

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**

**REATIVAÇÃO OU REINFECÇÃO EM PACIENTES COM
RECIDIVA DE TUBERCULOSE**

ANDREZZA WOLOWSKI RIBEIRO

Porto Alegre, agosto 2014.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**

**REATIVAÇÃO OU REINFECÇÃO EM PACIENTES COM
RECIDIVA DE TUBERCULOSE**

ANDREZZA WOLOWSKI RIBEIRO

**Dissertação submetida ao
Programa de Pós-Graduação
em Biologia Celular e
Molecular da UFRGS como
requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre.**

Orientadora: Dra. Maria Lucia Rosa Rossetti

Porto Alegre, agosto de 2014.

Esta tese foi desenvolvida no Laboratório Central do Rio Grande do Sul (LACEN) no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) e no Ambulatório do Hospital Sanatório Partenon, com apoio financeiro da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer a minha orientadora Maria Lucia Rossetti pelo apoio, incentivo e paciência.

Ao CDCT, pelo começo da caminhada. Aos colegas e amigos que fiz durante esse período.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular pela oportunidade.

Gratidão às amizades que fiz neste período. Em especial a Pati e a Fê.

Família = base de tudo..Mãe, Pai e Cauê! Obrigada por todo amor e suporte. Especial ao Rafa que entrou na metade do caminho e nunca deixou de me incentivar!

Nunca deixe de abrir uma nova porta. Por ela podem entrar amigos inesperados, amores verdadeiros e aventuras inesquecíveis.

E não se esqueça principalmente de manter a janela bem aberta. Ela trará, ao fim de cada dia, um “lindo por do sol”. Nada na vida acontece por acaso.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	07
Lista de Figuras.....	09
Lista de Tabelas.....	10
Resumo.....	11
Abstract.....	12

Capítulo I

Introdução

Tuberculose e Epidemiologia.....	13
Agente Etiológico.....	18
Características da Doença.....	20
Mecanismos de Transmissão.....	22

Diagnóstico

Baciloscopia.....	24
Cultivo	25

Tratamento.....	27
------------------------	-----------

Retratamento.....	31
--------------------------	-----------

Tuberculose e HIV.....	34
-------------------------------	-----------

Epidemiologia Molecular.....	36
-------------------------------------	-----------

<i>Spoligotyping.....</i>	<i>37</i>
---------------------------	-----------

<i>MIRU/VNTR.....</i>	<i>39</i>
-----------------------	-----------

Capítulo II

Objetivo Geral.....	41
---------------------	----

Objetivo Específico.....	41
--------------------------	----

Capítulo III

Artigo.....	42
-------------	----

Capítulo IV

Discussão Geral.....	56
Referências Bibliográficas.....	64
Anexos.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
CDCT	Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CN	Caso Novo
DR	<i>Repetição direta</i>
FEPPS	Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
GD	Gerência Distrital
HAART	Terapia Anti-retroviral altamente ativa
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HSP	<i>Hospital Sanatório Partenon</i>
INH	Isoniazida
IPB-LACEN	Instituto de Pesquisas Biológicas- Laboratório Central
LJ	<i>Löwenstein-Jensen</i>
MGIT	<i>Mycobacteria Growth Indicator Tube</i>
MIRU	<i>Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
PNCT	Plano Nacional de Controle da Tuberculose
PZA	Pirazinamida
RA	Recidiva após abandono
RC	Recidiva após cura
RMP	Rifampicina
RS	Rio Grande do Sul

SIT	Shared International Type
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificações
SM	Estreptomicina
SpolDB4	Spolotyping DataBase 4
SUS	Sistema Único de Saúde
TB	Tuberculose
TS	Teste de Sensibilidade
VNTR	Número variável de repetição em tandem
VT	Virgem de Tratamento
WHO	<i>World Health Organization</i>
ZN	<i>Ziehl- Neelsen</i>

LISTA DE FIGURAS

1. Incidência de Tuberculose em 2012
2. Incidência de casos de Tuberculose por estado
3. Incidência dos Municípios considerados prioritários
4. Mapa da distribuição de Tuberculose e AIDS nas gerências distritais de Porto Alegre

LISTA DE TABELAS

1. Escala quantitativa para contagem de bacilos
2. Critérios para leitura e interpretação da cultura em meio sólido
3. Definições para fins de aplicação de esquemas terapêuticos
4. Esquema de tratamento da Tuberculose no Brasil 1979-2009
5. Esquemas terapêuticos básicos utilizados no Brasil a partir de 2010

RESUMO

O melhor conhecimento dos fatores associados aos casos de recidivas de tuberculose (TB) constitui um desafio ao aprimoramento das estratégias de controle da doença. A recidiva pode ser resultante da reativação endógena, de bacilos persistentes na lesão, ou de uma nova infecção, (reinfecção exógena). Para fins de tratamento, é considerado que recidiva de TB é a situação na qual o paciente desenvolve a doença ativa novamente, após completar o tratamento e receber alta por cura. O objetivo do trabalho foi estimar a prevalência e caracterizar a reativação endógena e reinfecção exógena em pacientes com recidivas de TB após cura numa região de alta prevalência de TB e HIV. Tratou-se de um estudo retrospectivo, descritivo de levantamento laboratorial. A população de estudo foi constituída por pacientes com recidiva de TB do ambulatório do Hospital Sanatório Partenon, atendidos no período de 2004-2010. Dos 1449 pacientes que realizaram o tratamento entre 2004 e 2010, foram 1060 novos casos (CN) (73,2%), e 462 (26,8%) recidivas. Entre os casos de recidivas, 203 (14 %) eram de recorrência após cura (RC) e 186 (12,8 %) eram de recorrência após abandono (RA). O percentual de HIV positivo dos 3 grupos CN, RC e RA foram, respectivamente, 22,5 , 37,7 e 43,3 %.

Dos 203 casos de TB recorrente, 24 tiveram culturas feitas em primeiro e segundo episódios, mas apenas 13 tiveram DNA disponível. Foi realizada a genotipagem por *spoligotyping* e MIRU-VNTR (*Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit*), em todas as amostras de DNA disponíveis. A análise molecular demonstrou que em 4 (30,7%) pacientes, a doença foi atribuída a uma reinfecção e em 9 (69,3%) deles a doença era devido a uma reativação.

A recidiva de TB tem implicações na saúde pública, podendo demonstrar uma ineficiência dos programas de controle da TB, tempo do tratamento, pois alguns estudos mostram que o prolongamento do tratamento nos pacientes HIV positivos diminui a taxa de recidiva.

ABSTRACT

A better understanding of the factors associated with recurrence cases of tuberculosis is a challenge to the improvement of the strategies of disease control. The recurrence may result from endogenous reactivation of persistent bacilli in the lesion, or a new infection (exogenous reinfection). The Tuberculosis Control Program considers that disease recurrence is the situation in which the patient develops active disease after completing treatment and be declared cured. The objective of this study was to estimate the prevalence and characterize the endogenous reactivation and exogenous reinfection in patients with recurrence of TB after cure in a region of high prevalence of TB and HIV. This was a retrospective, descriptive study of laboratory surveillance. The study population was composed by patients with TB relapsed from Hospital Sanatorium Parthenon, treated among 2004-2010. Of the 1449 patients who did treatment between 2004 and 2010, there were 1060 new cases (CN) (73.2%), and 462 (26.8%) recurrences. Among the recurrent cases, 203 (14%) had recurrence after cure (RC) and 186 (12.8%) had recurrence after abandon (RA). The percentage of HIV positive in CN, RC and RA groups were, respectively, 22.5, 37.7 and 43.3%. Of the 203 recurrent TB cases, 24 had cultures performed in the first and second episodes, but only 13 had DNA available. Genotyping was performed by *spoligotyping* and *MIRU-VNTR* (Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit) in all DNA samples available. Molecular analysis showed that 4 (30.7%) patients had reinfection and in 9 (69.3%) the disease was due to reactivation. Recurrence of TB has implications for public health and can demonstrate an inefficiency of TB control programs and treatments, since some studies show that prolonged treatment in HIV-positive patients decreases the rate of recurrence.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Tuberculose e Epidemiologia

Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, que acomete em especial os pulmões, mas também pode instalar-se em outros órgãos do corpo - TB extrapulmonar (Broch *et al.*, 2002). O micro-organismo causador da doença é o *Mycobacterium tuberculosis*, isolado e descrito por Roberto Koch, no ano de 1882, também chamado de bacilo de Koch.

A TB continua sendo um grande problema de saúde global classificada como a segunda principal causa de morte em todo mundo entre as doenças infecciosas, depois do HIV, que causou cerca de 1,8 milhões de mortes em 2008 (Who, 2011). Em 1993, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou essa doença em estado de emergência, alertando para a necessidade de maiores esforços no seu combate (Raviglione, 2003; Who, 2013).

Atualmente, um terço da população mundial está latentemente infectado pelo bacilo da TB e 10% destas pessoas irão desenvolver a doença ativa em algum momento da sua vida. Em 2012, cerca de 8,6 milhões de pessoas desenvolveram tuberculose e 1,3 milhões morreram da doença, incluindo 320 000 mortes entre as pessoas com HIV (Who 2013). Em 2012, 6,1 milhões de casos de tuberculose foram notificados destes, 5,7 milhões de casos, 5,4 milhões eram pessoas recém-diagnosticadas e 0,3 milhões tiveram um episódio recorrente de TB após cura. Além de um pequeno número de casos cuja história de tratamento não foi registrada, os restantes 0,4 milhões tiveram o tratamento alterado (Who 2013).

Apesar de vitimar todas as camadas sociais, sempre acometeu mais expressivamente os segmentos mais carentes da população e hoje, no contexto mundial, atinge principalmente os países em desenvolvimento. Ásia e África juntas somam 80% dos casos de tuberculose no mundo (Zager; Mcnerney, 2008, Who 2013).

Entre os 22 países que são responsáveis por 80% de todos os casos de TB no mundo, o Brasil em 2012 passou a ser o 17º (Who, 2012). Em 2012, foram notificados 82.755 casos no Brasil, correspondendo a uma incidência de 46/100.000 habitantes como mostra a Figura 1 (Who 2013).

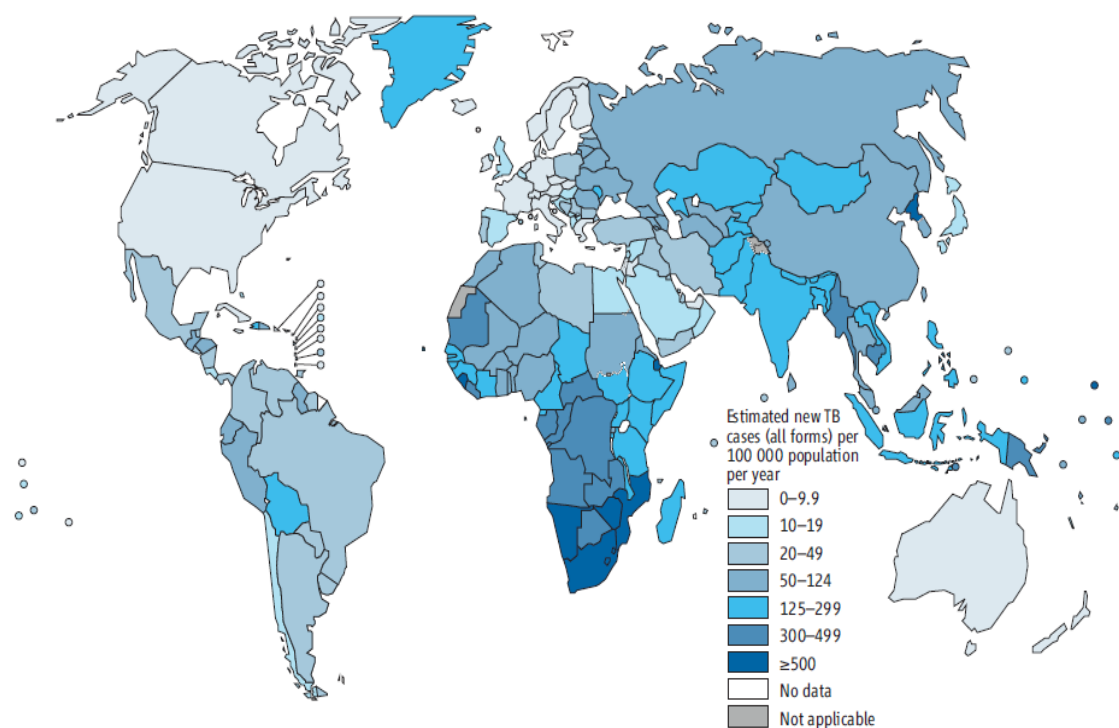


Figura 1: Incidência de Tuberculose em 2012. Adaptado de WHO 2013.

No Rio Grande do Sul (RS) em 2012, foram registrados 6.646 novos casos de TB, tendo uma incidência de 46,8 por 100.000 habitantes em 2010 (Figura 2). Entre os moradores da capital é registrada uma média de 1.600 casos por ano, 70% destes por TB pulmonar. As populações mais vulneráveis são moradores de rua (incidência 60 vezes maior), presidiários (incidência 46 vezes maior) e índios (incidência 4 vezes maior). Porto Alegre é considerado um dos 24 municípios prioritários do Estado, estando entre os 315 municípios do país com maior incidência da doença, que é de 110,5 por 100.000 habitantes (Figura 3) (SMS/POA, 2010; CEVS, 2012).

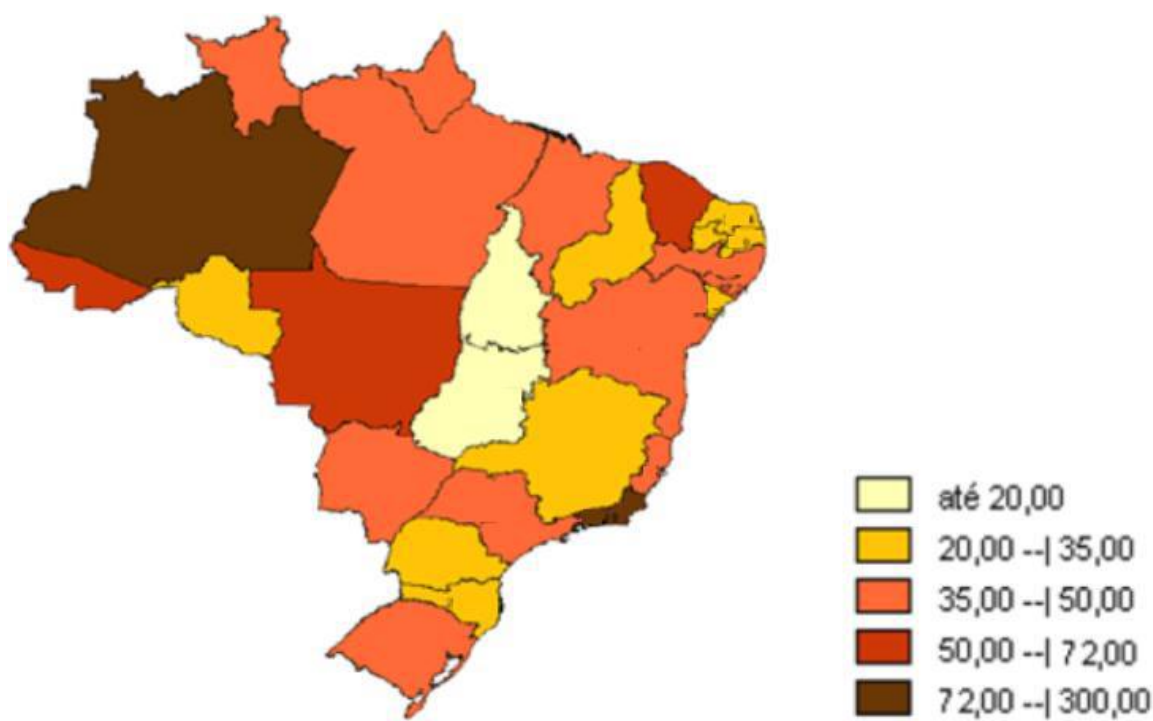


Figura 2: Incidência de casos de tuberculose por estado / Adaptado de Brasil 2012/CEVS 2011.

