, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brazil 40296710. Tel: (+55) 71 3176 2232. e-mail: sa@bahia.fiocruz.br

## Summary

**Introduction:** Mce1A is a *Mycobacterium tuberculosis* cell wall protein that mediates invasion and survival in phagocytic cells. This protein is expressed during infection and in different stages of tuberculosis (TB). Thus, the measuring levels of IgG anti-Mce1A in serum of active, latent and non-infected individuals can be used to distinguish latent infection from active TB. **Objective:** To evaluate the production of IgG anti-Mce1A in latent and active TB patients. **Design:** Blood samples were obtained from pulmonary TB patients and their household contacts (HHC). IgG levels were measured by ELISA. **Results:** Fifty TB patients and 50 HHC were included in this study. Twenty-seven HHC had negative tuberculin skin test (TST) and 23 individual who had positive TST were considered as latently infected. The average age was  $37.8 \pm 20.4$  years; 68% were male among TB patients and 62% were women among HHC. Levels of IgG were higher in TB patients (median: 1.39, IQR: 1.10-1.69) and in infected individuals (median: 2.02, IQR: 1.91-2.24) than in negative TST individuals (1.05, IQR: 0.87-1.14) ( $p < 0.0001$ ). In addition, there was significance difference between the IgG levels in latent and active TB patients ( $p < 0.0001$ ). **Conclusion:** High levels of IgG total measured in infected individuals and active TB patients suggest a potential role as biomarker of infection and TB disease.

Keywords: Active Tuberculosis, Latent Tuberculosis, Antibody, Mce1A protein.

## INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is a chronic disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), it is a worldwide public health problem, constituting a major cause of morbidity and mortality by infectious diseases. After infection, five to ten percent of people may develop the disease during their lifetime<sup>1</sup>. Pulmonary TB form, besides being more frequent, it's also more relevant for TB control programs and public health, because the pulmonary TB, especially the baciliferous cases maintain the transmission chain. The active search of respiratory symptoms is the main strategy for TB control, since it allows an early detection of pulmonary TB worldwide and also is recommended by Brazilian TB Control<sup>2</sup>. The risk of getting sick is higher in the first two years after infection<sup>3</sup>. Most active TB cases occur after infection. Thus, one strategy to control TB, is the identification of pulmonary cases and early treatment of individuals with latent tuberculosis infection (LTBI). However, to identify those who are latently infected is difficult because they remain asymptomatic. Furthermore, there is currently no biomarker for progression from LTBI to active disease.

Evidence indicates that the host immune response has a key role in the course of infection. Studies have shown that T-cell-mediated immunity is critical to control primary *Mtb* infection and to prevent the development of reactivation disease. On the other hand, the humoral immunity is generally considered insignificant to contribute to a protective response against tuberculosis bacillus. B cells are the main humoral immunity cells, with their differentiation into plasma cells produces immunoglobulin, B cells may also regulate by T cells response through antigen presentation based mechanisms and regulatory cytokines. The role of cytokines, such as interleukin 4 and interleukin 5 in the production of antibodies is nuclear, but can interfere with decrease bacterial load or by interfering with inflammatory response<sup>4</sup>.

The Mce1A protein is found in the cell walls of *Mtb* and *Mycobacterium bovis*<sup>5,6</sup>. Studies suggest that in humans that Mce1A may downregulate the inflammatory response, favoring latent infection in the host, by inhibiting the cellular immune response of TGF- $\beta$  production by mononuclear cells<sup>7</sup>. This cytokine is related with immune response modulation in order to facilitate host bacillus survival. The anti-*Mtb* antibodies are unable to penetrate the infected macrophage and destroy the bacillus, which causes the humoral immune response to participate in a less effective way against TB<sup>8</sup>. Furthermore, the characterization of Mce1A protein, which has a significant role in the immune response, can lead to specific antibodies production against the bacillus which may be used as biomarkers for the diagnosis of latent infection and active disease, and the possibility of treatment monitoring. Thus, this study aims to evaluate

the antibodies IgG total anti-Mce1A in TB patients and their household contacts, as a biomarker for diagnostic method of active TB and latent TB.

## **STUDY POPULATION AND METHODS**

### ***Setting***

This is a cross-sectional study. It was conducted at 6th Centro de Saúde Rodrigo Argolo (6th CS) in Salvador, Bahia, Brazil. In 2010, 345 cases of TB were reported in the 6th CS, corresponding to the first place in the number of cases among health centers in Salvador. The participants of this study were recruited among the volunteers attending in 6th CS from January 2012 to October 2013.

### ***Study participants***

All TB pulmonary cases that sought medical attention at TB Control Program were invited to participate in this study as index case (IC). IC were defined as patients with positive sputum smear, newly diagnosed by staining Ziehl-Neelsen and / or suggestive clinical and radiological assessment of pulmonary TB.

Sputum smear microscopy was performed using direct detection of alcohol acid resistant bacilli by Ziehl-Neelsen coloring and classified as negative, positive with one cross (+ 1), with two crosses positive (2 +) or positive with three crosses (3 +).

The assessment of radiographic patients outcome with active TB was performed by a single observer, being discriminated according to disease severity: normal (without radiographic findings), lightweight (No cavity with unilateral radiographic findings), moderate (unilateral cavity < 4 cm, radiographic unilateral findings) or severe (bilateral cavity > 4 cm, radiographic bilateral findings); or on radiographic findings: normal: when there is no lung injury; non-cavity: when observing pulmonary infiltrate without cavities or cavity: when there is pulmonary infiltration with cavitation.

At the time of the IC identification, their household contacts (HHC) were enrolled in the study. We considered household contacts (HHC) all those live in the same household, or have reported at least 100 hours of contact with the bacilliferous patient. Immunosuppressed individuals (seropositive for HIV, chronic diseases with the use of corticosteroids, treatment of cancer with chemotherapy) and those who reported a previous history of TB were excluded from the study. HHC underwent a clinical assessment, including a screen for LTBI by TST and chest radiograph.

Inoculation of 0.1 mL (2 UT) of PPD RT23 (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark) was performed in the HHC, using the Mantoux technique by trained personnel according to the standards Ministry of Health. The TST result reading was performed 48 hours, the size of the maximum indurative reaction was measured using the ball-pen method. The PPD response was categorized as: 0 to 5 mm, negative;  $\geq 5$  mm, positive and indicative of infection by *Mycobacterium tuberculosis*. Those with TB-like symptoms were then undergo further evaluation, including sputum examination and/or chest radiography to either confirm or exclude the presence of disease.

This study was previously approved by the Human Subject Ethics Committee at Oswaldo Cruz Foundation in Salvador, Bahia. Informed consent was obtained for all study participants.

### ***Data collection***

After informed consent, was administered a brief questionnaire whose only objective was to determine clinical-demographic and epidemiological data. Then, IC and HHC were submitted to peripheral venous blood collection for measure in the serum the IgG anti-Mce1A levels.

The HHC also performed the Interferon-gamma Release Assay (IGRA), using the QuantiFERON-TB<sup>®</sup> Gold In Tube commercial kit. The QFT assay was performed in blood samples according to the manufacturer's recommendations<sup>9</sup>. The cut-off value for a positive response was 0.35 IU / ml.

Evaluation of anti-Mce1A antibodies the whole blood was collected by venous puncture using a 5 ml tube vacuum. The samples were centrifuged to separate serum and stored at -20 ° C until determination of the titers of IgG total anti-Mce1A antibodies using a enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

### ***Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)***

Mce1A protein were diluted to 10 µg/ml in ethanol and 50 µl of the solutions were dried overnight in well polystyrene ELISA plates. ELISA plates were blocked with 100 µl of 3% low fatty acid bovine sérum albumin (BSA) (US Biologicals, USA) in phosphate buffered saline (PBS) (Invitrogen) and washed with PBS pH 7.4. Frozen serum samples were thawed twice and diluted 1:100 in 3% BSA. The diluted sample was added to the plate and incubated



for 1 hour at room temperature (RT), followed by three washes with 1x PBS. Then, 100  $\mu$ l of 1:5000 Anti-Human IgG (whole molecule) – Peroxidase antibody produced in rabbit (Sigma - Aldrich) diluted in 3% BSA/PBS was added, followed by incubation at RT for 1 hour and washed again with 1x PBS. Finally, 100  $\mu$ l of tetramethylbenzidine substrate (TMB) (Thermo Scientific, USA) was added and the reaction was stopped immediately with 100  $\mu$ l of sulfuric acid 2N. Reactions were read within 10 min at 450 nm in a spectrophotometer (Thermo Scientific, USA). The results were read out as the average of optical densities (O.D.) of triplicate assays.

### ***Statistical analysis***

Data were analyzed using GraphPad Prism v.5.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA). Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test were used to compare the median levels of total IgG between the study groups. Correlations between serum antibody levels and TST reactions, IFN- $\gamma$  levels and time of exposure were analyzed with Spearman's rank test. Values of  $p < 0.05$  were considered significant.

### ***Results***

Fifty consecutive cases of pulmonary TB patients were enrolled as IC into the study. Household contacts of these 50 TB cases were screened. These included 50 HHC of which 23 (46%) were infected by *Mtb* (TST positive) and 27 (54%) were TST non-reactors.

Of the 50 TB patients, 34 (68%) were male, median age was 34 years (IQR: 28.00-48.50) and BCG scar was present in 33 (66%) patients. All recruited patients were identified as new cases of TB and 28 (58%) cases had positive smears. Cough (96%), dyspnea (80%), and fever (68%) were the symptoms most commonly reported by TB patients. Only one case reported to be insulin-dependent diabetes mellitus that take dialy medications to reduce blood sugar. Other conditions reported were smokers (28%), habit of drinking alcohol (52%) and use for illicit drougs (20%). Thirty nine chest radiographs was performed to evaluate the lungs. Radiographic pulmonary abnormalities were found at diagnosis in 66.7% of IC. In regard to severity of radiological presentation, mild; moderate and severe pattern was seen in 33.3%, 30.8% and 33.3% respectively. The baseline characteristics of the study subjects are shown in Table 1.

Among of the 50 HHC, 31 (62%) were female, median age was 31.5 years (IQR: 9.00-55.25) and BCG scar was presente in 37 (74%) HHC. The prevalence of LTBI among HHC by TST was 46% and by IGRA test was 52.1%.

The levels of total IgG Anti-Mce1A were higher in TB patients [median optical density (OD): 1.39 (IQR: 1.10–1.69) and in infected HHC (median: 2.02, IQR: 1.91–2.24) as compared with non-infected HHC [(median: 1.05, IQR 0.87–1.14);  $p < 0.0001$ ] (Figure 1). In addition, there was significance difference between the IgG levels in infected HHC and active TB patients ( $p < 0.0001$ ).

The IgG levels were also evaluated in TB patients stratified by sputum smear status and by radiographic findings in the chest X-ray. No significant differences was found between antibodies production and the sputum smear results ( $p = 0.440$ ). In contrast, there was significance difference between the IgG levels in infected HHC and in TB patients regardless of the status of sputum ( $p < 0.0001$ ; Figura 2A). To determine the IgG levels in the severity of radiographic manifestations, the x-ray was categorized into mild, moderate and severe involvement (Figure 2B) or in presence/absence of cavitary lesions (Figure 2C). In both analysis, no statistical difference was found among TB patients. However, was observed statistical difference when compared with infected HHC,  $p < 0.0001$  (Figure 2B) and  $p < 0.0001$  (Figure 2C), respectively. Furthermore, no difference was found in antibodies levels when compared with sex, race, age, BCG, use of alcohol, tobacco and drugs in the study participants ( $p > 0.05$ ).

In an attempt to clarify whether other factors are correlated with the production of antibodies, our group investigated the correlation between Anti-Mce1A IgG levels and 1) duration of exposure (time) of HHC to the index case; 2) TST diameter and 3) IFN- $\gamma$  production by IGRA test. No correlation was observed between TST diameter and IgG levels ( $r = 0.079$ ,  $p = 0.589$ ; Figure 3A); however, a positive correlation was observed between IgG levels and IFN- $\gamma$  production ( $r = 0.508$ ,  $p = 0.0003$ ; Figure 3B) and duration of exposure ( $r = 0.390$ ,  $p = 0.012$ ; Figure 3C). Interestingly, the IgG levels when evaluated by distributions of TST in different categories was higher in  $5 < \text{TST} < 10\text{mm}$  and  $\text{TST} \geq 10\text{mm}$  as compared with TST-negative ( $p = 0.0001$ ; Figure 4). Levels of IgG stratified by IGRA status also demonstrated statistical significance ( $p = 0.0076$ ; Figure 5).

## ***Discussion***

This is the first study focusing on the levels in serum of anti-Mce1A IgG total antibodies in patients with active and latent TB. In our study, the IgG levels in serum were significantly higher in untreated pulmonary TB patients and infected HHC than in non-infected HHC. These results suggest that antibody production can be used as potential

biomarker for diagnosis of active and latent TB. The role of antibody response on the fate of *Mtb* infection and disease is still unclear. High levels in HHC with positive TST may indicate a protective role in infection and disease control. A previous study indicates that the anti-Mce1A antibodies would have an important role in neutralization, preventing macrophages infection and the consequent elimination of the bacillus<sup>10</sup>. Many antibodies elicited by *Mtb* might not be functional or could even enhance an inflammatory response. Various studies suggest that certain antibodies have protective function against TB<sup>11</sup>.

Another indication of the importance of antibodies in disease control is the statistical difference in antibodies production found in infected HHC and TB patients whose radiographs showed TB signs, either cavitory lesions and / or other findings. Extensiveness of radiological of the disease is the strongest factor associated with antibody production. Progress of the disease in most advanced forms may result from diminished cellular response site. An impairment of T-cell function leading to dissemination of the disease is also observed in immunosuppressed patients. However, in such cases the weak T-cell response is also connected with deficient antibody production<sup>12</sup>. Indifference in comparison as cavity and non-cavity can be explained on the fact that in endemic regions, the cavity is not always present. Besides the fact that we recruited individuals in outpatient unit, whose patients disease were not advanced.

For better understanding of high levels of antibodies in the group of HHC infected, it is important to evaluate the IgG subclasses, because depending on the profile of the subclasses involved, we can determine what type of immune response is involved in the fight against *Mtb*. The antibodies of IgG1 and IgG3 subclasses are, the most part, thymus-dependent antigens, targeted to protein antigens. IgG1 corresponds to about 60-70% of total serum IgG, whereas IgG3, about 4-8% of the total. The IgG2 plays an important role in humoral response against antigens of bacterial walls (carbohydrates and polysaccharides) that are thymus-independent. Contributes about 14-30% of total IgG levels<sup>13</sup>.

The results of sputum smear microscopy are not correlated with antibody production. This may be related to lack of sensitivity of the diagnostic test, due factors such as inadequate sample collection and human error in reading the sample. It is also important to note that the individuals profile studied (outpatient care) may have affected this result.

