



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

SANTIAGO SOUZA VALDES

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE INTERFERON-GAMA (IFN- γ) DURANTE O
TRATAMENTO DE PACIENTES COM TUBERCULOSE DROGARRESISTENTE
(TBDR)**

Recife
2022

SANTIAGO SOUZA VALDES

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE IFN- γ DURANTE O
TRATAMENTO DE PACIENTES COM
TUBERCULOSE DROGARRESISTENTE (TBDR)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dra. Michelle Christiane da Silva Rabello

Co-orientadora: Dra. Virgínia Maria de Barros Lorena

Recife, 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do
SIB/UFPE

Souza Valdes, Santiago .

Avaliação do perfil de secreção de IFN-gamma durante o tratamento de
pacientes com tuberculose drogarresistente (TBDR) / Santiago Souza Valdes. -
Recife, 2022.

65 : il., tab.

Orientador(a): Michelle Christiane da Silva Rabello

Coorientador(a): Virgínia Maria de Barros Lorena

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Tuberculose. 2. Interferon-gamma. 3. Biomarcadores. 4. TBDR. 5.
Imunologia. I. da Silva Rabello, Michelle Christiane . (Orientação). II. de Barros
Lorena, Virgínia Maria . (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

SANTIAGO SOUZA VALDES

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE IFN- γ DURANTE O TRATAMENTO DE PACIENTES
COM TUBERCULOSE DROGARRESISTENTE (TBDR)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 24/11/2022

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dra. Michelle Christiane da Silva Rabello
Instituto Aggeu Magalhães/ Dep. Imunologia

Dr. Claudeir Silva Dias Júnior
Instituto Aggeu Magalhães/ Dep. Imunologia

Dra. Danielle Maria Nascimento Moura
Instituto Aggeu Magalhães/ Dep. Imunologia

Dedico este trabalho ao meu pai e inspiração, Manuel Antônio Valdés Borrero, e à minha mãe, Elisabete Santos Souza, que sempre está comigo em coração e pensamento, como também a todos pretos e LGBTs que vieram antes de mim e que lutaram para que eu conseguisse chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço as minhas orientadoras Michelle e Virgínia, sem distinções, por acreditarem na minha capacidade intelectual e no meu trabalho enquanto ingressante na área acadêmica. Por estarem sempre dispostas a lutar por mim e me oferecerem a oportunidade de estar rodeado de profissionais brilhantes e outros jovens doutores e cientistas que serão o futuro do Brasil.

Agradeço ao Departamento de Imunologia do Instituto Aggeu Magalhães-FIOCRUZ, que me recebeu de braços abertos e me disponibilizou todos os equipamentos e aparatos necessários para a realização desta pesquisa. Agradeço à Rennatha Albuquerque, minha mestranda que foi meu braço direito dentro do laboratório e também é responsável pelos frutos deste projeto. Agradeço à Michelle e Claudeir, os maiores profissionais que eu já conheci no laboratório e que sempre me receberam de braços abertos e muitas vezes facilitaram a minha caminhada dentro do departamento.

Agradeço ao professor Wheverton Ricardo, que sempre admirou minha busca pelo conhecimento em sala de aula, como também esteve ao meu lado quando eu mais precisava. Agradeço à professora Elba Carvalho, a poderosa da Biomedicina, por ser uma excelente pessoa e profissional, sempre visando acolher todos os alunos do curso e entender todas as nossas dificuldades e frustrações...

Aos colegas Ana Carolina Pastora, Larissa Pinscher e Patriky que me acompanharam durante a graduação, de forma direta e indireta, sempre torcendo pelas minhas conquistas e me apoiando em momento difíceis.

Agradeço ao CNPQ pelo fomento à pesquisa e pelo incentivo financeiro mensal enviado para mim, enquanto aluno Bolsista. Infelizmente, no cenário político-econômico em que nos encontramos atualmente esta realidade não se apresenta de forma reprodutível para futuros jovens cientistas, muito menos aos cientistas que já possuem suas linhas de pesquisa em andamento, o que traz à tona a extrema importância da existência deste órgão, assim como a sua contínua proteção e investimento federal.

Gostaria de agradecer também a Ana Livia e Eduardo, meus melhores amigos, parte da família que construí enquanto morei em Recife, e que sempre foram minha âncora em literalmente todos os momentos, bons ou ruins. A vocês que

choraram o meu choro e sorriram meu sorriso, obrigada por existirem, obrigada por vocês serem vocês mesmos, e, principalmente, permitirem que eu seja eu mesma...

Por último, mas não menos importante, agradeço ao meu pai, Manuel, por todo o apoio emocional e financeiro desde o início da minha existência até este presente momento. Obrigada por ser meu companheiro número 1 em todos os caminhos que eu escolhi trilhar durante esta vida. Agradeço também a minha mãe, Elisabete, uma mulher forte, preta, nordestina e desbravadora que sempre vou ter orgulho de ser filho, apesar do nosso tempo juntos nesta vida ter sido roubado. Por isto, agradeço também a todas outras mulheres fortes e desbravadoras que conheci na vida e que me abraçaram como filho. Em primeiro lugar, minha mãedrastra Alessandra, e em seguida, Leila, Silvana, Jeane e Ana Paula, agradeço pelo carinho imenso e por me fazerem me sentir parte de uma grande família.

VALDES, S. S. **Avaliação do perfil de secreção de INF- γ durante o tratamento de pacientes com tuberculose drogarresistente (TBDR)**. 2022. 65 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença secular com altos índices de incidência e mortalidade, sobretudo em grupos carcerários e em vulnerabilidade econômico-social. O diagnóstico tardio e a emergência de casos resistentes às drogas utilizadas no combate ao *M. tuberculosis (Mtb)* são os principais desafios para o controle da doença. Com isto, o estudo de biomarcadores tornou-se relevante para o desenvolvimento de ferramentas diagnósticas mais eficazes do que as atuais. Este estudo visou avaliar o perfil da citocina INF- γ em uma coorte de pacientes em tratamento para tuberculose drogarresistente (TBDR) de Recife, Pernambuco, com seguimento de 6 meses. Os níveis de INF- γ do sangue de 10 pacientes foram quantificados por citometria de fluxo a partir da cultura do sangue estimulado ou não com antígenos específicos para *Mtb* provenientes do teste IGRA TB Plus (Qiagen) antes e após 2 e 6 meses de tratamento. Durante o acompanhamento da coorte, os participantes também foram avaliados em relação ao quadro clínico, carga bacilar e dano pulmonar. Após 6 meses de tratamento, observamos uma diminuição dos níveis INF- γ ao longo do tratamento e declínio da sintomatologia desses pacientes quando comparados aos níveis antes de iniciar o tratamento. Nossos resultados sugerem que a quantificação de INF- γ em amostras de sangue é factível para utilização como biomarcador para uma ferramenta de teste auxiliar e rápido para o monitoramento da resposta da eficácia do tratamento anti-TBDR.

Palavras-chave: Tuberculose. Interferon-gamma. Biomarcadores. TBDR. Imunologia

VALDES, S. S. **Evaluation of the IFN- γ secretion profile during the treatment of patients with drug-resistant tuberculosis (TBDR)**. 2022. 65 pages. Undergraduate thesis (Graduation in Biomedicine) – University of Pernambuco, Recife, 2022

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a secular disease with high incidence and mortality rates, especially in prison groups and in groups associated with socio-economic vulnerability. Late diagnosis and the emergence of cases resistant to the drugs used to combat *M. tuberculosis* (Mtb) are the main challenges for disease control. As a result, the study of biomarkers has become relevant for the development of more effective diagnostic tools than the current ones. This study aimed to evaluate the IFN- γ cytokine profile in a cohort of patients being treated for drug-resistant tuberculosis (DRTB) in Recife, Pernambuco, with a 6-month follow-up. The levels of IFN- γ in the blood of 10 patients were quantified by flow cytometry from a culture of blood stimulated or not with specific antigens for Mtb from the IGRA TB Plus test (Qiagen) before and after 2 and 6 months of treatment. During cohort follow-up, participants were also assessed for clinical status, bacillary burden, and lung damage. After 6 months of treatment, we observed a decrease in IFN- γ levels throughout the treatment and a decline in the symptoms of these patients when compared to the levels before starting treatment. Our results suggest that the quantification of IFN- γ in blood samples is viable to be used as a biomarker for an auxiliary and rapid test tool for monitoring the response of anti-TBDR treatment efficacy.

Key words: Tuberculosis. Interferon-gamma. Biomarkers. TBDR. Immunology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Coeficiente da incidência da tuberculose (por 100mil hab.). Unidades da Federação, 2021.....	23
Figura 2 – Esquema do mecanismo do sistema imune mediante infecção do <i>M. tuberculosis</i>	28
Figura 3 – Esquema da atividade do Interferon- γ	38
Figura 4 – Fluxograma do processamento das amostras.....	41
Figura 5 – Mediana dos níveis de <i>INF- γ</i> em pacientes TBDR.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados clínicos e variáveis sociodemográficas dos pacientes do grupo TBDR.....	44
Tabela 2 – Dados clínicos sintomatológicos e testes bacteriológicos durante o acompanhamento da coorte em tratamento para TBDR.....	47
Tabela 3 – Definição dos casos, caracterização do tipo de resistência e hábitos e/ou estilos de vida de risco associados à emergência dos casos de TBDR.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APCs	Células Apresentadoras de Antígeno
BAAR	Bacilo Álcool-Ácido Resistente
DM	Diabetes Mellitus
DPN	Doença de Populações Negligenciadas
GXP	Gene Xpert
<i>HIV</i>	Vírus da Imunodeficiência Humana
IGRA	Ensaio de Liberação do Interferon Gamma
IFN- γ	Interferon- gamma
<i>MHC</i>	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MNT	Micobactéria não-tuberculosa
MS	Ministério da Saúde
<i>Mtb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS/ <i>WHO</i>	Organização Mundial da Saúde/ Wealth World Organization
<i>PPD</i>	Derivado Protéico Purificado
RNI	Reativos de Nitrogênio
ROS	Reativos de Oxigênio
TB	Tuberculose
TARV	Terapia Antirretroviral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. Histórico da Tuberculose.....	15
2.2. Epidemiologia da Tuberculose.....	22
2.3. Agente Etiológico e Fatores de Risco da Tuberculose.....	25
2.4. Infecção Pelo <i>M.tuberculosis</i> , Resposta Imune do Hospedeiro e Quadro Clínico da Doença.....	27
2.5. Diagnóstico e Tratamento da Tuberculose.....	32
2.6. Biomarcadores Sanguíneos.....	37
3. OBJETIVOS	39
3.1. Objetivo Geral.....	39
3.2. Objetivos Específicos.....	39
4. METODOLOGIA	40
4.1. Desenho e Local de Estudo.....	40
4.2. Critérios de Perda.....	40
4.3. Seleção e Inclusão dos Participantes na Pesquisa.....	40
4.4. Coleta e Processamento das Amostras.....	41
4.5. Detecção dos Níveis de interferon-gamma por Citometric Bead Array (CBA).....	42
4.6. Análise dos Resultados e Estatística.....	42
4.7. Aspectos Éticos.....	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Perfil Clínico-Socio-Demográfico da Coorte de TBDR do Estudo.....	44
5.2. Definição dos Casos, Caracterização do Tipo de Resistência e Hábitos e/ou Estilos de Vida de Risco Associados à Emergência dos casos de TBDR.....	47
5.3. Quadro Clínico e Carga Bacilar Durante o Tratamento do Grupo TBDR.....	48
5.4. Análise dos Níveis da Citocina INF- γ nos Sobrenadantes da Cultura de Sangue Estimulado ou Não com Antígenos de Mtb dos Pacientes em Tratamento Para TBDR.....	52
6. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNDICES	65

APÊNDICE A – Questionário socioeconômico e clínico do paciente.....	65
APÊNDICE B – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	70
ANEXOS	72
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética IAM.....	72

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Ministério da Saúde do Brasil (MS), até 2019, a TB era a primeira causa de óbito por um único agente infeccioso, superando o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Em 2020, a mortalidade por COVID superou as taxas de TB, ocupando assim a primeira posição no ranking de mortes causadas por doenças infectocontagiosas (WHO, 2018; BRASIL, 2022).

Em geral, a TB está ligada a países subdesenvolvidos, atingindo as populações mais pobres em situações precárias de nutrição, moradia e saneamento. Além disto, estima-se que em 2020, a TB tenha acometido cerca de 9,9 milhões de pessoas no mundo, sendo responsável por 1,3 milhão de óbitos entre pessoas sem a infecção pelo HIV (WHO, 2021).

De acordo com último Boletim Epidemiológico da Tuberculose no Brasil, foram notificados 68.271 casos novos de TB, tendo uma ampla distribuição entre as regiões brasileiras. Neste boletim, o Brasil junto a outros 15 países, foi responsável por 93% da redução das notificações da TB no mundo. No entanto, essa variação negativa pode ser justificada pelos impactos causados pela pandemia de covid-19 nos serviços e sistemas de saúde (BRASIL, 2022).

Em relação a mortalidade por TB, o Brasil registrou 4.543 óbitos em 2020, o que corresponde a um coeficiente de mortalidade de 2,1 óbitos por 100 mil habitantes e segue a tendência dos últimos anos da série histórica dos óbitos por TB no país (BRASIL, 2022).

Embora atualmente exista um tratamento específico e adequado, o controle da doença continua sendo um desafio, principalmente devido à persistência da pobreza global, acesso limitado à saúde, ampla dispersão geográfica, epidemia do HIV e emergência dos casos de resistência às drogas (TBDR) (WHO, 2021). Atualmente o MS classifica a TB como uma questão de saúde pública no Brasil e como uma das Doenças de Populações Negligenciadas (DPN) (BRASIL, 2022).

A incidência e a prevalência das DNP têm sido historicamente associadas a territórios e populações de determinados grupos vulneráveis, pautados por suas dinâmicas de natureza colonial e capitalista, destacando que esta classe de doenças em que a TB se encontra situada demonstra como as políticas e ações públicas são

operadas baseadas na distinção entre os povos habitantes de seu território, culminando no processo de estigmatização da doença (GODIM, 2018).

Até onde sabemos, entre os séculos XVIII e XIX, quando a TB atingia todas as classes sociais a doença era tratada com muito mais seriedade pelo governo, diferente de quando suas altas taxas de incidência e mortalidade se concentraram apenas nas camadas sociais mais pobres, como ainda ocorre atualmente (MASSABNI, 2019). Assim, além de investir em diagnóstico, tratamento e prevenção da doença devemos antes de tudo buscar entender nossa visão crítica sobre o processo de vulnerabilização destes sujeitos, bem como debater sobre a negligência destas doenças a nível de saúde global (OLIVEIRA, 2018).