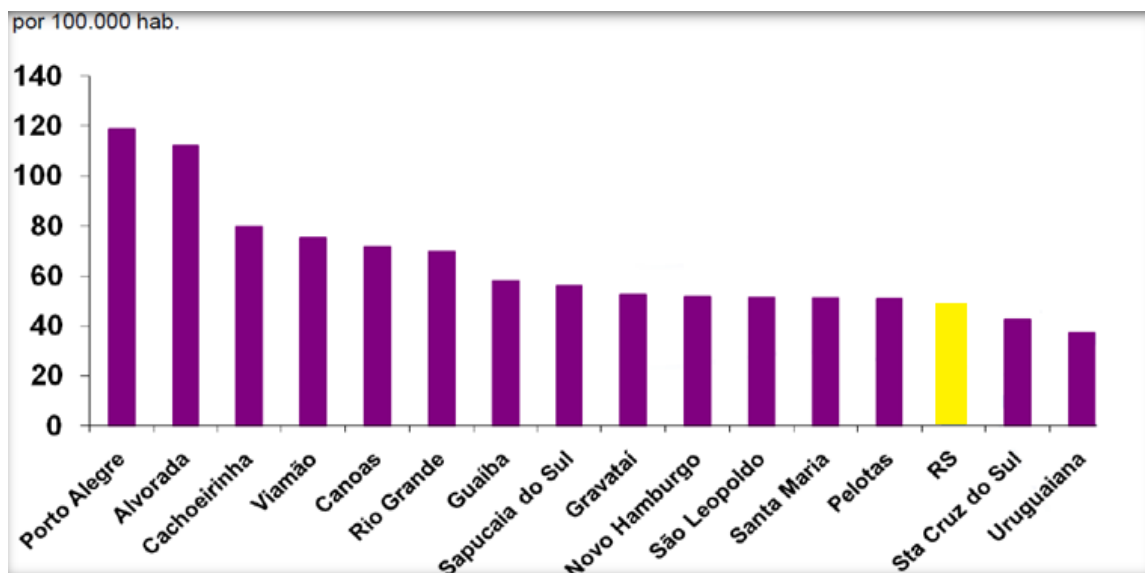


Figura 3: Incidência nos municípios considerados prioritários no Estado do Rio Grande do Sul. (Brasil, 2012).

O Hospital Sanatório Partenon (HSP) é um hospital de referência para tratamento da TB no RS, situado em Porto Alegre, cuja população é de aproximadamente 1.451.131 habitantes. Este ambulatório atende pacientes da área leste da cidade, provenientes dos bairros Agronomia, Lomba do Pinheiro, Partenon e bairros adjuntos, abrangendo uma população de aproximadamente 180.000 habitantes, apresentando um coeficiente de incidência de 138,5 casos de TB por 100.000 habitantes, maior que o coeficiente da cidade no ano de 2006 (93/100.00). Este ambulatório atende em média 390 casos de TB por ano, sendo 78 (20%) casos de retratamento. Esta região também apresenta a taxa mais alta de infecção por HIV em Porto Alegre, 110,2 casos por 100.000 habitantes, enquanto a média para a capital é de 78,5 casos por 100.000 (SMS/POA, 2008).

A cidade está dividida em Gerências Distritais (GD). A figura 4 mostra a distribuição de incidência da AIDS e tuberculose no ano de 2006 nestas áreas.

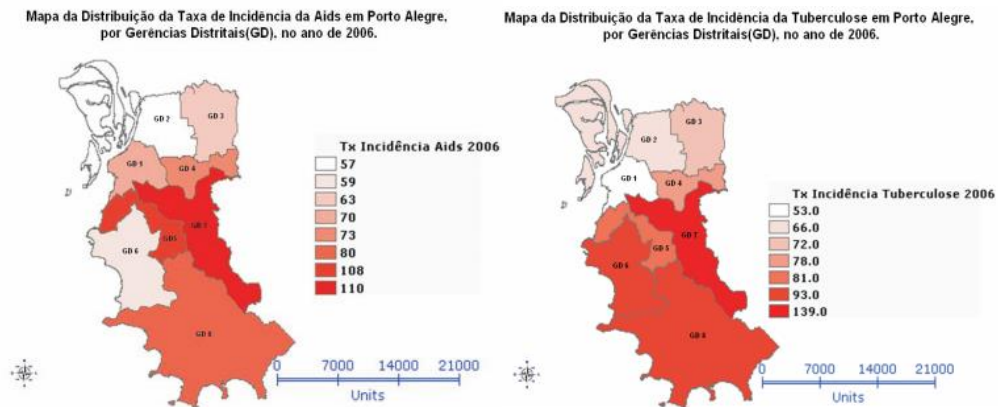


Figura 4: Mapas com a incidência de TB e AIDS nas Gerências Distritais de Porto Alegre (SMS/POA, 2008).

GD1: Centro; GD2: Noroeste/Humaitá-Navegantes-Ilhas; GD3: Norte/Eixo Baltazar; GD4: Leste-Nordeste; GD5: Glória-Cruzeiro-Cristal; GD6: Sul-Centro Sul; GD7: Partenon-Lomba do Pinheiro; GD8: Restinga-Extremo Sul.

Os fatores que determinam a probabilidade de transmissão de *M. tuberculosis* estão relacionados com (i) as características dos focos (doentes pulmonares bacilíferos) e dos contatos (pessoas que coabitam com o doente); (ii) o ambiente e a maneira como ocorrem suas relações, ou seja, a concentração de bacilos no ar, determinada pelo volume do espaço e sua ventilação; (iii) o tempo de exposição e (iv) a condição imune da pessoa exposta (Smith & Moss, 1994; ATS, 2000; Trujillo & Kritski, 2000). A concentração de bacilos eliminada por uma pessoa é estimada em 10^2 a 10^4 nas lesões sólidas, podendo chegar a 10^7 a 10^8 em lesões cavitárias (Canetti, 1969).

Para reduzir a TB, além de diagnosticar e tratar rapidamente os doentes com TB pulmonar ativos (fontes de infecção) é importante uma melhor compreensão da dinâmica e etiologia da doença, visando delinear os padrões pelos quais a doença se espalha na população (Ross & Dwyer, 1993, Yang *et al.*, 1996).

1.3 Agente Etiológico

As micobactérias pertencem à ordem dos *Actinomycetales*, família *Mycobacteriaceae*, gênero *Mycobacterium* e compreende mais de 150 espécies diferentes. A espécie *Mycobacterium tuberculosis* é o principal causador da doença. As bactérias que compõem este gênero, apesar de serem diferentes em relação à morfologia das colônias e às propriedades bioquímicas, possuem características taxonômicas comuns (Goodfellow & Magee, 1998). O bacilo da TB é classificado como aeróbico estrito, parasita intracelular facultativo, não formador de esporos, sem flagelos (imóvel) e não produtor de toxinas. O envelope celular é complexo (alto conteúdo lipídico) e serve de proteção à ação de agentes químicos, embora seja facilmente destruído por agentes físicos, como calor, luz solar e radiação ultravioleta. Fora do parasitismo, o bacilo só consegue sobreviver no meio externo por algumas horas (Brenann & Nakaido, 1995; Metchock *et al.*, 1999). Seu tempo de geração é em torno de 18 horas, e levam de 3 a 4 semanas para formar colônias em meios de cultura sólidos dependendo da oferta de oxigênio, nutrientes e pH do meio (Cole, 2002). Este é um tempo relativamente longo comparado a outras bactérias cultiváveis que, normalmente, tem suas divisões contadas em minutos (Chauhan, 2006). A taxa de crescimento lenta pode ser parcialmente determinada pela impermeabilidade da parede celular que limita a captação de nutrientes (Harshey, 1977). Esta característica também está relacionada com a propriedade de álcool-ácido resistente, e a dificuldade pela coloração do método de Gram (Barrera, 2007). Este crescimento lento do bacilo condiciona a evolução crônica da doença (Kritski *et al.*, 2005).

As espécies são identificadas com base em características de crescimento, fisiológicas e bioquímicas. *M. tuberculosis* pertence a um complexo, que inclui também *M. bovis*, *M. bovis*-BCG, *M. microti* e *M. africanum*, *M. canetti* e que são geneticamente muito relacionadas, o que dificulta a sua diferenciação através de métodos convencionais (Van Embden *et al.*, 1992, Small & Van Embden, 1994, Kremer *et al.*, 1999).

O estado de dormência ou latência é outra característica do complexo *M. tuberculosis* no qual os bacilos permanecem dentro dos tecidos infectados provocando uma redução no metabolismo resultante da ação da resposta imune celular, que pode reprimir, mas não erradicar a infecção (Chan & Kaufmann, 1994). Quando a imunidade diminui, as bactérias dormentes reativam-se, causando a deflagração da doença, mesmo décadas após a infecção inicial (Cole 1998). Tal propriedade tem um importante significado clínico, já que a TB frequentemente representa a reativação de uma infecção antiga ocorrida há vários anos (Chan & Kaufmann, 1994).

O genoma de *M. tuberculosis* é composto por 4.411.529 pb, com aproximadamente 4.000 genes. O conteúdo de G + C é constante em todo o seu genoma, indicando provável ausência de transferência horizontal de genes envolvidos com a patogenicidade (Cole *et al.*, 1998). Rico em sequências repetitivas, como a sequência de inserção IS6110 da família IS3, sendo que o número de cópias varia de linhagem para linhagem.

1.4 Características da Doença

Em aproximadamente 85% dos casos de TB o sítio envolvido é o pulmão e nos demais 15%, a doença pode estar localizada em outro órgão (TB extrapulmonar) ou envolvendo ambos os sítios pulmonar e não pulmonar (Hopewel, 1994).

As manifestações clínicas da TB variam muito e dependem de diversos fatores, inerentes ao micro-organismo e ao hospedeiro (imunodeficiência, desnutrição, outros), bem como as suas interações, as quais influenciam diretamente na apresentação clínica da doença (ATS, 2000).

Como a TB é normalmente adquirida por inalação do bacilo, a localização inicial é no pulmão. Os sintomas gerais da TB pulmonar são febre, sudorese, perda ponderal, anorexia e adinamia. Todos estes sinais e sintomas são inespecíficos e podem estar presentes em outras enfermidades pulmonares. Inicialmente, nos pacientes não imunodeprimidos, o sintoma respiratório usualmente referido é tosse acompanhado de expectoração mucopurulenta, às vezes com sangue e dor torácica (Kritski *et al.*, 2005).

Nos casos de TB extrapulmonar, entre os pacientes não imunodeprimidos, os sinais e sintomas dependerão do órgão afetado. As localizações mais frequentes são pleura, linfonodos, sistema nervoso central, rins e ossos. No caso de TB miliar, que é a forma mais grave da doença, ocorre uma disseminação hematogênica de um grande número de bacilos resultando em lesões granulomatosas por todo o organismo, podendo ser fatal se não tratada adequadamente (Bloom, 1994). A TB extrapulmonar normalmente apresenta

maiores problemas no diagnóstico que a TB pulmonar, pois envolve sítios, relativamente inacessíveis e, pela natureza destes, pequenas quantidades de bacilos presentes podem causar sérios danos ao indivíduo infectado. O pequeno número de bacilos presentes na amostra clínica acarreta uma maior dificuldade da identificação bacteriológica sendo que os procedimentos invasivos são frequentemente, requeridos para estabelecer o diagnóstico (Kritski *et al.*, 2000).

1.4 Mecanismos de Transmissão

M. tuberculosis é transmitido por via aérea em praticamente a totalidade dos casos. A infecção ocorre a partir da inalação de gotículas contendo bacilos expelidos pela tosse, fala ou espirro do doente com tuberculose ativa de vias respiratórias. Entretanto, na maioria dos indivíduos a infecção mantém-se latente, podendo inclusive durar por toda a vida. Justamente por isso, um terço da população mundial encontra-se infectada com *M. tuberculosis* sem apresentar sintomas. No entanto, a chance de uma pessoa previamente infectada com HIV desenvolver tuberculose é de 10% em cada ano de vida, enquanto que, a de uma pessoa não infectada com este vírus é de 5-10% em toda a vida (Onyebujoh & Rook, 2004).

Os doentes com a forma pulmonar bacilífera, especialmente as cavitárias, constituem a principal fonte de disseminação da doença, pois eliminam gotículas ou partículas (núcleo de Wells) de até 10 µm de diâmetro, contendo de 2 a 10 bacilos, através da fala, tosse e espirro. Um paciente pulmonar bacilífero, se não tratado, em um ano pode infectar de 10 a 15 pessoas. As gotículas são estáveis e, quando eliminadas, ficam em suspensão no ar por várias horas, podendo

chegar aos alvéolos pulmonares onde se multiplicam. As gotículas maiores com quantidades maiores de bacilos não constituem fonte de infecção, porque logo se depositam no solo não formando aerossóis. Os bacilos depositados em mucosas intactas ou na pele não conseguem invadir o tecido (Bates, 1980; Stead & Dutt, 1989).

A descoberta precoce dos doentes bacilíferos entre os sintomáticos respiratórios e outros grupos de risco e a introdução de um tratamento antimicrobiano eficaz, além de curar o doente, reduzem a capacidade de transmissão e assim proporciona a quebra da cadeia epidemiológica da doença (Ais, 2000; Trujillo & Kristki, 2001).

1.5 Diagnóstico

Denomina-se caso de tuberculose todo indivíduo com diagnóstico bacteriológico confirmado por baciloscopia ou cultura positiva e com diagnóstico baseado em dados clínico-epidemiológicos e em resultados de exames complementares. No Brasil, 86,7% dos casos pulmonares são diagnosticados por baciloscopia. Embora esse percentual varie de acordo com a região e os estados, apenas os estados do Rio Grande do Norte (78,5%) e Pernambuco (75,3%) apresentaram valores inferiores a 80% (Brasil, 2013).

1.5.1 Baciloscopia

A baciloscopia ou exame microscópico é a pesquisa de Bacilo Álcool-Ácido Resistente (BAAR) em um esfregaço de amostra clínica. A baciloscopia disponibiliza uma ampla cobertura diagnóstica, possibilitando a identificação da principal fonte de infecção (pacientes com baciloscopia positiva ou bacilíferos), o que permite a pronta atuação na interrupção da cadeia de transmissão. No entanto, é pouco sensível, e não é específica, uma vez que não é possível distinguir entre as espécies de micobactérias, necessitando que posteriormente seja feita uma diferenciação (Stybilo & Rouillon, 1981; Brooks *et al.*, 1995). O método de coloração mais utilizado é o Ziehl-Neelsen (ZN), em que as micobactérias apresentam-se como bastonetes, ligeiramente delgadas, coradas em vermelho com fundo azul.

A quantidade mínima de bacilos necessária para ser detectada na baciloscopia é de 5.000 a 10.000 unidades por mL de amostra e sua sensibilidade varia de 50% a 80 % em relação à cultura. Isso significa que um esfregaço negativo não exclui um caso de TB (Caminero, 2005). A contagem é realizada, e o resultado se dá através de uma escala padronizada pela OMS de acordo com a Tabela 1 (Cattamanchi *et al.*, 2006; Karen Steingart, 2006).

Número de bacilos observados na lâmina	Resultado
0	Negativo
1-9/100 campos	Nº exato
10-99/100 campos	1+
1-10/campo	2+
> 10/campo	3+

Tabela 1: Escala quantitativa para contagem de bacilos (em cruzes), segundo a Organização Mundial da Saúde (Brasil, 2008).

A especificidade da baciloscopia depende da prevalência das micobactérias não causadoras de TB na região do estudo e sua acurácia (sensibilidade e especificidade conjugada), depende essencialmente da qualificação técnica do laboratório da região (Gordin & Slutkin, 1990; Conde, 2000).

A sensibilidade da baciloscopia do escarro é menor em pacientes co-infectados por TB e /HIV. Em nosso meio, a forma de TB negativa ou paucibacilar (sem expectoração ou com baciloscopia de escarro negativa) ocorre com maior frequência em pacientes HIV positivos (47%) do que nos HIV negativos (28%)

(Caminero, 2002; Kritski *et al.*, 2003).

No período pré Terapia Anti-Retroviral Altamente Ativa (HAART), cerca de 58,8% dos casos de TB pulmonar estavam associados a co-infecção HIV/TB e no período pós HAART este percentual caiu para 28,6%. Mesmo assim, a co-infecção permanece responsável por cerca de um terço dos casos de TB pulmonar (Lacerda, 2002).

1.5.2 Cultura

Cultura é o exame laboratorial que permite a multiplicação e o isolamento de bacilos álcool-ácido resistente (BAAR) a partir da sementeira da amostra clínica, em meios de cultura específicos para micobactérias. É um método sensível e específico para o diagnóstico das doenças causadas por micobactérias, principalmente para a tuberculose (TB) pulmonar e extrapulmonar.

O limite de detecção de bacilos da cultura é de 100 bacilos por mililitro de escarro, mas quando realizada com alta qualidade técnica é capaz de detectar de 10 a 100 bacilos cultiváveis por mililitro de escarro. É o método de referência (padrão-ouro) para avaliar um novo método diagnóstico. Quando realizada no escarro, pode, em geral, adicionar 20% de casos ao total daqueles de TB pulmonar, não confirmados pela baciloscopia. Permite também a posterior identificação da espécie de micobactéria isolada e o teste de sensibilidade às drogas antituberculose, assim como a realização de várias técnicas moleculares (Brasil, 2008).

Esta técnica é extremamente laboriosa e requer incubação a 37°C por 3 a 8 semanas ou mais. Este período de incubação é devido às próprias características de replicação do bacilo que é de crescimento lento. Só então, as colônias estarão suficientemente crescidas para os testes bioquímicos de identificação, assim como, a realização de técnicas moleculares (Fattorini *et al.*, 2008). O meio mais utilizado é o Lowenstein-Jensen (LJ) (Honscha *et al.*, 2008). A contagem das colônias segue as recomendações da OMS, conforme Tabela 2.

Leitura	Resultado
Sem crescimento	Negativo
Menos de 20 colônias	Positivo – número exato de colônias
20 a 100 colônias	Positivo +
Mais de 100 colônias separadas	Positivo ++
Colônias confluentes (incontáveis)	Positivo +++

Tabela 2: Critérios para leitura e interpretação da cultura em meio sólido (Adaptado de Brasil, 2008).