Relative to LTBI, no correlation was found between the TT with antibodies production, however, we found difference in antibody production between non infected and infected groups with the bacillus. It was not possible to differentiate the antibodies production in the infected bacilli group, according to size of induration ( $\leq 5\text{mm}$  group TT and  $\text{TT} \leq$

10mm> 10mm group) In a previous study, no significant association was found between the reaction to the TST and the production of monoclonal antibodies and antigen-specific polyclonal against *MTB*, suggesting that the IgG1 response is independent of TH1 responses<sup>14</sup>.

According to the guidelines of the MS Brazil, the IGRA is a complementary test for the diagnosis of latent TB. However, this test have great importance and it's very useful for LTBI detection in children and in addition to avoiding false positives by cross-reaction with other nontuberculous mycobacteria<sup>15</sup>. In this study, we found a positive correlation of antibody production with IGRA positivity, ie, the levels of IFN- $\gamma$ . This may indicate that possibly the IgG subclasses that are more involved in the humoral immune response are IgG1 and IgG3, as they are related to the inflammatory response<sup>16</sup>.

Evaluated the time of exposure of HHC to TB patients before treatment, and we observed that the longer the exposure to the bacillus (in weeks), greater is the antibody production. This positive correlation between exposure time and antibodies production (p=0.0118).

One of this study's limitations is that we did not evaluate the antibodies production in a group with other lung diseases, in order to verify the specificity of the marker. However, it was possible to ascertain the total IgG in patients with TB and LTBI, identified potential biomarker of these molecules in the diagnosis of disease and infection. Some clinical findings (radiography, AFB, IGRA and TST results) suggest that the antibodies may be related to the control and elimination of bacilli. Further studies are necessary for better understanding about the role of Mce1A in TB, especially in the investigation of IgG subclasses and the type of immune response involved. In future studies, the role of IgG1 and IgG3 in TB and LTBI will be investigate, as they would be related to a response to inflammatory profile.

## REFERENCES

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Tuberculosis. Infection and transmission.** [atualizada em outubro de 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>>
2. BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil** - Secretaria de Vigilância em Saúde - Programa Nacional de Controle da Tuberculose 2011a.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Tratamento diretamente observado (TDO) da tuberculose na atenção básica : protocolo de enfermagem** - Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2011b. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tratamento\\_diretamente\\_observado\\_tuberculose.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tratamento_diretamente_observado_tuberculose.pdf)>. Acessado em: Novembro de 2013
4. KOZAKIEWICZ, L. et al. **The role of b cells and humoral immunity in mycobacterium tuberculosis infection.** M. DIVANGAHI (ed.), The New paradigm of Immunity to Tuberculosis, Advances in Experimental Medicine and Biology, 2013. Volume 783.
5. ARRUDA, S. et al. Cloning of an M. tuberculosis DNA fragment Associated with entry and survival inside cells. **Science**, v. 261, p. 1492-1494. 1993
6. CASALI, N.; RILEY, L.W. A phylogenomic analysis of the actinomycetalis mce open. **BMC Genomics**, 8:60. 2007
7. NASCIMENTO, C.S. **Avaliação da Resposta Imune à Proteína MCEP (mycobacterium cell entry protein) em Indivíduos com Tuberculose Pulmonar.** Dissertação (Mestrado em imunologia). Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador. 1999.
8. MAGLIONE, P. J.; CHAN, J. How B cells shape the immune response against Mycobacterium tuberculosis. **European journal of immunology**. v. 39, n. 3, p. 676-86, 2009.
9. CELLESTIS. Package insert for in vitro diagnostic use. QuantFeron TB Gold (In-Tube Method) for in vitro diagnostic use, Carnegie, VA, Australia: Cellestis, 2007.

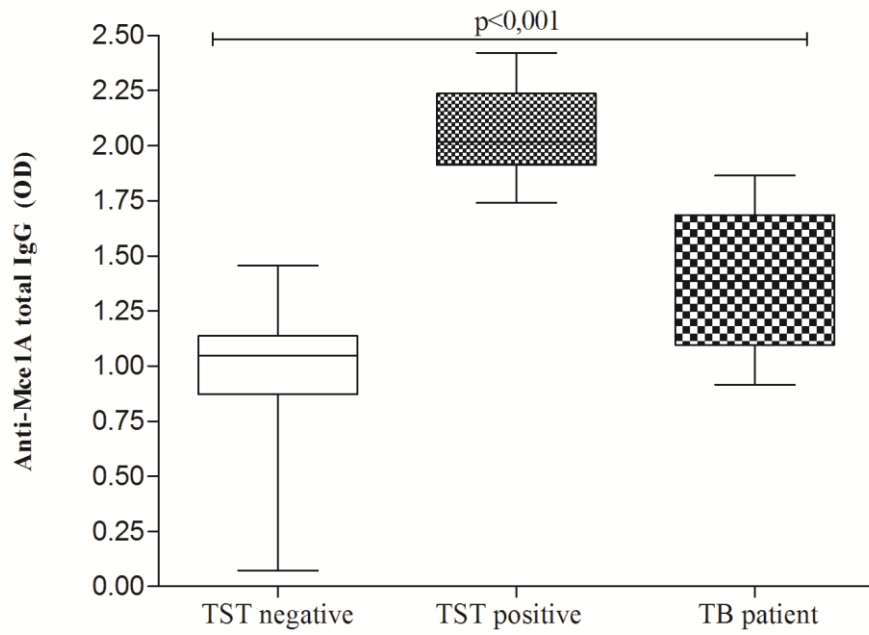
10. SIVAGNANAM, S.; NAMASIVAYAM, N.; CHELLAM, R. Polyclonal antibody against conserved sequences of mce1A protein blocks *MTB* infection in macrophages. *Appl Microbiol Biotechnol.* v. 93 (6), p. 2463-73, mar. 2012.
11. ACHKAR, J.M; CASADEVALL, A. Antibody-Mediated Immunity against Tuberculosis:Implications for Vaccine Development. **Elsevier: Cell Host & Microbe**, v. 13, mar. 2013.
12. DEMKOW, U.; FILEWSKA, M.; MICHALOWSKA-MITCZUK, D.; KUS, J.; JAGODZINSKI, J.; ZIELONKA, T.; ZWOLSKA, Z.; WYSIK, M.; ROWINSKA-ZAKRZEWSKA, E. Heterogeneity of antibody response to mycobacterial antigens in different clinical manifestations of pulmonary tuberculosis. **Journal of Physiology and Pharmacology.** v. 58, p. 117-127, 2007.
13. CARVALHO, B.T.C; NUDELMAN, V; CARNEIRO-SAMPAIO, M.M.S.; **Defense mechanisms against infections.** Rio de Janeiro: *Jornal de Pediatria*, 74 (supl. 1): S3-S11. 1998.
14. HUSSAIN, R.; DAWOOD,G; ABRAR,N.; TOOSI, Z.; MINAI, A.; DOJKI, A.; ELLNER, J.J. Selective increases in antibody isotypes and Immunoglobulin G subclass responses to secreted antigens in Tuberculosis patients and healthy household contacts of the patients. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology:** v.2, p. 726-732. Nov. 1995.
15. EISENHUT, M.; FIDLER, K. Performance of Tuberculin Skin Test Measured against Interferon Gamma Release Assay as Reference Standard in Children. **Tuberculosis Research and Treatment:** Volume 2014.
16. ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular.** [Tradução Claudia Reali e outros] – Tradução de: *Cellular and Molecular Immunology*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

**Table 1** Socio-demographic and clinical characteristics of study participants recruited with pulmonary tuberculosis and their household contacts ant 6CS, 2012-2013 period (N=100)

	TB patients (n=50)	HHC (n=50)
Characteristics	n (%)	n (%)
<b>Gender</b>		
Male	34 (68.0)	19 (38.0)
Female	16 (32.0)	31 (62.0)
<b>Age</b>		
0-14 years	-	21 (42.0)
15-30 years	17 (34.0)	6 (12.0)
31-45 years	18 (36.0)	7 (14.0)
46-60 years	09 (18.0)	11 (22.0)
>60 years	06 (12.0)	03 (6.0)
unknown	-	02 (4.0)
<b>Race (self informed)</b>		
White	06 (12.0)	03 (6.0)
Black	19 (28.0)	17 (34.0)
Brown	23 (46.0)	24 (48.0)
Other	02 (4.0)	06 (12.0)
<b>BCG scar</b>		
Yes	33 (66.0)	37 (74.0)
<b>AFB of sputum</b>		
Negative	21 (42.0)	-
1+	15 (30.0)	-
2+	6 (12.0)	-
3+	8 (16.0)	-
<b>TB symptoms</b>		
Cough	48 (96.0)	-
Dyspnoea	40 (80.0)	-
Fever	34 (68.0)	-
Thoracic pain	18 (36.0)	-
Hemoptysis	06 (12.0)	-
Other symptoms	12 (24.0)	-
<b>IGRA (n=48)</b>		
Positive	-	25 (52.0)
Negative	-	20 (41.7)
Undetermined	-	3 (6.3)
<b>TST</b>		
Positive ( $\geq 5$ mm)	-	27 (54.0)
Negative ( $< 5$ mm)	-	23 (46.0)
<b>Chest radiograph</b>		
<i>Extent of chest x-ray involvement</i>		
Normal	1 (2.0)	-
Limited	13 (26.0)	-
Moderate	12 (24.0)	-
Extensive	13 (26.0)	-
<i>Cavity classification on chest x-ray</i>		
No cavity	13 (26.0)	-
Cavity	26 (52.0)	-
Not evaluation	11 (22.0)	-

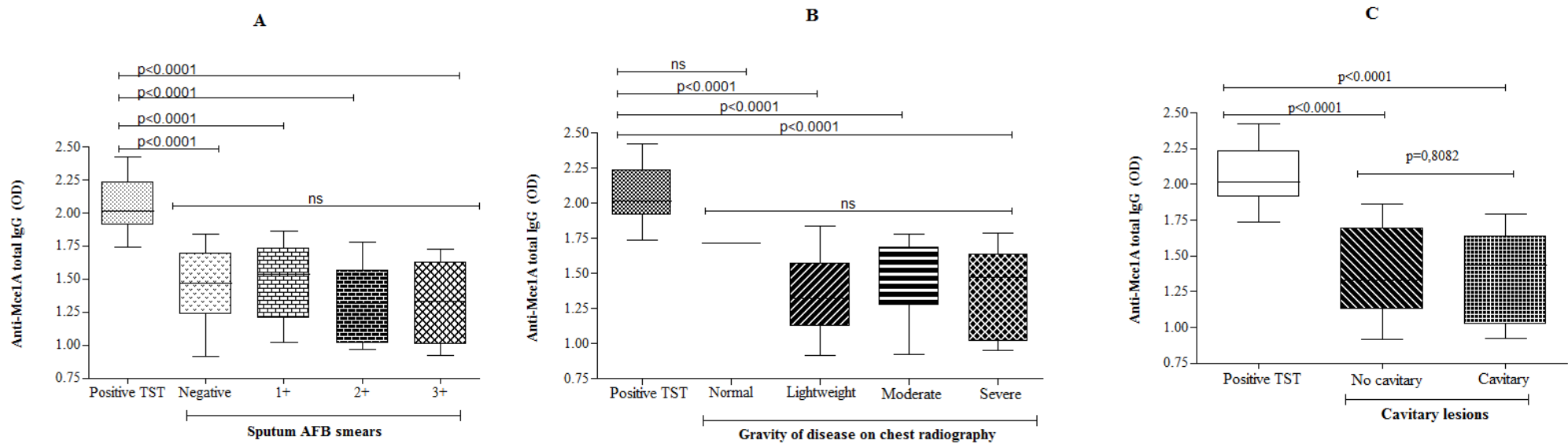
TB = tuberculosis; HHC = household contacts; AFB of sputum = acid fast bacilli sputum ; IGRA = interferon gamma release assay; TST = tuberculin skin test.

**Figure 1. Anti-Mce1A total IgG levels in the serum of TB patients (n=50), positive (n=23) and negative TST individuals (n=25).**

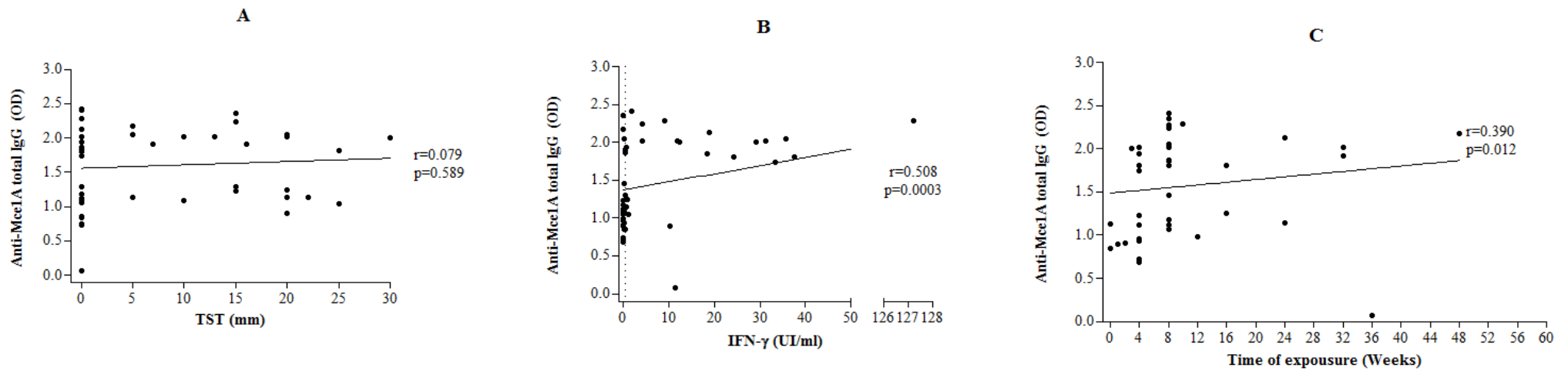


TST = Tuberculin skin test; TB = tuberculosis; OD = optical density .



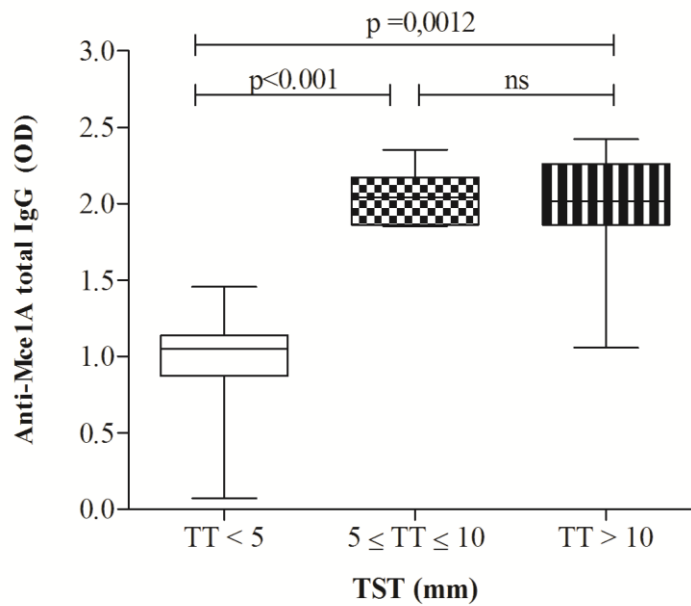


**Figure 2.** **A)** Production of IgG anti-Mce1A categorized by sputum AFB smears from TB patients (n=50). **B)** Comparison between the production of IgG anti-Mce1A, in the serum of TB patients (n=38), regarding the gravity of disease on chest radiography and and positive TST individuals (n=23). **C)** Production of IgG anti-Mce1A, in the serum of TB patients (n=50), categorized by presence of cavitory lesions on chest radiography. TST = Tuberculin skin test; AFB = acid fast bacilli; TB = tuberculosis; OD = optical density .