GLAZIOU (2013) e SILVA (2014) apontam que uma das causas para o insucesso do tratamento e o óbito do paciente por TB se refere ao despreparo clínico dos médicos no diagnóstico da TB, o que leva muitas vezes os pacientes a serem tratados para outras doenças com manifestações clínicas comuns as da TB.

Desta forma, sabemos que existe uma frequência de pacientes que iniciam o tratamento com antibióticos inadequados para TB e apenas tardiamente são diagnosticados corretamente. Atualmente, como preconiza a OMS, o esquema de tratamento básico para TB pulmonar é realizado pelo uso dos seguintes antibióticos: rifampicina; isoniazida; pirazinamida e etambutol (WHO, 2021). Estudos como o de BORAH P et al., (2021) apontam que este esquema de tratamento não se apresenta de forma totalmente eficaz e gera altos índices de abandono devido ao longo período do tratamento (no mínimo 6 meses para paciente sensíveis a todas às drogas de primeira linha), o que conseqüentemente levam a multirresistência a rifampicina e isoniazida (TB-MDR), sendo estas as drogas anti-TB mais eficazes.

Desta forma, a TB-MDR tem dificultado ainda mais o controle da doença, visto que é necessário realizar um tratamento mais demorado e com drogas mais tóxicas e além de que, apenas cerca de 60% destes casos apresentam sucesso no tratamento. Na maioria dos casos, a multirresistência também é notada tardiamente após o tratamento ter sido iniciado com as drogas de primeira linha, pois, o teste de sensibilidade às drogas anti-TB depende do isolamento prévio do *Mtb* das amostras biológicas em meios de cultura específicos, podendo levar de 2-3 meses (BORAH P et al., 2021, GLAZIOU, 2013).

Outro fator que contribui para a falha terapêutica da TB é a forma do

monitoramento clínico da eficácia do tratamento anti-TB, o qual atualmente é realizado a partir da baciloscopia do escarro, que apresenta baixa sensibilidade, e através da cultura da amostra de escarro. Diante disto, estudos que visam à prospecção de biomarcadores associados à eficácia terapêutica da tuberculose são relevantes para o avanço no desenvolvimento de testes de diagnósticos mais eficazes do que os atuais e que permitem monitorar precocemente o tratamento dos pacientes (BORAH P et al., 2021).

O IFN- γ é a primeira citocina a ter alterações significantes no sangue mediante a infecção do *Mtb*. Os estudos de PAI e BEHR (2016) e CARRANZA et al (2020) demonstraram uma diferença significativa na expressão do IFN- γ entre os grupos de TB latente e ativo após estimulação com antígenos específicos do *Mtb*, até mesmo mais elevados que quando comparados ao grupo saudável. Assim, sugere-se que esta citocina possui potencial para ser utilizada com o propósito de diagnóstico diferencial entre a TB ativa e latente. Tendo em vista a significância da alteração desta citocina durante o processo infectocontagioso da TB, um teste comercial IGRA TB Plus baseado na liberação de INF- γ na cultura de sangue após estimulação com antígenos específicos de TB, foi lançado no mercado para o diagnóstico da infecção pelo *Mtb*.

Os antígenos desse teste comercial também têm sido usados para avaliar a expressão de outras citocinas e quimiocinas em pacientes com TB (ZIMMER et al., (2022). Poucos estudos têm avaliado a correlação dos níveis de INF- γ produzidos por células T efectoras previamente condicionadas a estímulos com antígenos específicos do *Mtb* com a resposta ao tratamento. Os estudos de SAUZULLO I et al., (2019), CARRARA S et al., (2004) e LEE SW; LEE CT; YIM JJ (2010) observaram uma diminuição dos níveis de IFN- γ após o tratamento da TB. Em controvérsia, estudos de DENKIGER et AL., (2013) e THERON G et al., (2012) mostraram um aumento ou nenhuma mudança nos níveis de IFN- γ durante o tratamento da TB.

Diante dos dados discordantes na literatura, neste estudo visamos avaliar o perfil dos níveis de IFN- γ por citometria de fluxo no sangue dos pacientes em tratamento para tuberculose drogarr resistente (TBDR), provenientes de uma população vacinada para BCG e pertencentes a cidade de Recife, região do estado de Pernambuco endêmica para a doença (BRASIL, 2022).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. HISTÓRICO DA TUBERCULOSE

Para uma melhor compreensão acerca do cenário atual da tuberculose (TB) e a repercussão de suas problemáticas no sistema público de saúde, não só apenas em uma perspectiva brasileira, mas como também mundial, torna-se necessário o entendimento dos processos históricos e científicos que levaram à descoberta do *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) como agente etiológico da tuberculose, e seus desdobramentos até o presente momento.

O gênero *Mycobacterium*, o qual a bactéria causadora da TB pertence, existe há mais de 150 milhões de anos, sendo a sua relação infectocontagiosa descoberta apenas nos primeiros hominídeos de 3 milhões de anos atrás na África Oriental (BERTOLLI, 2001). Evidências arqueológicas descritas por BARBERIS (2017) comprovam que o ancestral comum do *Mtb* tenha surgido entre 20.000 e 15.000 anos atrás, sendo sua infecção inicialmente restrita a pequenos grupos de hominídeos, e posteriormente, grupos maiores, originados pela transição do movimento nômade para o sedentário durante a Revolução Agrícola há 12.500 anos.

O ambiente quente e ao mesmo tempo úmido, sombrio e arejado, característico aos pulmões, foi um fator altamente positivo para a sua proliferação. Com isto, a partir deste processo a TB esteve acompanhando lado a lado o avanço da humanidade, adquirindo novas características oriundas dos processos de mutações e trocas de materiais genéticos bacterianos, adaptando-se ao seu novo hospedeiro, o homem (BARBERIS, 2017).

Devido a descoberta de que muitos faraós foram acometidos pela TB ainda muito jovens há cerca de 3.300 anos, como Amenófs IV e sua esposa Nefertiti (ROSEMBERG, 1999), o, BERBERIS (2017), conseguiu estimar a data de origem da *Mtb* e a sua associação patogênica com a espécie humana. Neste estudo foram encontradas deformidades esqueléticas típicas da TB em múmias egípcias, conservadas há mais de 4.400 anos. Além disto, lesões e anormalidades patognomônicas da doença são ilustradas no início do desenvolvimento da arte egípcia, há mais de 3000 anos a.C., comprovando a presença da doença nesta civilização antiga (ROSEMBERG, 1999).

Os primeiros documentos aprofundados na pesquisa para a compreensão do que seria a TB foram encontrados na Índia e China há 3.300 e 2.300 anos, respectivamente (BARBERIS, 2017). Termos como “consunção” e “tísica” foram utilizados para se referir a TB na Antiguidade e Idade Média, sendo ambos os termos oriundos da Índia, e possuem o respectivo significado de “emagrecimento” e “depauperação do corpo” (BERTOLLI, 2001).

Acerca da presença da TB no continente americano, a mais antiga evidência da TB foi obtida de um corpo mumificado de uma jovem índia na região onde atualmente seria o Peru na era pré-colombiana há 3.100 anos. Em seu pulmão direito havia um nódulo hilar volumoso contendo bacilos do *Mtb*, que foram comprovados no pulmão pela análise do DNA para *Mtv* (ROSEMBERG, 1999).

Dentro do estudo citado anteriormente, o autor Rosemberg afirma que:

“Existe um consenso, quase homogêneo entre os pesquisadores, de que a TB chegou às Américas com seus primeiros imigrantes asiáticos, há pelo menos 10 mil anos, persistindo em alguns grupos sociais minoritários e dispersos por milhares de anos, até atingir proporções epidêmicas há 1.500 anos na região dos Andes.” (ROSEMBERG, 1999).

Baseando-se nesta afirmação, pode-se concluir que provavelmente a cepa primordial circulante no continente americano tenha sido trazida pelos imigrantes do continente asiático, a qual seria a mesma transmitida na China e Índia, devido a serem as civilizações com maiores registros do acometimento da TB e também com histórico de migração para as américas (ROSEMBERG, 1999).

Embora a TB tenha sido praticamente ignorada na Europa durante o período medieval, devido ao declínio da ocupação de centros urbanos e à falta de conhecimento popular sobre a doença e a sua lenta mortalidade, o conhecimento da doença tornou-se evidente com o surgimento do movimento Renascentista (BARBERIS, 2017; BERTOLLI, 2001; ROSEMBERG, 1999).

Por outro lado, durante o Renascentismo foram iniciadas a expansão do conhecimento sobre a TB. Neste cenário, é relatado o destaque dos médicos:

“Girolamo Fracastoro, médico italiano com grande destaque, que em 1546 declarava se opôs ao princípio hipocrático que afirmava que “um tísico nasce de outro tísico”; também postulando, baseado em seus estudos sobre a medicina árabe, que a TB era transmitida por “micropartículas” transportadas pelas correntes aéreas, depositando-se em objetos em volta do indivíduo infectado; seguido do médico francês Sylvius, que relatou pela primeira vez a “existência de granulações em pulmões contaminados, que quando apresentavam aspecto

purulento, levavam ao aparecimento de cavidades” e sua dimensão e tamanho previam a gravidade da doença.” (BERTOLLI, 2001).

Em 1679, o médico de Amsterdã, Sylvius de laBoe foi provavelmente o primeiro médico a usar o termo “tubérculos” na tísica do pulmão, que ele nomeou *tubercula granulosa* (FRITH, 2014).

Antes da Idade Moderna, no início do século XV, com o descobrimento das américas e a chegada dos colonizadores europeus, a ocorrência da TB aparentou ter diminuído muito antes da chegada dos colonizadores, o que levou à população indígena a ser altamente susceptível à devastação pela reintrodução do *Mtb*.

Na América Central, o padre cronista espanhol, Diego Durán, em registros, observava que dos 50 a 60 escravos sacrificados no funeral do governante mexicano Axayacatl, em 1479, muitos eram corcundas, e supõe-se que alguns deles tinham TB, sendo este um indício da susceptibilidade apresentada pela população indígena à infecção da TB mediante o contato com seus colonizadores espanhóis (DANIEL, 2000).

Durante o século XVIII, ainda na Idade Moderna e na Revolução Industrial da Europa Ocidental, a TB tornou-se uma epidemia com uma taxa de mortalidade de até 900 mortos por 100 mil habitantes por ano. Devido ao aumento sucessivo das condições precárias dos trabalhadores, como ambientes de trabalho extremamente degradantes, alojamentos mal ventilados e superlotados, além da falta de saneamento básico e a desnutrição da população em geral, e outros fatores de risco, corroboraram para o aumento dos índices de casos da doença e de mortalidade por TB (BARBERIS, 2017).

Na Ásia, especificadamente na China, não existe registro histórico de um grave surto de TB, fato contrário a situação europeia da época, onde a epidemia dos séculos XVIII e XIX foi um evento epidemiológico definido e documentado, possuindo impactos culturais e demográficos relevantes. Esta disparidade nos índices de TB nos continentes Europeu e Asiático pode ser explicada pelo diferente ritmo do processo de industrialização, tendo em vista que a China não participou da Revolução Industrial e sua taxa de urbanização histórica raramente excedia 10% da população total, evitando assim maiores taxas de transmissão da TB devido a menor presença de aglomerados sociais em pequenos espaços fechados (LIU et al., 2018).

Devido à falta de fármacos eficientes na época, terapias alternativas como a climaterapia era a principal indicação para o tratamento da doença durante as epidemias ocasionadas durante e após a Revolução Industrial, sendo recomendado viver em climas montanhosos e marítimos, com baixas pressões atmosféricas, ar puro, temperaturas amenas e constantes ao longo do ano e locais com insolação abundante (VIEIRA, 2011).

Além destes tratamentos, outras sete terapias também eram bastante frequentes neste período, chamados de “septeto da panacea”, por serem indicados para todos os males, sendo eles: sangria, purgativos, ventosas, vesicatórios, eméticos, sanguessugas e clisteres. Os seis primeiros pertenciam a rotina médica em todos os centros médicos, enquanto a sangria, técnica estipulada por Galeno, foi praticada quase até o final do século XIX, sendo indicada para os tuberculosos pela premissa de que ao retirar-lhes o sangue os casos de hemoptise diminuiriam, o que tornava os pacientes anêmicos, mais fracos e debilitados (ROSEMBERG, 1999). Pode-se concluir que os tratamentos ofertados nesta época continuaram apresentando teor empírico, como na Idade Média, apesar de que poderiam levar mais rapidamente o paciente ao óbito, o que nos leva a crer que também pode ter sido um importante fator para os aumentos exponenciais das taxas de mortalidade da época.

Assim, alguns autores, como BARBERIS (2017) e BERTOLLI (2001), acusam a palidez anêmica das pessoas enfermas pela TB, em decorrência da aderência aos tratamentos ofertados na época, como a causa da origem do termo “peste branca” no século XVIII.

A continuação da utilização dos termos “consunção” e “tísica” se estendeu até o século XVIII, os quais foram substituídos no século XIX pelo termo “tuberculose”, nomeado pelo médico-pesquisador Johann Lukas Schonlein (BARBERIS, 2017).

Desta forma, observa-se que a utilização e difusão entre os grandes médicos do termo “tuberculose” como definição da doença altamente letal causadora dos tubérculos durante a época foi altamente importante para a popularização desta palavra, que ainda se mantém.

Apenas em meados do século XIX, René Téophilo H. Laennec, inventor do estetoscópio, conseguiu esclarecer a patogênese da TB e reuniu o conceito da doença, assimilando as formas pulmonares e extrapulmonares. Guiado pelo interesse

em pesquisar sobre esta “nova doença” chamada tuberculose, causadora das altas taxas de mortalidade em Londres, Estocolmo e Hamburgo, Laennec fez registros claros e concisos sobre a patologia da TB, descrevendo a maioria dos sinais patológicos associados à doença e inseriu novos termos para relatar suas descobertas, com isto, a compreensão moderna e atual sobre a TB teve início com a publicação do Tratado de Laennec (DANIEL, 2006).

Apenas em 1895, final do século XIX, através dos experimentos realizados pelo cirurgião militar francês Antoine Villemin foram elucidadas as condições infecciosas e inoculáveis da TB:

“Os experimentos consistiram na inoculação em diversas espécies de grupos experimentais sadios de “uma pequena quantidade de líquido purulento de uma cavidade tuberculosa”, obtida a partir de necropsias de indivíduos mortos pela TB, o que resultou no adoecimento de todos os grupos inoculados. Assim, concluiu-se que a TB é uma doença infectocontagiosa dependente de um agente causal específico, que seria uma forma de vida “infinidamente pequena” (BERTOLLI, 2001).