Um grande inconveniente do cultivo é ser demorado e em razão disto, tornou-se consenso entre os diversos pesquisadores e formuladores de políticas públicas o desenvolvimento de novas tecnologias visando maior agilidade no diagnóstico da TB. Alguns novos métodos já vêm sendo descritos e aprimorados tais como: a) um sistema que utiliza microscópio ótico para detecção do bacilo (Caviedes *et al.*, 2000; Arago *et al.*, 2007); b) métodos automatizados como o MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*), baseados na detecção de consumo do O₂ (Palaci *et al.*, 1996; Giampaglia *et al.*, 2007), de alto custo financeiro; c) diagnósticos baseados em técnicas de biologia molecular, tanto comerciais como

in house (Brasil, 2008).

1.6 Tratamento

O tratamento dos bacilíferos é a atividade prioritária de controle da TB, uma vez que permite anular rapidamente as fontes de infecção. O Ministério da Saúde preconiza que o tratamento seja realizado em regime ambulatorial, supervisionado, no serviço de saúde mais próximo, na residência ou no trabalho do doente, os fármacos são fornecidos gratuitamente (Brasil, 2010b).

O tratamento da TB é complexo e demorado, envolvendo o uso de vários medicamentos por um período mínimo de seis meses. Este deve ser continuado até o sexto mês mesmo após a recuperação clínica do paciente. Por estes motivos, as taxas de recidiva, tanto após cura ou após abandono ao tratamento são elevadas o que pode levar ao aumento do índice de mortalidade e aumento de casos de recidiva (Conde *et al.*, 2009) .Para efeito de indicação de esquemas terapêuticos, consideram-se os critérios apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Definições para fins de aplicação de esquemas terapêuticos (Adaptado de Brasil, 2010).

Casos novos ou Virgens de tratamento (VT)	Pacientes que nunca se submeteram ao tratamento anti-TB, ou o fizeram por até 30 dias.
Retratamento ou com tratamento anterior (TA)	Pacientes já tratados para TB por mais de 30 dias, que venham a necessitar de novo tratamento por recidiva após cura (RC) ou retorno após abandono (RA).
Falência	Persistência da positividade do escarro ao final do tratamento. São também classificados como casos de falência os casos que, no início do tratamento, são fortemente positivos (++ ou +++) e mantêm essa situação até o 4º mês, ou aqueles com positividade inicial seguida de negatificação, e nova positividade por dois meses consecutivos, a partir do 4º mês de tratamento.

No Brasil, até o ano de 2009, o esquema terapêutico disponível e utilizado para o tratamento de primeira linha da TB era composto por 3 fármacos: isoniazida, pirazinamida e rifampicina (INH, PZA e RIF) empregados na primeira fase (2 meses de tratamento), seguido de INH e RIF empregados na segunda fase (4 meses de tratamento) (Tabela 4). A partir de 2010, foi introduzida a 4ª droga, etambutol (EMB), na primeira fase do tratamento dispensada na forma de

comprimido de dose fixa combinada, ou seja, todos os fármacos em um único comprimido, seguido de 2 fármacos (INH e RIF) na segunda fase (Tabela 5) (Brasil, 2002b).

A introdução do EMB como quarto fármaco na fase intensiva de tratamento do esquema básico teve como justificativa a constatação do aumento da resistência primária à INH (de 4,4 para 6,0%) e a resistência primária à INH associada à RIF (de 1,1 para 1,4%), observado no II Inquérito Nacional de resistência aos fármacos anti-TB conduzido em 2007-2008, em comparação com os resultados do I Inquérito Nacional, realizado no período de 1995 a 1997.

Tabela 4. Esquemas de tratamento da TB utilizados no Brasil de 1979 a 2009.

Sem tratamento anterior, casos novos de todas as formas exceto meningoencefalite	Esquema 1	2 meses: RIF / INH / PZA 4 meses: RIF / INH
Com tratamento anterior, casos de retratamento em recidivas ou retorno após abandono do esquema 1	Esquema 1 Reforçado	2 meses: RIF / INH / PZA 4 meses: RIF / INH / BEM
Meningoencefalite tuberculosa Casos de meningite tuberculosa	Esquema 2	2 meses: RIF / INH / PZA 7 meses: RIF / INH
Falência do esquema 1 ou esquema 1 reforçado e casos de falência do 1, 1R ou 2	Esquema 3	3 meses: SM / ETH / PZA 9 meses: ETH / BEM

ETH, etionamida; EMB, etambutol; SM, estreptomicina; PZA, pirazinamida; RIF, rifampicina; INH, isoniazida. Adaptado de Brasil, 2002b.

Tabela 5. Esquemas terapêuticos básicos utilizados no Brasil a partir de 2010.

Esquema Básico Adulto	2 meses: RIF / INH / PZA/ EMB 4 meses: RIF / INH
Esquema Básico Crianças	2 meses: RIF / INH / PZA 4 meses: RIF / INH
Esquema Tuberculose Meningoencefálica	2 meses: RIF / INH / PZA/ EMB 7 meses: RIF / INH

EMB, etambutol; PZA, pirazinamida; RIF, rifampicina; INH, isoniazida. Adaptado de BRASIL, 2010b.

1.7 Retratamento

A partir do surgimento da AIDS, em muitos países onde a incidência da TB estava em declínio, houve um grande aumento no número de casos. A TB tornou-se uma das doenças infecciosas oportunistas mais comuns entre pacientes HIV positivos (Snider *et al.*, 1994).

Entende-se por retratamento a instauração de um regime de tratamento para o paciente previamente tratado por 30 dias ou mais, que venha a necessitar de novo tratamento diante de falência, recidiva ou abandono (Raviglione, 2003; WHO, 2013). Na maioria destes casos, os pacientes tiveram inicialmente a oportunidade de um tratamento efetivo para a doença, mas, por erros na implantação ou administração dos medicamentos, não obtiveram sucesso (Raviglione 2006).

A recidiva ou retorno após cura ocorre em situações de recaída bacteriológica. Pode ser definida como a recorrência de atividade bacteriana em pacientes que seguiram tratamento correto e completo, tendo sido considerado curado da tuberculose (Van Rie *et al.*, 2001). Essa situação ocorre pela recrudescência de uma população bacteriana quiescente que não proliferou durante o tratamento inicial e, por esse motivo, não alcançou as condições necessárias para a seleção de populações bacilares mutantes e espontaneamente resistentes. Por essa razão, a teoria universalmente aceita é a de que essa população exiba o mesmo perfil de resistência do tratamento antituberculose utilizado inicialmente. Quando a recaída ocorre tardiamente,

muitos anos após o tratamento inicial há maior probabilidade de ocorrência de nova infecção do que recrudescência (GLYNN *et al.*, 2010).

Outra situação indicativa de retratamento corresponde a dos pacientes com história de abandono de tratamento prévio. Este grupo é constituído por pacientes que deixaram de comparecer à unidade de tratamento por mais de 30 dias consecutivos após a data prevista para o seu retorno ou, nos casos de tratamento supervisionado, 30 dias a partir da última tomada da medicação (Raviglione, 2006).

O desfecho do tratamento, que obviamente dispensa o retratamento, é a cura. A cura pode ser definida quando, ao término do tratamento, o paciente apresenta melhora clínica e duas baciloscopias negativas (Crampin *et al.*, 2010). Em situação de não obtenção de cura com o tratamento da tuberculose, há, entretanto, a recomendação de que este seja novamente instituído.

No Brasil, o tratamento de TB sofreu importantes modificações com os avanços obtidos, sobretudo quanto à eficácia das drogas disponíveis e com a redução do tratamento. Na década de 60 iniciou-se a utilização efetiva dos esquemas terapêuticos. Em 1964, o esquema padronizado era composto por SM, INH e PZA, com duração de 18 meses de tratamento. Em 1979, o Programa Nacional Controle Tuberculose (PNCT) introduziu o esquema de tratamento da doença de curta duração, utilizando RIF, INH e PZA os quais substituíram o esquema anterior de 12 meses de duração, possibilitando uma melhora na taxa de adesão e, conseqüentemente, o alcance de melhores resultados (Who, 2006). Até 1995 os casos de retorno com baciloscopia com indicação de retratamento

após abandono, ou recidiva após cura eram tratados com este mesmo esquema de seis meses, esquema I, que utilizava RIF, INH, PZA - Ministério da Saúde/ 2002. A partir de então o Ministério da Saúde recomendou a introdução do EMB a este esquema, o qual foi denominado esquema I reforçado (IR).

A OMS recomenda que todos os casos de retratamento realizem o exame de cultura e o teste de sensibilidade com o objetivo de diagnosticar a resistência precocemente. A realização do exame de cultura cresceu 156% para os casos de retratamento, de 2001 a 2010, sendo 24% maior apenas no último ano (Brasil, 2012).

O Consenso Americano para Tratamento da Tuberculose (ATS/ CDC/IDSA 2003) sugere que se mantenha, para o retratamento após cura ou abandono, um esquema que seja composto por quatro drogas na sua fase inicial até a disponibilização do resultado do TS, desde que o paciente esteja em tratamento supervisionado (DOT). No caso de pacientes com história de múltiplos tratamentos prévios ou quando há informação de contato com portadores de formas resistentes, situações sabidamente associadas à maior probabilidade de resistência, deve-se indicar a realização do TS (Blumberg *et.al*;, 2003).

A recidiva da TB pode ser devida à reativação endógena ou à reinfecção exógena, condições indistinguíveis clinicamente, mas que podem ser individualizadas com técnicas moleculares. No Rio Grande do Sul, estas técnicas não estão disponíveis na rede pública de atendimento à TB. Em locais com baixa incidência de TB, a recidiva geralmente se deve à reativação endógena, onde a incidência é alta, a proporção de casos de recidivas atribuídos à reinfecção pode

chegar a 75% (Picon *et al.*, 2007). A recidiva por reinfecção é um risco constante ao longo do tempo, enquanto a recidiva por reativação parece ocorrer mais próxima à cura (Dobler *et al.*, 2009).

1.8 Tuberculose e HIV

A infecção pelo HIV é um potente fator de risco para a TB. Além do aumento do risco, tem colaborado para a reativação da infecção latente por *M. tuberculosis*, aumentando com isso, logo após a infecção ou reinfecção, a progressão acelerada da TB (Mariani, 2001). A coinfeção de TB e HIV dificulta o tratamento e o diagnóstico da doença, sendo considerada um alarme para falhas inerentes aos programas de controle da doença (Mayer, 2010). Nas pessoas infectadas somente com *M. tuberculosis*, o risco de desenvolver TB durante a vida está entre 10% e 20%. Entretanto, em pessoas co-infectadas com TB e HIV, o risco anual pode exceder 10% (Corbett *et al.*, 2003; Aaron, 2004). O sistema imune dos pacientes com AIDS não consegue limitar a multiplicação do *M. tuberculosis* que ocorre nos estágios iniciais da infecção. A habilidade do HIV em infectar e debilitar os linfócitos T proporciona a suscetibilidade às infecções oportunistas. Dessa forma, os macrófagos tornam-se impotentes em suas funções, devido ao contínuo declínio de linfócitos T e à insuficiência de fatores ativadores de macrófagos, tal como o interferon gama. Considerando que muitos deles possam estar co-infectados com bacilos da TB, em dormência, este é um momento em que a infecção pode ser reativada (Wahl *et al.*, 1999).

Em 2010, entre os casos novos de tuberculose notificados no Sistema de Informações de Agravos de Notificação (Sinan), cerca de 10% apresentavam co-infecção TB/HIV. A região Sul (18,6) possui o maior percentual de co-infecção que é quase duas vezes superior à média nacional (Brasil, 2012).

A tuberculose representa a primeira causa de morte em pacientes com AIDS no Brasil. Pacientes que possuem co-infecção TB/HIV têm maior probabilidade de apresentar um desfecho desfavorável ao tratamento da tuberculose.

1.9 Epidemiologia Molecular

A tipagem molecular é utilizada para aumentar o conhecimento sobre as diferenças na virulência, transmissão, variação da efetividade das vacinas (Van Deutekom *et al.*, 2005) e ainda pode ser utilizada para responder questões evolucionárias e para pesquisar a dinâmica de transmissão da doença em estudos epidemiológicos (Bouakaze *et al.*, 2010). Ao longo das duas últimas décadas, os desenvolvimentos de métodos para a epidemiologia molecular da TB contribuíram para uma melhor compreensão da doença e do seu agente causador (Shabbeer *et al.*, 2012).

A TB é um exemplo de doença infecciosa em que as técnicas de biologia molecular permitiram a obtenção de informações que seriam difíceis ou até mesmo impossíveis de serem conseguidas através de métodos laboratoriais convencionais. Assim, sistemas que possam diferenciar cepas de *M. tuberculosis* epidemiologicamente relacionadas, das outras não relacionadas, são ferramentas poderosas numa investigação de surtos de infecção hospitalar, ou comunitária, bem como para diferenciar reativação endógena de uma reinfecção exógena.

As técnicas mais utilizadas para diferenciar as cepas de *M. tuberculosis* são baseadas no polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*) da sequência de inserção IS6110, *spoligotyping* e unidade de repetição em tandem de número variável (MIRUVNTR, *mycobacterial interspersed repetitive units- variable number of tandem repeats*)(Gagneux *et al.*, 2010).

A seguir serão descritas as técnicas utilizadas no trabalho.

1.9.1 *Spoligotyping*

Essa técnica padronizada por Kamerbeek *et al.* (1997) explora a variabilidade da região de repetição direta (DR) em *M. tuberculosis* para distinguir cepas através da presença ou ausência de espaçadores específicos. Consiste de um número variável de cópias de uma repetição direta de 36 pb, intercaladas com sequências específicas de espaçadores de 34 a 41 pb. Os spoligotipos evoluem através da perda sucessiva de espaçadores na região DR de *M. tuberculosis*.

A utilização de *spoligotyping* para tipagem de cepas tem sido aplicada principalmente para descartar relações epidemiológicas ao invés de confirmá-las. Entretanto, é muito útil para realização de *screening* em um grande número de isolados, e pode ser associado a uma técnica secundária de genotipagem, fornecendo informações epidemiológicas mais rapidamente (Ferdinand *et al.*, 2003; Kremer *et al.*, 2004; Nicol & Wilkinson, 2008), e já foi demonstrada a habilidade desta técnica em determinar o mecanismo patogênico de recidiva da doença (Warren *et al.*, 2002b).

A reprodutibilidade do *spoligotyping* é uma das mais altas entre as técnicas rápidas, baseadas na PCR e produz padrões de fácil análise através de programas de computador, permitindo a realização de estudos com grande número de amostras (Goyal *et al.*, 1997; Kremer *et al.*, 2005; Driscoll, 2009). Isto facilitou o desenvolvimento de um banco mundial com uma nomenclatura consistente dos principais grupos genéticos de *M. tuberculosis* (Filliol *et al.*, 2002; Filliol *et al.*, 2003; Brudey *et al.*, 2006). O banco mundial (SpolDB4) de padrões de

spoligotyping pode ser acessado livremente (<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVITDemo>).

A última versão publicada do banco de dados, SpolDB4, é composto de 39.295 amostras coletadas em mais de 120 países e contém 1.939 cepas diferentes ou tipos comuns (SITs) (Shabbeer *et al.*, 2012).

1.9.2 MIRU-VNTR (*mycobacterial interspersed repetitive units- variable number of tandem repeats*)

A genotipagem por meio de análise do número variável de repetições em sequência (VNTR – *Variable Number Tandem Repeat*) e de elementos genéticos chamados Unidades Repetitivas Micobacterianas (MIRU) surgiram como marcadores valiosos para a genotipagem do complexo *M. tuberculosis* (Allix et al., 2006).

Supply e colaboradores identificaram 41 VNTRs de MIRU (repetições em tandem de 40 a 100 pb) localizados em regiões de minissatélite do cromossomo de H37Rv, CDC1551, e AF2122/97 (Supply *et al.*, 2000; Mazars *et al.*, 2001). Estudos populacionais mostraram que a tipagem MIRU-VNTR tem sido mais eficiente que o RFLP-*IS6110*, no estudo da transmissão da tuberculose em ambientes com características epidemiológicas representativas de muitos países desenvolvidos. Em comparação com *spoligotyping*, tipagem MIRU-VNTR tem a vantagem de ser uma técnica multilocus, o que aumenta a possibilidade de detectar variações (diferenças) no genoma das cepas (COLLINS, 1997). Muitos loci possuem hipervariabilidade em seus números de repetições.

Doze dos 41 lócus MIRU foram selecionados para genotipagem de isolados clínicos de *M. tuberculosis* e foram reportados em um formato de 12 dígitos (Supply *et al.*, 2000). A técnica baseia-se na determinação do número de cópias de sequências nucleotídicas repetidas em *tandem*, em determinadas regiões do genoma (12, 15 ou 24 loci) de micobactérias, escolhidas pela sua estabilidade e poder discriminatório. Os VNTR têm sido especialmente úteis na

genotipagem de bactérias patogênicas que possuem a semelhança do complexo *M. tuberculosis*, um genoma muito conservado (Shabbeer *et al.*, 2012).