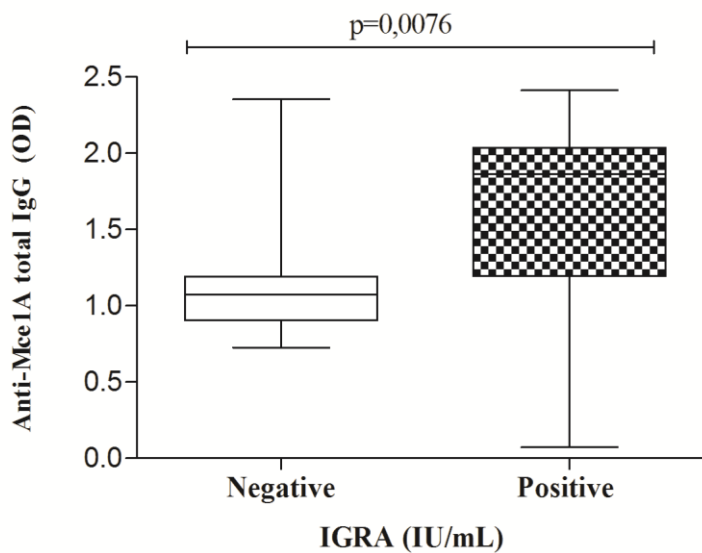
**Figure 3.** **A)** Correlation between the anti-Mce1A total IgG levels, in the serum of HHC ( $n=50$ ) and TST results. **B)** Correlation between the anti-Mce1A total IgG levels (OD), in the serum of HHC ( $n=50$ ), and IGRA (IU/mL). **C)** Correlation between the anti-Mce1A total IgG levels, in the serum of HHC ( $n=50$ ), and time of exposure to the index patient without treatment for active TB. HHC = household contacts; OD = optical density; TST = tuberculin skin test; IGRA = interferon gamma release assay; the dotted line represents the IGRA Cut-off value for a positive response was 0.35 IU/mL.

**Figure 4. Production of IgG anti-Mce1A, in the serum of HHC (n=50), categorized by Tuberculin skin test results.**



HHC = household contacts; OD = optical density; TST = tuberculin skin test

**Figure 5. Production of IgG anti-Mce1A, in the serum of HHC (n=43), categorized by IGRA results.**



OD = optical density; HHC = household contacts; IGRA = interferon gamma release assay; IGRA Cut-off value for a positive response was 0.35 IU/mL.

## 5 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que investiga os níveis IgG total anti-Mce1A no soro de pacientes com TB ativa e latente. Em nosso estudo, os níveis de IgG mensurados no soro dos pacientes com TB pulmonar, virgens de tratamento, e em CDTB infectados, foram significativamente maiores do que em CDTB não infectados. Estes resultados sugerem que os níveis de IgG total anti-Mce1A podem ser utilizados como potenciais biomarcadores no diagnóstico da TB ativa e latente. Contudo, o papel dos anticorpos na resposta imune na infecção por *Mtb* permanece desconhecido.

Os altos níveis de IgG total anti-Mce1A em CDTB com TT positivo podem indicar papel protetor no controle da infecção e doença. Um estudo realizado por Sivagnanam et al demonstraram que os anticorpos anti-Mce1A possuem um papel relevante na neutralização, inibição da entrada do bacilo nos macrófagos e, conseqüente eliminação (SIVAGNANAM; NAMASIVAYAM; CHELLAM, 2012). Adicionalmente, outro estudo realizado por Achkar et al demonstraram que os anticorpos apresentam função protetora contra TB (ACHKAR; CASADEVALL, 2013) e que, pode melhorar a resposta inflamatória contra o bacilo. Por outro lado, muitos anticorpos induzidos pelo *Mtb* podem também não ser funcionais (ACHKAR; CASADEVALL, 2013).

Outra indicação da importância de anticorpos no controle da doença é a diferença estatística na produção de anticorpos encontrados em pacientes com TB e CDTB infectados, cujas radiografias dos indivíduos com TB mostraram sinais de doença, com lesões cavitárias e/ou outros achados. A extensão radiológica da doença é um fator importante e está relacionado com a produção de anticorpos. A indiferença na comparação entre indivíduos cavitários e não-cavitários pode ser explicada pelo fato de que em regiões endêmicas, a cavidade não está sempre presente. Além do fato de que a população de estudo foi recrutada nas unidades de saúde de baixa complexidade, ou seja, em nível ambulatorial, cuja doença não está em estágio avançado na maioria dos casos.

A progressão da doença nos pacientes com TB pulmonar pode ser devido a uma diminuída resposta celular no local da infecção. O comprometimento da função dos linfócitos T pode levar ao progresso da doença, resultados estes também observados em pacientes imunodeprimidos. Assim, a fraca resposta de linfócitos T, a qual estaria intimamente relacionada à produção deficiente de anticorpos, explica a pequena produção de IgG total observada nos pacientes com TB quando comparados com os CDTB infectados.

Para melhor compreensão dos níveis elevados de anticorpos no grupo de CDTB infectado é importante avaliar as subclasses de IgG, porque a depender do perfil das subclasses envolvidas, podemos determinar o tipo de resposta imune que está envolvida no combate ao *Mtb*.

Os resultados da baciloscopia não estão correlacionados com a produção de anticorpos. Isto pode ser explicado pela falta de sensibilidade do teste diagnóstico, devido a fatores como a coleta inadequada de amostra e erro humano na leitura da amostra. Também é importante observar que o perfil da doença dos indivíduos estudados (atendimento ambulatorial) pode ter afetado o resultado, já que supostamente estão no início da doença/forma mais leve.

Em relação aos CDTB infectados, nenhuma correlação foi encontrada entre o TT com a produção de anticorpos, no entanto, encontramos diferença na produção de anticorpos entre os grupos não infectados e infectados com o bacilo. Além disso, também não foi possível diferenciar a produção de anticorpos entre os indivíduos do grupo infectado com o tamanho de endurecimento do TT. Em um estudo anterior, não foi encontrada associação significativa entre a reação ao TT e a produção de anticorpos monoclonais e policlonais específicos a antígeno contra o *Mtb*, sugerindo que a resposta de IgG1 é independente de respostas Th1 (HUSSAIN et al, 1995).

De acordo com as diretrizes do MS do Brasil, o IGRA é um exame complementar para o diagnóstico de TB latente. No entanto, este teste tem grande importância e é muito útil para a detecção de ILTB em crianças, além de evitar falsos positivos por reação cruzada com outras micobacterias não tuberculosas (EISENHUT; FIDLER, 2014). Neste estudo, verificou-se uma correlação positiva entre a produção de anticorpos com a positividade do IGRA, ou seja, com os níveis de IFN- $\gamma$ . Isso pode indicar que, possivelmente, as subclasses de IgG que estão mais envolvidos na resposta imune humoral são IgG1 e IgG3, já que esses anticorpos estão relacionados com a resposta inflamatória (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Avaliou-se o tempo de exposição dos CDTB aos doentes com TB antes de iniciarem o tratamento, e observou-se que quanto maior a exposição ao bacilo (em semanas), maior é a produção de anticorpos. Existe correlação positiva entre o tempo de exposição e a produção de anticorpos ( $p = 0,0118$ ).

Uma das limitações deste estudo é a falta de avaliação da produção de anticorpos em um grupo com outras doenças pulmonares, a fim de verificar a especificidade do biomarcador. No entanto, foi possível quantificar os níveis de IgG total em doentes com TB e ILTB,

identificando o potencial papel da imunoglobulina como biomarcador no diagnóstico de TB latente e ativa. Alguns achados clínicos (radiografia, resultados da BAAR, IGRA e TT) sugerem que os anticorpos podem estar relacionados com o controle e eliminação dos bacilos. Contudo, mais estudos são necessários para uma melhor compreensão sobre o papel da Mce1A em TB, especialmente na investigação de subclasses de IgG e do tipo de resposta imune envolvidos. Ainda é necessário uma investigação mais detalhada sobre o papel da IgG1 e IgG3 na TB ativa e ILTB, é possível que estas subclasses estejam relacionadas a uma resposta ao perfil inflamatório.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível quantificar a produção de IgG total Mce1A em todos os grupos. Todos os grupos avaliados apresentaram produção de anticorpos estatisticamente diferente entre eles, sugerindo o potencial papel desta imunoglobulina como biomarcador de doença e de infecção tuberculosa.

Algumas correlações clínicas com a produção dos anticorpos e os elevados níveis de anticorpos específicos no grupo dos CDTB sugerem o papel protetor das imunoglobulinas na resposta imune contra o *Mtb*. Essa resposta protetora possivelmente está relacionada com as subclasses do IgG específica que respondem a respostas do tipo inflamatória.

Esse estudo possui algumas limitações, entre as quais há necessidade de se avaliar a produção de anticorpos em um grupo com outras doenças pulmonares, afim de verificar especificidade do marcador. Bem como realizar mais ensaios com as subclasses da IgG, para melhor entendimento da resposta imune envolvida na ILTB e TB ativa.

Estudos maiores em unidades de saúde diversas, antes, durante e depois do tratamento, durante um período mais longo, devem ser realizados.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. [Tradução Claudia Reali e outros]. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

ACHKAR, J.M; CASADEVALL, A. Antibody-Mediated Immunity against Tuberculosis: Implications for Vaccine Development. **Elsevier: Cell Host & Microbe**, v. 13, mar. 2013.

ALTENA, R. et al Immunology in tuberculosis: challenges in monitoring of disease activity and identifying correlates of protection. **Curr. Pharm. Des.**, v. 17, p. 2853-2862, 2011.

ANDERSEN, P. et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. **Lancet**. v. 356, p. 1099-1104, set. 2000.

ARRUDA, S. et al. Cloning of an M. tuberculosis DNA fragment Associated with entry and survival inside cells. **Science**, v. 261, p. 1492-1494. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil** - Secretaria de Vigilância em Saúde - Programa Nacional de Controle da Tuberculose 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Tratamento diretamente observado (TDO) da tuberculose na atenção básica : protocolo de enfermagem**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011b. Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tratamento\\_diretamente\\_observado\\_tuberculose.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tratamento_diretamente_observado_tuberculose.pdf)>. Acessado em: Novembro de 2013

BURRIL, J. et al. Tuberculosis: A radiologic review. **Radiographics**, Easton, v. 27, p. 1255-1273, 2007.

BROOKE, I. et al. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. **Am. J. Resp. Crit. Care Med.**, v. 170, p. 65-69, 2004.

CARVALHO, B.T.C; NUDELMAN, V; CARNEIRO-SAMPAIO, M.M.S.; **Defense mechanisms against infections**. Rio de Janeiro: Jornal de Pediatria, 74 (supl. 1): S3-S11. 1998.

CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L.A. A reappraisal of humoral immunity based on mechanisms of antibody-mediated protection against intracellular pathogens. **Adv. Immunol.**, v. 91, p. 1– 44, 2006.



CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L.A. A new synthesis for antibody-mediated immunity. **Nat. Immunol.**, v. 13, n. 1, p. 21–82, 2012.

CASALI, N.; RILEY, L.W. A phylogenomic analysis of the actinomycetalis mce open. **BMC Genomics**, 8:60. 2007

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **TB Elimination - The Difference Between Latent TB Infection and TB Disease**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/general/LTBIandActiveTB.pdf>>. Acessado em: Novembro de 2013.

CELLESTIS. **Package insert for in vitro diagnostic use. QuantFeron TB Gold (In-Tube Method) for in vitro diagnostic use**, Carnegie, VA, Australia: Cellestis, 2007.

COOPER, A.M. et al. IFN-gamma and NO in mycobacterial disease: new jobs for old hands. **Trends Microbiol.**, v. 10, n. 5, p. 221-226, 2002.

DALEY, CL; GOTWAY, M.B.; JASMER, R.M. Radiographic manifestations of tuberculosis: a primer for clinicians. 2<sup>a</sup> ed. San Francisco: **Curry International Tuberculosis Center**, 2011.

DEMKOW, U.; FILEWSKA, M.; MICHALOWSKA-MITCZUK, D.; KUS, J.; JAGODZINSKI, J.; ZIELONKA, T.; ZWOLSKA, Z.; WYSIK, M.; ROWINSKA-ZAKRZEWSKA, E. Heterogeneity of antibody response to mycobacterial antigens in different clinical manifestations of pulmonary tuberculosis. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v. 58, p. 117-127, 2007.

DLUGOVITZKY, D.; TORRES-MORALES, A.; RATENI, L.; FARRONI, M.A.; LARGACHA, C.; MOLTENI, O.; BOTTASSO, O. Circulating profile of Th1 and Th2 cytokines in tuberculosis patients with different degrees of pulmonary involvement. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 18, n. 3, p. 203-207, 1997.

EISENHUT, M.; FIDLER, K. Performance of Tuberculin Skin Test Measured against Interferon Gamma Release Assay as Reference Standard in Children. **Tuberculosis Research and Treatment**: Volume 2014.

FLORIDO, M.; COOPER, A. M.; APPELBERG, R. Immunological basis of the development of necrotic lesions following Mycobacterium avium infection. **Immunology**, v. 106, p.590-601, 2002.

HUR, Y.G. et al. Combination of Cytokine Responses Indicative of Latent TB and Active TB in Malawian Adults. **PLoS ONE**, v. 8, 2013.

HUSSAIN, R.; DAWOOD,G.; ABRAR,N.; TOOSI, Z.; MINAI, A.; DOJKI, A.; ELLNER, J.J. Selective increases in antibody isotypes and Immunoglobulin G subclass responses to secreted antigens in Tuberculosis patients and healthy household contacts of the patients. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**: v.2, p. 726-732. Nov. 1995.

KAUFMANN, S. H. E.; PARIDA, S. K. Tuberculosis in Africa: learning from pathogenesis for biomarker identification. **Cell host & microbe**, v. 4, n. 3, p. 219-28, 2008.

KOZAKIEWICZ, L. et al. The role of b cells and humoral immunity in mycobacterium tuberculosis infection. In: M. DIVANGAHI (Ed.). **The New paradigm of Immunity to Tuberculosis, Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2013. v. 783.

LALVANI, A.; MILLINGTON, K.A. Screening for tuberculosis infection prior to initiation of anti-TNF therapy. **Autoimmun. Rev.**, v. 8, n. 2, p. 147–152, 2008.