Os experimentos realizados por Antoine Villemin apontam os avanços da concepção científica da época, a partir da elaboração de resultados mais concisos a partir do uso do conhecimento científico ao invés do empírico, assim como outros estudiosos que o antecederam este movimento, expandindo a classe pesquisadora dos séculos anteriores que acreditava na comprovação científica baseada na experimentação, observação e análise de eventos biológicos. Sua definição de “uma forma de vida infinitamente pequena”, acusando a bactéria *Mtb* como agente etiológico da doença como também o método de experimentação associada à cavidade pulmonar, tendo vista que neste ambiente ocorre a principal manifestação da doença, ampliam ainda mais os conhecimentos acerca da infectologia e patologia previamente descobertos por outros pesquisadores que o antecederam.

Próximo a esta época, o médico-pesquisador William Budd sugeriu que a TB é disseminada pela sociedade por “germes específicos”, expelidos por pessoas acometidas pela doença, sendo esta afirmação mais um dos avanços sobre o conhecimento da transmissão da doença (DANIEL, 2006).

Apesar dos avanços científicos relatados no campo médico e da expansão do conceito do que seria a tuberculose, ainda existia a falta de um tratamento eficaz para

o combate da doença. As altas taxas de mortalidade associadas à prevalência da doença nas populações mais vulneráveis da época exigiam medidas de contenção da doença para a proteção do restante da população, visando unicamente apenas a diminuição da transmissão do *Mtb* e cuidados paliativos aos enfermos (ROSEMBERG, 1999). Com isto, houve a criação dos sanatórios em 1854, com o pioneirismo de Hermann Brehmer, o qual inaugurou a primeira instituição especializada no tratamento da TB nas montanhas da Silésia, afim de isolar os pacientes com TB durante a administração do tratamento ineficaz proposto durante a época (MARTINI et al., 2017).

A partir disto, surgem as organizações internacionais responsáveis pelas propostas de combate à TB, consolidadas no final do século XIX, centralizadas principalmente nos dispensários (MARTINI et al., 2017).

O tratamento ofertado nos dispensários era preferencialmente direcionado às classes sociais mais pobres, sendo responsáveis por atividades como:

“Exames diagnósticos, encaminhamentos para consultórios médicos e serviços de enfermagem, como também a assistência social aos doentes, com o auxílio de entidades filantrópicas que forneciam medicamentos, roupas e alimentos. O tratamento efetuado nos sanatórios poderia durar vários anos e exigia uma severa disciplina dos internados: higiene, repouso, alimentação, ar puro e acompanhamento médico. Acreditava-se que o isolamento em ambientes hospitalares possibilitaria uma melhora na alimentação e tornaria os efeitos de um acompanhamento médico prolongado mais efetivo, como também reduziria as taxas de contágio sociais.” (ANTUNES, 2000).

No início do século XX, antes da implementação dos fármacos anti-TB, ainda foram desenvolvidas inúmeras técnicas cirúrgicas para o tratamento da TB, entre elas:

“O colapso pulmonar, pneumotórax, drenagens cavitárias, toracoplastia, lobectomia e ressecção do ápice do lobo superior do pulmão, sendo a última o procedimento escolhido de forma preferencial em casos específicos, como quando o tratamento padrão da TB apresentava falha” (MARSICO, 2006).

Em decorrência a este cenário, outro ponto chave para o avanço científico surge na história da tuberculose ainda no século XIX:

“Em 24 de março de 1882, a história da TB mudou drasticamente, quando Hermann Heinrich Robert Koch apresentou à Sociedade Fisiológica de Berlim demonstrações do bacilo da TB que ele havia isolado e identificado, como também seus famosos postulados, que até os dias de hoje são o padrão para a demonstração de uma etiologia infecciosa.” (DANIEL, 2006).

As descobertas feitas por Koch serviram como um alerta geral para sociedade da época, como podemos observar no texto acima, tanto para a classe médico-científica, quanto para o regime vigente à época, tendo-se em vista a necessidade de conscientização e a implementação de medidas de prevenção da população sobre a doença.

Em 1890, Koch relatou ter isolado uma substância, oriunda de bacilos da TB, que poderia “tornar inofensivas as bactérias patogênicas encontradas em um corpo vivo e fazer isso sem desvantagem para o corpo”. Esta substância foi nomeada tuberculina e a administração de injeções deste composto é rapidamente implementada como tratamento para doença (DANIEL, 2006).

No entanto, seu potencial terapêutico não atingiu os resultados esperados, ocasionando inúmeros óbitos, uma vez que a sua administração desencadeava intensas reações sistêmicas e graves lesões progressivas, com grandes destruições pulmonares e generalização das formas clínicas, levando os enfermos rapidamente à morte (ROSEMBERG, 1999).

Apesar do fracasso da tuberculina, os experimentos de Koch tiveram uma grande contribuição para a bacteriologia, devido a sua metodologia ter sido utilizada como referência por outros bacteriologistas da época, o que posteriormente garantiu sua indicação e premiação ao Prêmio Nobel de Medicina em 1905 devido ao esclarecimento da etiologia da TB. Com isto, o *Mtb* foi nomeado de forma popular de “bacilo de Koch” em referência às suas descobertas (DANIEL, 2006).

No início do século XX, houve a busca de uma terapia eficiente ou de uma vacina com garantia de imunoproteção contra a TB por parte da comunidade científica que ainda realizava tentativas de controlar a tuberculose. Com isto, surge a vacina BCG (Bacilo Calmette-Guérin), desenvolvida por Albert Calmette e Camille Guérin, em 1906. Após 231 subcultivos realizados durante 13 anos, estes pesquisadores obtiveram uma cepa de *M.bovis* com virulência atenuada. Apesar do sucesso inicial da vacina, ainda se fazia necessário continuar a busca de uma terapia eficaz capaz de curar os indivíduos previamente infectados pela TB, tendo em vista que esta vacina não apresentava potencial terapêutico, apenas profilático (BECK, 2000).

Apenas em 1944, os cientistas Selman Waksman, Albert Schatz e Elizabeth Bugie descobriram a estreptomicina (DAVIS, 1966). Esta descoberta foi oriunda do isolamento deste antibiótico de uma bactéria, *Streptomyces griseus* (MADIGAN,

1998). Além de sua grande utilidade contra infecções de diversas patologias, a estreptomicina tornou-se o primeiro fármaco com ação efetiva contra o *Mtb*, sendo implementado como a primeira droga efetivamente importante para o tratamento da TB, garantindo em 1952 o prêmio Nobel para Waksman (DAVIS 1996).

Durante os 30 anos seguintes a descoberta da estreptomicina, novos quimioterápicos foram acrescentados “ao arsenal terapêutico” da tuberculose.

Assim, podemos observar que a descoberta da estreptomicina foi extremamente importante para a mudança na perspectiva letal que se havia pela infecção do *Mtb*, a partir da implementação deste fármaco foi possível obter a cura eficiente de quase todos os casos da doença de forma segura (SILVA, 2017). No entanto, em meados da década de 1970, o rápido surgimento de bactérias resistentes levou a eficácia dos antibióticos utilizados para o tratamento anti-TB ao status de risco.

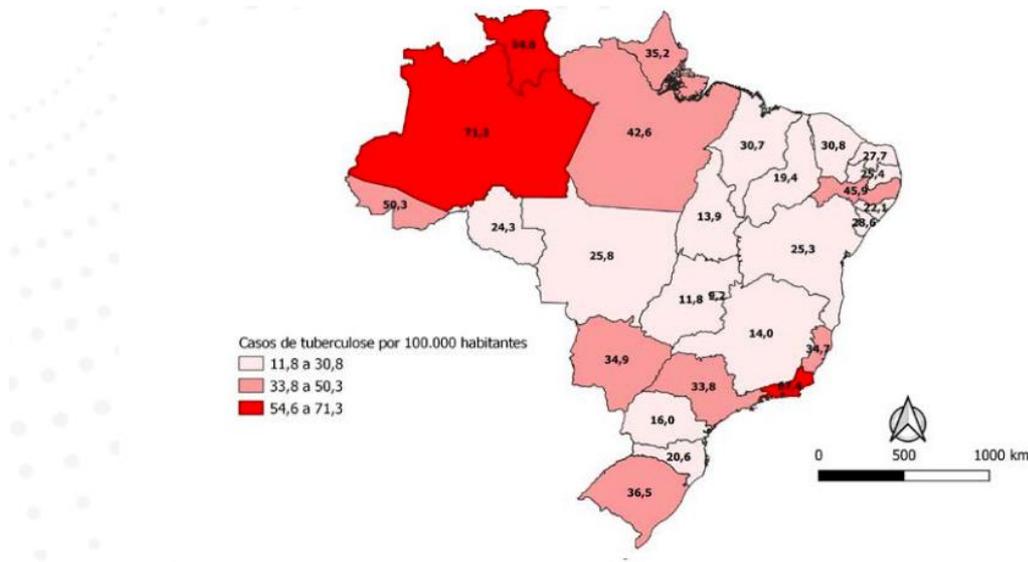
Apesar de outros medicamentos mais eficazes terem sido introduzido para o tratamento da TB, o uso excessivo e inadequado desses medicamentos, assim como a falta de desenvolvimento de novos medicamentos pela indústria farmacêutica, comprometeu o controle da doença com o surgimento da emergência dos casos de resistência as drogas anti-TB (TB DR). (VETOLA, 2015).

2.2. EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE

O *Mtb*, principal agente etiológico da TB afeta predominante sítios pulmonares, causando a forma pulmonar. Além disso, este patógeno pode também afetar com menor prevalência outros órgãos, ocasionando a forma extrapulmonar (WHO, 2018).

Em 2021 foram reportados 6,4 milhões de casos novos de TB pulmonar no mundo, sendo a Índia o país que ocupa a primeira posição no ranking da incidência da doença, enquanto o Brasil ocupa o 20º lugar, tendo a sua distribuição conforme aponta a **Figura 1**.

Figura 1- Coeficiente da incidência da tuberculose (por 100mil hab.). Unidades da Federação, 2021.



Fonte: Sistema de Informação de Agravos e Notificação/ Secretarias Estaduais de Saúde/ Ministério da Saúde: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Com isto, torna-se evidente que a TB continua sendo um problema social, como também uma questão de saúde pública, em contexto mundial (WHO, 2022). A OMS descreve dados extremamente alarmantes em seu relatório global que dizem respeito as taxas de infectados e óbitos causados pelo *Mtb* no ano anterior, em decorrência da pandemia da COVID-19:

“A pandemia de COVID-19 reverteu anos de progresso global no combate à tuberculose e, pela primeira vez em mais de uma década, as mortes pela doença aumentaram. Em 2020, mais pessoas morreram de tuberculose, com muito menos pessoas sendo diagnosticadas e tratadas ou recebendo tratamento preventivo em comparação com 2019 devido à diminuição dos gastos gerais com serviços essenciais para a doença. Estima-se que, em 2020, a TB tenha acometido cerca de 9,9 milhões de pessoas no mundo, sendo responsável por cerca de 1,5 milhão de pessoas morreram de tuberculose em 2020 (incluindo 214 mil entre pessoas que vivem com HIV). Até 2019, a doença era a primeira causa de óbito por um único agente infeccioso, tendo sido, desde 2020, ultrapassada pela COVID-19.” (WHO, 2021).

Em consonância, o cenário epidemiológico brasileiro atual e as consequências da pandemia da COVID-19 em 2020 são apresentados pelo Ministério da Saúde (MS) da seguinte forma:

“No Brasil, em 2021, foram notificados 68.271 casos novos de TB, o que equivale a um coeficiente de incidência de 32,0 casos por 100 mil habitantes. Em 2020, o Brasil, junto com outros 15 países, foi responsável por 93% da redução das notificações da TB no mundo. Essa variação negativa pode ser justificada pelos impactos causados pela pandemia de covid-19 nos serviços e sistemas de saúde. O número de óbitos registrados em 2020 foi de 4.543, o que corresponde a um coeficiente de mortalidade de 2,1 óbitos por 100 mil habitantes e segue a tendência dos últimos anos da série histórica de análise de óbitos por TB no país.” (BRASIL, 2022)

Trazendo à tona a perspectiva brasileira, por meio destes dados torna-se evidente a alta incidência da TB, como também suas altas taxas de mortalidade historicamente continuam. Por outro lado, apesar de em 2020 as notificações de novas infecções pelo *Mtb* terem decaído em 93%, as taxas de óbitos registrados continuaram as mesmas observadas desde 2011, o que coloca em perspectiva os casos de subnotificação causados pela pandemia do Sars-Cov-2. Assim, podemos pressupor que apesar dos avanços científicos acerca da TB ainda existe uma falha no sistema de saúde público brasileiro em diagnosticar indivíduos infectados pelo bacilo, a qual tornou-se ainda mais evidente e crítica, durante a pandemia do Sars-Cov-2 no Brasil (BRASIL, 2022).

Em relação ao perfil epidemiológico da doença no Brasil, em 2021, foram notificados 59.735 casos novos de TB pulmonar. Quanto ao número de notificações de TB por estado, foi evidenciado uma heterogeneidade no país em 2021. Levando em consideração que entre os anos de 2012-2021 as taxas de incidência apresentavam-se de forma controlada, em 2021, onze estados brasileiros atingiram os coeficientes de incidência acima a da média nacional e em comparação a este período, colocando novamente a TB em status alarmante após anos (BRASIL, 2022).

Os maiores coeficientes foram registrados nos estados do Amazonas (71,3), Rio de Janeiro (67,4) e Roraima (54,6), seguidos do Acre (50,3), Pernambuco (45,9), Pará (42,6), Rio Grande do Sul (36,5), Mato Grosso do Sul (34,9), Espírito Santo (34,7), Amapá (35,2) e São Paulo (33,8) (Figura 1) (BRASIL, 2022).

Quanto ao monitoramento dos casos de TBDR, entre 2015 a 2021, foram diagnosticados 6.698 casos novos de TBDR no Brasil, onde apenas 848 foram

notificados em 2021. Também foi observado que dentro deste grupo, a forma clínica mais recorrente da TB é a pulmonar, representando 97,8% dos casos (BRASIL, 2022).