A análise dos tamanhos pode ser realizada utilizando um sistema de capilaridade (Allix *et al.*, 2004), eletroforese em gel (Mazars *et al.*, 2001) ou HPLC (Evans *et al.*, 2004). Os dados digitalizados permitem comparação inter e intralaboratorial. O poder discriminatório da análise por MIRU-VNTR é proporcional ao número de loci avaliados; em geral, quando somente os 12 loci são utilizados, é menos discriminatório que o RFLP do IS6110. Quando mais de 12 loci são utilizados, ou a análise é combinada com *spoligotyping*, o poder discriminatório é semelhante ao do RFLP do IS6110 (Mathema *et al.*, 2006).

Um estudo comparativo relatou que a análise por VNTR tem o melhor poder discriminatório e reprodutibilidade entre as técnicas baseadas na PCR (Kremer *et al.*, 2005).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Esse projeto foi realizado com o objetivo estimar a prevalência e caracterizar a reativação endógena e reinfecção exógena em pacientes com recidivas de tuberculose após cura, numa região com alta incidência de TB e HIV.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Fazer um levantamento para estimar o percentual de recidivas após cura durante o período 2004-2010;
- b. Identificar o perfil de resistência através do método das proporções no início do retratamento;
- c. Genotipar os isolados de *M. tuberculosis* aplicando a técnica de *spoligotyping* e MIRU-VNTR correlacionar com as informações epidemiológicas;
- d. Comparar os padrões de *spoligotyping* com o banco mundial de spoligotipos e analisar a frequência dos tipos circulantes na população estudada.
- e. Estimar o percentual de reinfecção endógena e reativação exógena;
- f. Estimar o percentual de pacientes com HIV nos virgens de tratamento, recidiva após cura e após abandono.

3.0 Artigo

Journal: The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease

Tuberculosis recurrence in a high incidence setting for HIV and tuberculosis in Brazil

Gisela Unis¹, Andrezza Wolowski Ribeiro^{2,3}, Elis Regina Dalla Costa², Fernanda Sá Spies³, Leonardo Souza Esteves⁴, Maria Lucia Rosa Rossetti^{1,4}, Pedro Dornelles Picon¹.

¹ Hospital Sanatório Partenon. Hospital Sanatório Partenon (HSP), Porto Alegre, Brazil.

² Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, Brazil;

³ Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

⁴ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA/RS), Brazil.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To compare epidemiological data between recurrent cases after cure (RC), distinguishing relapse from reinfection, after dropout (RD) and new cases (NC) in an ambulatory setting of a TB-endemic country.

DESIGN: Records of patients who started treatment for pulmonary TB between 2004 and 2010 in a TB clinic were reviewed. Epidemiological data were analyzed. Spoligotyping and MIRU patterns were used to determine relapse or reinfection in RC.

RESULTS: Of 1522 patients, 1060 were NC and 462 recurrence, 203 RC (14%) and 186 RD (12.8%). Of RC, 171 (84.2%) occurred later than 6 months after a previous episode, 13 had available DNA, in 4 (30.7%) the disease was attributed to reinfection and in 9 (69.3%), to relapse. Comparing RC to NC, HIV ($p < 0.0001$) and age ($p < 0.004$) were independent risk factors for RC. When RC and RD were compared, alcohol ($p = 0.001$) and treatment noncompliance ($p = 0.006$) were more frequent in RD.

CONCLUSIONS: HIV is the sole more important associated factor for RC. These findings point to the need for another approach to manage TB in order to decrease the chance for exposure

especially in vulnerable people with increased risk of developing disease and to improve DOTS strategy to deal with factors associated to treatment noncompliance.

INTRODUCTION

Although many studies have been done about recurrence of tuberculosis (TB) following completion of treatment it is still a huge problem for public health in high burden countries, where no special attention is being given to this subject.¹ Treatments of recurrent episodes are often associated with drug resistance and low cure rates. The incidence and risk factors for recurrence, as well as the contribution of relapse or reinfection have been analyzed in several studies with different results.²⁻⁹ The recurrence rate depends largely on TB incidence and HIV prevalence.^{3,4} In a high incidence area for TB, people who have been treated successfully are at higher risk of developing TB from reinfection than the general population, and HIV are at more risk of reinfection than non HIV.⁹⁻¹¹

In 2010, the Brazilian Ministry of Health made changes in the TB treatment, adding a fourth drug to the basic regimen because of increasing resistance and imposed direct observed treatment for TBMR as a rule to provide the drugs to ensure adherence to treatment as an effort to decrease new cases and recurrence.¹²

This study aimed to investigate recurrence after cure, to distinguish relapse from reinfection and compare to new cases (NC), recurrence after dropout (RD) and recurrence after cure, in an ambulatory setting in a high burden area for TB and HIV in Brazil, describing epidemiological characteristics of these groups in order to bring new strategies to control recurrence, meaning primary and secondary preventive therapy, implementation of infection control measures in clinical and community settings and special care to vulnerable groups.

STUDY POPULATION AND METHODS

Study setting

The study was conducted in a reference Center for TB, placed at Hospital Sanatório Partenon in Porto Alegre city, Rio Grande do Sul, Brazil. It covers the east side of the city, counting about 180.000 inhabitants (12% of Porto Alegre population). The incidence of cases was on average 104.6 per 100.000 population per year (2004-2010). In the study area, the prevalence of HIV infection among new patients was approximately 23%.¹³

This study was approved by the ethical committee of FEPPS (protocol 02/2010).

Study population and follow-up

All adult cases starting treatment for pulmonary tuberculosis confirmed by bacilloscopy and/or culture between 2004 and 2010 were eligible for this retrospective analysis. New cases (NC), recurrence after cure (RC) or recurrence after dropout (RD) were analyzed for HIV status, and other epidemiological factors such as: sex, age, use of alcohol, and drugs, smoking and treatment compliance. If recurrence after cure, period between the two episodes and cultures done in the first and second episode were also analyzed. All retreatment patients after cure with a positive culture in the first and second episodes available were identified for relapse or reinfection by molecular techniques.

Definitions

Recurrence of TB was defined as a second episode of TB occurring after a first episode had been considered cured. Disease attributable to reinfection was defined as a recurrent disease episode with a different *M. tuberculosis* strain. Relapse was defined as a recurrent disease episode with the same *M. tuberculosis* strain found in the previous episode. New case was defined as a case without any previous treatment. In terms of timing cure was defined by any time after end of treatment to the previous episode. A period less than 3 months after the end of the first treatment and longer than 60 months was excluded for epidemiological statistics.

Laboratory methods

Susceptibility test and DNA extraction

The isolates were cultured in Löwenstein Jensen medium. The drug susceptibility testing was performed according to the proportion method described by Canetti *et al.*¹⁴ Chromosomal DNA extraction was performed using the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method as described by van Soolingen *et al.*¹⁵

Genotyping analysis

Spoligotyping was performed as described by Kamerbeek *et al.* with a commercial kit (Ocimum Biosolutions BV, India) and the results were compared to publicly database available at:

http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE.^{16,17} MIRU-VNTR was carried out by Genoscreen® using the commercial 24-loci format. If MIRU-VNTR has at least one locus of difference it was considered different strains.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS software (SPSS Inc., Chicago, IL). The groups RC, RD and NC were compared by Chi-square, t-test. Logistic regression analyses were made in the cases where bivariate analyses showed significant differences. Statistical significance was accepted if $p < 0.05$ with 95% confidence intervals.

RESULTS

A total of 1522 patients started treatment for pulmonary TB between 2004 and 2010. Patients starting treatment after failure were excluded (73/4.6%). In the eligible group, there were 1060 NCs (73.2%), and 462 recurrences (26.8%). Among the recurrent cases, 203 (14%) were RC and 186 (12.8%) were considered RD (Figure 1).

HIV positive status of the 3 groups NC, RC and RD were respectively 22.5%, 37.7% and 43.3%. These groups were further compared about sex, age, smoking, alcohol, drugs, and treatment compliance (Table 1).

Comparing RC to NC, there were statistical differences in HIV status and age. These results indicate that HIV infection and age are independent risk factors for recurrence of TB after cure [RC=2.15 (1.55-2.97); $p < 0.0001$], [RC=1.02 (1.01-1.03); $p < 0.004$], respectively. Most of the 203 recurrences occurred later than 6 months after a previous episode 84.2% ($n=171/203$). Excluding patients with a period between episodes less than 3 months (90 days) or higher than 60 months (1800 days), 80.16% (97/121 patients).

When RC and RD were compared, HIV status and age were not different in these groups. In the other hand, alcohol and treatment noncompliance were statistically more frequent in those that dropped treatment [RC=2.60 (1.46-4.65); $p=0.001$] and [RC=2.15 (1.24-3.73); $p=0.006$] respectively.

Of the 203 recurrent TB cases, 24 had cultures done in the first and second episodes, but only 13 had available DNA. *Spoligotyping* and *MIRU-VNTR* analyses were performed in all available DNA

samples. Taking into account the molecular technique results, in 4 (30.7%) patients the disease was attributed to reinfection and in 9 (69.3%), to relapse.

All reinfected patients, detected by *MIRU-VNTR* type, got sick 6 or more months after the first episode. In two patients, strains were INH and RMP resistant in both episodes. In the patient 7, an HIV positive case, after he had cured an INH resistant episode, he was infected by a susceptible isolate 700 days later (Table 2). Patient 11 had two susceptible strains in both episodes. Three patients were HIV positive and one negative (Table 2).

In 9 (69.3%) cases the disease was attributed to relapse due to identical *MIRU-VNTR* profile. Among them, there were six patients that relapsed 6 months or more after the first episode. In this group, 6 cases were susceptible to all tested drugs, 2 cases were RMP and INH resistant and one was RMP resistant. Two patients were HIV positive and seven negative. Any statistical differences between the two groups (relapse and reinfection) were found.

Considering the results of *spoligotyping* performed in 26 samples, the LAM family was the most common with 10 strains (38.5%), including a strain from patient 13 that have a spoligopattern matching with LAM family. The second most common was the T family with 6 strains (23%), including a strain from patient 7 that was a reinfection case.

DISCUSSION

In a previous study performed at the same city of this study among 1989 and 1994, following new cases there were 26 cases of recurrence (4.3%, 0.55/100 person-years).⁷ Now, the high incidence of recurrence (29.3% of patients, n= 466) in the study period shows that TB is far from being controlled in this area and evidences the need to characterize this population. Of importance, the HIV and TB incidence increased from the first study as compared to the present study, achieving the second position in the unwanted ranking of Brazilian capitals with one of the highest TB (104.6/100000 habitants) and TB/HIV (1/3 of them) incidence. A study carried out in sub-Saharan Africa, the rates of TB recurrence were up to 20/100 person years.¹⁸ In a low incidence area, Nashville-Tennessee-USA, from 1431 reported TB cases, 20 (1.4%) cases recurred in the studied period.¹⁹ It clearly shows the quality of TB control programs in these areas, as recurrence rates can be used to assess the effectiveness of TB control programs. In high TB incidence areas, recurrences are likely due to reinfection, related to the maintenance of infection source. However, in low incidence areas, when infection control is adequate, recurrences are likely due to relapse.

In a review from 2003, thirteen publications from 1993 to 2001 had not found a standard in terms of timing to characterize recurrence.¹ In two recently published reports the same was found, Millet *et*

al. defined at least twelve months between two positive culture and for Luzze *et al.*, it was considered any time after the end of the previous treatment.^{8,9} For epidemiological statistical proposal, to compare time between episodes it was considered from 3 months to five years, inferring shorten period could be failure of treatment in most of the cases, and a period longer than five years as a new case. Nunn *et al* reported 78% of 574 recurrences by relapses, occurred within 6 months of stopping treatment and 525 recurrences by reinfection (91%) within 12 months.²⁰ Recurrence due to relapse seems to occur closer to the time of cure.²¹ In a large study made in a sub-Saharan TB-endemic country the median duration to TB recurrence was 9.9 months, in agreement with earlier African studies where 90% of clinical relapses occurred within 12 months after completing treatment.^{8,22,23} In the same study, the time to reinfection was longer than to relapse (20.1 vs. 8.1 months $p= 0.07$) in HIV-positive patients.⁸ In our study HIV positive patients had a longer time between episodes than HIV negative patients ($p=0.049$) suggesting that reinfection may be more implicated than relapse in HIV positive and relapse may be more implicated in HIV negative. HIV positive patients attend more frequently public health system probably being more exposed than others to a new infection and more susceptible to disease when infected. According to Pettit *et al*, the higher rate of reinfection among HIV infected patients may be related to increase in exposure in high incidence areas and subsequent increased risk for disease progression.¹⁹ In our study it was not possible to define reinfection or relapse by molecular methods, but the high number of recurrence and the time between episodes suggest reinfection playing most of the cases in a high burden area.

Comparing RC to NC, HIV infection and age were independent risk factors for recurrence of TB after cure. Millet *et al* reported more risk of TB recurrence in HIV positive patients.⁹ Some studies have reported HIV infection as a factor independently associated with recurrence.^{19,24,25} Studies involving HIV positive patients have reported higher recurrence rates.^{9,19,26} In our study 37.7% of recurrent patients after cure were HIV positive.

When RC and RD were compared, the HIV status was not different in these groups. On the other hand, alcohol and treatment noncompliance were statistic more frequent in those that dropped treatment. In another study, the noncompliance is higher in alcohol abuse cases (20.9% vs. 9.9%; $p = 0.01$).⁷ Many studies were done to identify risk factors associated with TB treatment default. Alcohol use or alcohol abuse has been frequently reported as a risk factor for default.²⁷⁻²⁹ A Brazilian review found in 9 articles from 2000 to 2007 that in most studies alcohol is the main factor associated to default.³⁰

Few patients attending criteria to enter the study with two cultures done in a high incidence area for TB/HIV may be explained by the fact that culture in the first episode was not recommended by TB national program and still not available for each starting treatment.¹² Among the thirteen patients

with culture in the both episodes, in 4 patients (30.7 %) the disease was attributed to reinfection and in 9 (69.3%), to relapse. Because of the low number of patients there was no significant statistical differences among reinfection and relapse for epidemiological analysis, including HIV status.

Patient 9 considered from the relapse group based on having the identical profile ST65 T1 more than five years after the first episode may not be a relapse but a new infection with same strain as it is a very common ST profile in this high endemic area.³¹⁻³³

The LAM family was the most frequent pattern involved in the relapse, which is expected as this family was the most common in the study and it is very common in the study area as well as in Brazil.³¹⁻³³ The patient 13 after had cured an episode due to a X2 strain, was reinfected by a strain with a profile compatible with LAM, 60 months later. The T family, the second most common family, is also, a very common profile causing TB disease in the South Brazil.^{31,32} The patient 7, a reinfection case, after had cured an episode due to a LAM family INH resistant, reinfected by a T family susceptible profile. Patient 5, a HIV positive and a reinfection by MIRU-VNTR profile, had the identical spoligotyping profile, with identical resistance profile in both episodes. The study had no correlation among spoligopatterns families and resistance profile.

Despite no statistical difference among HIV status in the relapse group, probably due to the few number of samples analyzed, there was a trend to an increase of relapse in HIV negative. Our findings are consistent with a study performed in an area of medium to high TB incidence, when HIV-negative patients are predominantly affected by relapse, while HIV positive patients are at risk of both relapse and reinfection.^{26,34,35} The median time to TB relapse was 550 days. A very similar number reported was found by Pettit *et al*, when relapse was 412 days, despite this study was performed in low TB incidence area, approximately 5/100 000 against Porto Alegre area which TB incidence is approximately 160/100 000.¹⁹

Considering the high incidence of recurrence, the period longer than 6 months after the previous episode suggests reinfection as a major cause for recurrence in a high setting of TB and HIV. HIV is the sole more important associated factor for recurrence after cure and alcohol use for treatment dropout. These finding points to the need for another approach to manage TB in order to decrease the chance for exposure especially in vulnerable people with increased risk of developing disease and to improve DOTS strategy to deal with factors associated to treatment noncompliance including psychological and social worker assistance.