MARAIS, B.J. et al. Diversity of disease in childhood pulmonary tuberculosis. **Ann. Trop. Paed.**, v. 25, n. 2, 2005.

MAGLIONE, P. J.; CHAN, J. How B cells shape the immune response against Mycobacterium tuberculosis. **Eur. J. Immunol.**, v. 39, n. 3, p. 676-686, 2009.

MOUTINHO, I. L. D. Tuberculose: aspectos imunológicos na infecção e na doença. **Rev. Méd. Minas Gerais**, v. 21, n. 1, p. 42–48, 2011.

NASCIMENTO, C.S. **Avaliação da Resposta Imune à Proteína MCEP (mycobacterium cell entry protein) em Indivíduos com Tuberculose Pulmonar**. Dissertação (Mestrado em imunologia)- Universidade Federal da Bahia, Salvador. 1999.

OTTENHOFF, T.H. The knowns and unknowns of the immunopathogenesis of tuberculosis. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 16, n. 11, p. 1424-1432, Nov. 2012.

PALOMINO, J. C.; LEÃO, S. C.; RITACCO, V. **Tuberculosis 2007: from basic science to patient care**: [www.TuberculosisTextbook.com](http://www.TuberculosisTextbook.com). 1. ed. Disponível em: <<http://www.solox2000.com/pub/tuberculosis2007.pdf>>. Acesso em: nov 2010.

RAJA, A. Immunology of tuberculosis. **Ind. J. Med. Res.**, v. 120, n. 4, p. 213-232, 2004.

ROCHA, D.S.; ADORNO, R.C.F. Abandono ou Descontinuidade do Tratamento da Tuberculose em Rio Branco, Acre. **Saúde Soc. São Paulo**, v.21, n.1, p.232-245, 2012

SHIMONO et al. Hypervirulent mutant of Mycobacterium tuberculosis resulting from disruption of the mce1 operon. **PNAS**. v. 100, n. 26, p. 15919, 2003. Disponível em: <[www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2433882100](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2433882100)>.

**Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN NET**. Disponível em: [www.dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/](http://www.dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/). Acessado em: Novembro de 2013.

SIVAGNANAM, S.; NAMASIVAYAM, N.; CHELLAM, R. Polyclonal antibody against conserved sequences of mce1A protein blocks *MTB* infection in macrophages. **Appl Microbiol Biotechnol**. v. 93 (6), p. 2463-73, mar. 2012.

SMIEJA, M.J.; MARCHETTI, C.A.; COOK, D.J.; SMAILL, F.M. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons. **Cochrane Database Syst Rev**. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Tuberculosis. Infection and transmission**. [atualizada em outubro de 2013a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global tuberculosis report 2013b**. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656_eng.pdf)>

WALLIS, R.S. et al. Tuberculosis biomarkers discovery: developments, needs, and challenges. **Lancet Infect. Dis.**, v. 13 p. 362–72, 2013. Disponível em: <[www.thelancet.com/infection](http://www.thelancet.com/infection)>.

## APÊNDICE

Durante o desenvolvimento do mestrado, outros trabalhos na área de TB foram desenvolvidos pelos estudantes de iniciação científica: Nana Guimarães e Carolina Coelho Cunha. Os trabalhos executados pelas estudantes que integram o grupo de pesquisa permitiram o desenvolvimento de dois artigos científicos com minha co-autoria, os quais estão em processo de submissão aos periódicos científicos da área.

## Artigo 1

### **Descrição dos casos de tuberculose em crianças e adolescentes residentes em uma área endêmica de transmissão por *Mycobacterium tuberculosis***

Descrição da tuberculose em crianças e adolescentes

**Nana C. Guimarães<sup>a,b\*</sup>, Carolina C. de Oliveira<sup>b\*</sup>, Sérgio Arruda<sup>a,b</sup>, Iukary Takenami<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), Salvador, BA, Brasil

<sup>b</sup> Laboratório Avançado de Saúde Pública (LASP), Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

\* As autoras Nana C. Guimarães e Carolina C. de Oliveira contribuíram igualmente na autoria do manuscrito.

***Endereço para correspondência:*** Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador, Bahia, Brasil. CEP 40296-710. [iukary@yahoo.com.br](mailto:iukary@yahoo.com.br).

## Resumo

*Objetivo:* Descrever o perfil clínico epidemiológico da tuberculose em crianças e adolescentes residentes em um estado endêmico para a doença.

*Métodos:* Estudo descritivo utilizando-se dados secundários provenientes do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, referentes aos casos de tuberculose em crianças e adolescentes de 0 a 14 anos, notificados entre 2001 e 2011.

*Resultados:* Durante o período do estudo, foram notificados 3.201 casos de tuberculose. A maior taxa de incidência foi detectada no ano de 2002 e 2003, estimada em 8,5/100.000. Apesar das pequenas flutuações nas taxas de incidência, observa-se uma tendência de queda. Além disso, observa-se baixos índices de letalidade e mortalidade relacionados à doença. A maior taxa de mortalidade e letalidade registrada foi em 2007. Com relação aos aspectos clínicos e demográficos, verificou-se o predomínio da doença em pessoas do sexo masculino (53,5%), com idade entre 10 e 14 anos (36,1%), da cor parda (43%). A forma clínica predominante foi a tuberculose pulmonar (76,2%). Do total de casos, a baciloscopia foi realizada em 46,6%; destes, 61% foram positivos. A taxa geral de cura e abandono foi de 64 e 4,3%, respectivamente.

*Conclusão:* A reduzida taxa de mortalidade e letalidade associada a progressiva queda da incidência da doença nessa faixa etária, apontam para uma melhora favorável na atual situação epidemiológica da tuberculose na infância. As características clínicas e demográficas correspondem à tendência no Brasil e, além disso, verifica-se que a taxa de cura ainda se encontra abaixo da meta preconizada pela Organização Mundial da Saúde.

Palavras-chave: Tuberculose; Crianças; Adolescentes; Perfil de saúde.

## **Abstract**

*Objective:* To describe the clinical and epidemiological tuberculosis profile in adolescents and children living in an endemic state to the disease.

*Methods:* A descriptive study based on secondary data obtained from tuberculosis cases in children and adolescents 0-14 years registered on the Sistema de Informação de Agravos de Notificação between 2001 and 2011.

*Results:* During the study period there were 3,201 notified tuberculosis cases. The highest incidence rate was detected in 2002 and 2003, which was estimated at 8.5/100,000. Despite variations, decreasing trends were observed in the incidence rate. In addition, fatality and mortality rate were lower. The highest prevalence of the tuberculosis was in males (53.5%) ages 10-14 years (36.1%), brown (43%). The predominant clinical presentation was pulmonary tuberculosis (76.2%). Of the total cases, the smear was performed in 46.6%; of these, 61% were positive. The overall cure and treatment dropout rates were 64 and 4.3%, respectively.

*Conclusion:* The reduced fatality and mortality rate associated with a progressive decrease in the incidence rate in this age group suggested favorable epidemiological progression of tuberculosis in childhood studied. The clinical and demographic characteristics correspond to the trend in Brazil, but the cure rate is still below the goal set by World Health Organization.

**Keywords:** Tuberculosis; Child; Adolescent; Health Profile.

## Introdução

Tuberculose (TB) é uma doença crônica infecciosa, causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, que acomete predominantemente os pulmões.<sup>1,2</sup> Nos países em desenvolvimento, estima-se que existam, na faixa etária abaixo de 15 anos, aproximadamente 1.300.000 casos novos e 450.000 óbitos por TB anualmente.<sup>3</sup> Entre 2005 e 2009, 7% dos casos relatados no Brasil ocorreram em crianças de 0 a 14 anos de idade.<sup>4</sup> Na Bahia, 15 a 20% dos casos notificados são em crianças e adolescentes.<sup>5</sup> Além da elevada frequência de TB em crianças, esta é frequentemente mais grave do que em adultos e, comparativamente, observa-se um aumento das formas extrapulmonares e disseminada.<sup>6</sup>

A maior susceptibilidade das crianças é decorrente da imaturidade imunofisiológica, que resulta em limitações nos mecanismos inatos e adaptativos do sistema imunológico. Consequentemente, as crianças tornam-se mais vulneráveis à progressão para a TB pulmonar e formas disseminadas.<sup>6</sup> Além da imaturidade do sistema imunológico, o diagnóstico é outro fator que representa um desafio, pois os sinais e sintomas da TB na infância são pouco expressivos, dificultando a suspeita clínica e retardando o diagnóstico.<sup>7,8</sup>

O isolamento do *M. tuberculosis* através da bacterioscopia e cultura de escarro tornam-se laborioso pela dificuldade da técnica em se obter material para análise, e também, porque na grande maioria das vezes, as lesões não são cavitárias, tornando o paciente pediátrico pouco bacilífero.<sup>9</sup> Na prática, o diagnóstico é feito com base nos achados clínicos, radiológicos, epidemiológicos e pelo teste tuberculínico (TT).<sup>10,2</sup> Como principal fator epidemiológico, a informação de contato recente com adulto bacilífero é imperativo para o diagnóstico. Alguns autores sugerem que o adulto bacilífero é responsável por 25 a 80% dos casos de TB na criança, enfatizando seu papel determinante na cadeia epidemiológica.<sup>11</sup>

Diante desse contexto, é importante identificar fatores associados à ocorrência desta doença na infância e adolescência como meta importante no controle da doença. Além disso, altas taxas de TB em crianças representam uma deficiência na vigilância e controle da TB em adultos. Portanto, o objetivo desse estudo é descrever o perfil clínico e epidemiológico da TB pulmonar e extrapulmonar em crianças e adolescentes, de 0 a 14 anos, entre 2001 a 2011.

## Métodos



Trata-se de um estudo descritivo, com base em dados secundários do Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), referente aos casos notificados de TB na faixa etária de 0 a 14 anos, residentes no estado da Bahia, no período de 2001 a 2011.

Os dados gerados no SINAN foram exportados para planilhas eletrônicas, onde foram realizadas as análises quantitativas. Para todas as variáveis estudadas, foram calculadas frequências absolutas e relativas. As variáveis selecionadas a partir da ficha de investigação epidemiológica foram: sexo, idade, raça, município de residência, método diagnóstico, forma clínica, coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), baciloscopia, cultura, situação de encerramento. Além disso, os indicadores epidemiológicos: incidência, mortalidade e letalidade, foram utilizados para analisar o comportamento temporal da doença ao longo do período estudado. As estimativas populacionais empregadas para o cálculo do coeficiente de incidência e mortalidade foram fornecidas pela Diretoria de Informação em Saúde (DIS).

Considerando que este estudo utilizou dados secundários, os autores se comprometeram a garantir o sigilo e a privacidade das informações coletadas, de acordo com as normas exigidas pela Resolução 466/12.

## **Resultados**

No período de 2001 a 2011 foram notificados no Estado da Bahia 3.201 casos novos de TB infantil, com uma média de 291 casos novos por ano, o que corresponde a uma taxa de incidência média de 7,1 casos novos / 100.000 crianças e adolescentes. Durante o período analisado, pequenas flutuações na taxa de incidência foram observadas. O maior e o menor índice foram registrados nos anos de 2002/2003 e 2010, respectivamente. Contudo, deve-se destacar o aumento da taxa de incidência no ano de 2011, representando um aumento de aproximadamente 34% em relação ao ano anterior (Figura 1).

De 2001 a 2011, foram registrados 20 (0,6%) óbitos por TB, com uma média de 1,8 óbito por ano. A taxa média de mortalidade foi de 0,5 casos / 1.000.000 crianças e adolescentes. Quando analisa-se as taxas por ano, observa-se um aumento na taxa durante o ano de 2007 e 2011, apresentando uma taxa de 1,5 e 1,38 / 1.000.000 crianças e adolescentes, respectivamente. Semelhante a taxa de mortalidade, a taxa de letalidade também apresentou baixos índices durante os anos analisados. A taxa média de letalidade foi de 0,7%, variando de 0 a 2%. Contudo vale ressaltar que durante os anos de 2001 a 2005 e 2010, nenhuma criança ou adolescente foi a óbito por TB (Figura 2).

A análise clínica demográfica revelou que a TB é mais frequente no sexo masculino (53,5%), na faixa etária 10 e 14 anos (36,1%), seguida pela faixa etária de 5 a 9 anos (22,1%). Em relação à raça/cor, observou-se um predomínio da cor parda (43%), seguido pelas raça/cor preta (15,7%) e branca (11%). A forma clínica predominante, independente do ano analisado, foi a pulmonar, totalizando 2.438 casos (76,2%), seguido da extrapulmonar com 642 (20%), e 112 (3,5%) apresentaram ambas as manifestações (Tabela 1). Dentre as formas extrapulmonares, a forma ganglionar periférica preponderou sobre as demais, ocorrendo em 46% das crianças e adolescentes. A forma óssea, meningoencefálica e miliar foram responsáveis por 8,9, 6,9 e 4,8% dos casos de TB extrapulmonar, respectivamente. Outras formas da doença, com menos expressividade absoluta de casos, dentre as quais incluem-se a pleural, genitourinária, ocular, cutânea, laríngea e outras, foram agrupadas e correspondem a 30,2% dos casos. Os demais casos de TB extrapulmonar foram considerados em branco ou ignorado (3,2%).

A sorologia anti-HIV é recomendada para todos os casos diagnosticados por TB. Entretanto, observou-se que, ao longo dos anos analisados, dos 3.201 casos, apenas 822 (25,7%) crianças e adolescentes realizaram o teste, resultando em um percentual de positividade de 10,1% (83/822) (Tabela 1). Por outro lado, ao analisar o período de abrangência do estudo, o número de crianças e adolescentes que se submeteram ao teste aumentou de forma estatisticamente significativa ( $p < 0.001$ ). A probabilidade da criança ou adolescente realizar o teste em 2011 foi 2,55 (IC 95% 2,12-2,98) vezes maior do que em 2001.

A baciloscopia na primeira amostra foi realizada por 1.493 (46,6%) crianças e adolescentes, com uma média de 136 exames por ano. O ano 2010 foi o ano que apresentou o maior índice (63,4%) de realização do exame. A média de positividade foi de 61%, contudo a maior taxa de detecção utilizando esta técnica foi observada no ano de 2004. Do total de crianças e adolescentes avaliadas durante 2001 a 2011, 1.699 (53,1%) não realizaram a baciloscopia do escarro. O cultivo *in vitro* para *M. tuberculosis* foi realizado por 453 (14,1%) crianças e adolescentes, com uma média de 41,2 exames por ano. Dentre os que realizaram, apenas 17,9% foram positivos (Tabela 1).

A taxa de cura foi observada em 2.049 (64%) crianças e adolescentes, com uma média de 62,5% ao ano. O maior e o menor índice foram observados nos anos de 2004 e 2010, respectivamente. A taxa de abandono foi observada em apenas 137 (4,3%) crianças e adolescentes, com uma média de 4,2% por ano. Em contraposição a taxa de cura, o maior e o

menor índice foram observados nos anos de 2004 e 2010, respectivamente. A frequência geral de óbitos por outras causas foi de 2,1%, maior do que a frequência observada pela própria doença de 0,6%. A tuberculose multirresistente (TBMR) foi observada apenas nos anos de 2004 e 2005 com uma taxa de 01 e 0,3%, respectivamente.