Os casos de coinfeção da TB-HIV no Brasil têm decaído ao longo dos anos, variando de 9,9% em 2012 a 8,3% em 2021. A manutenção desta tendência durante o período analisado é decorrente do aumento das testagens para o HIV em casos novos de TB durante a pandemia da COVID-19, entre os anos 2020 e 2021, com proporções de 82,2% e 76,9%, respectivamente. (BRASIL, 2022). Torna-se importante ressaltar que iniciar o tratamento do HIV em indivíduos com coinfeção TB-HIV de forma precoce, e em seguida, manter o vínculo destes pacientes à rede de atenção e a adesão à TARV (Terapia Anti-retroviral) são recomendações fundamentais dadas pelo MS, visando a diminuição da morbimortalidade nesta população (BRASIL, 2022).

Independentemente das populações de estudo dentro da TB, os indivíduos infectados em sua maior parte são descritos como pertencentes ao sexo masculino, na faixa-etária dos 20 aos 34 anos e de etnia preta ou parda, com maior prevalência em populações carcerárias quando levada em consideração a situação de sócio vulnerabilidade (BRASIL, 2022). A TB também é definida como uma das Doenças de Populações Negligenciadas (DPN), junto a outras patologias como a leishmaniose, malária, dengue, doença de Chagas e hanseníase (DE MORAIS REIS et al., 2016).

As DPN são causadas em decorrência da ação e agentes infecciosos ou parasitas, sendo consideradas endêmicas em populações vulneráveis em países em desenvolvimento. O impacto dessas doenças afeta todo globo de forma preocupante, e o Brasil é um dos países que mais sofre com o descaso dessas enfermidades. Em áreas onde encontramos desigualdades sociais e pobreza, são observadas as condições ideais para incidência dessas doenças, devido as precárias condições sanitárias água potável inapropriada e ao investimento escasso em estruturas para tratamento e diagnóstico precoce das doenças em estudo (DE MORAIS REIS et al., 2016).

2.3. AGENTE ETIOLÓGICO E FATORES DE RISCO DA TUBERCULOSE

A bactéria causadora da tuberculose pertence ao gênero *Mycobacterium*, que

engloba mais 100 espécies, sendo assim denominado devido à presença de ácidos micólicos em sua parede celular (COELHO e MARQUES, 2006). A presença destes ácidos confere a estas bactérias a capacidade de ter baixa permeabilidade, o que reduz o potencial de ação antibacteriano da maior parte dos antibióticos, facilitando, assim, sua habilidade de se manter no interior celular de macrófagos (BRASIL, 2018b).

A espécie mais responsável pelos casos de infecção de TB em humanos é a *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Outras espécies que formam o complexo *Mtb* como: *M. bovis*; *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microtti*, *M. pinnipedi* e *M. caprae* também podem ocasionar a TB. No entanto, apenas as espécies *M. tuberculosis*, *M. africanum* e *M. pinnipedi* são susceptíveis a infectarem seres humanos, enquanto *M. microtti* infecta apenas roedores, *M. pinnipedi* apenas focas e leões marinhos e, por fim, *M. caprae* infecta ovinos e caprinos e *M. bovis* infecta bovídeos e humanos, sendo esta a espécie com maior espectro de espécies hospedeiras (BANULS et al., 2015).

O Gênero *Mycobacterium* também é composto por outras bactérias patogênicas, como o *M. leprae*, que causa a hanseníase, doença totalmente distinta da TB, que afeta principalmente a pele, os olhos, nariz e nervos periféricos. Assim como, também possuem outras espécies potencialmente patogênicas, ou não patogênicas, denominadas como micobactérias não-tuberculosas (MNT) (BAÑULS et al., 2015).

As bactérias do Complexo *Mtb* se apresentam como: estrutura bacilar fina, ligeiramente curvas, podendo medir de 0,2 a 0,6µm de diâmetro e de 1 a 10µm de comprimento, imóveis, não esporulados, não-capsulados, aeróbios estritos e álcool-ácido resistente (BAAR), com faixa de temperatura ótima de crescimento entre 35 e 37°C (COELHO e MARQUES, 2006).

Os principais fatores de risco descritos na literatura associados a TB são a má nutrição, infecção prévia pelo HIV, diabetes mellitus (DM), doença renal crônica, consumo abusivo de álcool e o uso de drogas. Além disto, a vulnerabilidade social também é considerada um fator de risco relevante, sendo constatado que indígenas, pessoas privadas de liberdade ou em situação de rua são mais vulneráveis à TB (GENGENBACHER e KAUFMANN, 2012; DUARTE et al., 2018; NAVA-AGUILERA et al., 2009).

A infecção pelo HIV e a DM são descritos como possíveis causadores da falha

terapêutica em pacientes em tratamento anti-TB. A infecção pelo HIV tende a aumentar susceptibilidade do desenvolvimento da TB ativa em 28 vezes, mediante a infecção pelo *Mtb*. A coinfeção TB-HIV também pode contribuir para o aumento da mortalidade, visto que ambas as doenças estão entre as 10 maiores causas de mortalidade por agentes infectocontagiosos a nível mundial (SAMUELS et al., 2018, SHARAN; KAUSHAL, 2020, BELL; NOURSADEGHI, 2018).

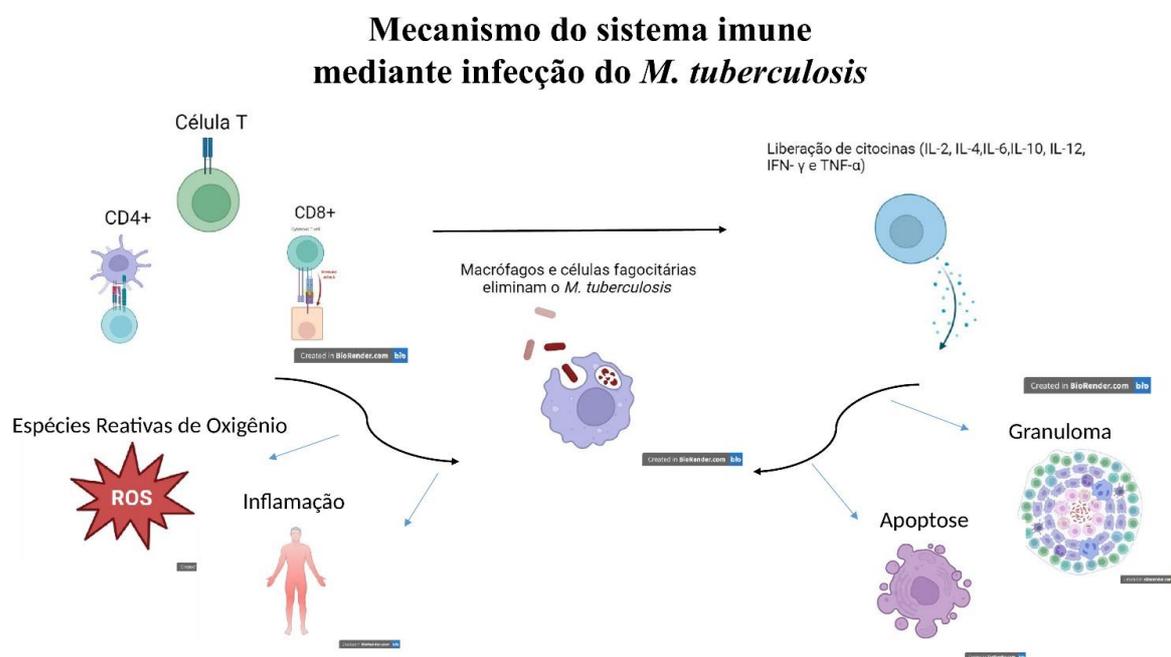
A DM, além de ter sido apontada como um fator de risco para TB, também tem sido associada a falha terapêutica e a não conversão da cultura de escarro após 2 meses de início do tratamento anti-TB, como também aos casos de recidiva da doença. Estas associações são explicadas devido a um desequilíbrio na imunidade celular, bem como a biodisponibilidade reduzida dos fármacos no plasma desses pacientes, em detrimento do ganho de peso durante o tratamento e em decorrência da ausência de ajuste da dose dos medicamentos associadas a esta condição (GAUTAM; MISHRA; KUMAR, 2018, BAGHAEI et al., 2013).

2.4. INFECÇÃO PELO *M. TUBERCULOSIS*, RESPOSTA IMUNE DO HOSPEDEIRO E QUADRO CLÍNICO DA DOENÇA

A infecção pelo *Mtb* ocorre através da inalação de gotículas contaminadas expelidas por um indivíduo com o estado ativo da doença pulmonar. A transmissão ocorre em geral pela tosse, durante fala ou espirro (DHEDA, 2017). No entanto, o sucesso da infecção não depende apenas do contato em si com gotículas contaminadas, mas também da capacidade de infectividade do caso-fonte, a duração do contato com este, o tipo de ambiente compartilhado e da resposta imune do hospedeiro infectado (MARTINEZ et al., 2017).

Dado o contato, as gotículas, quando inaladas, são direcionadas aos pulmões, e devido ao seu pequeno tamanho, conseguem escapar dos mecanismos de defesa e chegar até os alvéolos pulmonares, onde serão imediatamente identificadas por macrófagos e células dendríticas, e, assim, por consequência são fagocitadas por ambos tipos celulares (**Figura 2**) (MARTINEZ et al., 2017). Estas duas células são os primeiros defensores contra o patógeno, e após a sua internalização celular, o *Mtb* inicia seu ciclo de multiplicação intracelular (AHMAD, 2011).

Figura 2 - Esquema do mecanismo do sistema imune mediante infecção do *M. tuberculosis*



Fonte: O autor.

Legenda: A partir do reconhecimento, processamento e apresentação de antígenos do *Mtb* por células fagocitárias, células T CD4+ e CD8+ são ativadas iniciando a secreção de IFN- γ junto a outras citocinas pró-inflamatórias, que induzem a ativação da resposta fagocítica visando eliminar o bacilo infectante por meio da liberação de Espécies Reativas de Oxigênio, indução da resposta inflamatória, apoptose e formação do granuloma.

Durante o início da infecção, a resposta imune inata é preponderante, no qual as estruturas do *Mtb* são identificadas pelas células a partir de receptores de reconhecimento padrão (PRRs), como os receptores Toll Like (TLR) (LIU; LIU; GE, 2017). Em seguida à identificação, os mecanismos de defesa são ativados, como a fagocitose, apoptose e ativação do inflamassoma (CHAI; LU; LIU, 2020). As células da imunidade adaptativa, células T CD4+ e T CD8+, são de grande importância para a defesa do hospedeiro mediante o estabelecimento da infecção do patógeno, levando à expressão de IFN- γ , que induz células infectadas a ativarem mecanismos de combate à replicação intracelular bacteriana (**Figura 2**) (MARTINEZ et al., 2017).

Os macrófagos alveolares são as primeiras células de defesa, exercendo a fagocitose sobre o *Mtb*. Em seguida são recrutadas células dendríticas e macrófagos derivados de monócitos para potencializar a atividade fagocitária (VAN CREVEL; OTTENHOFF; VAN DER MEER, 2002). O processo de fagocitose do *Mtb* é possibilitado pela sua ligação a diversos receptores, como os receptores de manose

(MR), receptores do complemento (CR), receptores scavengers, moléculas surfactantes e moléculas de adesão intracelulares específicas derivadas das células dendríticas (MAYER-BARBER e BARBER, 2015, VELASCO-VELÁZQUEZ et al., 2003).

Após o sucesso do processo de fagocitose, o *Mtb* pode ser destruído pelos macrófagos, no entanto, caso o bacilo venha a sobreviver ele irá se proliferar dentro das células dendríticas e macrófagos alveolares, promovendo a formação de fagossomos, que auxiliam a multiplicação intracelular do bacilo e promove uma falha imunológica no sistema imune, impossibilitando sua detecção (FOGEL, 2015). Concomitante a isto, ocorre uma sinalização para a produção das interleucinas (IL) IL-1a, IL-1b e outras citocinas pró-inflamatórias do hospedeiro no início da ativação da resposta imune (**Figura 2**) (AHMAD, 2011).

Os macrófagos, assim que ativados, apresentam vários mecanismos de defesa que auxiliam na eliminação do *Mtb*, como a acidificação do fagossomo e a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Figura 2) (LIU; LIU; GE, 2017). No entanto, o *Mtb* também pode vir a apresentar mecanismos de evasão contra as tentativas de defesa do hospedeiro, como o impedimento da fusão fagossomo-lisossomo, impossibilitando a maturação do fagossomo e, assim, continuam a se multiplicar intracelularmente (DERETIC et al., 2006).

O reconhecimento do *Mtb* pelas células fagocíticas induz a ativação celular e a produção de citocinas, as quais possuem um papel de destaque na resposta inflamatória e no desfecho da infecção pelo patógeno (VAN CREVEL; OTTENHOFF; VAN DER MEER, 2002). Com isto, os macrófagos alveolares produzem citocinas e quimiocinas com atividade pró-inflamatórias que exercem a função de sinalizar o processo infeccioso ativo (**Figura 2**) (AHMAD, 2011).

Vale ressaltar que a capacidade do hospedeiro em identificar a presença de um patógeno, a partir dos mecanismos do sistema imune inato, é extremamente importante para que seja desenvolvida uma resposta imune adaptativa em seguida frente à infecção (CHACKERIAN et al., 2002). Sabe-se que há um atraso entre o estabelecimento da infecção pelo *Mtb* e o recrutamento e ativação de células T, o que leva ao aumento significativo de bacilos antes que as células do sistema imune adaptativo possam agir com efetividade contra a infecção. Este atraso é causado devido a um mecanismo de virulência do patógeno na tentativa de tardar a maturação

de células dendríticas, evitando o seu transporte para os linfonodos (MAYER-BARBER e SHER, 2015, BEHAR et al., 2014).

As células dendríticas que tiveram processo de fagocitose ativo sobre os bacilos do *Mtb* migram para os linfonodos, onde células T CD4+ e CD8+ serão ativadas e apresentadas aos antígenos do patógeno (AHMAD, 2011).

Portanto, a imunidade adaptativa se torna funcional apenas entre três a oito semanas após a infecção primária pelo *Mtb*, que é quando se inicia a migração das células dendríticas que transportam o patógeno até os linfonodos pulmonares (JASENOSKY et al., 2015). A partir disto, as células T são ativadas levando à formação de granulomas no sítio de infecção (AHMAD, 2011). O granuloma é um importante marcador patológico para a TB, sendo definido como um agregado de macrófagos maduros ao redor de um centro necrótico, e promovem um estímulo contínuo podendo ser descrito como um mecanismo de prevenção da disseminação do bacilo para sítios extrapulmonares, apesar de se tornar um nicho para persistência bacteriana (CADENA; FORTUNE; FLYNN, 2017).