REFERENCES

1. Lambert ML, Hasker E, Van Deun A, Roberfroid D, Boelaert M, Van der Stuyft P. Recurrence in tuberculosis: relapse or reinfection? *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 282-287.
2. Charalambous S, Grant AD, Moloji V, Warren R, Day JH, van Helden P, Hayes RJ, Fielding KL, De Cock KM, Chaisson RE, Churchyard GJ. Contribution of reinfection to recurrent tuberculosis in South African gold miners. *Int J Tuberc Lung Dis* 2008; 12: 942-948.
3. Verver S, Warren RM, Beyers N, Richardson M, van der Spuy GD, Borgdorff MW, Enarson DA, Behr MA, van Helden PD. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1430-1435.
4. Glynn JR, Murray J, Bester A, Nelson G, Shearer S, Sonnenberg P. High rates of recurrence in HIV-infected and HIV-uninfected patients with tuberculosis. *J Infect Dis* 2010; 201: 704-711.
5. Golub JE, Durovni B, King BS, Cavalacante SC, Pacheco AG, Moulton LH, Moore RD, Chaisson RE, Saraceni V. Recurrent tuberculosis in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil. *AIDS* 2008; 22: 2527-2533.
6. Narayanan S, Swaminathan S, Supply P, Shanmugam S, Narendran G, Hari L, Ramachandran R, Locht C, Jawahar MS, Narayanan PR. Impact of HIV infection on the recurrence of tuberculosis in South India. *J Infect Dis* 2010; 201: 691-703.
7. Picon PD, Bassanesi SL, Caramori ML, Ferreira RL, Jarczewski CA, Vieira PR. Risk factors for recurrence of tuberculosis. *J Bras Pneumol* 2007; 33: 572-578.
8. Luzze H, Johnson DF, Dickman K, Mayanja-Kizza H, Okwera A, Eisenach K, Cave MD, Whalen CC, Johnson JL, Boom WH, Joloba M; Tuberculosis Research Unit. Relapse more common than reinfection in recurrent tuberculosis 1-2 years post treatment in urban Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis* 2013; 17: 361-367.
9. Millet JP, Shaw E, Orcau A, Casals M, Miró JM, Caylà JA; Barcelona Tuberculosis Recurrence Working Group. Tuberculosis recurrence after completion treatment in a European city: reinfection or relapse? *PLoS ONE* 2013; 8: e64898.
10. Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, Pawinski R, Govender T, Lalloo U, Zeller K, Andrews J, Friedland G. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006; 368: 1575-1580.

11. Marx FM, Dunbar R, Hesselning AC, Enarson DA, Fielding K, Beyers N. Increased risk of default among previously treated tuberculosis cases in the Western Cape Province, South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 1059-1065.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. 1a ed. Brasília. 2011.
13. SMS/POA 2012. Núcleo das Crônicas/EVDT/CGVS/SMS/POA. Análise Epidemiológica da Tuberculose em Porto Alegre no período de 2001 a 2011, com destaque à situação epidemiológica de 2011. Available in: http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/cgvs/usu_doc/analise_epidemiologica_da_tuberculose.pdf
14. Canetti G, Rist N, Grosset J. Measurement of sensitivity of the tuberculous bacillus to antibacillary drugs by the method of proportions: methodology, resistance criteria, results, and interpretation. *Rev. Tuberc. Pneumol* 1963; 27: 217–272.
15. van Soolingen D, de Haas PE, Hermans PW, van Embden JD. DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods Enzymol* 1994; 235: 196–205.
16. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, Molhuizen H, Shaw R, Goyal M, van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol* 1997; 35: 907–914.
17. Demay C, Liens B, Burguière T, Hill V, Couvin D, Millet J, Mokrousov I, Sola C, Zozio T, Rastogi N. SITVITWEB-a publicly available international multimarker database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infect Genet Evol* 2012; 12:755-766.
18. Korenromp EL, Scano F, Williams BG, Dye C, Nunn P. Effects of human immunodeficiency virus infection on recurrence of tuberculosis after rifampin-based treatment: an analytical review. *Clin Infect Dis* 2003; 37:101–112.
19. Pettit AC, Kaltenbach LA, Maruri F, Cummins J, Smith TR, Warkentin JV, Griffin MR, Sterling TR. Chronic lung disease and HIV infection are risk factors for recurrent tuberculosis in a low-incidence setting. *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15: 906-911.
20. Nunn AJ, Phillips PP, Mitchison DA. Timing of relapse in short-course chemotherapy trials for tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2010; 14: 241-242.

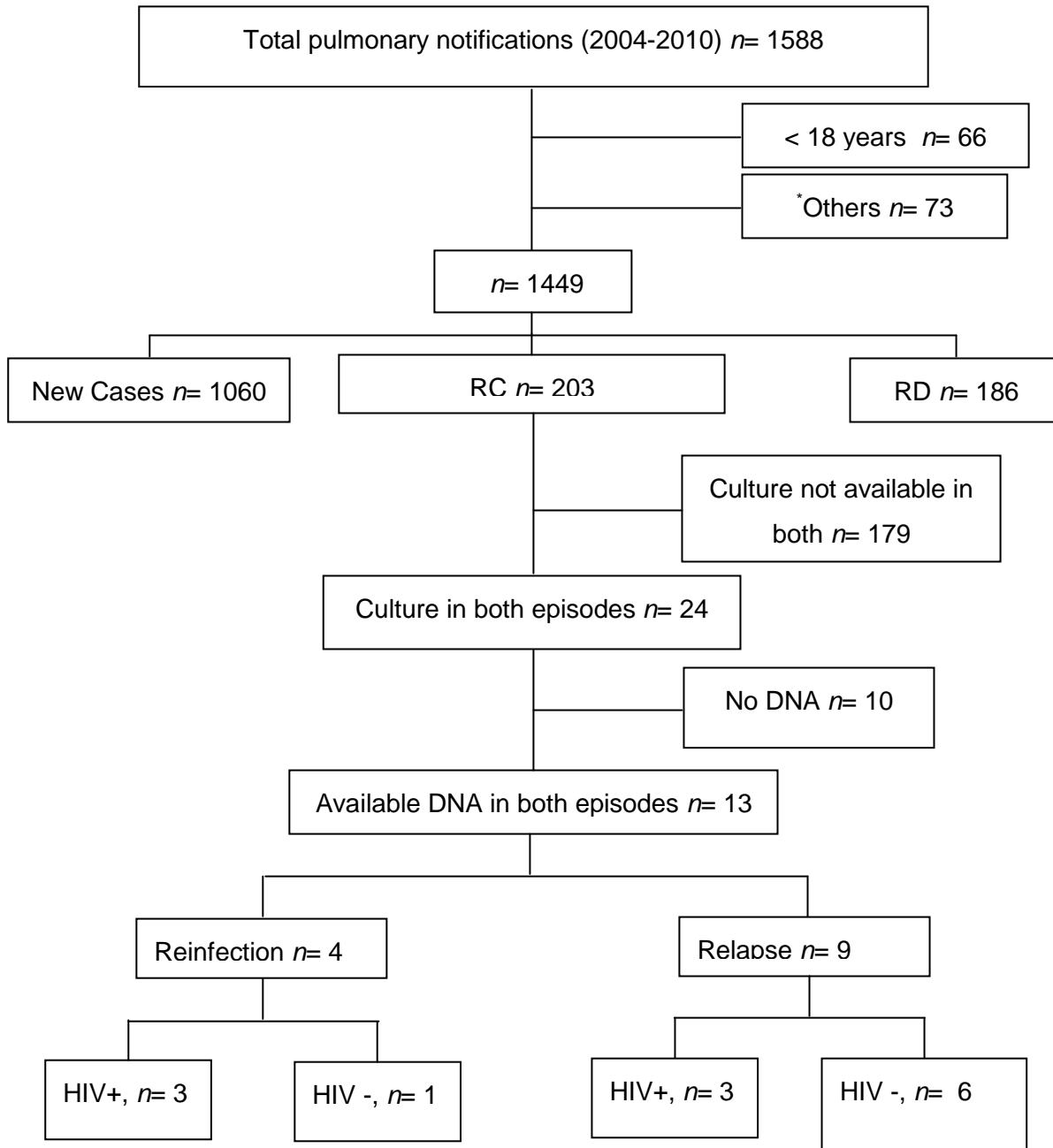
21. de Boer AS, Borgdorff MW, Vynnycky E, Sebek MM, van Soolingen D. Exogenous re-infection as a cause of recurrent tuberculosis in a low-incidence area. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7:145-152.
22. Pulido F, Peña JM, Rubio R, Moreno S, González J, Guijarro C, Costa JR, Vázquez JJ. Relapse of tuberculosis after treatment in human immunodeficiency virus-infected patients. *Arch Intern Med* 1997; 157: 227-232.
23. Chang KC, Leung CC, Yew WW, Ho SC, Tam CM. A nested case-control study on treatment-related risk factors for early relapse of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1124–1130.
24. Sonnenberg P, Murray J, Glynn JR, Shearer S, Kambashi B, Godfrey-Faussett P. HIV-1 and recurrence, relapse, and reinfection of tuberculosis after cure: a cohort study in South African mineworkers. *Lancet* 2001; 358: 1687–1693.
25. Panjabi R, Comstock GW, Golub JE. Recurrent tuberculosis and its risk factors: adequately treated patients are still at high risk. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007; 11: 828-837.
26. Crampin AC, Mwaungulu JN, Mwaungulu FD, Mwafuilirwa DT, Munthali K, Floyd S, Fine PE, Glynn JR. Recurrent TB: relapse or reinfection? The effect of HIV in a general population cohort in Malawi. *AIDS* 2010; 24: 417-426.
27. Santha T, Garg R, Frieden TR, Chandrasekaran V, Subramani R, Gopi PG, Selvakumar N, Ganapathy S, Charles N, Rajamma J. et al. Risk factors associated with default, failure and death among tuberculosis patients treated in a DOTS programme in Tiruvallur District, South India, 2000. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6:780–788.
28. Jaggarajamma K, Sudha G, Chandrasekaran V, Nirupa C, Thomas A, Santha T, Muniyandi M, Narayanan PR. Reasons for non-compliance among patients treated under Revised National Tuberculosis Control Programme (RNTCP), Tiruvallur district, south India. *Indian J Tuberc* 2007; 54: 130–135.
29. Vijay S, Kumar P, Chauhan LS, Vollepore BH, Kizhakkethil UP, Rao SG. Risk factors associated with default among new smear positive TB patients treated under DOTS in India. *PLoS ONE* 2010; 5: e10043.
30. Chirinos NEC, Meirelles BHS. Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose: uma revisão integrativa. *Texto contexto - enferm.* [online]. 2011, vol.20, n.3, pp. 599-606.

31. Cafrune PI, Possuelo LG, Ribeiro AW, Ribeiro MO, Unis G, Jarczewski CA, Rossetti ML, Zaha A. Prospective study applying spoligotyping directly to DNA from sputum samples of patients suspected of having tuberculosis. *Can J Microbiol* 2009; 55: 895-900.
32. Perizzolo PF, Dalla Costa ER, Ribeiro AW, Spies FS, Ribeiro MO, Dias CF, Unis G, Almeida da Silva P, Gomes HM, Suffys PN, Rossetti ML. Characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in southern Brazil. *Tuberculosis (Edinb)*. 2012; 92: 56-59.
33. Dalla Costa ER, Lazzarini LC, Perizzolo PF, Díaz CA, Spies FS, Costa LL, Ribeiro AW, Barroco C, Schuh SJ, da Silva Pereira MA, Dias CF, Gomes HM, Unis G, Zaha A, Almeida da Silva PE, Suffys PN, Rossetti ML. *Mycobacterium tuberculosis* of the RDRio genotype is the predominant cause of tuberculosis and associated with multidrug resistance in Porto Alegre City, South Brazil. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1071-1077.
34. Das S, Chan SL, Allen BW, Mitchison DA, Lowrie DB. Application of DNA fingerprinting with IS986 to sequential mycobacterial isolates obtained from pulmonary tuberculosis patients in Hong Kong before, during and after short-course chemotherapy. *Tuber Lung Dis* 1993; 74: 47–51.
35. Quy HT, Cobelens FG, Lan NT, Buu TN, Lambregts CS, Borgdorff MW. Treatment outcomes by drug resistance and HIV status among tuberculosis patients in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 45–51.

Table 1. Epidemiological and clinical characteristics of TB patients in the study period.

Total (n= 1449)		NC (%)	RC (%)	RD (%)
Total		n=1060 (73.2)	n= 203 (14)	n= 186 (12.8)
Valid cases for NC/RC/RD				
Sex Male	1060/203/186	67.2	63.1	75.3
HIV-positivity	1034/199/180	22.5 ^a	37.7 ^a	43.3
Alcohol abuse	965/171/152	35.5	35.7 ^c	60.5 ^c
Drug abuse	911/160/145	29.3	31.9	55.9
Smoke	971/172/153	63.4	65.7	73.9

Figure 1. The flow chart of tuberculosis patient selection. * Others= Treatment post-failure



4. Discussão

Os indivíduos em retratamento para TB devem ser vistos como um grupo prioritário para o Programa de Controle da Tuberculose. No Brasil, o tratamento da TB é gratuito e disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) a toda população com necessidade identificada, valendo-se de esquemas padronizados que começaram a ser utilizados de forma rotineira a partir da década de 1960 (Brasil 2008).

Apesar de potencialmente curável, a TB continua a ser uma proeminente questão de saúde pública, com índices de morbidade e mortalidade relevantes em todo o mundo. A persistência de bacilos em pacientes curados, determinando a recidiva da doença, é uma questão importante.

O nosso estudo foi conduzido em um centro de referência para TB com o objetivo de analisar os casos de recidiva da doença que ocorreram entre 2004 e 2010. Foi observado que 67,2% dos pacientes eram do sexo masculino. Proporção semelhante tem sido relatada em diversos estudos realizados em pacientes com TB no RS (Aerts & Jobim; 2004; Borsuk *et al.*, 2005; Valim *et al.*, 2006; Piccon *et al.*, 2007; Possuelo *et al.*, 2008), no Brasil (Dalcolmo *et al.*, 1999; Ferrazoli *et al.*, 2000; Tindó *et al.*, 2004; Mendes *et al.*, 2008) e em diferentes países (Gutiérrez *et al.*, 1998; Martinez *et al.*, 2000; Diel *et al.*, 2002; Easterbrook *et al.*, 2004). Em alguns casos esta diferença pode estar relacionada com questões culturais onde as mulheres tenham menos acesso a serviços de saúde, mas este padrão abrangente também é um sinal das diferenças epidemiológicas reais entre os sexos, tanto em exposição à infecção quanto na suscetibilidade ao desenvolvimento da doença (Dye, 2006). Em um estudo realizado no município de Bagé (RS), apesar de 70% dos pacientes com TB serem homens, foi observado que as mulheres procuraram

atendimento com maior frequência, sugerindo que no RS as questões culturais não explicavam esta diferença (Silveira *et al.*, 2007).

Em Porto Alegre, segundo o Ministério da Saúde, 24% da população é tabagista (INCA/MS, 2004). De acordo com o relatório do INCA, o tabagismo está associado à baixa escolaridade. No presente estudo 65,7% do total de indivíduos tabagistas se enquadram nesse perfil.

A TB é uma doença que acomete principalmente pessoas jovens, que estão na plenitude da sua capacidade produtiva, geralmente entre 15 e 59 anos de idade (Snider *et al.*, 1994; Aerts & Jobim, 2004; Tindó *et al.*, 2004). A média de idade encontrada foi de 37 anos, semelhante ao reportado por Costa *et al.* (1998) em estudo realizado em Pelotas, onde quase 80% dos pacientes tinham até 49 anos de idade.

A cura do tratamento é considerada quando um caso de TB pulmonar, inicialmente positivo, ao completar o tratamento, apresentar duas baciloscopias negativas (cura bacteriológica comprovada) ou se não tiver realizado o exame de escarro, ausência de expectoração, e tiver alta com base em dados clínicos e radiológicos (cura clínica não comprovada bacteriologicamente) (Brasil, 2002b). As recidivas são mais frequentes nos dois primeiros anos após o final do tratamento (Gninafon *et al.*, 2004). Em um registro de 2003, treze publicações de 1993 a 2001 não tinham encontrado um padrão para caracterizar a recidiva (Lambert, 2003). Em estudo recente, foi definido recidiva após cura quando o paciente permanece sem diagnóstico da doença por no mínimo um ano (Millet *et al.*, 2009). Já Golub *et al.* (2008), seguindo o guia brasileiro para tuberculose (Castelo Filho- 2004), definiu recidiva após cura quando o paciente permanece sem a doença por no mínimo 9 meses. Num estudo feito por Picon *et al.*, (2007), 40% dos casos

de recidiva ocorreram nos primeiros 12 meses, com probabilidade maior de tratar-se de reativação endógena, não sendo possível inferir reativação ou reinfeção.

No nosso estudo para comparar o tempo entre os episódios, foram considerados de 3 meses a cinco anos, concluindo que diminuir o período poderia ser falha do tratamento na maioria dos casos, e um período de mais de cinco anos como um novo caso. No período estudado de 2004-2010, foram encontradas 462 recidivas. A maior parte das recidivas após cura (203/14%) ocorreram depois de 6 meses após um caso anterior 84,2% (n=171/203). Excluindo os pacientes com um período de menos de 3 meses (90 dias) entre os casos ou superior a 60 meses (1800 dias), 80,16% (97/121 pacientes).

Outra situação que leva ao retratamento é quando o doente retorna ao sistema de saúde após abandono (RA). Abandono de tratamento é definido como o caso em que o doente, após iniciado o tratamento para TB, deixou de comparecer à unidade de saúde, por mais de 30 dias consecutivos, após a data aprazada para seu retorno e nos casos de tratamento supervisionado, o prazo de 30 dias conta a partir da última tomada do fármaco (Brasil, 2002).

Das 462 recidivas encontradas no presente estudo, 12,8% são recidivas após abandono, dados similares encontrados num estudo em Minas Gerais, aonde a recidiva após abandono chegou a 13% (Base de dados da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte). Cabe salientar que ter tido tuberculose é fator de risco para desenvolvimento de novo episódio de tuberculose (Verver *et al.*, 2005, Millet *et al.*, 2009). Segundo Ruffino-Neto (2007), poucos são os trabalhos nacionais preocupados com esta estimativa propriamente dita. O Ministério da Saúde, na programação das atividades do PNCT, prevê uma estimativa de 10% de reingresso no sistema (por recidiva ou abandono), (Verver S, 2005). Procurando-se um exemplo no estado do Rio de Janeiro, onde a

situação epidemiológica da TB é bastante preocupante, encontramos dados que revelam que o percentual de recidivas na cidade de São Gonçalo é de 8% (Glynn *et.al.*; 2010).