## **Discussão**

A existência de TB na faixa pediátrica é um bom indicador da prevalência da doença na população adulta e do nível de transmissão do bacilo. Portanto, o conhecimento da TB em crianças e adolescentes torna-se imprescindível para a elaboração e aprimoramento das estratégias de saúde pública que visam o controle do agravo no adulto e na criança.

Durante os 11 anos analisados observou-se pequenas oscilações na taxa de incidência, evidenciando uma taxa geral de 7,1 casos novos / 100.000 crianças e adolescentes. Em concordância com outro estudo realizado na população geral da Bahia, o ano de 2002 e 2003 foram os anos que apresentaram o maior risco de adoecer, tendo em seguida, uma redução gradual da taxa de incidência.<sup>12</sup> Este resultado ratifica as evidências de que a TB nessa faixa pediátrica reflete a prevalência da doença no adulto. A partir de 2007, a taxa de incidência se eleva e, novamente, apresenta uma tendência de queda nos anos subsequentes. Porém, em 2011, a taxa de incidência chega a alcançar 7,5 / 100.000 crianças e adolescentes, a quarta maior taxa registrada no estudo.

O ano de 2007 apresentou a maior taxa de mortalidade e letalidade detectada. O aumento da taxa de mortalidade e/ou letalidade podem ser em decorrência do atraso na procura pelo primeiro atendimento, da morosidade na confirmação do diagnóstico, que consequentemente reflete o baixo índice de detecção de casos, a baixa adesão na realização da sorologia anti-HIV, as altas taxas de abandono de tratamento, os esquemas terapêuticos inadequados devido a multiressistência, entre outros fatores.<sup>13,14</sup> Como no Brasil não é frequente a presença de TB multirresistente,<sup>15</sup> os óbitos por TB são atribuídos à presença de co-morbidade como o HIV, ao atraso no diagnóstico e principalmente ao uso irregular e ao abandono do tratamento.<sup>14,16</sup> Contudo, observa-se nesse estudo, que o abandono não foi o fator preponderante que influenciou as taxas de mortalidade e letalidade, uma vez que a taxa geral de abandono está abaixo do limite aceitável preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS).<sup>1</sup> Por outro lado, analisando a frequência de positividade para o HIV, vale ressaltar que o ano de 2006 foi um dos anos que apresentou um dos maiores índices de positividade (15,9%). A infecção pelo HIV pode não só ter contribuído para o diagnóstico e

tratamento tardio, como também, conseqüentemente, ter sido um dos principais responsáveis pelo aumento da mortalidade e letalidade no ano seguinte (2007).

A ocorrência da doença em crianças do sexo masculino, na faixa etária de 10 a 14 anos, está em concordância com outros estudos.<sup>17,18</sup> A associação da TB à cor da pele é algo controverso na literatura. Stead et al defendem a teoria de que a população negra é mais acometida pelo bacilo.<sup>19</sup> Por outro lado, Hoge et al avaliaram a susceptibilidade da infecção e alterações radiográficas sugestivas de doença ativa em escolares, e não encontrou risco elevado de infecção por TB em crianças de cor negra quando comparadas àquelas de cor branca, porém o primeiro grupo foi o que mais desenvolveu evidências radiológicas da doença ativa e as maiores reações positivas ao PPD.<sup>20</sup> No presente estudo, crianças da cor parda foram as que mais adoeceram no período, seguidas das negras e brancas. A etnia que compõe a maior proporção dos habitantes do estado da Bahia, são pardos e negros, associados a uma renda salarial baixa, que vivem em ambientes aglomerados e com acesso restrito a saúde, constituindo um potencial grupo de risco para o desenvolvimento da doença ativa<sup>20</sup>. Portanto, não se pode predizer com exatidão a influência direta da raça no processo de infecção e adoecimento pela TB, mas sim presumir que este dado pode estar associado a outras variáveis fundamentais para esse processo, como a situação demográfica e socioeconômica dos doentes e de suas famílias. Os 29,3% dos casos que foram considerados ignorados/branco quanto à raça, não tiveram sua ficha preenchida com esta informação. Um estudo realizado por dos Santos et al ratificam a não completude do preenchimento dos campos da ficha de notificação em cinco capitais brasileiras, incluindo a capital da Bahia, Salvador.<sup>21</sup> Por outro lado, observa-se que o não preenchimento ocorreu com mais frequência nos anos iniciais do período estudado, o que demonstra uma melhora na qualidade do preenchimento das fichas de notificação ao longo dos anos analisados.

A forma clínica predominante da doença foi a TB pulmonar, seguido das formas extrapulmonares e pulmonar/extrapulmonar. Este dado é semelhante aos achados em outros estudos. A doença com as duas apresentações clínicas, embora sejam pouco frequentes em adultos, tem sido bem descrita em crianças.<sup>5,22</sup> Como já descrito por outros autores, as formas extrapulmonares ganglionar, óssea, miliar e meningoencefálica foram aquelas que mais acometeram as crianças na Bahia. TB ganglionar foi a forma mais frequente, corroborando também com outros estudos realizados em crianças.<sup>22-24</sup>

Em países pobres ou naqueles com alta prevalência de TB, o teste sorológico para HIV deve ser realizado em todo paciente.<sup>1</sup> Aproximadamente  $\frac{3}{4}$  das crianças e adolescentes não

realizaram o teste ou tiveram seus dados ignorados no momento da notificação. Contudo, ao final do período o aumento da realização do teste foi bem evidenciado. Entre outros motivos, destaca-se: o incentivo pelos profissionais de saúde, o maior acesso à informação e o nível de escolaridade.<sup>25</sup> Das 822 crianças e adolescentes que realizaram o teste, a frequência de positividade geral foi alta (10,1%) quando comparado com outros estudos realizados no Brasil, os quais variaram de 1,6 a 12%.<sup>26</sup> A relevância da realização deste exame no momento do diagnóstico está na possibilidade de investigar a associação das duas infecções a fim de direcionar o diagnóstico e tratamento precoce e efetivo tanto da infecção pelo HIV quanto da TB<sup>1</sup>. Além do risco de evolução rápida para TB ser maior, o paciente também exibe uma maior chance de apresentar cepas resistentes. Neste estudo, o grau de resistência bacteriana foi baixa, apenas quatro (0,1%) crianças apresentaram resistência. No Brasil, além da taxa de resistência ser baixa, próxima de 1%, a cultura não é realizada de rotina. Um relato da África do Sul apresenta o paciente adulto com HIV como tendo maior risco de apresentar cepas resistentes ao exame bacterioscópico, e afirma que as crianças em convívio com esses adultos podem se contaminar com bacilos do mesmo perfil de sensibilidade.<sup>27</sup>

A realização da baciloscopia do escarro em crianças já vem sendo questionada e desconsiderada em muitos serviços como método diagnóstico fundamental para a TB pulmonar. Nesse estudo, um pouco mais da metade (53,1%) dos casos não realizaram o teste. Segundo o Ministério da Saúde (MS), que adota um sistema de pontuação para o diagnóstico da doença, este é um exame dispensável em crianças menores de cinco ou seis anos, ou ainda, naquelas que não conseguem expectorar.<sup>28</sup> O MS reconhece que não há um padrão-ouro para diagnóstico da TB infantil e, desta forma, adota um método diagnóstico que independe de dados histológicos ou bacteriológicos. Na prática, o diagnóstico é feito com base em achados clínico-radiológico, epidemiológico e pelo resultado do teste-tuberculínico.<sup>2,10</sup>

Quanto à cultura, verifica-se que este exame também foi pouco realizado ao longo dos anos analisados. Esta quantidade reduzida de cultura é justificada pelas indicações restritas deste exame no rastreamento e acompanhamento da doença<sup>2</sup>. Nas crianças com menos de cinco ou seis anos nas quais não tenha sido possível estabelecer o diagnóstico pelos dados clínico-radiológicos, epidemiológicos e TT, está indicada a realização da cultura através de secreção colhida no lavado gástrico, bem como por outros métodos como o escarro induzido, broncoscopia, punções e até mesmo biópsia pulmonar.<sup>29</sup> Em um estudo nacional, realizado em crianças, o lavado gástrico mostrou-se com uma boa sensibilidade tanto em pacientes de nível ambulatorial quanto hospitalar.<sup>29,30</sup> Contudo, esta é uma técnica pouco acessível na maioria

dos serviços públicos, em serviços ambulatoriais o lavado gástrico não é recomendado, exceto em internações hospitalares.

O sucesso do tratamento e assistência às crianças com TB pode ser avaliado através das taxas de cura, abandono e óbito por TB. O valor preconizado pela OMS é de 85%.<sup>1</sup> Embora a cura tenha ocorrido na maioria dos desfechos, a taxa de cura geral foi baixa quando comparado com a meta da OMS. Vale ressaltar que dos 202 casos avaliados em 2010, 149 (73,8%) apresentaram o desfecho como ignorado ou em branco. Portanto, é possível que tenham ocorrido subnotificações do desfecho do tratamento ou problemas na tabulação ou no sistema de informação dessa variável para aquele ano, uma vez que os coeficientes diferem substancialmente para os outros anos avaliados. Contudo, mesmo retirando o ano de 2010 para análise, a taxa de cura ainda se encontra abaixo da meta proposta (67,4%). Estes resultados demonstram a carência que existe no sistema de saúde brasileiro e indicam a necessidade de ações mais efetivas por parte do sistema público de saúde.

A taxa de abandono nessa faixa pediátrica foi consideravelmente baixa (4,3%), semelhante ao preconizado pelo MS<sup>1</sup>, quando comparado à taxa de abandono de tratamento na população geral. Considerando que, no Brasil, a taxa de abandono de tratamento na população geral é relativamente alta, variando entre 12 a 17%<sup>31</sup>, percebe-se que o controle do tratamento em crianças tem sido mais eficaz. O maior cuidado, tanto dos serviços quanto dos responsáveis, para com as crianças pode explicar a ausência de abandono entre os menores de 14 anos.

Por fim, a análise de dados secundários evidenciou algumas limitações quanto aos dados armazenados no sistema de notificação. Apesar da melhora na qualidade da informação armazenada ao longo dos anos, ainda existem muitas lacunas e variáveis a serem melhores esclarecidas. Informações cruciais a qualquer estudo epidemiológico ainda são negligenciadas e deixam de ser registradas.<sup>21</sup> Além disso, atrasos na atualização dos dados pelos municípios também contribuem para a qualidade limitada da informação. Assim, aprimorar o sistema de notificação da TB é imperativo, pois a subnotificação impede análises e conclusões precisas que possam resultar em decisões políticas de saúde mais eficientes no controle da doença. Mesmo considerando as limitações e as subnotificações dos casos de TB registrados no SINAN, a TB na faixa etária pediátrica ainda representa um problema de saúde pública no Brasil e, especialmente na Bahia, que em 2011 representou o 3º estado em número de casos em menores de 14 anos.<sup>32</sup> No entanto, a redução da taxa de mortalidade e letalidade, associada a progressiva queda da incidência da doença nessa faixa etária, demonstram uma

melhora favorável na atual situação epidemiológica da tuberculose na infância. Além disso, o aumento de pesquisas e publicações sobre o tema podem também contribuir com a mitigação desse cenário.

## Referências

1. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2013. Geneva: WHO; 2013.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. (Série A. Normais e Manuais técnicos)
3. Starke JR. Childhood tuberculosis. A diagnostic dilemma. *Chest*. 1993; 104(2):329-330.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Rede Intergerencial de Informações para a Saúde (RIPSA); 2007 [citado 2009 Ago 04]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2007/matriz.htm>
5. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Obihara CC, Nelson LJ, et al. The clinical epidemiology of childhood pulmonary tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8(3):278-85.
6. Houwert KA, Borggreven PA, Schaaf HS, Nel E, Donald PR, Stolk J. Prospective evaluation of World Health Organization criteria to assist diagnosis of tuberculosis in children. *Eur Respir J*. 1998;11:1116-20.
7. Marais BJ, Gie RP, Schaaf HS, Hesselning AC, Obihara CC, Starke JJ, et al. The natural history of childhood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the prechemotherapy era. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:392-402.
8. Filho JCC, Caribé MA, Caldas SCC, Netto EM. A tuberculose na infância e na adolescência é difícil de diagnosticar? *J. Bras. Pneumol*. 2011;37(3):288-293.
9. Sant'Anna C, March MF, Barreto M, Pereira S, Schmidt C. Pulmonary tuberculosis in adolescents: radiographic features. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis*. 2009;13(12):1566-8.
10. Sant'Anna CC, Orfaliais CTS, March MFPB, Conde MB. Evaluation of a proposed diagnostic score system for pulmonary tuberculosis in Brazilian children. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10(4):463-65.
11. Lima JAB, Icaza ES, Menegotto BG, Fischer GB, Barreto SSM. Características clínicas e epidemiológicas do adulto contagiante da criança com tuberculose. *J. Bras. Pneumol*. 2004;30(3):243-252.
12. Bierrenbach AL, Gomes ABF, Noronha EF, Souza MDFM. Incidência de tuberculose e taxa de cura, Brasil, 2000 a 2004. *Revista de Saúde Publica*. 2007;41:24-33.
13. Burton, N., A. Forson, M. Lurie, S. Kudzawu, E. Kwarteng and A. Kwara. Factors associated with mortality and default among patients with tuberculosis attending a teaching hospital clinic in accra, ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2011;105(12):675-682.
14. Waitt CJ, Squire SB: A systematic review of risk factors for death in adults during and after tuberculosis treatment. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011; 15(7):871-885



15. Braga JU, Barreto AW, Hijjar MA. Nationwide survey of tuberculosis drug-resistance in Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1999;3(Suppl. 1):S121.
16. Oliveira HB, Marin-Leon L, Cardoso JC. Perfil de mortalidade de pacientes com tuberculose relacionada à comorbidade tuberculose-AIDS. *Rev Saude Publica.* 2004;38(4):503-10
17. Coelho filho JC, Caribé MA, Caldas SCC, Martins Netto E. A tuberculose na infância e na adolescência é difícil de diagnosticar? *J Braz Pneumol.* 2011;37(3):288-293.
18. Franco R, Santana MA, Matos E, Sousa V, Lemos ACM. Clinical and radiological analysis of children and adolescents with tuberculosis in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2013;7(1):73-81.
19. Stead WW, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP. Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med.* 1990;322:422-7.
20. Hoge CW, Fisher L, Donnell HD Jr, Dodson DR, Tomlinson GV Jr, Breiman RF, Bloch AB, Good R. Risk factors for transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in a primary school outbreak: lack of racial difference in susceptibility to infection. *Am J Epidemiol.* 1994;13:520-30.
21. dos Santos NP, Lírio M, Passos LAR, Dias JP, Kritski AL, Galvão-Castro B, Grassi MFR. Completude das fichas de notificações de tuberculose em cinco capitais do Brasil com elevada incidência da doença. *J. Bras. Pneumol.* 2013;39(2):221-225.
22. Bethlen EP. Manifestações clínicas da Tuberculose Pleural, Ganglionar, Genitourinária e do Sistema Nervoso Central. *Pulmão RJ.* 2012;21(1):19-22.
23. Lopes AJ, Capone D, Mogami R, Tessarollo B, Cunha DL, Capone RB, Siqueira HR, Jansen JM. Tuberculose extrapulmonar: aspectos clínicos e de imagem. *Pulmão RJ.* 2006;15(4):253-261.
24. Sant'Anna CC. Tuberculose na Criança. *J. Ped.* 1998;74(1):69-75.
25. França Jr I, Calazans G, Zucchi EM. Mudanças no âmbito da testagem anti-HIV no Brasil entre 1998 e 2005. *Rev Saúde Pública.* 2008;42(suppl.1):84-97.
26. Alves R, Sant'Anna CC, da Cunha AJLA. Tuberculosis and HIV co- infection in children under 15 years of age in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2003;7(2):198-9.
27. Schaaf HS, Vermeulen HÁ, Gie RP, Beyers N, Donald PR. Evaluation of young children in household contact with adult multidrug-resistant pulmonary tuberculosis cases. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18:494-500.
28. Migliori GB, Borghesi A, Rossanigo P, Adriko C, Neri M, Santini S, et al. Proposal of an improved scores method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in childhood in developing countries. *Tuber Lung Dis.* 1992;73:145-9.
29. Somu N, Swaminathan S, Paramasivan CN, Vijayasekaran D, Chandrabhooshanam A,

Vijayan VK, et al. Value of bronchoalveolar lavage and gastric lavage in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. *Tuber Lung Dis.* 1995;76:295-9.