A replicação dos bacilos no interior do granuloma tem continuidade em até aproximadamente quatro semanas, concomitantemente à ativação do sistema imune adaptativo, entretanto, quando se tem uma carga bacilar elevada, o granuloma tende a não conseguir conter esses bacilos, levando a sua liberação para o meio externo (CADENA; FORTUNE; FLYNN, 2017). Com isto, existe a possibilidade da chegada dos bacilos a outros órgãos, mediante a disseminação através da corrente sanguínea, ou reentrar no trato respiratório, o que dá início ao ciclo de transmissão, sendo expectorado pelo indivíduo infectado para o ambiente, que neste determinado momento encontra-se sintomático e com a forma ativa da doença (LEWINSOHN et al., 2017).

Apesar da tuberculose poder ser observada como uma sequência de eventos, desde a infecção pelo *Mtb* até o processo infeccioso ativo, os indivíduos infectados, por questões clínicas, primordialmente, e de saúde pública, são divididos em dois grupos: portadores de infecção latente (ILTB) ou TB ativa (NEFADE et al., 2018). A WHO (2018) estima que cerca de 1,7 bilhões de pessoas, correspondendo a 23% da população mundial, tenha ILTB, estando, assim, em risco eminente de desenvolver TB ativa em algum momento durante sua vida.

Quanto as formas clínicas da tuberculose, é importante inicialmente destacar

que de acordo com o Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil (2021): “Não raramente, a TB pode manifestar-se sob diferentes apresentações clínicas, relacionadas com o órgão acometido. Desta forma, outros sinais e sintomas, além da tosse prolongada, podem ocorrer e devem ser valorizados na investigação diagnóstica individualizada (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). ” Assim, torna-se evidente a dificuldade do rastreio para o controle da doença quando pensamos que a análise clínica do paciente, que também é um dos métodos de diagnóstico extremamente importante, devendo ser realizada de forma minuciosa, apesar de na maioria das vezes poder direcionar a hipótese médico-clínica para outra patologia.

A tuberculose pulmonar pode se apresentar de três formas: primária (ocorre em seguida ao primeiro contato do indivíduo com o bacilo, sendo mais comum em crianças, apresentando manifestações clínicas insidiosas como febre baixa, sudorese noturna, inapetência e irritabilidade, com exame físico rotineiramente inexpressivo); secundária ou pós-primária (podem ocorrer em qualquer idade, especialmente em adolescentes e jovens adultos, sendo esta a forma mais comum tendo como característica principal a tosse seca ou produtiva, o que geralmente é o motivo da procura as unidades de saúde); miliar (diz respeito a um aspecto radiológico pulmonar específico, podendo ocorrer nas formas anteriores, sendo esta considerada a forma grave da doença, a qual é a fase mais comum em pacientes imunocomprometidos, como infectados pelo HIV ou idosos, apresentando sintomas como febre, astenia, emagrecimento e tosse, além de no exame físico poder indicar hepatomegalia, alterações no sistema nervoso central e/ou alterações cutâneas do tipo eritemato-máculo-pápulo-vesiculosas) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Apesar desta divisão, os sintomas clássicos, como tosse persistente seca ou produtiva, febre vespertina, sudorese noturna e emagrecimento, podem ocorrer em qualquer das três formas de apresentação. Nos casos em que são relatados tosse produtiva, a expectoração pode ser do tipo purulenta ou mucoide, com a presença ou ausência de sangue. A febre vespertina, sem calafrios, costuma atingir em volta dos 38,5°C. A sudorese noturna e a anorexia são sintomas comuns, porém inoposíficos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

O exame físico geralmente indica doença crônica e emagrecimento, apesar de indivíduos com bom estado geral e sem perda de apetite também possam estar com TB pulmonar ativa. A ausculta pulmonar pode apresentar diminuição do murmúrio

vesicular, sopro anfórico ou até mesmo ser normal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Outras formas não-pulmonares da tuberculose, conhecidas como extrapulmonares podem ser observadas no Brasil, como por exemplo: pleural; empiema pleural tuberculoso; ganglionar periférica; meningiocefálica; pericárdia; óssea. Estas formas extrapulmonares ocorrem com menos frequência que as pulmonares, sendo fortemente associadas a pacientes imunocomprometidos e seus sinais e sintomas em geral são localizados nos órgãos infectados pelo *Mtb* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

2.5. DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

O diagnóstico para a TB atualmente, é iniciado com o diagnóstico clínico do paciente, afim de buscar sintomas clássicos da doença, seja ela pulmonar ou extrapulmonar, associado aos hábitos, estilo de vida, moradia ou comorbidades que possam direcionar a hipótese médica para a tuberculose. A TB também deve ser incluída no diagnóstico diferencial, que é o passo seguinte para a confirmação da doença, em casos de febre de origem indeterminada, síndrome consumptiva, pneumonias de resolução lenta e todos os pacientes com tosse prolongada sem causa conhecida. Assim, na forma pulmonar, o diagnóstico diferencial deve ser feito principalmente para a diferenciação de silicose, infecções fúngicas, neoplasias, infecções bacterianas, outras micobacterioses, doenças autoimunes, embolia pulmonar e vasculites pulmonares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Os exames bacteriológicos e de imagem são as principais ferramentas para o diagnóstico diferencial da TB. O exame microscópico direto ou baciloscopia direta, teste rápido molecular para a tuberculose (TRM-TB) ou Gene Xpert (GXP) e cultura da micobactéria são os métodos bacteriológicos mais recorrentes na rotina médica para o diagnóstico da TB (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

A baciloscopia consiste na observação de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR) pelo método de Ziehl-Nielsen nas amostras de dois dias consecutivos de escarro (forma pulmonar), lavados (forma pulmonar) ou punções (formas extrapulmonares), garantindo o diagnóstico da TB em 60-80% dos casos em adultos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Apesar disto, a sua utilidade é limitada ao

diagnóstico apenas na presença de tosse produtiva (no caso das formas pulmonares), dificultando um diagnóstico precoce da doença, sendo também um dos métodos iniciais de monitoramento terapêutico, onde a ausência de bacilos na amostra, enquanto houver tosse produtiva, indicaria o sucesso terapêutico (SAKTIAWATI et al., 2019).

O GXP é indicado com prioridade para o diagnóstico das formas pulmonares e laríngeas da TB em adultos e adolescentes, e consiste numa amplificação de ácidos nucleicos para a detecção de DNA dos bacilos do complexo Mtb. Além disso, esse teste é capaz de detectar cepas resistentes à rifampicina pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. O teste apresenta seu resultado em aproximadamente 2 horas, sendo utilizada apenas uma amostra de escarro para a análise. Apesar de possuir uma sensibilidade de 90%, sendo superior à baciloscopia, este teste é indicado para ser aplicado apenas em pacientes que ainda não iniciaram o tratamento, sendo associado à baciloscopia positiva para a confirmação do diagnóstico da TB e rastreio dos pacientes TBDR primários ou TBDR secundários. Em caso de agravamento de sintomas, com a hipótese de falha terapêutica, o teste não deve ser utilizado após início do tratamento, assim como para monitorar a eficácia terapêutica, devido à positividade do teste pela detecção de material genético de bactérias mortas pela ação dos fármacos anti-TB (WHO, 2011).

O teste da cultura é o método com maior sensibilidade e especificidade, sendo este considerado o padrão-ouro para o diagnóstico da TB e relevante para o diagnóstico bacteriológico em casos pulmonares com baciloscopia negativa. Este método utiliza a semeadura das amostras biológicas em meios de cultura sólidos à base de ovo (Löwenstein-Jensen e Ogawa-Kudoh) ou líquidos, sendo que o primeiro tipo de meio é mais utilizado por ser menos custoso, apesar do tempo de detecção do crescimento bacteriano variar de 14-30 dias, ainda podendo se estender por 8 semanas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). A identificação da espécie crescida no meio é feita por métodos fenotípicos ou por técnicas moleculares. É importante destacar que a partir do exame da cultura também é feito o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TS), que quando realizado em meio sólido deve permanecer 42 dias incubado para a obtenção do resultado da sensibilidade aos fármacos de primeira linha para o rastreio dos casos de TBDR (PETRONE et al., 2019, KANADE et al., 2019, HOEL et al., 2019).

O resultado da cultura confirma o diagnóstico de micobacteriose, sendo ainda necessária a posterior identificação da espécie para diferenciação de um caso de TB ou MNT. Apesar do exame da cultura ser a opção mais segura para o diagnóstico da TB, esta metodologia ainda não é a melhor escolha para monitorar o tratamento da doença, tornando necessário o encorajamento e apoio à pesquisa de outros métodos alternativos para o diagnóstico e monitoramento terapêutico da doença.

O diagnóstico por imagem deve ser acompanhado de um diagnóstico bacteriológico, devido a sua pouca especificidade de padrões radiológicos pulmonares voltadas à TB. A radiografia do tórax é a melhor escolha na avaliação inicial e no monitoramento terapêutico da TB, podendo ser observado vários padrões radiológicos sugestivos de atividade da doença, como cavitações, nódulo, consolidações, massas, processo intersticial (miliar), derrame pleural e alargamento do mediastino. O exame de imagem em pacientes com diagnóstico bacteriológico inicial tem como objetivo excluir a possibilidade de outra doença pulmonar, avaliar a extensão do acometimento pulmonar e a evolução radiológica durante o tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021, BOMBARDA, 2001).

Além do uso da radiografia, a tomografia computadorizada (TC) do tórax também é um método eficaz para o rastreamento e acompanhamento da TB, sendo um método mais sensível para demonstrar alterações anatômicas dos órgãos ou tecidos comprometidos e é indicado na suspeita de TB pulmonar quando a radiografia inicial é normal (BOMBARDA, 2001).

Paralelamente aos testes bacteriológicos e de imagem, ainda existem os testes imunológicos, como o PPD (sigla em inglês para “derivado proteico purificado”) ou PT (Prova Tuberculínica) e o Ensaio de Liberação do Interferon-Gama (Interferon-gamma Release Assay- IGRA). Ambos os testes têm sido utilizados para o diagnóstico da ILTB e também pode auxiliar o diagnóstico da TB ativa em crianças (WHO,2018).

O PPD consiste na inoculação intradérmica de um derivado protéico purificado do *Mtb*, chamado tuberculina, com o intuito de avaliar a resposta imune celular a esses antígenos, não existindo evidências da utilização do PPD como ferramenta diagnóstica da TB ativa, independente de forma pulmonar ou extrapulmonar. Assim, um PPD positivo indica a infecção por *Mtb*, não confirma o diagnóstico para TB ativa, assim como um resultado negativo não exclui a possibilidade de processo patológico ativo (FARGA e CAMINERO, 2011, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

O IGRA foi desenvolvido como alternativa diagnóstica para a detecção da infecção pelo *Mtb*, sendo um teste imunológico baseado no conceito de que as células T de indivíduos sensibilizados por antígenos do *Mtb* secretam Interferon-gama (IFN- γ) quando estimuladas por antígenos específicos do bacilo, tais como o ESAT-6 (earlysecretedantigenic target 6), CFP-10 (culturefiltrateprotein 10) e o TB7.7 (TONBY et al., 2015). Os testes IGRAs atualmente é usado para o diagnóstico da infecção pelo patógeno em países desenvolvidos. No entanto, esta técnica não permite diferenciar a doença latente da TB ativa. O aperfeiçoamento desse teste ocorreu devido à identificação de segmentos genômicos do *Mtb* que se encontram ausentes nas cepas da BCG, como também na maioria das micobactérias ambientais, assim, portanto, sendo específicos para o *Mtb* (MENZIES; JOSHI; PAI, 2007).

O IGRA tem sido apresentado nos últimos anos como potencial substituto ou complemento ao PPD nos países de alta renda, devido principalmente ao fato do IGRA não apresentar reação cruzada com a vacinação prévia com BCG e por infecção prévia por MNT (FERRARA et al., 2006).

Os testes dos IGRAs apresentam outras vantagens em relação ao PPD, como por exemplo: não há possibilidade do viés da leitura do resultado por diferentes profissionais, redução dos efeitos adversos no paciente durante o procedimento do teste, na qual necessita apenas uma coleta de sangue, enquanto o PDD causa reações de hipersensibilidade e requer o retorno do paciente para a leitura do teste após 48-72h. As desvantagens do IGRA incluem o seu custo elevado em comparação ao PPD, a necessidade de coleta de sangue, a não recomendação para testes seriados, a frequência de resultados indeterminados, necessidade de laboratório bem equipado e do manuseio cuidadoso para a manutenção da viabilidade dos linfócitos (FERRARA et al., 2006).

O tratamento da tuberculose possui como objetivos principais: 1) a diminuição da carga bacilar para evitar o contágio de outras pessoas, bem como o óbito do paciente; 2) a prevenção do desenvolvimento de TB resistente e evitar possíveis recaídas mesmo após o término do tratamento (PASCUAL-PAREJA et al., 2018). Diante disso, a terapia anti-TB é dividida em duas fases: uma extensiva e outra de manutenção. A primeira fase busca a redução da carga bacilar e da taxa de transmissão do *Mtb*, além de prevenir o desenvolvimento dos casos de resistência, enquanto a segunda fase é focada na utilização de fármacos com propriedades

esterilizantes com o intuito de eliminar os bacilos que possam ter resistido à primeira fase, assim, evitando possíveis recaídas (PASCUAL-PAREJA et al., 2018).

Quando não existem indícios de resistência às drogas, o tratamento inicial possui apenas 6 meses de duração. A primeira linha de tratamento, utilizada na fase intensiva, possui a duração de 2 meses, sendo composta pelas drogas isoniazida (H), rifampicina (R), pirazinamida (Z) e etambutol (E), seguida pela fase de manutenção, com a duração de 4 meses, sendo continuada apenas a administração da rifampicina e isoniazida (LAN et al., 2016, ALLUÉ-GUARDIA e TORRELLES, 2021, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Nos casos de TB pulmonar, a OMS recomenda que seja realizada uma cultura de escarro ao final do segundo mês de tratamento, e caso o resultado seja positivo, sugere-se que a fase intensiva seja estendida por mais dois meses, antes de se iniciar a fase de manutenção (RABAHI et al., 2017).