Picon *et al* (2007) fizeram uma análise retrospectiva, utilizando o banco de dados de pacientes inscritos para TB num ambulatório de Porto Alegre, durante o período de 1989-1994. Um total de 610 pacientes foram incluídos, após 7,7+/- 2 anos de seguimento a recidiva encontrada foi de 4,3%. O tempo médio de recidiva de TB encontrado no nosso estudo foi de 550 dias. Um número muito semelhante relatado foi encontrado por Pettit *et. al*, quando a recaída foi de 412 dias, apesar de este estudo ter sido realizado em área de baixa incidência de TB, cerca de 5/100 000 contra a área de Porto Alegre em que a incidência de TB é aproximadamente 160/100 000 (Pettit *et.al.*; 2011).

Agora, a alta incidência de recorrência no presente estudo (26,8%), mostra que a TB está longe de ser controlada nesta área e evidencia a necessidade de caracterizar esta população.

De importância, a incidência de HIV e TB aumentou desde o primeiro estudo (Picon, 2007) em comparação com o presente estudo, alcançando a segunda posição no ranking indesejado de capitais brasileiras com uma das mais altas incidências de TB (104.6/100000 habitantes) e TB/HIV (1/3 delas). Korenromp *et al.* (2003) relatam que em um estudo realizado na África, as taxas de recorrência de TB foram de até 20 pessoas em 100 anos. Em uma área de baixa incidência, em Nashville, Tennessee, EUA, de 1431 casos de TB relatados, 20 casos (1,4%) se repetiram no período estudado (Pettit *et al.*, 2011). É mostrado com clareza que a qualidade dos programas de controle da TB nestas áreas, como taxas de recorrência, podem ser usadas para avaliar a eficácia dos programas de controle da TB. Em áreas de alta incidência de TB, as recorrências são provavelmente devido à reinfecção, relacionada com a manutenção da origem da

infecção. No entanto, em áreas de baixa incidência, quando o controle de infecção é adequado, as recorrências são provavelmente devido à reativação.

Em nosso estudo, pacientes com HIV positivo tiveram um intervalo maior entre os episódios do que pacientes com HIV negativo ($p=0.049$), sugerindo que a reinfecção pode estar mais envolvida do que a reativação em pacientes com HIV positivo e a reativação pode estar mais envolvida em pacientes com HIV negativo.

Pacientes com HIV positivo vão com mais frequência ao sistema público de saúde, sendo provavelmente mais expostos do que outros a uma nova infecção e mais suscetíveis à doença quando infectados. De acordo com Pettit, a maior taxa de reinfecção entre pacientes infectados por HIV podia estar relacionada ao aumento da exposição em áreas de alta incidência e subsequente aumento do risco para progressão da doença (Pettit *et al.*, 2011).

Comparando RC com NC, idade e infecção por HIV foram fatores de risco independentes para a recorrência da TB após a cura. Millet *et al* relataram mais risco de recidiva de TB em pacientes com HIV positivo (Millet *et al.*, 2013). Alguns estudos relataram a infecção pelo HIV como um fator independente associado à recorrência. Estudos envolvendo pacientes com HIV positivo relataram maior taxas de recorrência (Crampin *et al.*, 2010). Em nosso estudo 37,7% dos pacientes recorrentes após a cura eram HIV positivo. Na análise epidemiológica, incluindo status do HIV, não houve diferença estatística significativa entre reinfecção e reativação, isso pode ter sido devido aos 13 pacientes (um baixo número encontrado).

Quando RC e RA foram comparados, o status de HIV não foi diferente nestes grupos. Por outro lado, álcool e tratamento inadequado foram à estatística mais frequente naqueles que pararam com o tratamento. Em outro estudo, o descumprimento é maior em

casos de abuso de álcool (20,9 vs 9,9; $p=0,01$), (Picon *et al.*, 2007). Muitos estudos foram feitos para identificar fatores de risco associados com o padrão de tratamento de TB. O uso ou o abuso de álcool tem sido relatado com frequência como um fator de risco para o padrão (Santha *et al.*, 2002).

Esse estudo salienta a necessidade de buscar as taxa de recidivas, definindo a resistência do bacilo e procurando por reinfecção exógena ou reativação endógena da doença. As recidivas de tuberculose tem implicações na saúde pública (Lambert *et al.*, 2003) e a reinfecção exógena tem um importante papel, podendo demonstrar uma ineficiência dos programas de controle da TB. De certa forma, a reativação endógena pode apontar, além da não aderência do paciente ao tratamento, também falha do programa de controle da doença.

Das 203 recorrências após cura encontradas no estudo, 24 tinham culturas feitas no primeiro e segundo casos, mas apenas 13 (6,4%) tinham DNA disponível. Considerando-se que houve crescimento recente, a média de realização de cultura para retratamento, no país, é de apenas 32%. A região Sul (41,9%) foi a que mais realizou cultura para casos de retratamento, seguida da região Centro-Oeste (41,1%). A região Nordeste (15,2%) foi a que apresentou o menor valor para esse indicador (Brasil, 2012).

Análises de DNA dos isolados de *M. tuberculosis* por *Spoligotyping* e MIRU-VNTR foram realizadas em todas as amostras disponíveis. O baixo número de pacientes que preencheram os critérios para entrar no estudo com duas culturas feitas em uma área de alta incidência para TB/HIV pode ser explicado pelo fato de que a cultura no primeiro caso não era recomendada pelo programa nacional de TB e ainda não está disponível para cada início de tratamento (Brasil 2012). Entre os treze pacientes com cultura nos dois episódios, em 4 pacientes (30,7%) a doença foi atribuída à reinfecção e em 9 (69,3%), a

doença foi atribuída à reativação. Nossos resultados estão de acordo com um estudo realizado em uma área de média a alta incidência de TB, quando pacientes com HIV negativo são predominantemente afetados por recaída, enquanto os pacientes com HIV positivo correm o risco de recidiva e reinfecção (Quy *et al.*, 2006).

Neste estudo foram encontrados 8 padrões diferentes de *spoligo*typing diferentes. Considerando o paciente 9 do grupo de reativação, tendo o perfil idêntico ST65 T1 mais de cinco anos após o primeiro episódio talvez não seja um caso de recaída, mas uma nova infecção com a mesma cepa por ser um perfil de ST muito comum nesta área de alta endemia (Cafrune *et al.*, 2009).

O grupo LAM foi o padrão mais frequente envolvido na recaída, o que é esperado por este grupo ser o mais comum no estudo e ser muito comum na área de estudo, bem como no Brasil (Dalla Costa *et al.*, 2013). O paciente 13 após ter curado um caso devido a uma cepa X2, foi reinfecção por um perfil compatível com LAM, depois de 60 meses. O grupo T, o segundo mais comum, também é um perfil muito frequente causando a doença TB no sul do Brasil (Dalla Costa *et al.*, 2013). O paciente 7, um caso de reinfecção, depois de ter curado um episódio devido a uma família LAM resistente a INH, reinfecção pelo perfil suscetível da família T. O paciente 5, um HIV positivo e uma reinfecção pelo perfil *MIRU-VNTR*, tinha o perfil idêntico de *spoligo*typing, com perfil de resistência idêntico em ambos os episódios. O estudo não teve nenhuma correlação entre os grupos de padrão *spoligo*typing e perfil de resistência.

Mesmo sabendo que o paciente que retorna ao sistema de saúde para retratamento deve ter a atividade de sua doença confirmada por nova investigação diagnóstica por baciloscopia, cultura e teste de sensibilidade (TS) no Brasil, a cultura e, principalmente o TS ainda não estão disponibilizados amplamente na rede de

laboratórios, ficando restritos, na maioria dos Estados apenas aos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN), (Brasil, 2002; SBPT, 2004). A complexidade de realização do TS gera uma baixa oferta e esta carência dificulta o estabelecimento de esquemas associando fármacos de acordo com o perfil de resistência (Fiuza *et al.*, 2002). Análises *Spoligotyping*, *MIRU-VNTR* e TS foram realizados em todas as amostras de DNA disponíveis. Todos os pacientes reinfetados, detectados pelo tipo *MIRU-VNTR*, ficaram doentes 6 ou mais meses após o primeiro caso. Em dois pacientes, estirpes foram resistentes a INH e RMP em ambos os casos. No paciente 7, um caso de HIV positivo, depois que ele tinha se curado de um caso INH resistente, ele foi infectado por um isolado suscetível 700 dias depois. O paciente 11 tinha duas estirpes sensíveis em ambos os casos. Três pacientes eram HIV positivo e um negativo.

Em 9 casos (69,3%), a doença foi atribuída à recaída devido ao perfil de *MIRU-VNTR* idêntico. Entre eles, havia seis pacientes que tiveram uma recaída 6 meses ou mais após o primeiro caso. Neste grupo, 6 casos eram suscetíveis a todas as drogas testadas, 2 casos foram resistentes a RMP e INH e um foi resistente a RMP. Dois pacientes eram HIV positivo e sete eram negativos.

O problema da tuberculose no Brasil reflete o estágio de desenvolvimento social do país, onde os determinantes do estado de pobreza, as fraquezas de organização do sistema de saúde e as deficiências de gestão limitam a ação da tecnologia e, por consequência, inibem a queda sustentada das doenças marcadas pelo contexto social. Estas descobertas apontam para a necessidade de outra abordagem para lidar com a TB de forma a diminuir a chance de exposição, especialmente em pessoas vulneráveis com maior risco de desenvolver a doença, bem como melhorar a estratégia DOTS para lidar com os fatores associados ao descumprimento do tratamento incluindo assistência psicológica e social ao trabalhador.

Referências

- AARON, L.; SAADOUN, D. & CALATRONI, I. Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. *Clinical Microbiology and Infection*, 10: 388-98, 2004.
- AERTS D, JOBIM R. The epidemiological profile of tuberculosis in southern Brazil in times of AIDS. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004; 8(6):785–791.
- ALLIX C, SUPPLY P, FAUVILLE-DUFAUX M. Utility of fast mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number tandem repeat genotyping in clinical mycobacteriological analysis. *Clin Infect Dis*. 2006; 39(6):783-789.
- ARAGO, L. M.; ALCAIDE, F.; BORRELL, S. *et al.* Multicenter Laboratory Evaluation of the MB / BacT Mycobacterium Detection System and the BACTEC MGIT 960 System in Comparison with the BACTEC 460TB System for Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* . *journal of clinical microbiology*, v. 45, n. 6, p. 1766-1770, 2007.
- ATS. AMERICAN THORACIC SOCIETY. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. The official statement of the American Thoracic Society and the Centers of Disease Control and Prevention and the Council of the Infectious Disease Society of America. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161: 1376-1395, 2000.
- BARRERA, L. Chapter 3: The Basics of Clinical Bacteriology. From basic science to patient care. J. C. Palomino; S. C. Leão e V. Ritacco. www.tuberculosis textbook.com, 2007.
- BATES, J. H. Transmission and pathogenesis of tuberculosis. *Clinics in Chest Medicine*, 1: 167-174, 1980.
- BLOOM, B. R. Tuberculosis: patogenesis, protection, and control. Washington: ASM, 1994.
- BLUMBERG HM, BURMAN WJ, CHAISSON RE, DALEY CL, ETKIND SC, FRIEDMAN LN, *et al.* American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Feb 15;167(4):603-62.
- BORSUK S, DELLAGOSTIN MM, MADEIRA SDE G, LIMA C, BOFFO M, MATTOS I, ALMEIDA DA SILVA PE, DELLAGOSTIN OA. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a region of Brazil with a high incidence of tuberculosis. *Microbes Infect*. 2005; 7(13):1338-1344.
- BOUAKAZE, C. KEYSER, S. J. DE MARTINO, W. SOUGAKOFF, N. VEZIRIS, H. DABERNAT, B. LUDES. Identification and Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Species by Use of a SNaPshot Minisequencing-Based Assay. *J. Clin. Microbiol*. May 2010 vol. 48 no. 5 1758-1766.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual técnico para o controle da tuberculose: Cadernos de atenção básica - Rev. Ampl. 6^a ed. Brasília: 2002b.

BRASIL. manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias. [S.l: s.n.], 2008. p. 1-458.

BRASIL. Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. [S.l: s.n.], 2010.

BRASIL, 2010b. Secretaria de Vigilância em Saúde/MS. Tuberculose, Guia de Vigilância Epidemiológica. Caderno 7. 2010. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual_tuberculose.pdf.

BRASIL. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. Ministério da saúde, Secretaria de vigilância em saúde, Programa nacional de controle da Tuberculose, 2012.

BRENNAM, P. J. & NAKAIDO, H. The envelop of mycobacteria. *Annu Rev. Biochem* 64:29-63. 1995.

BROOKS , G. F.; BUTEL, J. S.; ORNSTON, L. N.; JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBREG, E. A. *Medical Microbiology*, 20 ed., 1995.

BROSCH R, GORDON SV, MARMIESSE M, BRODIN P , BUCHRIESER C, EIGLMEIER K, GARNIER T, GUTIERREZ C, HEWINSON G, KREMER K, PARSONS LM, PYM AS, SAMPER S, VAN SOOLINGEN D, COLE ST. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002, 99:3684-9.

BRUDEY K, DRISCOLL JR, RIGOUTS L, PRODINGER WM, GORI A, AL-HAJOJ SA, ALLIX C, ARISTIMUÑO L, ARORA J, BAUMANIS V, BINDER L, CAFRUNE P, CATALDI A, CHEONG S, DIEL R, ELLERMEIER C, EVANS JT, FAUVILLE-DUFAUX M, FERDINAND S, GARCIA DE VIEDMA D, GARZELLI C, GAZZOLA L, GOMES HM, GUTTIEREZ MC, HAWKEY PM, VAN HELDEN PD, KADIVAL GV, KREISWIRTH BN, KREMER K, KUBIN M, KULKARNI SP, LIENS B, LILLEBAEK T, HO ML, MARTIN C, MARTIN C, MOKROUSOV I, NARVSKAIA O, NGEOW YF, NAUMANN L, NIEMANN S, PARWATI I, RAHIM Z, RASOLOFO-RAZANAMPARANY V, RASOLONAVALONA T, ROSSETTI ML, RÜSCH-GERDES S, SAJDUDA A, SAMPER S, SHEMYAKIN IG, SINGH UB, SOMOSKOVI A, SKUCE RA, VAN SOOLINGEN D, STREICHER EM, SUFFYS PN, TORTOLI E, TRACEVSKA T, VINCENT V, VICTOR TC, WARREN RM, YAP SF, ZAMAN K, PORTAELS F, RASTOGI N, SOLA C. Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiol.* 2006; 6:23.

CAFRUNE PI, POSSUELO LG, RIBEIRO AW, RIBEIRO MO, UNIS G, JARCZEWSKI CA, ROSSETTI ML, ZAHA A. Prospective study applying spoligotyping directly to DNA from sputum samples of patients suspected of having tuberculosis. *Can J Microbiol* 2009; 55: 895-900.

CHAN, J. & KAUFMANN, S. H. E. Immune mechanisms of protection (chapter 24). In: Bloom, B. R. (Ed.). Tuberculosis: pathogenesis, protection and control. Washington: ASM , 1994.

CHAUHAN, A.; MADIRAJU, M. V. & FOL, M. *Mycobacterium tuberculosis* cells growing in macrophages are filamentous and deficient in FtsZ rings. *The Journal of Bacteriology*, 188: 1856-65, 2006.

CAMINERO, J. A. Tratamiento de la Tuberculosis. En: Caminero, J. A. Guía de la Tuberculosis para Médicos Especialistas. Cap. 9. Unión Internacional contra la Tuberculosis y Enfermedades Respiratorias (UICTER), Paris. 2002.

CAMINERO, J. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *European Respiratory Journal*, v.26,n.2,p.339-350,2005.

CANETTI, G.; FOX, W.; KHOMENKO, A.; MAHLER, H. T.; MENON, N. K.; MITCHISON, D. A.; RIST, N., & SMELEY, N. A. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull WHO*, 41: 21-43, 1969.

CATTAMANCHI A, HOPEWELL PC, GONZALEZ LC, OSMOND DH, MASAE KAWAMURA L, DALEY CL, JASMER RM.: A 13-year molecular epidemiological analysis of tuberculosis in San Francisco. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006 Mar;10(3):297-304.

CAVIEDES, L.; LEE, T. S.; GILMAN, R. H.; SCHEEN, P.; SPELLMAN, E.; LEE, E. H.; BERG, D. E. & MONTENEGRO-JAMES, S. M. The tuberculosis working group in Peru. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by microscopic observation of broth cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3): 1203-1208, 2000.

CRAMPIN AC, MWAUNGULU JN, MWAUNGULU FD, MWAFULIRWA DT, MUNTHALI K, FLOYD S, FINE PE, GLYNN JR. Recurrent TB: relapse or reinfection? The effect of HIV in a general population cohort in Malawi. *AIDS* 2010; 24: 417-426.