30. Donald PR. Childhood tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2000;6:187-92.

31. Diniz LS, Gerhardt G, Miranda JA, Manceau JN. Efetividade do tratamento da tuberculose em oito municípios e capitais brasileiras. *Bol Pneumol Sanitaria (Rio de Janeiro).* 1995;3(1):6-18.

32. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN NET [acessado em 28 de Mai 2014]. Disponível em <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>.

Figura 1. Tendência temporal das taxas de incidência dos casos de TB em crianças e adolescentes no estado da Bahia entre 2001 e 2011.

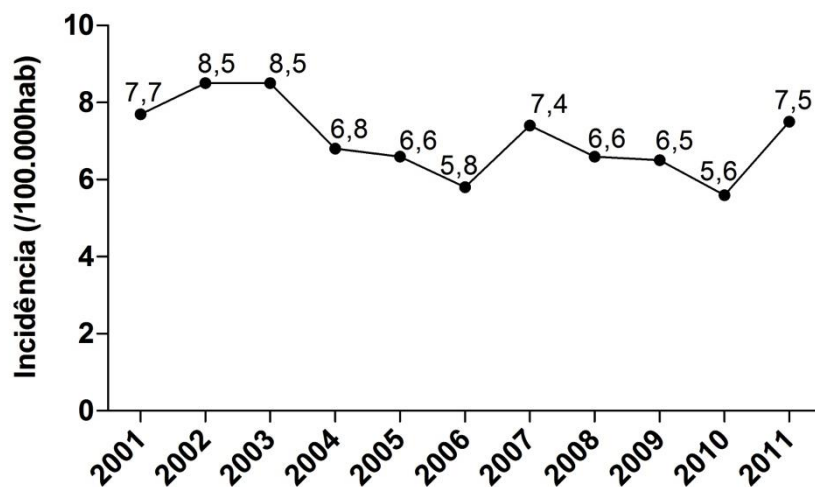


Figura 2. Tendência temporal dos coeficientes de letalidade e mortalidade por tuberculose em crianças e adolescentes no estado da Bahia entre 2001 e 2011.

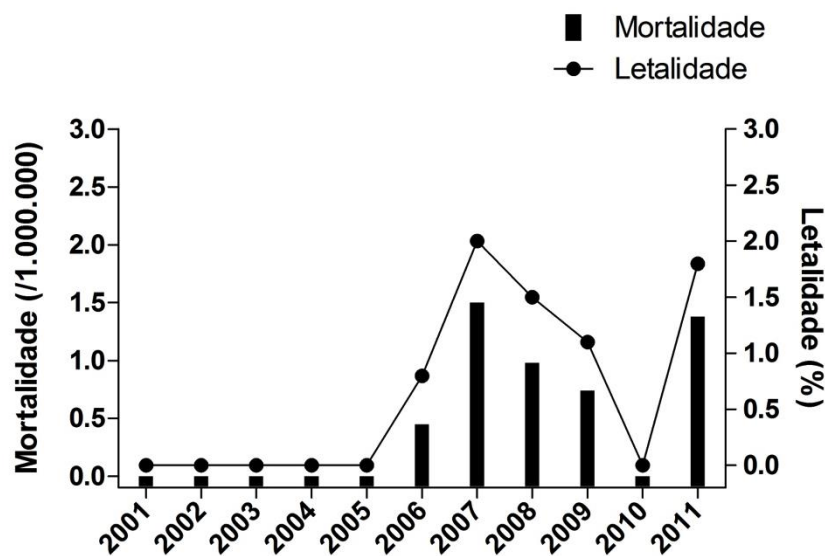


Tabela 1. Características demográficas e clínicas de crianças com tuberculose no estado da Bahia entre 2001 e 2011.

Características	Ano											
	2001 n (%)	2002 n (%)	2003 n (%)	2004 n (%)	2005 n (%)	2006 n (%)	2007 n (%)	2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)	2011 n (%)	Total n (%)
<b>Gênero</b>												
<b>Masculino</b>	146 (45,1)	200 (55,1)	194 (52,9)	142 (48,3)	146 (50,0)	136 (52,3)	165 (55,7)	140 (52,0)	153 (58,4)	126 (62,4)	164 (60,3)	<b>1.712 (53,5)</b>
<b>Feminino</b>	178 (54,9)	163 (44,9)	173 (47,1)	152 (51,7)	146 (50,0)	124 (47,7)	131 (44,3)	129 (48,0)	109 (41,6)	76 (37,6)	108 (39,7)	<b>1.489 (46,5)</b>
<b>Idade</b>												
<b>&lt; 1 ano</b>	21 (6,5)	46 (12,7)	68 (18,5)	40 (13,6)	52 (17,8)	47 (18,0)	67 (22,6)	67 (24,9)	73 (27,9)	68 (33,6)	75 (27,6)	<b>624 (19,5)</b>
<b>1 a 4 anos</b>	107 (33,0)	88 (24,2)	96 (26,2)	74 (25,2)	64 (22,0)	60 (23,1)	48 (16,2)	40 (14,9)	29 (11,0)	28 (13,9)	80 (29,4)	<b>714 (22,3)</b>
<b>5-9 anos</b>	79 (24,4)	93 (25,6)	78 (21,2)	79 (26,9)	83 (28,4)	60 (23,1)	71 (24,0)	57 (21,2)	44 (16,8)	28 (13,9)	36 (13,2)	<b>708 (22,1)</b>
<b>10 a 14 anos</b>	117 (36,1)	136 (37,5)	125 (34,1)	101 (34,3)	93 (31,8)	93 (35,8)	110 (37,2)	105 (39,0)	116 (44,3)	78 (38,6)	81 (29,8)	<b>1155 (36,1)</b>
<b>Raça</b>												
<b>Branco</b>	01 (0,3)	27 (7,4)	62 (16,9)	31 (10,5)	44 (15,1)	40 (0,4)	37 (12,5)	28 (10,4)	36 (13,7)	25 (12,4)	21 (7,7)	<b>352 (11,0)</b>
<b>Negro</b>	06 (1,9)	35 (9,6)	66 (18,0)	48 (16,3)	36 (12,3)	50 (51,5)	64 (21,6)	62 (23,0)	39 (14,9)	44 (21,8)	53 (19,5)	<b>503 (15,7)</b>
<b>Amarelo</b>	0	01 (0,3)	06 (1,6)	0	02 (0,7)	01 (0,4)	03 (1,0)	02 (0,8)	02 (0,8)	01 (0,5)	01 (0,4)	<b>19 (0,6)</b>
<b>Pardo</b>	0	70 (19,3)	168 (45,8)	140 (47,6)	140 (47,9)	134 (19,2)	168 (56,8)	149 (55,4)	131 (50,0)	114 (56,4)	164 (60,3)	<b>1378 (43,0)</b>
<b>Indígena</b>	0	01 (0,3)	02 (0,5)	02 (0,7)	0	01 (15,4)	0	01 (0,4)	03 (1,1)	0	02 (0,7)	<b>12 (0,4)</b>
<b>Ignorado/branco</b>	317 (97,8)	229 (63,1)	63 (17,2)	73 (24,8)	70 (24,9)	34 (13,1)	24 (8,1)	27 (10,0)	51 (19,5)	18 (8,9)	31 (11,4)	<b>937 (29,3)</b>
<b>Sorologia para HIV</b>												
<b>Ignorado/branco</b>	01 (0,3)	0	0	0	02 (0,7)	01 (0,4)	03 (1,0)	0	01 (0,4)	0	0	<b>08 (0,2)</b>
<b>Não realizado</b>	292 (90,1)	325 (89,5)	326 (88,8)	249 (84,7)	221 (75,7)	184 (70,8)	185 (62,5)	185 (68,8)	166 (63,3)	101 (50,0)	137 (50,4)	<b>2371 (74,1)</b>
<b>Realizado</b>	31 (9,6)	38 (10,5)	41 (11,2)	45 (15,3)	69 (23,6)	75 (28,8)	108 (36,5)	84 (31,2)	95 (36,3)	101 (50,0)	135 (49,6)	<b>822 (25,7)</b>
<b>Positivo</b>	03 (9,7)	02 (5,3)	02 (4,9)	06 (13,3)	11 (15,9)	03 (4,0)	07 (6,5)	11 (13,1)	16 (16,8)	09 (8,9)	13 (9,6)	<b>83 (10,1)</b>
<b>1ª Baciloscopia do escarro</b>												
<b>Ignorado/branco</b>	01 (0,3)	0	0	01 (0,3)	02 (0,7)	01 (0,4)	03 (1,0)	0	01 (0,4)	0	0	<b>09 (0,3)</b>
<b>Não realizado</b>	209 (64,5)	228 (62,8)	209 (56,9)	180 (61,2)	174 (59,6)	148 (56,9)	146 (49,3)	124 (46,1)	103 (39,3)	74 (36,6)	104 (38,2)	<b>1699 (53,1)</b>
<b>Realizado</b>	114 (35,2)	135 (37,2)	158 (43,1)	113 (38,5)	116 (39,7)	111 (42,7)	147 (49,7)	145 (53,9)	158 (60,3)	128 (63,4)	168 (61,8)	<b>1493 (46,6)</b>
<b>Positiva</b>	56 (49,1)	80 (59,3)	103 (65,2)	85 (75,2)	71 (61,2)	67 (60,4)	93 (63,3)	83 (57,2)	93 (58,9)	79 (61,7)	101 (60,1)	<b>911 (61,0)</b>
<b>Cultura do escarro</b>												
<b>Ignorado/branco</b>	01 (0,3)	0	0	01 (0,3)	02 (0,7)	01 (0,4)	03 (1,0)	0	01 (0,4)	0	0	<b>09 (0,3)</b>
<b>Não realizado</b>	296 (91,4)	299 (82,4)	315 (85,8)	263 (89,5)	248 (84,9)	221 (85,0)	259 (87,5)	231 (85,9)	220 (84,0)	159 (78,7)	228 (83,8)	<b>2739 (85,6)</b>
<b>Realizado</b>	27 (8,3)	64 (17,6)	52 (14,2)	30 (10,2)	42 (14,4)	38 (14,6)	34 (11,5)	38 (14,1)	41 (15,6)	43 (21,3)	44 (16,2)	<b>453 (14,1)</b>
<b>Positivo</b>	0	08 (12,5)	09 (17,3)	08 (26,7)	05 (11,9)	03 (7,9)	08 (23,5)	09 (23,7)	15 (36,6)	06 (14,0)	10 (22,7)	<b>81 (17,9)</b>
<b>Forma clínica</b>												
<b>Pulmonar</b>	236 (72,8)	282 (77,7)	279 (76,0)	226 (76,9)	225 (77,0)	198 (76,2)	222 (75,0)	203 (75,5)	212 (80,9)	154 (76,2)	201 (73,9)	<b>2438 (76,2)</b>
<b>Extrapulmonar</b>	71 (21,9)	67 (18,4)	76 (20,7)	52 (17,7)	53 (18,2)	52 (20,0)	58 (19,6)	59 (21,9)	46 (17,6)	48 (23,8)	60 (22,1)	<b>642 (20,0)</b>
<b>P+E</b>	16 (5,0)	14 (3,9)	12 (3,3)	15 (5,1)	12 (4,1)	09 (3,5)	13 (4,4)	07 (2,6)	03 (1,1)	0	11 (4,0)	<b>112 (3,5)</b>
<b>Ignorado/branco</b>	01 (0,3)	0	0	01 (0,3)	02 (0,7)	01 (0,4)	03 (1,0)	0	01 (0,4)	0	0	<b>9 (0,3)</b>
<b>TOTAL</b>	<b>324 (100)</b>	<b>363 (100)</b>	<b>367 (100)</b>	<b>294 (100)</b>	<b>292 (100)</b>	<b>260 (100)</b>	<b>296 (100)</b>	<b>269 (100)</b>	<b>262 (100)</b>	<b>202 (100)</b>	<b>272 (100)</b>	<b>3.201 (100)</b>

HIV: vírus da imunodeficiência humana; P: tuberculose pulmonar; E: tuberculose extrapulmonar

Tabela 2. Distribuição segundo o resultado do tratamento das crianças e adolescentes com tuberculose pulmonar no estado da Bahia entre 2001 e 2011.