A emergência de casos de TBDR, particularmente os multidrogarresistentes (TBMDR), os quais são definidos pela apresentação de resistência *in vitro* a pelo menos a rifampicina e isoniazida, também tem sido uma das problemáticas acerca da terapia anti-TB (SAMUELS et al., 2018). Quando se tem um quadro de TBMDR, o tratamento de primeira linha não será eficaz, tornando-se necessária a alteração do esquema de tratamento. Neste novo esquema, é obrigatório o uso de medicamentos injetáveis de 1º linha (estreptomicina) ou de 2º linha (canamicina, amicacina e capreomicina), sendo o seu uso necessário por no mínimo 6 meses na via intramuscular ou endovenosa. Medicamentos da classe das fluoroquinolonas (ofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina) também são de uso obrigatório no esquema de tratamento para TBMDR, sendo a levofloxacina o mais utilizado em dose única diária. Podem ainda também ser incluídos medicamentos orais de 2º linha, como a terizidona, dependendo do histórico do paciente (SEUNG; KESHAVJEE; RICH, 2015).

A OMS estima que cerca de 10% dos indivíduos que são confirmados com TBMDR evoluem para um quadro de TB extensivamente resistente (TBXDR), chegando a apresentar resistência a rifampicina, isoniazida, fluoroquinolona e a pelo menos uma droga injetável de 2º linha. Sendo assim, torna-se importante que todo paciente com TBMDR deve ser avaliado quanto a uma possível evolução para TBXDR (SAMUELS et al., 2018, SEUNG; KESHAVJE; RICH, 2015).

A eficácia do tratamento da TB, é frequentemente dada através da conversão

da cultura de escarro para um resultado negativo após os 2 meses de tratamento. No entanto, além da grande demanda de tempo para a liberação de resultados, o teste tem baixa sensibilidade em pacientes paucibacilares, como as crianças e indivíduos co-infectados com o HIV como também não possui aplicação em casos de TB extrapulmonar. A baciloscopia também é utilizada com o mesmo propósito, apesar de apresentar menor sensibilidade e especificidade em comparação à cultura de escarro (HORNE et al., 2010, HOEL et al., 2019, GOLETTI et al., 2018).

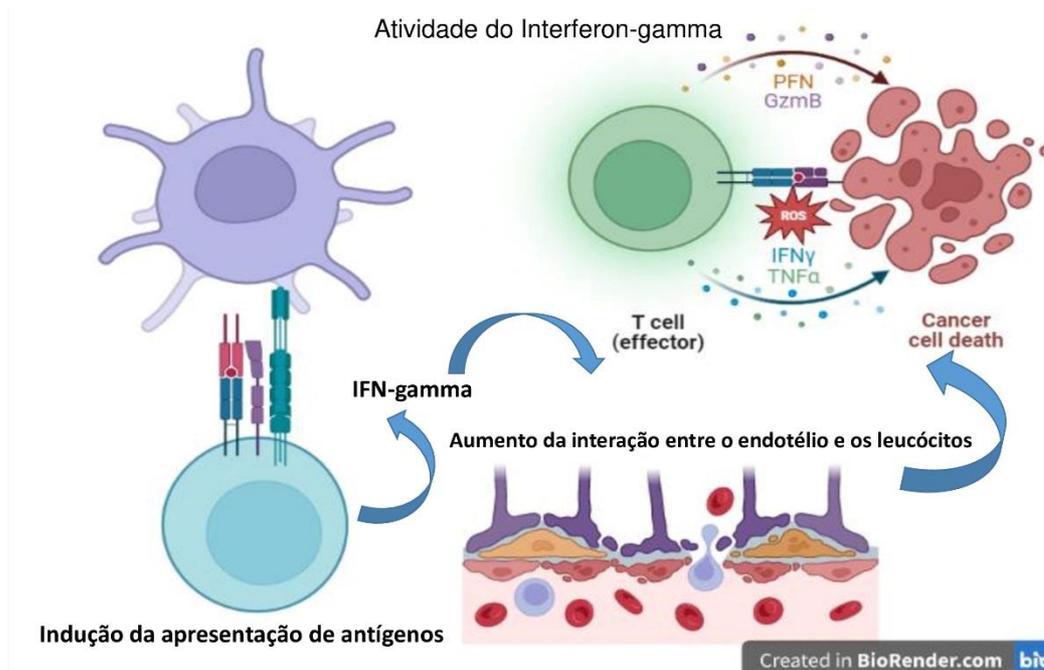
2.6. BIOMARCADORES SANGUÍNEOS

Os biomarcadores são variáveis genéticas, imunológicas ou bioquímicas que se relacionam com a expressão de uma doença. Como exemplo, o caso de doenças inflamatórias crônicas e neoplásicas, onde os marcadores encontram-se alterados, em comparação aos níveis basais de um indivíduo saudável, com a atividade ou remissão do processo patológico. Portanto, as variáveis dos biomarcadores podem contribuir de forma extremamente importante para o acompanhamento de um tratamento direcionado, elucidando ao médico como o organismo se comporta mediante a administração das medicações. Por outro lado, quando falamos sobre processos infecciosos, como a própria TB, os biomarcadores destacam-se devido a seus valores preditivos acerca da evolução clínica, tendo em vista a transição entre as formas assintomáticas, oligossintomáticas e clássica dessas doenças (SCHRIEFER e CARVALHO, 2008).

Diversas moléculas imunológicas têm se destacado como biomarcadores sanguíneos com potencial diagnóstico e para o monitoramento ao tratamento anti-TB. Neste estudo, priorizamos avaliar o potencial do INF- γ como biomarcador para resposta terapêutica anti-TB. O interferon-gama (IFN- γ) é uma citocina pleiotrópica, que modula tanto as redes imunes inatas quanto adaptativas. É conhecido como o ativador mais potente de macrófagos, como também uma citocina de assinatura de linfócitos T ativados. Embora atualmente o IFN- γ seja visado por ter uma infinidade de papéis na modulação imunológica e defesa de patógenos de amplo espectro, foi originalmente descoberto, e nomeado, como um fator secretor que interfere na replicação viral. Além disto, sabe-se que esta citocina pode potencializar a apresentação dos antígenos, aumentando o reconhecimento de antígeno via

interação de células T e aumentando a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e Nitrogênio Reativo Intermediários (RNIs), induzindo reposta antiproliferativa em células cancerosas, e, por fim, induzem respostas imunológicas contra vários patógenos (**Figura 3**) (KANG; BROWN; HWANG, 2018).

Figura 3- Atividade do Interferon- γ



Fonte: O autor.

Legenda: Esquema ilustrativo acerca das funções indutoras do IFN- γ mediante a apresentação de antígenos às células T CD4+ por macrófagos, culminando na estimulação da secreção da citocina que aumenta a interação entre o endotélio e os leucócitos, ocasionando a ativação de células T CD8+ que eliminam as células cancerígenas ou outros patógenos como *Mtb*.

O IFN- γ é a citocina de maior relevância no controle da infecção pelo *Mtb*, sendo produzido pelas células T CD4+ e CD8+ (FLYNN, 2004). Também já se é relatado na literatura o seu efeito em MHC de classe I e II, aumentando a expressão dessas moléculas na superfície celular, e assim, potencializam a apresentação de antígenos na superfície celular através do MHC, facilitando o reconhecimento desses antígenos pelos linfócitos T CD8+ via MHC II e pelos T CD4+ via MHC I (Figura 3) (BEHAR et al., 2014).

Além disso, o IFN- γ tem sido descrito como um importante fator na interação entre o endotélio e os leucócitos, como também na atração por quimiotaxia de células

imunocompetentes para os focos de inflamação, sendo assim, uma importante citocina com potencial marcador alternativo para os testes de imunodiagnóstico para a tuberculose (**Figura 3**). Tendo em vista que suas alterações, mediante a infecção do patógenos são descritas pela literatura desde as fases iniciais, apesar de ser exclusiva ao processo ativo da TB, podendo também estar alterada em outras patologias (CHEGOU et al., 2013). No entanto, há escassez de estudos que utilizem esta molécula-alvo em populações heterogêneas, como a brasileira e em pacientes com TBDR. Diante destas limitações, este estudo visa conhecer o comportamento do perfil de secreção de IFN- γ em uma coorte de pacientes em tratamento para TBDR.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil clínico-sócio-demográfico e de INF- γ dos pacientes em tratamento para TB drogaresistente (TBDR).

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o perfil clínico e sócio-demográfico da TBDR da coorte do estudo;
- Avaliar os níveis de INF- γ nos sobrenadante de cultura de células de sangue (estimuladas com ou sem antígenos específicos para TB) dos pacientes com TB em tratamento com drogas anti-TB nos tempos 0, 2 e 6 meses;

4. METODOLOGIA

4.1. DESENHO E LOCAL DO ESTUDO

Foi realizado um estudo retrospectivo e observacional, entre os anos de 2021 e 2022, dos níveis de INF- γ no sangue de 10 pacientes com tuberculose TBDR antes de iniciarem o tratamento e após 2 e 6 meses de tratamento com drogas anti-TB de segunda linha. Todos os pacientes foram obtidos nos serviços de saúde e hospitais de referência para tuberculose de Pernambuco (Hospital das Clínicas- HC e Hospital Otávio de Freitas- HOF), diagnosticados e tratados pelos médicos acompanhantes de cada serviço público de saúde.

4.2. CRITÉRIOS DE PERDA

Casos com impossibilidade clínica de coleta das amostras biológicas ou cujas amostras foram insuficientes para o processamento no laboratório foram excluídos deste estudo, assim como pacientes que não tiveram a confirmação por exames bacteriológicos para TB e TBDR.

4.3. SELEÇÃO E INCLUSÃO DOS PARTICIPANTES NA PESQUISA

Os voluntários que concordaram em participar do estudo foram recrutados após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ou representante legal, no caso de menores de 18 anos completos) (APÊNDICE B) e preenchimento do questionário socioeconômico (APÊNDICE A). Foram incluídos pacientes a partir dos 15 anos de idade, com diagnóstico confirmado para TB, pelo teste de baciloscopia e/ou cultura positivo com no mínimo uma cruz (+), sendo este critério aplicado e expandido aos pacientes do grupo TBDR mediante a apresentação do teste de sensibilidade às drogas ou do teste molecular GeneXpert (GNX) para determinação do padrão de resistência. Os pacientes foram recrutados antes do início do tratamento, após 2 e 6 meses da terapia

medicamentosa. Os dados laboratoriais dos pacientes como baciloscopia, GNX, cultura e testes de sensibilidade às drogas foram obtidos a partir dos prontuários médicos e utilizados para avaliar a evolução clínica da doença e outras informações clínicas e demográficas foram obtidos a partir de um questionário aplicado para o paciente no momento do recrutamento e coleta de sangue.

4.4. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue foram coletadas nos tubos TB1, TB2 e Nil do provenientes do kit QFT®-Plus (Qiagen). Após a coleta, os tubos foram incubados a 37 °C durante um período de 16h-24h. Os tubos TB1 e TB2 possuem antígenos específicos para o Mtb, enquanto que o tubo Nil não apresenta antígenos. Em seguida, os tubos foram centrifugados à 2465 x g sem pausa à temperatura ambiente por 25 minutos. O sobrenadante obtido foi aliquotado em duplicada, armazenados em microtubos devidamente identificados em freezer a -20 °C e posteriormente utilizados para análise do INF- γ (**Figura 4**).

Figura 4 - Fluxograma do processamento das amostras



Fonte: O autor.

Legenda: Coleta das amostras nos tubos do kit IGRA TB Gold Plus, em seguida a centrifugação dos tubos a 2465 x g sem pausa por 25 min, com posterior incubação em estufa de CO₂ a 37°C por um período de 16-24h, findando no armazenamento das alíquotas etiquetadas em um freezer a -20°C.

4.5. DETECÇÃO DOS NÍVEIS DE INTERFERON-GAMMA POR CITOMETRIC BEAD ARRAY (CBA)

Os níveis de INF- γ foram quantificados no sobrenadante da cultura de sangue de todos os participantes da pesquisa através do sistema Cytometric Bead Array (CBA), seguindo a metodologia sugerida pelos fabricantes do kit BD™ CBA Human Th1/Th2 Cytokine Kit II (Catalog No. 551809). Todas as citocinas foram avaliadas, no entanto apenas o INF- γ é descrito neste trabalho. Os dados do CBA foram adquiridos no citômetro de fluxo FACScalibur da plataforma tecnológica do IAM/Fiocruz e as análises foram realizadas através do Software FCAP Array (versão 3.10) (Beckton Dickson). O mix de beads fluorescentes de captura contendo a bead anti-INF- γ foi realizado após determinação da quantidade de amostras a serem analisadas e 25uL foram adicionados a tubos de citometria. Em seguida, 25uL de amostra foram adicionados aos tubos identificados. Este procedimento foi finalizado com a adição de 25uL do reagente de detecção, que é um mix de anticorpos anti-INF- γ conjugados ao fluorocromo PE. Os tubos foram homogeneizados e incubados durante 3h a temperatura ambiente. Após a incubação, as beads foram lavadas com 500uL de tampão de lavagem e centrifugados por 5 minutos a 200 x g. Após centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente descartado, e novamente foi adicionado 200 μ l de tampão Wash em cada tubo, e eles permaneceram refrigerados overnight até o momento da aquisição dos dados da análise. Os dados foram adquiridos no citômetro de fluxo FACScalibur da plataforma tecnológica do IAM/Fiocruz, e foram submetidos a análises realizada através do Software BD CBA (Beckton Dickson).

4.6. ANÁLISE DOS RESULTADOS E ESTATÍSTICA

A análise dos níveis de INF- γ foi realizada através do software GraphPad Prism 8.0 Windows® (E.U.A.), onde os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e em seguida ao teste de Wilcoxon (pareado e não paramétrico) na coorte em diferentes tempos de tratamento. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de $p < 0.05$.

4.7. ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz (CAEE: 97931218.1.0000.5190) (ANEXO A

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. PERFIL CLÍNICO-SOCIO-DEMOGRÁFICO DA COORTE DE TBDR DO ESTUDO

A coorte deste estudo foi iniciada em outubro de 2019, no entanto devido à pandemia, o monitoramento e coleta das amostras biológicas dos pacientes foram interrompidos no ano 2020, sendo o recrutamento do grupo de tuberculose resistente (TBDR) retomado apenas em outubro de 2021. Dos 55 pacientes diagnosticados com TBDR neste período, só foi possível acompanhar o seguimento de 10 pacientes até o sexto mês de tratamento para a análise do IFN- γ .

Na tabela 1 podemos observar o perfil clínico e das variáveis sócio demográficas referentes ao grupo de pacientes da coorte do estudo. .