CEVS. Centro Estadual de Vigilância em Saúde/RS. 2012, Comunicação pessoal.

COLE, S. T. AND BARRELL, B. G. Analysis of the genome of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Novartis Found Symp* 217: 160-72; discussion 172-7, 1998.

COLE, S. T. Comparative and functional genomics of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Microbiology*, 148: 2919-2928. 2002.

COLLINS, C., H., J. M. GRANGE, AND M. D. YATES. 1997. Tuberculosis bacteriology organization and practice. 2nd ed. Oxford, UK: Butterworth- Heinemann; Kent P T, Kubica G P. Public health mycobacteriology. A guide for a level III laboratory. Atlanta, GA, USA: Centers for Disease Control, 1985.

COLLINS, C., H., J. M. GRANGE, AND M. D. YATES. Tuberculosis bacteriology organization and practice. Butterworth- & Co. Ltd.: 1997.

CONDE, M. B.; MELO, F. A. F.; MARQUES A. M. C.; CARDOSO N. C.; PINHEIRO V. G. F.; DALCIN P. T. R. et al. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J. bras. pneumol.* 35(10): 1018-1048, 2009.

CORBET, E. L.; WATT, C. J.; WALKER, N.; MAHER D.; WILLIAMS, B. G.; RAVIGLION, M. C. & DYE, C. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. *Archives of Internal Medicine*, 163: 1009-1021, 2003.

CRAMPIN AC, MWAUNGULU JN, MWAUNGULU FD, MWAFULIRWA DT, MUNTHALI K, FLOYD S, FINE PE, GLYNN JR. Recurrent TB: relapse or reinfection? The effect of HIV in a general population cohort in Malawi. *AIDS* 2010; 24: 417-426.

DALLA COSTA ER, LAZZARINI LC, PERIZZOLO PF, DÍAZ CA, SPIES FS, COSTA LL, RIBEIRO AW, BARROCO C, SCHUH SJ, DA SILVA PEREIRA MA, DIAS CF, GOMES HM, UNIS G, ZAHA A, ALMEIDA DA SILVA PE, SUFFYS PN, ROSSETTI ML. Mycobacterium tuberculosis of the RDRio genotype is the predominant cause of tuberculosis and associated with multidrug resistance in Porto Alegre City, South Brazil. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1071-1077.

DALCOLMO MP, FORTES A, MELO FF, MOTTA R, NETTO JI, CARDOSO N, ANDRADE M, BARRETO AW, GERHARDT G. Estudo da efetividade de esquemas alternativos para o tratamento da tuberculose multirresistente no Brasil. *Pneumol.* 1999; 25:70-77.

DYE C. Global Epidemiology of tuberculosis. *Lancet.* 2006; 367(9514):938-940.

DIEL R, SCHNEIDER S, MEYWALD-WALTER K, RUF CM, RÜSCH-GERDES S, NIEMANN S. Epidemiology of tuberculosis in Hamburg: long-term population-based analysis applying classical and molecular epidemiological techniques. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(2):532-539.

DOBLER CC; CRAWFORD ABH; JELFS PJ; GILBERT GL; MARKS GB, 2009. 'Recurrence of tuberculosis in a low-incidence setting', *European Respiratory Journal*, vol. 33, no. 1, pp. 160 – 167.

DRISCOLL JR. Spoligotyping for molecular epidemiology of the Mycobacterium tuberculosis complex. *Methods Mol Biol.* 2009; 551:117-28

EASTERBROOK PJ, GIBSON A, MURAD S, LAMPRECHT D, IVES N, FERGUSON A, LOWE O, MASON P, NDUDZO A, TAZIWA A, MAKOMBE R, MBENGERANWA L, SOLA C, RASTOGI N, DROBNIOWSKI F. High Rates of Clustering of Strains Causing Tuberculosis in Harare, Zimbabwe: a Molecular Epidemiological Study. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(10):4536–4544. Errata em: *J Clin Microbiol.* 2004;42(12):5965.

EVANS JT, HAWKEY PM, SMITH EG, BOESE KA, WARREN RE, HONG G. Automated high-throughput mycobacterial interspersed repetitive unit typing of *Mycobacterium*

tuberculosis strains by a combination of PCR and nondenaturing high-performance liquid chromatography. J Clin Microbiol. 2004; 42(9):4175-80.

FATTORINI, L., IONA, E.; CIRILLO, D. et al. Extremal quality control Mycobacterium tuberculosis drugs susceptibility testing: results of two rounds in endemic countries. Int j tuberc lung dis, v.12, n. October 2007, p.214-217, 2008.

FERDINAND S, SOLA C, VERDOL B, LEGRAND E, GOH KS, BERCHEL M, AUBÉRY A, TIMOTHÉE M, JOSEPH P, PAPE JW, RASTOGI N. 2002. Molecular Characterization and Drug Resistance Patterns of Strains of *Mycobacterium tuberculosis* Isolated from Patients in an AIDS Counseling Center in Port-au-Prince, Haiti: a 1-Year Study. J Clin Microbiol. 2003; 41(2):694–702.

FERRAZOLI L, PALACI M, MARQUES LRM, JAMAL LF, AFIUNE JB, CHIMARA E, MARTINS M C, TELLES MAS, OLIVEIRA CAF, PALHARES MC, SPADA DTA, RILEY L. Transmission of tuberculosis in an endemic urban setting in Brazil. Int. J. Tuberc. Lung. Dis. 2000; 4(1):1-8.

FILLIOL I, DRISCOLL JR, VAN SOOLINGEN D, KREISWIRTH BN, KREMER K, VALÉTUDIE G, DANG DA, BARLOW R, BANERJEE D, BIFANI PJ, BRUDEY K, CATALDI A, COOKSEY RC, COUSINS DV, DALE JW, DELLAGOSTIN OA, DROBNIOWSKI F, ENGELMANN G, FERDINAND S, GASCOYNE-BINZI D, GORDON M, GUTIERREZ MC, HAAS WH, HEERSMA H, KASSA-KELEMBHO E, HO ML, MAKRISTATHIS A, MAMMINA C, MARTIN G, MOSTRÖM P, MOKROUSOV I, NARBONNE V, NARVSKAYA O, NASTASI A, NIOBE-EYANGO SN, PAPE JW, RASOLOFO-RAZANAMPARANY V, RIDELL M, ROSSETTI ML, STAUFFER F, SUFFYS PN, TAKIFF H, TEXIER-MAUGEIN J, VINCENT V, DE WAARD JH, SOLA C, RASTOGI N. Snapshot of moving and expanding clones of *Mycobacterium tuberculosis* and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study. J Clin Microbiol. 2003; 41(5):1963-1970.

FIUZA DE MELO FA, PENTEADO CB, ALMEIDA EA. Resistência pós-primária do *Mycobacterium tuberculosis* às drogas antituberculosas segundo os antecedentes terapêuticos em uma unidade de referência na cidade de São Paulo. Bol Pneumol Sanit. 2002 dez.;vol.10(2): 21-6.

GAGNEUX, S. A role for systems epidemiology in tuberculosis research. Trends in Microbiology. V.19, n.10, p. 492-500, 2011.

GIAMPAGLIA, C. M. S.; MARTINS, M. C.; VIEIRA, G. B. O.; VINHAS, S. A.; SILVA-TELLES, M. A.; PALACI, M.; MARSICO, A. G.; HADAD, D. J.; MELLO, F. C. Q.; KRITSKI, A. L.; SIDDIQI, S.; FONSECA, L. S. Multi-center Evaluation of Automated Bactec MGIT 960 System for testing susceptibility of *M. tuberculosis* as compared with BACTEC 460TB, Proportion and Resistance Ratio Methods in Southeast of Brazil. Int J Tuberc Lung Dis 11:986-91. 2007.

GLYNN JR, MURRAY J, BESTER A, NELSON G, SHEARER S, SONNENBERG P. High rates of recurrence in HIV-infected and HIV-uninfected patients with tuberculosis. J Infect Dis 2010; 201: 704-711.

GNINAFON M, TAWO L, KASSA F, MONTEIRO GP, ZELLWEGER JP, SHANG H, et al. Outcome of tuberculosis retreatment in routine conditions in Cotonou, Benin. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004; 8: 1242-7.

GOODFELLOW, M., and MAGGE, J.G. Taxonomy of mycobacteria. In Gangadharam P. R. J., Jenkins, P.A. (ed). *Mycobacteria – Basic Aspects*. Chapman & Hall. New York, 1998.

GOLUB JE, DUROVNI B, KING BS, CAVALACANTE SC, PACHECO AG, MOULTON LH, MOORE RD, CHAISSON RE, SARACENI V. Recurrent tuberculosis in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil. *AIDS* 2008; 22: 2527-2533.

GORDIN, F. M. & SLUTKIN, G. The validity of acid-fast smears in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Arch Pathol Lab Med* 114:1025-7. 1990.

GOYAL M, SHAW RJ, BANERJEE DK, COKER RJ, ROBERTSON BD, YOUNG DB. Rapid detection of multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*. 1997; 10(5):1120-1124.

GUTIÉRREZ MC, VINCENT V, AUBERT D, BIZET J, GAILLOT O, LEBRUN L, LE PENDEVEN C, LE PENNEC MP, MATHIEU D, OFFREDO C, PANGON B, PIERRE-AUDIGIER C. Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area. *J Clin Microbiol*. 1998; 36(2): 486-492.

HARSHEY, R. M. & RAMAKRISHNAN, T. Rate of ribonucleic acid chain growth in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Journal of Bacteriology*, 129: 616-22, 1977.

HONCHA, G.; GROLL, A.V.; VALENÇA, M. et al. The laboratory as a tool to quality tuberculosis diagnosis. *int j tuberc lung dis*, v.12, n. Apryl 2007, p. 2180-220, 2008.

HOPEWELL, P. C. Overview of Clinical Tuberculosis. *In*: BLOOM, B. R. (ed.). *Tuberculosis: pathogenesis, protection and control*. Washington: ASM, 1994.

INCA/MS. Inquérito Domiciliar sobre Comportamentos de Risco e Morbidade Referida de Doenças e Agravos não Transmissíveis, Conprev/INCA/MS. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. 2004. Disponível em <http://www.inca.gov.br/inquerito>.

JASMER RM, BOZEMAN L, SCHWARTZMAN K, CAVE MD, SAUKKONEN JJ, METCHOCK B, ET AL. Recurrent tuberculosis in the United States and Canada: relapse or reinfection? *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:1360–6 10.1164/rccm.200408-1081OC.

KAMERBEEK J, SCHOOLS L, KOLK A, VAN AGTERVELD M, VAN SOOLINGEN D, KUIJPER S, BUNSCHOTEN A, MOLHUIZEN H, SHAW R, GOYAL M, VAN EMBDEN J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol*. 1997; 35(4):907-914.

KAREN R STEINGART , VIVIENNE NG, MEGAN HENRY , PROF PHILIP C HOPEWELL, ANDREW RAMSAY . Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, Volume 6, Issue 10, Pages 664 - 674, October 2006

KORENROMP EL, SCANO F, WILLIAMS BG, DYE C, NUNN P. Effects of human immunodeficiency virus infection on recurrence of tuberculosis after rifampin-based treatment: an analytical review. *Clin Infect Dis* 2003; 37:101–112.

KREMER, K., D. VAN SOOLINGEN, R. FROTHINGHAM, W. H. HAAS, P. W. M. HERMANS, C. MARTÍN, P. PALITTAPONGARNPIM, B. B. PLIKAYTIS, L. W. RILEY, M. A. YAKRUS, J. M. MUSSER, AND J. D. A. VAN EMBDEN. 1999. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. *J. Clin. Microbiol.* 37: 2607-2618.

KREMER K, GLYNN JR, LILLEBAEK T, NIEMANN S, KUREPINA NE, KREISWIRTH BN, BIFANI PJ, VAN SOOLINGEN D. Definition of the Beijing/W lineage of *Mycobacterium tuberculosis* on the basis of genetic markers. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(9):4040-4049.

KRITSKI, A. L.; CONDE, M. B., & JAMAL, L. Tuberculose e infecção pelo HIV: aspectos atuais sobre diagnóstico, tratamento e prevenção. *Boletim de Pneumologia Sanitária*, 6(2): 53-61, 2000.

KRITSKI, A.; QUEIROZ, M. F. C.; BARRETO, C. E. N.; PEREIRA, N. M.; BRAVIN, Y.; Vasconcelos, G.; Fonseca, L. S. "Fatores de risco associados a tuberculose pulmonar paucibacilar em pacientes atendidos em centros de saúde da cidade do Rio de Janeiro." *Pulmão* 12: 10-16. 2003.

KRITSKI, A. L.; CONDE, M. B., & MUZY-SOUZA, G. Tuberculose: do ambulatório à enfermaria. 2ªed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

LACERDA, A. P. M. Tuberculose e infecção pelo vírus de imunodeficiência humana: estudo descritivo da co-infecção antes e depois da introdução do esquema HAART num hospital de referência no período de 1995 a 2000. In: Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2002.

LAMBERT ML, HASKER E, VAN DEUN A, ROBERFROID D, BOELAERT M, VAN DER STUYFT P. Recurrence in tuberculosis: relapse or reinfection? *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 282-287.

MARIANI, F.; GOLETTI, D.; CIARAMELLA, A.; MARTINO, A.; COLIZZI, V. & FRAZIANO, M. Macrophage response to *Mycobacterium tuberculosis* during HIV infection: relationships between macrophage activation and apoptosis. *Current Molecular Medicine*, 1: 209-16, 2001.

MARTINEZ AN, RHEE JT, SMALL PM, BEHR MA. Sex differences in the epidemiology of tuberculosis in San Francisco. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2000; 4(1):26–31.

MATHEMA B, KUREPINA NE, BIFANI PJ, KREISWIRTH BN. Molecular Epidemiology of Tuberculosis: Current Insights. Clin Microbiol Rev. 2006; 19(4):658–685.

MAZARS E, LESJEAN S, BANULS AL, GILBERT M, VINCENT V, GICQUEL B, TIBAYRENC M, LOCHT C, SUPPLY P. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98(4):1901-1906.

MAYER, K. H. Synergistic Pandemics: Confronting the Global HIV and Tuberculosis Epidemics. Oxford Journals, v.50, n. Suppl 3, p. 67-70, 2010.

MENDES JM, MACHADO SMA, LOURENÇO MC, FERREIRA RMC, FONSECA LS, SAAD MHF. Molecular diversity of *Mycobacterium tuberculosis* strains in a slum area of Rio de Janeiro, Brazil. J Bras Pneumol. 2008. 34(12):1063-1068.

MILLET JP, SHAW E, ORCAU A, CASALS M, MIRÓ JM, CAYLÀ JA; Barcelona Tuberculosis Recurrence Working Group. Tuberculosis recurrence after completion treatment in a European city: reinfection or relapse? PLoS ONE 2013; 8: e64898.

NICOL MP, WILKINSON RJ. The clinical consequences of strain diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008; 102(10):955-965.

ONYEBUJOH, P. & ROOK, G. A. W. Tuberculosis. *Nature reviews / microbiologia*, Vol 2: 930-932, 2004.

PALACI, M.; UEKI, S. Y. M.; SATO, D. N.; TELLES, M. A. S.; CURCIO, M.; SILVA, M. A. Avaluation of mycobacteria growth indicator tube for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from respiratory specimens. J Clin Microbiol 34:762-764. 1996.

PETTIT AC, KALTENBACH LA, MARURI F, CUMMINS J, SMITH TR, WARKENTIN JV, GRIFFIN MR, STERLING TR. Chronic lung disease and HIV infection are risk factors for recurrent tuberculosis in a low-incidence setting. Int J Tuberc Lung Dis 2011;15: 906-911.

PICON PD, BASSANESI SL, CARAMORI ML, FERREIRA RL, JARCZEWSKI CA, VIEIRA PR. Risk factors for recurrence of tuberculosis. J Bras Pneumol 2007; 33: 572-578.

POSSUELO LG, CASTELAN JA, DE BRITO TC, RIBEIRO AW, CAFRUNE PI, PICON PD, SANTOS AR, TEIXEIRA RL, GREGIANINI TS, HUTZ MH, ROSSETTI ML, ZAHA A. Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. Eur J Clin Pharmacol. 2008; 64(7): 673-681.

QUY HT, COBELENS FG, LAN NT, BUU TN, LAMBREGTS CS, BORGDORFF MW. Treatment outcomes by drug resistance and HIV status among tuberculosis patients in Ho Chi Minh City, Vietnam. Int J Tuberc Lung Dis 2006; 10: 45–51.

RAVIGLIONE, M. C. The TB epidemic from 1992 to 2002. Tuberculosis, 83: 4-14, 2003.

RAVIGLIONE , M.C. The Global Plan Stop TB, 2006-2015. *Int J Tubercu Lung Dis.* 2006;10(3): 238-9.

ROSS, B. C., K. RAIOS, K. JACKSON, AND B. DWYER. 1992. Molecular cloning of a highly repeated DNA element from *Mycobacterium tuberculosis* and its use as an epidemiological tool. *J. Clin. Microbiol.* 30: 942-946.