Evolução do caso	ANO											TOTAL
	2001 n (%)	2002 n (%)	2003 n (%)	2004 n (%)	2005 n (%)	2006 n (%)	2007 n (%)	2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)	2011 n (%)	
<b>Cura</b>	219 (67,6)	236 (65,0)	250 (68,1)	225 (76,6)	213 (72,9)	176 (67,7)	185 (62,5)	155 (57,6)	163 (62,2)	27 (13,4)	200 (73,5)	<b>2049 (64,0)</b>
<b>Abandono</b>	13 (4,0)	15 (4,1)	14 (3,8)	19 (6,5)	13 (4,5)	09 (3,5)	12 (4,1)	11 (4,1)	14 (5,3)	01 (0,5)	16 (5,9)	<b>137 (4,3)</b>
<b>Transferência</b>	28 (8,6)	54 (14,9)	55 (15,0)	23 (7,8)	30 (10,3)	19 (7,3)	24 (8,1)	16 (5,9)	23 (8,9)	19 (9,4)	26 (9,6)	<b>317 (9,9)</b>
<b>Óbito por outra causa</b>	04 (1,2)	09 (2,5)	14 (3,8)	08 (2,7)	09 (3,1)	05 (1,9)	01 (0,3)	05 (1,9)	03 (1,1)	06 (3,0)	03 (1,1)	<b>67 (2,1)</b>
<b>Óbito por TB</b>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	02 (0,8)	06 (2,0)	04 (1,5)	03 (1,1)	0 (0,0)	05 (1,8)	<b>20 (0,6)</b>
<b>TBMR</b>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	03 (1,0)	01 (0,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	<b>04 (0,1)</b>
<b>Ignorado/Branco</b>	60 (18,6)	49 (13,5)	34 (9,3)	16 (5,4)	26 (8,9)	49 (18,8)	68 (23,0)	78 (29,0)	56 (21,4)	149 (73,7)	22 (8,1)	<b>607 (19,0)</b>
<b>Total</b>	<b>324 (100)</b>	<b>363 (100)</b>	<b>367 (100)</b>	<b>294 (100)</b>	<b>292 (100)</b>	<b>260 (100)</b>	<b>296 (100)</b>	<b>269 (100)</b>	<b>262 (100)</b>	<b>202 (100)</b>	<b>272 (100)</b>	<b>3201 (100)</b>

TB: tuberculose; TBMR: tuberculose multirresistente.

**Artigo 2****Descrição dos casos de tuberculose diagnosticados em um centro de saúde de Salvador,  
Bahia****Description of tuberculosis cases diagnosed in a health center in Salvador, Bahia****Descripción de los casos de tuberculosis diagnosticados en un centro de salud en  
Salvador, Bahía**

Carolina Coelho Cunha<sup>a\*</sup>,  
Iukary Oliveira Takenami<sup>b\*</sup>,  
Tomás Vilasboas Viana<sup>c</sup>,  
Carolina Cavalcante de Oliveira<sup>d</sup>,  
Sérgio Marcos Arruda<sup>e</sup>.

<sup>a</sup> *Graduanda do curso de Medicina, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP). Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC.*

<sup>b</sup> *Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa (PgBSMI), Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – CPqGM/FIOCRUZ.*

<sup>c</sup> *Graduando do curso de Medicina, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP). Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB.*

<sup>d</sup> *Mestranda da Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa (PgBSMI), Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – CPqGM/FIOCRUZ.*

<sup>e</sup> *Doutor em Patologia Humana pelo Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – CPqGM/FIOCRUZ. Pós-doutor XXX. Professor do corpo permanente da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública*

\* As autoras Carolina Coelho Cunha e Iukary Oliveira Takenami contribuíram igualmente na autoria do manuscrito.

**Endereço para correspondência:** Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador, Bahia, Brasil. CEP 40296-710. iukary@yahoo.com.br.

**Descrição dos casos de tuberculose diagnosticados em um centro de saúde de Salvador, Bahia****RESUMO**

Tuberculose (TB) ainda é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade no Brasil e, portanto, estratégias para melhorar o controle da doença ainda são necessárias. O objetivo do estudo foi descrever o perfil clínico epidemiológico dos casos novos de TB no período de 2007 a 2011. Um estudo retrospectivo baseado em dados secundários de 528 pacientes com TB pulmonar registrados no Programa Nacional de Controle da Tuberculose foi realizado em um centro de saúde localizado no município Salvador. O estudo revelou que 57% dos doentes eram do sexo masculino e 47% eram adultos jovens (21-40 anos). A maioria dos pacientes (70,1%) foram diagnosticados através da baciloscopia do escarro. Apenas 7 (1,3%) doentes estavam infectados pelo HIV, entretanto 321 (70,8%) não realizaram a sorologia para o vírus. A taxa de sucesso de tratamento (cura e tratamento completado) foi de 91,3%, variando de 90 a 92,3%. A menor taxa de abandono registrada foi em 2007 correspondendo a 2,9%. A investigação possibilitou conhecer as características dos casos novos de TB em um centro de saúde localizado no distrito de maior incidência da doença. O perfil de doentes corresponde a tendência no Brasil, reforçando a associação desta doença com o sexo masculino em idade adulta. Além disso, o estudo permitiu avaliar, indiretamente, o serviço de saúde dirigido ao controle da TB.

**Palavras-chave:** Tuberculose; tuberculose pulmonar; perfil de saúde.

## **Description of tuberculosis cases diagnosed in a health center in Salvador, Bahia**

### **ABSTRACT**

Tuberculosis (TB) remains a major cause of morbidity and mortality in Brazil, and therefore strategies to improve the disease control are important. The aim of the study was to describe the clinical-epidemiological profile of newly TB cases from 2007 to 2011. A retrospective study from 528 TB patients registered in the National Tuberculosis Control was conducted in a health center located in Salvador city. The study showed that 57% of patients were male and 47% were young adults (21-40 years). Most patients (70.1%) were diagnosed by sputum smear microscopy. Only 7 (1.3%) patients were infected with HIV, however 321 (70.8%) not submitted for serologic testing. The rate of treatment success (cure and treatment completed) was 91.3%, ranging from 90 to 92.3%. The lowest dropout rate was recorded in 2007 corresponding to 2.9%. The study allowed for the analysis of the characteristics of TB cases in a health center located in a district with the highest incidence rates in Brazil. The patient profile corresponds to the trend in Brazil, reinforcing the association of this disease with males in adulthood. Furthermore, the study allowed us to evaluate, indirectly, this health service for control of TB.

**Keywords:** Tuberculosis; pulmonary tuberculosis; health profile.



**Descripción de los casos de tuberculosis diagnosticados en un centro de salud en Salvador, Bahía****RESUMEN**

La tuberculosis (TB) sigue siendo considerada como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en Brasil, por tanto, las estrategias para mejorar el control de la enfermedad son necesarias. El objetivo del estudio fue describir el perfil epidemiológico y clínico de los nuevos casos de TB en el período 2007-2011. Un estudio retrospectivo basado en datos secundarios de 528 pacientes con TB pulmonar registrados en el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis se llevó a cabo en un centro de salud ubicado en el municipio de Salvador. El estudio reveló que el 57% de los pacientes eran hombres y el 47% eran adultos jóvenes (21-40 años). La mayoría de los pacientes (70,1%) fueron diagnosticados en la baciloscopia de esputo. A sólo 7 (1,3%) pacientes fueron infectados con el VIH, sin embargo, 321 (70,8%) no se sometió a las pruebas serológicas para el virus. La tasa de éxito del tratamiento (curación y tratamiento finalizado) fue 91,3%, que van desde 90 a 92,3%. La tasa de deserción más baja se registró en el año 2007 correspondiente al 2,9%. La investigación ayudó a entender las características de los nuevos casos de TB en un centro de salud ubicado en el distrito con la mayor incidencia de la enfermedad. El perfil del paciente coincide con la tendencia en Brasil, lo que refuerza la asociación de la enfermedad con los hombres en la edad adulta. Además, el estudio permitió evaluar, de manera indirecta, el servicio de salud dirigido al control de la tuberculosis.

**Palavras-clave:** Tuberculosis; tuberculosis pulmonar; perfil de la salud.

## Descrição dos casos de tuberculose diagnosticados em um centro de saúde de Salvador, Bahia

### INTRODUÇÃO

Tuberculose (TB), doença crônica causada por *Mycobacterium tuberculosis*, ainda representa um grave problema de saúde pública no país.<sup>1,2</sup> A cada ano, 8 milhões de habitantes adoecem por TB e cerca de 2 milhões evoluem para o óbito, o que comprova sua elevada morbimortalidade no mundo.<sup>1</sup> Apesar da existência de estratégias terapêuticas eficazes, a TB ainda permanece entre as 10 doenças que mais acometem a população mundial, revelando a diversidade de fatores sócio-econômicos e ambientais que dificultam seu controle.<sup>3</sup>

Atualmente, o Brasil é o único país da América Latina incluído entre as 22 nações responsáveis por 80% dos casos de TB no mundo, com uma incidência estimada em 111.000 novos casos/ano e de 5.000 óbitos/ano.<sup>1</sup> Deste total, menos da metade dos casos de TB são notificados, o que pode refletir em uma subestimativa da magnitude da doença, e portanto pode proporcionar uma sublocação de ações e recursos para seu controle.<sup>4</sup>

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) foram notificados em 2012, 5.825 casos de TB na Bahia, o que confere ao Estado o 1º lugar do Nordeste em número de casos e o 4º lugar do país.<sup>2</sup> Salvador é considerada pelo Ministério da Saúde (MS) cidade prioritária no controle da TB, pois é responsável por metade dos casos do Estado.

Diante do grave problema de saúde pública que a TB representa no país e, especialmente em Salvador, atividades de prevenção e controle são prioridades das ações de vigilância epidemiológica. Cabe aos municípios planejar as ações necessárias de acordo com cada realidade local para que as metas e objetivos delineados pelo Ministério da Saúde (MS) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) sejam atingidos. Assim, é de grande importância que se conheça o perfil clínico-epidemiológico da TB, pois o conhecimento das características relacionadas à doença podem contribuir para implementação de políticas públicas específicas, visando qualificar a atenção à saúde da população assistida pelo Sistema Único de Saúde. Além disso, o envelhecimento da população e fatores endógenos como diabetes mellitus, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pelo vírus linfotrófico de células T humanas (HTLV) tem modificado o perfil dos pacientes acometidos pela doença, reforçando ainda mais a importância da realização desses tipos de estudos.

Nesse contexto, a identificação de padrões associados à ocorrência da TB é uma meta importante para monitorar a situação de saúde da população, comparando a evolução,

tendências e identificando áreas e grupos prioritários. Portanto, o objetivo do presente estudo foi descrever o perfil clínico epidemiológico dos casos de TB atendidos no 6º Centro de Saúde (6º CS) Rodrigo Argolo no período de 2007 a 2011.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido no 6º CS Rodrigo Argolo, no bairro de Tancredo Neves, Salvador, Bahia. O centro de saúde pertence ao Distrito Sanitário Cabula-Beiru, da rede pública de saúde do município de Salvador. Nos últimos cinco anos, esse distrito foi o responsável pela maior incidência de TB em Salvador. Em 2012, concentrou 14,3% dos soteropolitanos<sup>5</sup>, o que lhe confere o atual título de Distrito mais populoso do município.

O estudo trata-se de uma investigação epidemiológica de cunho descritivo de análise de dados secundários. Os dados do estudo foram obtidos mediante consulta no livro “Registro de pacientes e acompanhamento de tratamento dos casos de Tuberculose” do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT). O livro é um instrumento de informação oficial, padronizado e disponibilizado pelo MS às unidades que diagnosticam e tratam casos de TB, nele são registrados apenas os pacientes que iniciam o tratamento com diagnóstico confirmado.

A população do estudo foi composta por casos de TB registrados no Livro do PNCT, atendidos no 6º CS Rodrigo Argolo no período de 2007 a 2011. As variáveis selecionadas para a avaliação foram: tipo de entrada, sexo, faixa etária, diagnóstico HIV, prova tuberculínica (PT), baciloscopia de escarro (BAAR), cultura de escarro, forma clínica, tipo de tratamento e evolução do caso.

Os dados obtidos foram armazenados e consolidados para análise utilizando-se o programa SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). As variáveis estudadas foram descritas como frequência absoluta e relativa, apresentadas na forma de tabelas.

O estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz da Fundação Oswaldo Cruz (parecer número 256/2012).

## **RESULTADOS**

Entre os anos de 2007 a 2011, foram atendidos 636 pacientes no 6º CS Rodrigo Argolo. Destes, 528 (83%) casos novos de TB pulmonar foram incluídos na análise, distribuídos neste estudo conforme ilustrado na **Tabela 1**. Dos 528 pacientes analisados, 57% eram do sexo masculino, a faixa etária mais acometida por TB foi adultos jovens entre 21 e 40 anos (47%). Em relação a coinfeção TB/HIV, apesar da sorologia para HIV ser recomendada

para todos os casos diagnosticados por TB, observou-se que apenas 38,6% dos pacientes foram avaliados para HIV, resultando em um percentual de positividade de apenas 3,4% (7/204). Contudo, no decorrer do anos analisados, o número de pacientes que se submeteram ao teste aumentou consideravelmente (**Tabela 2**).

A baciloscopia foi positiva em 70,1% dos pacientes. Dos 508 pacientes que tiveram o diagnóstico bacteriológico de TB por baciloscopia de escarro, 10 pacientes necessitaram do método do escarro induzido para coleta do espécime respiratório. As amostras de 104 (19,6%) pacientes foram cultivadas em meio específico para micobactérias. Destes, apenas 53 (10%) das amostras foram positivas para o isolamento do *M. tuberculosis* (**Tabela 3**).

Dos 528 pacientes com TB pulmonar, 418 (79,2%) realizaram o tratamento auto-administrado e 105 (19,9%) sob a forma supervisionada. Em cinco (0,9%) pacientes os dados referentes ao tratamento foram considerados campos sem informação, pois não estavam preenchidos ou com registro ignorado.

A taxa de sucesso de tratamento (cura e tratamento completado) foi de 85,9%, e a taxa de abandono foi de apenas 1,9% (**Tabela 4**). Não foi observado nenhum caso de falência. Em seis pacientes (1,1%), houve mudança de diagnóstico. Oito pacientes (1,5%) foram a óbito, mas esses óbitos não foram relacionados à TB ou por outras causas.

## DISCUSSÃO

O Distrito Cabula-Beiru vem progressivamente concentrando a grande maioria dos casos de TB, sendo responsável, em média, por 30% dos casos notificados em Salvador.<sup>5</sup> Assim, o 6ºCS é considerado pela Secretaria Municipal de Saúde um centro de referência prioritário para o controle da doença, pois localiza-se no Distrito Cabula-Beiru.

Este estudo demonstrou que a TB acomete predominantemente o sexo masculino, corroborando com outros estudos realizados no Brasil e em regiões como Nordeste, Sul e Sudeste.<sup>6</sup> De modo geral, as mulheres utilizam com maior frequência os serviços básicos de saúde, pois preocupam-se mais em relação a sua saúde do que os homens. O baixo consumo de bebidas alcólicas e tabaco são também outros fatores apontados como responsáveis pela diferença entre os dois sexos.<sup>6</sup> Os dados referentes à idade acompanham o padrão nacional, com o predomínio de adultos jovens entre 21 e 40 anos.<sup>6,7</sup> O estudo revelou ainda um progressivo aumento da incidência da TB nas faixas etárias entre 41 e 60 anos, e de mais de 61 anos. Esta mudança está intimamente relacionada ao envelhecimento da população, promovido pelo aumento da expectativa de vida que conseqüentemente aumenta o número de idosos. Nesse contexto, a frequência de desordens crônicas e a redução natural dos

mecanismos imunológicos, permite a ocorrência da reativação endógena de focos bacilares residuais quiescentes ou ainda uma nova reinfecção exógena.<sup>5-7</sup>

A frequência de coinfeção TB/HIV foi de apenas 3,4%. Este índice está abaixo da média brasileira estimado em 8,1%.<sup>6</sup> A baixa positividade em relação aos valores nacionais pode ser atribuído aos altos índices de subnotificação e da não realização da sorologia do HIV, o que é comum nas regiões Norte e Nordeste do Brasil.<sup>6</sup> Faz-se necessária uma melhor efetividade na realização dos testes para diagnóstico do HIV, visto que os pacientes portadores do vírus necessitam de um acompanhamento especial e que esta associação constitui nos dias atuais um grande problema no controle da doença.