Tabela 1 – Dados clínicos e variáveis sociodemográficas dos pacientes do grupo TBDR

GRUPO TBDR (N = 10)	
Gênero	
Feminino	04 (40%)
Masculino	06 (60%)
Idade	42,8 (21 – 65)
Vacina BCG	
Vacinado	06 (60%)
Não vacinado	0 (0%)
Não sabe	04 (40%)
Comorbidades	
Hipertensão	01 (10%)
Diabetes	01 (10%)
HIV	01 (10%)
Sem comorbidades	07 (70%)
Sítio de Infecção	

Pulmonar	09 (90%)
Extrapulmonar	01 (10%)

Tipo de Lesão Pulmonar

Unilateral	06 (60%)
Bilateral	03 (30%)

Cavitação

Lesão cavitária	04 (40%)
Lesão não cavitária	05 (50%)

Grau de Escolaridade

Ensino Fundamental incompleto	05 (50%)
Ensino Fundamental completo	01 (10%)
Ensino Médio completo	02 (20%)
Ensino Superior completo	02 (20%)

Etnia

Negra	03 (30%)
Amarela	0 (0%)
Parda	04 (40%)
Indígena	0 (0%)
Branca	03 (30%)

Situação Trabalhista

Empregado com carteira assinada	03 (30%)
Autônomo	02 (20%)
Desempregado	04 (40%)
Estudante	01 (10%)

Fonte: O autor.

Legenda: Distribuição dos dados de gênero, idade, vacinação com a BCG, comorbidades, sítio de infecção, tipo de lesão pulmonar, cavitação, grau de escolaridade, etnia e situação trabalhista dos pacientes acompanhados no estudo.

O gênero predominante no grupo TBDR do estudo foi o masculino (60%) e de etnia parda (40%). A maioria dos pacientes confirmaram ser vacinados com a BCG

(60%). Em relação as comorbidades, foi observada a mesma frequência para hipertensão, diabetes e HIV (10%).

É relevante ressaltar que o perfil epidemiológico de pacientes de TBDR observado no nosso estudo em relação ao gênero, idade, comorbidade e forma da doença corroboram com o perfil epidemiológico atual da TB no Brasil. (BRASIL, 2022). A TB pulmonar foi predominante (90%) na coorte do estudo, sendo acompanhado somente um paciente com TB extrapulmonar do tipo intestinal (10%).

Em relação as lesões pulmonares, a lesão unilateral (60%) e não cavitária (50%) foram as mais frequentes. A cavitação é um processo patológico de dano pulmonar, do tipo necrose, decorrente da expansão proliferativa do *Mtb*, estando assim associada à atividade e severidade da doença (KOZAKEVICH e DA SILVA, 2015). A predominância da forma não cavitária indica que a detecção da multirresistência na maior parte dos casos desta coorte foi feita de forma precoce, ou seja, antes do início do processo de cavitação, o qual leva ao quadro de hemoptise e anemia severa, sendo estes sintomas clássicos da TB ativa em graus mais avançados.

O perfil sociodemográfico dos pacientes do grupo TBDR incluídos neste estudo é representado por indivíduos com Ensino Fundamental Incompleto (40%), de etnia parda (40%) e desempregados (40%). Estes dados também se encontram de acordo com as variáveis epidemiológicas descritas na literatura, assim como também valida a sua associação às populações negligenciadas, que no Brasil são apresentadas por indivíduos com baixos graus de escolaridade, de etnia parda e desempregados (BRASIL, 2022).

Apesar do tratamento anti-TB ser disponibilizado gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o acesso à saúde desta população em específico é notada como extremamente difícil, devido à superlotação das unidades básicas de saúde responsáveis por ofertar o tratamento. Além disto, devido ao baixo grau de escolaridade inerente a esta população, os trabalhos socioeducativos acerca da doença não conseguem atingir resultados esperados em detrimento da falta da compreensão da informação passada a estes indivíduos. Portanto, o investimento em novas unidades de saúde e a expansão das previamente existentes apenas solucionaria uma parte do problema, sendo ainda necessário maiores investimentos na educação básica visando aumentar o número do público apto a entender

informações importantes acerca da doença.

5.2. DEFINIÇÃO DOS CASOS, CARACTERIZAÇÃO DO TIPO DE RESISTÊNCIA E HÁBITOS E/OU ESTILOS DE VIDA DE RISCO ASSOCIADOS À EMERGÊNCIA DOS CASOS DE TBDR

Na tabela abaixo (Tabela 2) encontram-se apresentados a definição dos casos de resistência, como também sua caracterização associada aos tipos de hábitos e/ou estilos de vida de risco para a emergência dos casos de TBDR.

Tabela 2 - Definição dos casos, caracterização do tipo de resistência e hábitos e/ou estilos de vida de risco associados à emergência dos casos de TBDR.

Tipo de caso	TBDR (N=10)
Caso novo	06 (60%)
Abandono	03 (30%)
Falha terapêutica	01 (10%)
Tipo de resistência	
Primária	01 (10%)
Secundária	09 (90%)
Multirresistência	
Rifampicina e Isoniazida	10 (100%)
Hábitos e /ou estilo de vida de risco	
Etilista	01 (10%)
Ex-etilista	03 (30%)
Sem histórico de etilismo	06 (60%)
Sem histórico de tabagismo	06 (60%)
Ex-fumantes	04 (40%)

Fonte: O autor.

Legenda: Distribuição da definição dos casos, caracterização do tipo de resistência e hábitos e/ou estilos de vida de risco associados à emergência dos casos de TBDR dos pacientes acompanhados incluídos no estudo.

Os casos novos de TBDR foi predominante na coorte do estudo (60%), em seguida, encontram-se os casos de abandono (30%) e os de falha terapêutica (10%). Os casos novos dizem respeito aos pacientes que finalizaram o tratamento com o esquema básico anti-TB em 6 meses nas Unidades Básicas de Saúde e após alguns meses, durante as avaliações trimestrais pós-tratamento, retornam a apresentar sintomas clássicos da TB e positivam o teste de cultura, além de apresentarem resistência aos fármacos anti-TB. Em contraste, os casos de falha terapêutica são

representados pelos pacientes que durante os 6 meses de tratamento com o esquema básico anti-TB apresentam agravamento sinais e/ou sintomas característicos da infecção junto ao diagnóstico da resistência.

O abandono do tratamento com o esquema básico anti-TB é uma realidade bastante frequente nas unidades básicas de saúde. A não conclusão do tratamento dentro do período indicado (6 meses) também tem sido apontada como uma das principais causas da resistência microbiana secundária. Com a melhora dos sintomas, após dois ou três meses de medicação, alguns pacientes optam por não finalizar o tratamento, baseado na crença de que já estão curados, facilitando a seleção e proliferação de bactérias resistentes. Além disto, o tempo de tratamento indicado, os efeitos colaterais e a administração da rifampicina por via injetável também são algumas das explicações dadas pelos pacientes que chegaram a abandonar o tratamento, o que infelizmente leva ao futuro agravo sintomatológico, muitas vezes levando esses pacientes ao internamento nas UTI's, como também levam aos novos casos de multirresistência (TB-MDR) ou resistência extensiva (TB-XDR).

Todos os pacientes do grupo TBDR apresentaram multirresistência às drogas de primeira linha, rifampicina e isoniazida, sendo em sua maioria (90%) classificada como secundária. Logo, no decorrer do tratamento inicial, ou até mesmo após o seu término, a resistência foi detectada. Apenas um paciente (10%) apresentou a forma primária de resistência, logo, a multirresistência pelo teste de sensibilidade foi identificada concomitantemente ao diagnóstico da TB pelo teste de cultura.

Hábitos/e ou estilo de vida, como etilismo e tabagismo, tem sido associado resistência bacteriana, devido a influência negativa entre interações químicas com os fármacos da terapia anti-TB, diminuindo sua biodisponibilidade ou comprometendo sua eficácia (SILVA, 2018). Nesta coorte 40% dos pacientes são ex-fumantes e 30% são ex-etilistas. Apenas um paciente (10%) se autodeclarou etilista.

5.3. QUADRO CLÍNICO E CARGA BACILAR DURANTE O TRATAMENTO DO GRUPO TBDR

As principais formas de diagnóstico utilizadas na Tisiologia, especialidade de estudo médico da TB, é a avaliação dos sinais ou sintomas clássicos (tosse, cansaço, sudorese noturna, febre e perda de peso) associados a testes bacteriológicos

positivos, como a baciloscopia e, em especial, o teste de cultura (padrão-ouro para o diagnóstico). Além disto a sintomatologia e os testes bacteriológicos também são umas das poucas ferramentas disponíveis para o monitoramento da terapia anti-TB, onde a regressão dos sintomas e a negativação da baciloscopia, bem a como a conversão da cultura para negativo no 2º mês de tratamento, são indícios da eficácia terapêutica.

Na tabela 3 estão apresentados os dados clínicos sintomatológicos, o resultado dos testes bacteriológicos durante o tratamento dos pacientes.

Tabela 3– Dados clínicos sintomatológicos e testes bacteriológicos durante o acompanhamento da coorte em tratamento para TBDR

Sinal ou sintoma clássico da TB	TBDR (N=10)		
	T0	T2	T6
Tosse			
Com expectoração	04 (40%)	02 (20%)	01 (10%)
Sem expectoração	06 (60%)	04 (40%)	01 (10%)
Com sangue	0	0	0
Sem tosse	0	04 (40%)	08 (80%)
Cansaço	T0	T2	T6
Sim	06 (60%)	03 (30%)	01 (10%)
Não	04 (40%)	07 (70%)	09 (90%)
Sudorese Noturna	T0	T2	T6
Sim	02 (20%)	0	0
Não	08 (80%)	10 (100%)	10 (100%)
Febre	T0	T2	T6
Sim	01 (10%)	0	0
Não	09 (90%)	10 (100%)	10 (100%)
Perda de peso	T0	T2	T6
Sim	07 (70%)	0	01 (10%)
Não	03 (30%)	10 (100%)	09 (90%)
Exame de cultura	T0	T2	T6
+	0	0	0

++	02 (20%)	0	0
+++	01 (10%)	0	0
NEGATIVO	01 (10%)	01 (10%)	01 (10%)
Sem informações	06 (60%)	09 (90%)	09 (90%)
Baciloscopia	T0	T2	T6
+	0	0	0
++	01 (10%)	0	0
+++	0	0	0
NEGATIVO	04 (40%)	02 (20%)	01 (10%)
Sem informações	05 (50%)	08 (80%)	09 (90%)

Fonte: O autor

Legenda: Distribuição dos sinais ou sintomas clássicos da TB (tosse, cansaço, sudorese noturna, febre e perda de peso) durante o acompanhamento da coorte dos pacientes incluídos no estudo antes do início da medicação (T0), após dois meses (T2) e seis meses (T6) de tratamento, associado aos resultados dos exames bacteriológicos de cultura e baciloscopia nos respectivos tempos.

Analisando a progressão sintomatológica, observa-se que antes da implementação da terapia anti-TBDR (T0) todos os pacientes apresentavam tosse, 40% com expectoração e 60% sem, 60% relatavam cansaço recorrente mediante esforço mínimo. Neste mesmo tempo, a sudorese noturna esteve presente em 20% dos pacientes e 70% apresentaram perda de peso significativa.

Após dois meses de tratamento (T2) houve uma redução do quadro de tosse, onde 40% dos pacientes tiveram o quadro cessado, enquanto que 60% ainda continuavam a tossir com (20%) e sem (40%) expectoração. O cansaço recorrente também foi encontrado com menos frequência, apenas 30% dos pacientes relataram a permanência do sintoma. Neste mesmo tempo, todos os pacientes relataram a ausência de febre e perda de peso significativa.

Após 6 meses do tratamento (T6), os sintomas da maioria dos pacientes continuavam a reduzir. Apenas 20% dos pacientes se queixaram de tosse com (10%) ou sem (10%) expectoração, respectivamente, enquanto apenas um paciente (10%) relatou o cansaço e a perda de peso.

Analisando a progressão sintomatológica dos pacientes do grupo TBDR,

podemos concluir que apesar da tosse sem expectoração, o cansaço e a perda de peso terem sido os sintomas mais frequentemente relatados entre os pacientes durante o T0, a presença destes sinais/sintomas nos tempos seguintes não está necessariamente ligada à presença de processo patológico ativo.

O sintoma de cansaço, relatados nos outros tempos do estudo, está associado a um processo de seqüela da doença, que uma vez ativa compromete a capacidade respiratória do enfermo, com isto, muitos pacientes, conforme a evolução do tratamento, vieram a relatar a diminuição ou melhora total deste sintoma. A tosse sem expectoração deve ser observada cuidadosamente, pensando que pode vir a ser um dos sinais causados pela tentativa de expulsar os bacilos mortos. Alguns pacientes inicialmente chegam ao atendimento médico com tosse altamente produtiva e ocasionalmente sanguinolenta, e após a implementação do novo esquema de tratamento para TBDR relatam que com a evolução da terapia a tosse regride para seca, até que muitas vezes, simplesmente não tosem mais.

A perda de peso é um sinal bastante polêmico, o qual também deve ser observado cuidadosamente. A primeira suposição que geralmente é feita com o aparecimento deste sinal tem como base a atividade dos antibióticos de segunda linha, tendo em vista que são mais tóxicos para o trato digestório, assim comprometendo sua capacidade de absorção. Apesar disto, levando em consideração os dados sócio-demográficos descritos anteriormente, a maior parte destes casos relataram vulnerabilidade econômica, razão a qual os levavam a não se alimentar com qualidade e frequência, resultando na perda de peso constante.

Por outro lado, com a evolução da terapia anti-TBDR, após 2 meses, a maior parte dos sinais/sintomas relatados inicialmente normalmente desaparecem ou regredem. Assim, aumenta-se a dificuldade de coleta do escarro, tendo em vista que o padrão de tosse apresentada, quando relatada em sua maioria será seca, inviabilizando a execução de ambos os testes de cultura e baciloscopia. Apenas em casos em que existem o aparecimento de outros sintomas, com exceção da tosse produtiva, realiza-se o lavado bronquioalveolar, que é um método bem mais invasivo, o qual permite realizar o exame de cultura e baciloscopia para averiguar a atividade da doença.