RUFFINO-NETO A. Recurrence of tuberculosis. *J.Bras Pneumol.* 2007; 33(5): 27-28

SANTHA T, GARG R, FRIEDEN TR, CHANDRASEKARAN V, SUBRAMANI R, GOPI PG, SELVAKUMAR N, GANAPATHY S, CHARLES N, RAJAMMA J. et al. Risk factors associated with default, failure and death among tuberculosis patients treated in a DOTS programme in Tiruvallur District, South India, 2000. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6:780–788.

SILVEIRA MPT, DE ADORNO RFR, FONTANA T. Profile of patients with tuberculosis: evaluation of the Brazilian national tuberculosis control program in Bagé, Brazil. *J Bras Pneumol.* 2007; 33(2):199-205.

SHABBEER, A.; OZCAGLAR, C.; YENER, B. & BENNETT, K.P. Web tools for molecular epidemiology of tuberculosis *Infection, Genetics and Evolution.* *Nature Medicine*, 12:767–781, 2012.

SMS/POA 2008. Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde. Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre. Boletim Epidemiológico - Ano X, Nº 36, Fev 2008. Disponível em http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu_doc/boletim_36_fevereiro_2008.pdf.

SMS/POA 2010. Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde. Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre. Boletim Epidemiológico - Ano X, Nº 36, Fev 2008. Disponível em http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu_doc/boletim_36_fevereiro_2010.pdf.

SMITH, P. G., AND A. R. MOSS, IN BLOOM, B. R. 1994. Tuberculosis: patogenesis, protection and control. ASM Press, Washington, DC. 47-59.

SNIDER JR. DE, RAVIGLIONE M, KOCHI A, *in* Bloom BR. Tuberculosis: patogenesis, protection and control. ASM Press, Washington, DC. 1994; 3-11.

STEAD, W. W. & DUTT, A. K. Epidemiology and host factors. *In: SCHLOSSBERG, D. Tuberculosis.* 2^a ed. New York, 1989.

STYBLO, K. & ROUILLO, A. Estimated global incidence of smear positive pulmonary tuberculosis. Unreliability of officially reported figures on tuberculosis. *Bull. Int. Union Tubercle*, 56: 118-125, 1981.

SUPPLY P, MAZARS E, LESJEAN S, VINCENT V, GICQUEL B, LOCHT C. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. *Mol Microbiol.* 2000; 36(3):762–771.

TINDÓ H, CAVALCANTE SC, WERNECK-BARROSO E. Gender differences in tuberculosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004; 8(3):388–390.

TRUJILLO, W. F. C. & KRITSKI, A. L. Tuberculose. *In: Medicina Tropical: abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias.* Rio de Janeiro: Ed Cultura Médica, 2001.

VAN RIE, A.; WARREN, R.; MSHANGA, I.; JORDAAN, A. M.; VAN DER SPUIY, G. D.; RICHARDSON, M.; SIMPSON, J.; GIE, R. P; ENARSON, D. A.; BEYERS, N.; VAN HELDEN, P. D. & VICTOR, T. C. Analysis for a limited number of gene codons can predict drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in a high-incidence community. *Journal Clinical Microbiology*, 39: 636-41, 2001.

VALIM ARM, POSSUELO LG, CAFRUNE PI, BORGES M, RIBEIRO MO, ROSSETTI MLR, ZAHA A. Evaluation and Genotyping of Multidrug-Resistant Cases of Tuberculosis in Southern Brazil. *Microb Drug Resis.* 2006; 12(3):186-191.

VERVER S, WARREN RM, BEYERS N, RICHARDSON M, VAN DER SPUIY GD, BORGDORFF MW, ENARSON DA, BEHR MA, VAN HELDEN PD. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1430-1435.

WAHL, S. M.; GREENWELL-WILD, T.; PENG, G.; HALE-DONZE, H. & ORENSTEIN, J. M. Co-Infection with opportunistic pathogens promotes human immunodeficiency virus type 1 infection in macrophages. *Journal of Infectious Diseases*, 179: 457-460, 1999.

WHO. World Health Organization (2013). Global Tuberculosis Control - Epidemiology, Strategy, Financing. Annual Report 2013. Geneva, Switzerland.

YANG Z., F. CHAVES, P. F. BARNES, W. J. BURMAN, J. KOEHLER, K. D. EISENACH, J. H. BATES, AND M. D. CAVE. 1996. Evaluation of method for secondary DNA typing of *Mycobacterium tuberculosis* with pTBN12 in epidemiologic study of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.*, 34: 3044-3048.

VAN DEUTEKOM H, SUPPLY P, DE HAAS PE, WILLERY E, HOIJNG SP, et al. (2005) Molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* by mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat analysis, a more accurate method for identifying epidemiological links between patients with tuberculosis. *J Clin Microbiol* 43: 4473–4479.

VAN EMBDEN, J. D., D. VAN SOOLINGEN, P. M. SMALL, AND P. W. M. HERMANS. 1992. Genetic markers for the epidemiology of tuberculosis. *Res. Microbiol.* 143: 385-391.

VAN EMBDEN, J. D., M. D. CAVE, J. T. CRAWFORD, J. W. DALE, K. D. EISENACH, B. GICQUEL, P. HERMANS, C. MARTIN, R. MCADAM, T. M. SHINNICK, AND P. M. SMALL. 1994. Strain identification of *M. tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standadized methodology. *J. Clin. Microbiol.* 31: 406-409.

WARREN RM, STREICHER EM, SAMPSON SL, VAN DER SPUY GD, RICHARDSON M, NGUYEN D, BEHR MA, VICTOR TC, VAN HELDEN PD. Microevolution of the direct repeat region of *Mycobacterium tuberculosis*: implications for interpretation of spoligotyping data. J Clin Microbiol. 2002a; 40(12):4457–4465.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Stop TB Partnership. The Stop TB Strategy. Building on and enhancing DOTS to meet the TB-related millennium development goals. (WHO/HTM/TB/2006.368). Geneva, 2006.

WHO, 2011. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis control: WHO Report 2011.

WHO, 2012. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Annual Report 2013. Global Tuberculosis Control – Epidemiology, Strategy, Financing. WHO: Geneva, Switzerland, 2012.

ZAGER, E.M.; MCNERNEY, R. Multidrug-resistant tuberculosis. BMC Infectious Diseases, v.5, p.1-5, 2008.

Anexos

Andrezza Wolowski Ribeiro Curriculum Vitae

Agosto/2014

Andrezza Wolowski Ribeiro

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Andrezza Wolowski Ribeiro
Nascimento 23/09/1983 - Camaquã/RS - Brasil
CPF 010.367.470-50

Formação acadêmica/titulação

2004 - 2009 Graduação em Biomedicina.
Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil
Título: Prevalência de Tuberculose na Penitenciária Estadual do Jacuí- RS.
Orientador: Sabrina Almeida.

Formação complementar

2008 - 2008 Extensão universitária em VIVENCIANDO EDUCAÇÃO AMBIENTAL E PRESERVANDO BIODI.
Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em IMPLICAÇÕES DE RESULT SOROLÓGICOS FALSO POSITIVOS.
LABORATÓRIOS ASSOCIADOS, LAS, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em IV CURSO DE BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA.
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em AVALIAÇÃO CRÍTICA DO ERITROGRAMA.
LABORATÓRIOS ASSOCIADOS, LAS, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em AVALIAÇÃO DE LÂMINAS EM HEMATOLOGIA.
Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em I SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA.
Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil

2007 - 2007 Curso de curta duração em GENÉTICA NA UFRGS:ENSINO E PESQUISA.
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em V SEMINÁRIO CITOPATOLOGIA GINECOLÓGICA URINÁRIA.
Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, ISCMPA, Porto Alegre, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em TÓPICOS EM PARASITOLOGIA HUMANA.

	Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em DOENÇAS INFECCIOSAS. Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em 1º CICLO DE PALESTRAS EM IMUNOLOGIA BÁSICA E APLIC. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em DOENÇAS INFECCIOSAS. Universidade Feevale, FEEVALE, Novo Hamburgo, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em ATUALIZAÇÃO EM INFECÇÕES POR CÂNDIDA. Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, ISCMPA, Porto Alegre, Brasil
2005 - 2005	Curso de curta duração em TREINAMENTO COLETA DE SANGUE A VÁCUO. Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, Brasil
2005 - 2005	Curso de curta duração em PATOLOGIA CLÍNICA. Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, Brasil

Atuação profissional

1. Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CDCT

Vínculo institucional

2007 - 2008 Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Bolsista , Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva

2. Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde - FEPPS

Vínculo institucional

2005 - 2006 Vínculo: estagiário , Enquadramento funcional: estagiário , Carga horária: 30, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

08/2005 - 08/2007 Estágio, Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Estágio:
Bolsista de iniciação científica

3. Universidade Luterana do Brasil - ULBRA

Vínculo institucional

2004 - 2004 Vínculo: Voluntária , Enquadramento funcional: Voluntária , Carga horária: 15, Regime: Dedicção exclusiva

Atividades

04/2004 - 11/2004 Pesquisa e Desenvolvimento, Departamento de Farmácia

Linhas de pesquisa:

Avaliação Clínico Patológica em mulheres com diagnóstico de infecção por Papiloma Vírus Humano

Linhas de pesquisa

1. Avaliação Clínico Patológica em mulheres com diagnóstico de infecção por Papiloma Vírus Humano

Objetivos: Participação voluntária, atuando no projeto "Avaliação Clínico-Patológica em mulheres com diagnóstico de Infecção por Papiloma Vírus Humano", promovido pelo curso de Farmácia , realizado em Canoas no período de abril a novembro de 2004, sob coordenação da Cláudia Maria Dornelles da Silva.

Projetos

Projetos de pesquisa **2008 - 2009** Análise do perfil genotípico de cepas de Mycobacterium tuberculosis multirresistentes no Rio Grande do Sul.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Integrantes: Andrezza Wolowski Ribeiro; Maria Lucia Rosa Rossetti (Responsável); Paulo Fernando Perizzolo

2007 - 2011 DETERMINAÇÃO DO CUSTO BIOLÓGICO EM ISOLADOS DE Mycobacterium tuberculosis COM MUTAÇÕES NOS GENES rpoB, rpsL, rrs e gidB

Descrição: Este trabalho tem o objetivo de sequenciar e genotipar isolados de Mycobacterium tuberculosis e relacionar essas mutações nos genes de resistencia as drogas com o fitness dos isolados.

Situação: concluído. Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Doutorado (2);

Integrantes: Andrezza Wolowski Ribeiro; Arnaldo Zaha; Fernanda Sá Spies (Responsável)

Outros tipos de projetos **2007 - 2009** Prevalência de Tuberculose na Penitenciária Estadual do Jacuí

Situação: Em andamento Natureza: Outros tipos de projetos

Integrantes: Andrezza Wolowski Ribeiro; Arnaldo Zaha (Responsável); Maria Lucia Rosa Rossetti; Cafrune, P. I.

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. POSSUELO, L. G., Castelan, J. A., BRITO, T. C., RIBEIRO, Andrezza Wolowski, Cafrune, P. I., Picon, P. D., Santos, A. R., Teixeira, R. L. F., GREGIANINI, T. S., Hutz, M. H., ROSSETTI, M. L. R., ZAHA, A.

Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *European Journal of Clinical Pharmacology*. , v.64, p.673 - 681, 2008.

2. CAFRUNE PI, POSSUELO LG, RIBEIRO AW, RIBEIRO MO, UNIS G, JARCZEWSKI CA, ROSSETTI ML, ZAHA A. Prospective study applying spoligotyping directly to DNA from sputum samples of patients suspected of having tuberculosis. *Can J Microbiol* 2009; 55: 895-900.

3. Perizzolo PF, Dalla Costa ER, Ribeiro AW, Spies FS, Ribeiro MO, Dias CF, Unis G, Almeida da Silva P, Gomes HM, Suffys PN, Rossetti ML. Characteristics of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis in southern Brazil. *Tuberculosis (Edinb)*. 2012; 92: 56-59.

4. DALLA COSTA ER, LAZZARINI LC, PERIZZOLO PF, DÍAZ CA, SPIES FS, COSTA LL, RIBEIRO AW, BARROCO C, SCHUH SJ, DA SILVA PEREIRA MA, DIAS CF, GOMES HM, UNIS G, ZAHA A, ALMEIDA DA SILVA PE, SUFFYS PN, ROSSETTI ML. Mycobacterium tuberculosis of the RDRio genotype is the predominant cause of tuberculosis and associated with multidrug resistance in Porto Alegre City, South Brazil. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1071-1077.

4. MASCHMANN, R. D. A. ; SPIES, F. S. ; NUNES, L. S. ; Nunes, L. D. S. ; RIBEIRO, A. W. ; MACHADO, T. R. M. ; ZAHA, A. ; Maria Lúcia Rossetti . Performance of the GenoType(R) MTBDRplus assay directly on sputum specimens from Brazilian patients with tuberculosis treatment failure or relapse. *Journal of Clinical Microbiology (Print)*, v. 2, p. 40-0, 2013.

5. Spies, Fernanda S. ; Von Groll, Andrea ; Ribeiro, Andrezza W. ; RAMOS, DANIELA F. ; Ribeiro, Marta O. ; DALLA COSTA, ELIS REGINA ; MARTIN, ANANDI ; PALOMINO, JUAN CARLOS ; Rossetti, Maria Lucia ; Zaha, Arnaldo ; DA SILVA, PEDRO EDUARDO A. . Biological cost in Mycobacterium tuberculosis with mutations in the rpsL, rrs, rpoB, and katG genes. *Tuberculosis (Edinburgh)*, v. 93, p. 150-154, 2013.

6. KUHLEIS, DANIELE ; Maria Lúcia Rossetti ; RIBEIRO, ANDREZZA WOLOWSKI ; COSTA, ELIS REGINA DALLA ; CAFRUNE, Patrícia Izquierdo ; SCHMID, KAREN BARROS ; COSTA, LUCAS LAUX DA ; RIBEIRO, Marta Osório ; ZAHA, Arnaldo ; ZAHA, Arnaldo . Tuberculosis in a southern Brazilian prison. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Impresso)*, v. 107, p. 909-915, 2012.

7. Spies, F. S. ; Ribeiro, A. W. ; Ramos, D. F. ; RIBEIRO, M. O. ; Martin, A. ; Palomino, J. C. ; Rossetti, M. L. R. ; da Silva, P. E. A. ; ZAHA, A. . Streptomycin resistance and lineage specific polymorphisms in Mycobacterium tuberculosis gidB gene. Journal of Clinical Microbiology (Print), p. 1, 2011.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. BRITO, T. C., RIBEIRO, Andrezza Wolowski, G, L., JARCZEWSKI, C., ROSSETTI, M. L. R., GREGIANINI, T. S., ZAHA, A.

Análise de Polimorfismos no Citocromo P450 2E1 e a variabilidade na resposta ao tratamento com a Isoniazida em pacientes atendidos no Hospital Sanatório Partenon In: 3º Jornada Científica- Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, 2006, Porto Alegre.

Anais da 3º Jornada Científica- Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde. , 2006.

2. BRITO, T. C., POSSUELO, L. G., RIBEIRO, Andrezza Wolowski, ARLINDO, E. M., JARCZEWSKI, C., GREGIANINI, T. S., ZAHA, A., ROSSETTI, M. L. R.

Caracterização de SNPs no Gene CYP2E1 em pacientes com TB no Sul do Brasil In: II Encontro Nacional de Tuberculose, 2006, São Paulo.

Anais do II Encontro Nacional de Tuberculose. , 2006.

3. G, L., Picon,P.D, GREGIANINI, T. S., BRITO, T. C., RIBEIRO, Andrezza Wolowski, ROSSETTI, M. L. R., ZAHA, A.

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS PRESENTES NO GENE QUE CODIFICA NAT2 E CORRELAÇÃO COM HEPATOTOXICIDADE EM PACIENTES COM TUBERCULOSE In: 3º Jornada Científica- Fundação Estadual de Produção de Pesquisa em Saúde, 2006, Porto Alegre.

Anais da 3º Jornada Científica- Fundação Estadual de Produção de Pesquisa em Saúde. , 2006.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. RIBEIRO, Andrezza Wolowski, POSSUELO, L. G., BRITO, T. C., ARLINDO, E. M., GREAGENINI, T. S., JARCZEWSKI, C., ZAHA, A., ROSSETTI, M. L. R.

Avaliação da Frequência dos Polimorfismos dos Genes CYP2E1 e NAT2 em Pacientes com Tuberculose: Um estudo preliminar In: XVIII Salão de Iniciação Científica/ XV Feira de Iniciação Científica, 2006, Porto Alegre.

Anais do XVIII Salão de Iniciação Científica/ XV Feira de Iniciação Científica. , 2006.

2. RIBEIRO, Andrezza Wolowski, BRITO, T. C., G, L., ARLINDO, E. M., GREGIANINI, T. S., JARCZEWSKI, C., ZAHA, A., ROSSETTI, M. L. R.

Avaliação dos Polimorfismos no gene CYP2E1 e correlação com hepatotoxicidade em pacientes em tratamento para Tuberculose In: X Salão de Iniciação Científica do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, 2006, Porto Alegre.

Anais do X Salão de Iniciação Científica do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul. , 2006.