A baciloscopia do escarro foi a técnica mais utilizada. Este exame é rápido, bem difundido e econômico, o que permitiu que 96,2% dos pacientes realizassem o exame. A baciloscopia, quando executada de forma correta, permite detectar de 60 a 80% dos casos de TB pulmonar, o que é fundamental para a confirmação e o controle adequado dos casos, uma vez que os pacientes bacilíferos são os responsáveis pela manutenção da cadeia de transmissão do bacilo na comunidade.<sup>1,7</sup>

A cultura é um método de elevada especificidade e sensibilidade. Entretanto, o tempo necessário para disponibilizar o resultado pode favorecer a transmissão da doença.<sup>1,8</sup> Nos casos pulmonares com baciloscopia negativa, a cultura de escarro pode aumentar em até 30% o diagnóstico bacteriológico da doença.<sup>1</sup> Sendo assim, a cultura do *Mycobacterium tuberculosis* só é utilizada em situações bem específicas, o que justifica apenas 19,6% dos pacientes realizarem o exame.

A cobertura do tratamento supervisionado dos pacientes foi de apenas 19,9%, contrariando as recomendações do MS. Entretanto, o uso de incentivos (lanche, auxílio-alimentação e outros) e facilitadores de acesso (vale-transporte) é uma realidade no centro e favorece o acompanhamento do tratamento de forma que, mensalmente, os doentes retornam à unidade de saúde em busca de medicações e acompanhamento médico.

A taxa de sucesso de tratamento encontrada no estudo foi de 85,9%, semelhante a meta preconizada pela OMS de 85%.<sup>1</sup> Além disso, os resultados demonstram que essa taxa é muito superior às taxas encontradas em outros estudos brasileiros variando de 61,2 a 68,6%. No Brasil, a taxa de abandono é alta, situa-se em 17%, porém, em muitas regiões, atinge níveis mais elevados, na grande São Paulo a taxa é estimada em 20%.<sup>9</sup> Ao contrário do que se observa no Brasil, o percentual de abandono nesse estudo atingiu a meta do MS em reduzir a taxa em menos de 5%. É importante salientar que o abandono do tratamento envolve uma série de fatores e a responsabilidade não pode ser atribuída apenas ao doente. Devem ser

consideradas questões relacionadas aos serviços de saúde, como a dificuldade de acesso, deslocamento ao serviço de saúde, a disponibilidade de horário e dias para o atendimento, o grau de tolerância para consultas não agendadas, a morosidade no atendimento, entre outros fatores.<sup>7,10</sup>

A frequência de óbitos observados nesse estudo não traduz a estimativa real da taxa de letalidade por TB. Considerando que o óbito é o desfecho mais grave para a TB, casos que evoluíram para óbito e não são conhecidos pelo sistema de vigilância retratam a fragilidade na detecção e tratamento da doença.

As principais limitações destacadas nesse estudo referem-se ao uso de dados de fonte secundária que, muitas vezes, apresenta problemas de completude e qualidade das informações. Um dos objetivos da vigilância é gerar bases de dados suficientemente fidedignas para inferências epidemiológicas. Para tanto, muitos problemas associados à falta de qualidade dos dados foram observados no 6ºCS, principalmente: uso inadequado de legendas, não preenchimento de dados e letra ilegível. Dessa forma, a baixa completude pode comprometer a qualidade do Programa Nacional de Controle da Tuberculose e repercutir na assistência e nos processos decisórios. Apesar das limitações, os resultados observados nesse estudo possibilitaram conhecer as características dos casos novos de TB pulmonar, e avaliar, de forma indireta, a qualidade do Programa de Controle da Tuberculose executado no 6ºCS.

**Referências:**

1. World Health Organization. Global tuberculosis control: WHO report 2011. WHO/TB, 2012:1-246.
2. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Ministério da Saúde. Extraído de <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/tuberculose/bases/tubercbrnet.def>, acesso em 30 de outubro de 2012.
3. Millet JP, Moreno A, Fina L, del Baño L, Orcau A, Olalla PG et al. Factos that influence current tuberculosis epidemiology. *Eur Spine J.* 2013;22(4):539-548.
4. Rodrigues MAF. Subnotificação da tuberculose: aplicação da metodologia captura-recaptura [thesis]. Bahia: Universidade Federal da Bahia; 2010.
5. Xavier MRM, Barreto ML. Tuberculose na cidade de Salvador, Bahia, Brasil: o perfil na década de 1990. *Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2007, 23(2):445-453.
6. Coutinho LASA, Oliveira DS, Souza GF, Fernandes Filho GMCF, Saraiva MG. Perfil epidemiológico da tuberculose no município de João Pessoa – PB, entre 2007 – 2010. *RBCS.* 2012;16(1):35-42.
7. Hino P, Cunha TN, Villa TC, Santos CB. Perfil dos casos novos de tuberculose notificados em Ribeirão Preto (SP) no período de 2000 a 2006. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2011;16:1295-1301.
8. Santo LALA, Santos PCHS, Moreira ME. Perfil clínico, epidemiológico e laboratorial dos pacientes com tuberculose em hospital universitário da região do Vale da Paraíba, Estado de São Paulo. *Bepa.* 2009;6(68):14-21.
9. Ribeiro SA, Amado VM, Camalier AA, Fernandes, MAA; Schenkman S. Estudo caso controle de indicadores de abandono em doentes com tuberculose. *J pneumol.* 2000; 26(6):291-6.
10. Scatena LM, Villa TCS, Netto AR, Kritski AL, Figueiredo TMRM, Vendramini SHF, Assis MMA, Motta MCS. Dificuldades de acesso a serviços de saúde para diagnóstico de tuberculose em municípios do Brasil. *Rev de Saúde Pública.* 2009;43(3):389-97.

**Tabela 1.** Distribuição do tipo de entrada dos pacientes diagnosticados com tuberculose no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, na cidade de Salvador (BA), 2007-2011.

Tipo de entrada	ANO					TOTAL
	2007	2008	2009	2010	2011	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Casos novos</b>	119 (91,5)	134 (91,2)	128 (91,4)	111 (94,8)	99 (97,0)	591 (92,9)
<b>TB pulmonar</b>	<b>101 (77,7)</b>	<b>122 (83,0)</b>	<b>116 (82,8)</b>	<b>98 (83,7)</b>	<b>90 (88,2)</b>	<b>527 (82,9)*</b>
TB extrapulmonar	17 (13,0)	12 (8,2)	12 (8,6)	13 (11,1)	09 (8,8)	63 (9,9)
TB pulmonar+extrapulmonar	01 (0,8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	01 (0,1)
<b>Retratamento por recidiva</b>	07 (5,4)	04 (2,7)	07 (5,0)	03 (2,6)	03 (3,0)	24 (3,8)
<b>Retorno após abandono</b>	03 (2,3)	05 (3,4)	05 (3,6)	03 (2,6)	0 (0)	16 (2,5)
<b>Retratamento por falência</b>	01 (0,8)	04 (2,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	05 (0,8)
<b>Total</b>	<b>130 (100)</b>	<b>147 (100)</b>	<b>140 (100)</b>	<b>117 (100)</b>	<b>102 (100)</b>	<b>636 (100)</b>

\*528 casos de TB foram considerados para análise, 527 diagnosticados apenas com TB pulmonar e um caso de TB pulmonar+extrapulmonar.

Fonte: Livro de registro do PNCT

**Tabela 2.** Características dos casos novos de TB pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, na cidade de Salvador (BA), 2007-2011.

Variáveis	ANO					TOTAL
	2007	2008	2009	2010	2011	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Sexo</b>						
Masculino	57 (55,9)	72 (59,0)	55 (47,4)	60 (61,2)	55 (61,1)	299 (57,0)
Feminino	45 (44,1)	50 (41,0)	61 (52,6)	38 (38,8)	35 (38,9)	229 (43,0)
<b>Faixa etária</b>						
< 12 anos	2 (2,0)	2 (1,6)	6 (5,2)	0 (0)	01 (1,1)	11 (2,1)
12 - 20 anos	20 (19,6)	18 (14,8)	16 (13,8)	12 (12,2)	04 (4,4)	70 (13,3)
21 - 40 anos	49 (48,0)	62 (50,8)	53 (45,7)	41 (41,8)	43 (47,8)	248 (47,0)
41 - 60 anos	23 (22,5)	31 (25,4)	33 (28,4)	36 (36,7)	33 (36,7)	156 (29,5)
≥ 61 anos	08 (7,8)	09 (7,4)	08 (6,9)	09 (9,2)	09 (10,0)	43 (8,1)
<b>Sorologia HIV</b>						
Positivo	02 (2,0)	02 (1,6)	0 (0)	01 (1,0)	02 (2,2)	07 (1,3)
Negativo	15 (14,7)	22 (18,0)	29 (25,0)	66 (67,3)	65 (72,2)	197 (37,3)
Não realizado	84 (82,4)	97 (79,5)	87 (75,0)	30 (30,6)	23 (25,6)	321 (60,8)
<b>TOTAL</b>	<b>102 (100,0)</b>	<b>122 (100,0)</b>	<b>116 (100,0)</b>	<b>98 (100,0)</b>	<b>90 (100,0)</b>	<b>528 (100,0)</b>

Fonte: Livro de registro do PNCT.



**Tabela 3.** Distribuição dos casos novos de TB pulmonar, conforme o tipo de exame realizado, no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, na cidade de Salvador (BA), 2007-2001.

Exames realizados	ANO					TOTAL n (%)
	2007 n (%)	2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)	2011 n (%)	
<b>Baciloscopia do escarro</b>						
Positivo	77 <sup>2</sup> (75,5)	84 <sup>1</sup> (68,9)	71 <sup>1</sup> (61,2)	70 <sup>2</sup> (71,4)	68 <sup>2</sup> (75,6)	370 (70,1)
Negativo	23 <sup>1</sup> (22,5)	33 <sup>4</sup> (27,0)	39 (33,6)	25 <sup>3</sup> (25,5)	18 <sup>2</sup> (20,0)	138 (26,1)
Não realizado	02 (2,0)	05 (4,1)	06 (5,2)	03 (3,1)	04 (4,4)	20 (3,8)
<b>Cultura do escarro</b>						
Positivo	12 (11,7)	08 (6,5)	09 (7,7)	11 (11,2)	13 (14,4)	53 (10,0)
Negativo	05 (4,9)	14 (11,5)	11 (9,5)	08 (8,2)	13 (14,4)	51 (9,6)
Não realizado	83 (81,4)	100 (82,0)	96 (82,8)	79 (80,6)	64 (71,2)	422 (80,0)
Ignorado	02 (2,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	02 (0,4)
<b>Total</b>	<b>102 (100)</b>	<b>122 (100)</b>	<b>116 (100)</b>	<b>98 (100)</b>	<b>90 (100)</b>	<b>528 (100)</b>

<sup>1</sup>Incluído um paciente que fez a técnica de escarro induzido.

<sup>2</sup>Incluído dois pacientes que fizeram a técnica de escarro induzido.

<sup>3</sup>Incluído três pacientes que fizeram a técnica de escarro induzido.

<sup>4</sup>Incluído quatro pacientes que fizeram a técnica de escarro induzido.

Fonte: Livro de registro do PNCT.

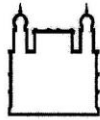
**Tabela 4.** Distribuição segundo o resultado do tratamento dos pacientes com tuberculose pulmonar atendidos no 6º Centro de Saúde Rodrigo Argolo, na cidade de Salvador (BA), 2007-2001.

Evolução do caso	ANO					TOTAL n (%)
	2007 n (%)	2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)	2011 n (%)	
<b>Cura</b>	71 (69,6)	83 (68,0)	74 (63,8)	68 (69,5)	64 (71,1)	360 (68,2)
<b>Conclusão do tratamento</b>	21 (20,6)	30 (24,6)	33 (28,5)	21 (21,4)	17 (18,9)	122 (23,1)
<b>Abandono</b>	03 (2,9)	03 (2,5)	02 (1,7)	01 (1,0)	01 (1,1)	10 (1,9)
<b>Transferência</b>	05 (4,9)	05 (4,1)	04 (3,4)	02 (2,0)	05 (5,6)	21 (4,0)
<b>Mudança de diagnóstico</b>	02 (2,0)	01 (0,8)	01 (0,9)	01 (1,0)	01 (1,1)	06 (1,1)
<b>Óbito</b>	0 (0)	0 (0)	02 (1,7)	04 (4,1)	02 (2,2)	08 (1,5)
<b>Ignorado</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	01 (1,0)	0 (0)	01 (0,2)
<b>Total</b>	<b>102 (100)</b>	<b>122 (100)</b>	<b>116 (100)</b>	<b>98 (100)</b>	<b>90 (100)</b>	<b>528 (100)</b>

Fonte: Livro de registro do PNCT.

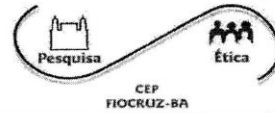
## ANEXOS

### PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**  
 Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

Comitê de Ética em Pesquisas



CEP  
 FIOCRUZ-BA

Comitê de Ética em Pesquisa – CPqGM/FIOCRUZ

#### PARECER FINAL Nº 256/2012

**Protocolo: 365/ 2011**

**Projeto de Pesquisa:** “DISTINGUINDO TUBERCULOSE ATIVA E LATENTE: UM ESTUDO DE COORTE”.

Pesquisador(a) Responsável: Dr. Sérgio Marcos Arruda

Instituição ou Departamento: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

Considerações:

Após análise ética do projeto e realização dos esclarecimentos solicitados ao pesquisador responsável, o CEP considera que o projeto atende aos princípios éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, equidade e justiça.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (Carta Doc.32-04/97), com base na Resolução 196/96 e suas complementares, julga **aprovado** o projeto supracitado, com algumas recomendações a seguir:

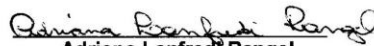
O CEP/CPqGM-FIOCRUZ especifica abaixo, o período de vigência, bem como, determina as datas para o envio dos relatório parcial e final, referentes ao desenvolvimento do protocolo de pesquisa aprovado.

Vigência: 03/08/2012 a 02/08/2017.

Relatórios parciais: 02/08/2013 - 02/08/2014 - 02/08/2015 - 02/08/2016.

Relatório final: 02/09/2017.

Salvador, 21 de Setembro de 2012.



**Adriana Lanfredi Rangel**  
 Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
 CPqGM/FIOCRUZ  
 IORG-0002090 / IRB-00002612