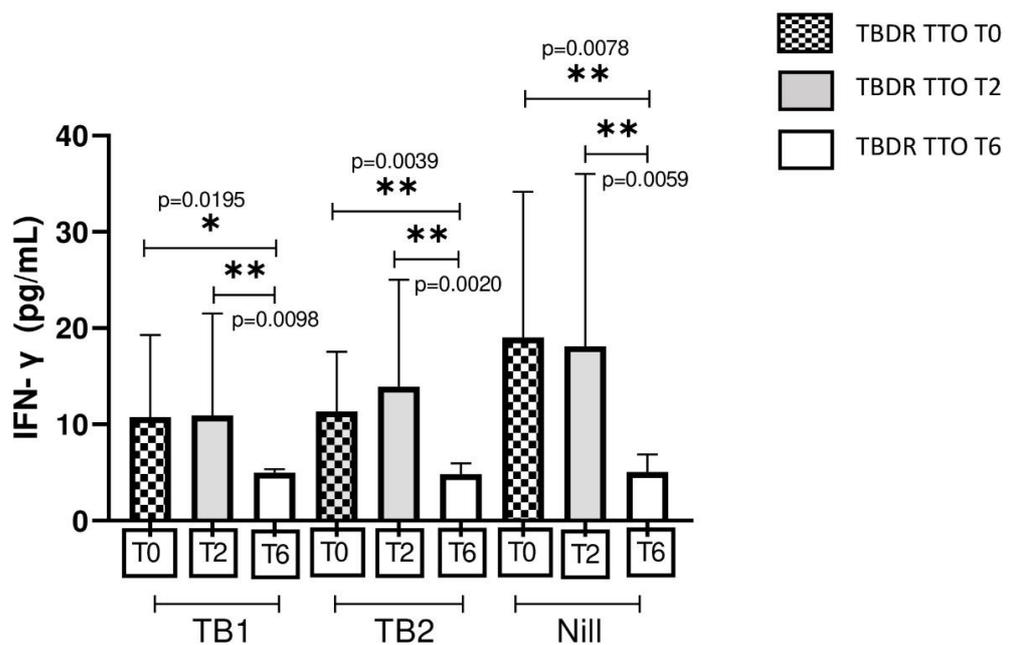
A dificuldade para a execução desses testes durante o tratamento, explica a ausência dos resultados desses testes durante o acompanhamento da coorte do

estudo. Logo, só foi possível obter o resultado do teste bacteriológico nos três tempos propostos (sendo T0 ++, T2 negativo e T6 negativo) de apenas da baciloscopia de um dos pacientes.

5.4. ANÁLISE DOS NÍVEIS DA CITOCINA INF- γ NOS SOBRENADANTES DA CULTURA DE SANGUE ESTIMULADO OU NÃO COM ANTÍGENOS DE MTB DOS PACIENTES EM TRATAMENTO PARA TBDR

Uma diminuição dos níveis de INF- γ foi observada conforme a evolução do tratamento dos pacientes TBDR (**Figura 5**).

Figura 5 - Mediana dos níveis de INF- γ em pacientes TBDR.



Fonte: O autor.

Legenda: Mediana dos níveis da citocina INF- γ quantificada nos sobrenadantes da cultura de sangue de pacientes TBDR estimuladas com TB1 e TB2 e não estimuladas (Nil) antes do tratamento (TBDR TTO T0) e após 2 (TBDR TTO T2) e 6 meses (TBDR TTO T6), com suas respectivas diferenças estatísticas demonstradas através das barras.

Diferenças estatísticas significantes em relação ao decaimento desses níveis

foram encontradas entre o T0-T6 e T2-T6 no sangue com estimulação antigênica do *Mtb* (TB1 e TB2) e sem estimulação (Nill). Analisando os resultados obtidos, mediante a evolução do tratamento, no sangue estimulado com TB1 foi observada a diferença estatística entre as medianas do T0-T6 ($p=0.0195$) e T2-T6 (0.0098). No sangue estimulando com TB2 observou-se uma diferença estatística mais significativa entre os intervalos de tempo propostos pelo estudo, T0-T6 ($p=0.0039$) e T2-T6 ($p=0.0020$). Esses resultados sugerem que a análise do INF- γ após a estimulação do sangue com qualquer dos antígenos TB1 e TB2, podem ser uteis para monitorar a eficácia terapêutica da TBDR. O perfil de INF obtido no sangue não estimulado com antígenos não foi o esperado. Apesar de ter apresentado um comportamento semelhante a amostra estimulada com TB1 e TB2, com o decaimento dos níveis da citocina durante a administração do tratamento, T0-T6 ($p=0.0078$) e T2-T6 ($p=0.0059$), seus níveis apresentam-se superiores aos obtidos com estimulação antigênica. Não houve diferença estatística significativa entre o intervalo T0-T2 nas condições avaliadas.

Apesar de alguns estudos apontarem o uso do kit IGRA TB Plus como ferramenta de monitoramento da eficácia terapêutica (RIBEIRO et al., 2009, BOCHOCCINO et al., 2010, CHEE et al., 2010), até o presente momento não existem estudos publicados que justifiquem este comportamento. Durante a revisão bibliográfica levantada para a construção deste estudo foram encontrados apenas artigos que visavam avaliar o teste IGRA, ou a própria citocina INF- γ , para potencial diagnóstico da TB ativa em diferentes grupos experimentais, não havendo estudos de acompanhamento de coorte TBDR com o propósito do monitoramento terapêutico com esta molécula-alvo.

Em especial, os antígenos TB2 do kit destacaram-se sobre os antígenos TB1 em relação a expressão dos níveis de INF- γ dentro desta coorte em todos os tempos propostos. Diferentemente do tubo TB1 que apenas contém antígenos que induzem resposta T CD4+, o tubo TB2 contém antígenos que induzem uma resposta principal de T CD8+, e em segundo plano de T CD4+, o que atribui maior sensibilidade aos resultados obtidos a partir deste tubo. Além disto, sugere-se que a resposta T CD8+ está mais intimamente ligada à ativação da doença, enquanto sugere-se que a resposta T CD4+ também se mantém estimulada nos casos de latência, o que indica que o uso exclusivo do tubo TB2 seja a melhor escolha para ser utilizada como fermenta para auxiliar na avaliação da resposta terapêutica anti-TB, pensando em

uma perspectiva de capacidade do IGRA (KAMADA e AMISHIMA, 2017).

A ausência de alterações estatisticamente significantes entre os tempos T0 e T2 está em consonância com resultados encontrados na literatura, que descrevem que a queda significativa dos níveis de INF- γ só é dada entre 2-3 meses de tratamento (BARCELLINI et al., 2016). Em estudos semelhantes realizados anteriormente também foram reproduzidos os padrões de secreção encontrados nas medianas durante o T0 e T2, corroborando para a conclusão de que o período mínimo de acompanhamento desta molécula-alvo, visando avaliar a eficácia da terapia anti-TBDR, deve ser no mínimo 6 meses (CHEDID et al., 2010; DENKINGER et al., 2013; BARTALESI et al., 2017).

Apesar do número de pacientes reduzido, quando comparamos os resultados obtidos com estudos similares de N amostral superior, os quais obtiveram resultados como alterações insignificantes ou no aumento da expressão de INF- γ ao final do acompanhamento terapêutico, conclui-se que nosso estudo apresenta resultados consistentes devido a seleção amostral criteriosa de pacientes, que não incluem crianças ou indivíduos HIV+ sem resposta TCD4+ adequada (BASTOS et al., 2014; BUGIANI et al., 2011).

Além disto, o fato deste estudo ter sido executado em uma área endêmica para a doença com heterogeneidade genética de seus participantes também corrobora para a edificação dos resultados apresentados. Tendo em vista que estudos realizados em países não-endêmicos para a doença com populações geneticamente homogêneas, como países europeus, possuem uma forte tendência a apresentarem perfis de comportamento do IFN- γ discordantes com o relatado em países endêmicos e heterogêneos, como o Brasil e o próprio estado de Pernambuco, torna-se inviável a qualificação e o uso desta ferramenta durante o monitoramento terapêutico da TB, independente do subgrupo de estudo em países (seja ele sensível ou TBDR) nos países com características semelhantes aos citados em primeiro ponto (CLIFFORD et al., 2015; DYRHOL-RIISE et al., 2010).

Apesar da presença de diferenças estatísticas significantes dentro dos tempos propostos pelo estudo (T0, T2 e T6) em todos os tubos, sendo observado que os níveis de expressão desta citocina não é dependente da estimulação antigênica do teste IGRA, pensando a partir de uma perspectiva socioeconômica em detrimento dos resultados obtidos no tubo Nill, pode-se sugerir que o acompanhamento destes

pacientes também poderia ser feito a partir da coleta de amostras de soro em tubo seco, sendo estes menos custosos e excluiriam a necessidade de incubação da amostra em estufa, garantindo resultados em tempo mais curto com menos gastos.

Portanto, os resultados obtidos a partir da avaliação desta coorte indicam que o teste IGRA TB Plus também pode ser utilizado ferramenta auxiliar para avaliar os pacientes antes de iniciarem o tratamento e após um período de 6 meses de terapia anti-TB. A partir de uma simples coleta de sangue periférico, a qual apresenta-se como um método pouco invasivo, a análise de IFN- γ pode ser quantificado e, mostrou-se ser um potencial biomarcador sanguíneo para os pacientes com TBDR.

6. CONCLUSÃO

O estudo de novos métodos diagnósticos e de indicadores da eficácia terapêutica anti-TB é relevante para o controle da transmissão, dos casos de reinfecção e da falha terapêutica. Apesar da limitação do N amostral da coorte de TBDR e da ausência de exames bacteriológicos durante o tratamento dos pacientes com TBDR, este estudo indica que o INF- γ apresenta potencial como biomarcador para avaliar a eficácia terapêutica após 6 meses de tratamento.

REFERÊNCIAS

ALLUÉ-GUARDIA, A; GARCÍA, J. I.; TORRELLES, J. B. Evolution of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains and their adaptation to the human lung environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 612675, 2021.

AHMAD, S. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2011, 2011.

ANTUNES, J. L. F.; WALDMAN, E. A.; MORAES, M. **A tuberculose através do século: ícones canônicos e signos do combate à enfermidade**, Ciência e Saúde Coletiva, v. 5, n. 2, p. 367-379, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/csc/2000.v5n2/367-379/>. Acesso em: 07/03/2022

BAGHAEI, P. et al. Diabetes mellitus and tuberculosis facts and controversies. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2013.

BANULS, Anne-Laure et al. Mycobacterium tuberculosis: ecology and evolution of a human bacterium. **Journal of medical microbiology**, v. 64, n. 11, p. 1261-1269, 2015.

BASTOS, M. L. et al. Changes in QuantiFERON®-TB Gold In-Tube results during treatment for tuberculous infection. **The International journal of tuberculosis and lung disease**, v. 17, n. 7, p. 909-916, 2013.

BARBERIS, I. et al. The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 58, n. 1, p. E9, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/28515626/>> Acesso em: 07/03/2022.

BARCELLINI, L. et al. First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening. *European Respiratory Journal*, v. 48, n. 5, p. 1411-1419, 2016.

BECK, Raymond W. **A chronology of microbiology in historical context**. ASM Press, 2000.

BARTALESI, F. et al. The role of Quantiferon-TB Gold in-Tube in the diagnosis and treatment monitoring of active tuberculosis. **Infectious Diseases**, v. 49, n. 6, p. 474-477, 2017.

BELL, L. CK; NOURSADEGHI, M. Pathogenesis of HIV-1 and Mycobacterium tuberculosis co-infection. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 80-90, 2018.

BEHAR, S. M. et al. Orchestration of pulmonary T cell immunity during Mycobacterium tuberculosis infection: immunity interruptus. In: **Seminars in immunology**. Academic Press, 2014. p. 559-577.

BERTOLLI FILHO, C. **História social da tuberculose e do tuberculoso: 1900-1950**. Editora Fiocruz, 2001. Disponível em: <<https://static.scielo.org/scielobooks/4/pdf/bertolli-8575410067.pdf>> Acesso em: 07/03/2022.

BOCCHINO, M. et al. Limited usefulness of QuantiFERON-TB Gold In-Tube® for monitoring anti-tuberculosis therapy. **Respiratory medicine**, v. 104, n. 10, p. 1551-1556, 2010.

BORAH, P. et al. Tuberculosis: An Update on Pathophysiology, Molecular Mechanisms of Drug Resistance, Newer Anti-TB Drugs, Treatment Regimens and Host- Directed Therapies. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 547-570, mar. 2021.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Tuberculose Boletim Epidemiológico**, Brasília, v. n.especial, n.1, Mar.2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-deconteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2022/boletimepidemiologico-de-tuberculose-numero-especial-marco-2022.pdf>>. Acesso em: 31/08/2022.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Tuberculose Boletim Epidemiológico**, Brasília, v.49, n.11,Mar.2018. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-az/t/arquivos/tuberculose/18151437-boletim-epidemiologico-ms-tuberculose-2018.pdf>. Acessoem: 31/08/2022.

Ministério da Saúde (MS). Manual de Recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. 2019,364.

BOMBARDA, S. et al. Imagem em tuberculose pulmonar. **Jornal de Pneumologia**, v. 27, p. 329-340, 2001.

BUGIANI, M. et al. The effect of antituberculosis treatment on interferon- γ release assay results. **Monaldi Archives for Chest Disease**, v. 75, n. 4, 2011.

CADENA, Anthony M.; FORTUNE, Sarah M.; FLYNN, JoAnne L. Heterogeneity in tuberculosis. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 11, p. 691-702, 2017.

CARRANZA, C. et al. Diagnosis for Latent Tuberculosis Infection: New Alternatives.

Frontiers in Immunology, v. 11, 10 set. 2020. CARRARA, S. et al. Use of a T Cell-Based Assay for Monitoring Efficacy of Antituberculosis Therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 5, p. 754-756, mar. 2004.

COELHO, F. S.; MARQUES, Elizabeth de Andrade. Tuberculose. **Rev Hosp Univ Pedro Ernesto**, v. 5, p. 25-6, 2006.

CHAI, Q.; LU, Z.; LIU, C. H.. Host defense mechanisms against Mycobacterium tuberculosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 77, n. 10, p. 1859-1878, 2020.

CHACKERIAN, A. A. et al. Dissemination of Mycobacterium tuberculosis is influenced by host factors and precedes the initiation of T-cell immunity. **Infection and immunity**, v. 70, n. 8, p. 4501-4509, 2002.

CHEIDID, C. et al. Relevance of QuantiFERON-TB Gold Plus and Heparin-Binding Hemagglutinin Interferon- γ Release Assays for Monitoring of Pulmonary Tuberculosis Clearance: A Multicentered Study. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 616450, 2021.

CHEE, C. BE et al. Tuberculosis treatment effect on T-cell interferon- γ responses to Mycobacterium tuberculosis-specific antigens. **European Respiratory Journal**, v. 36, n. 2, p. 355-361, 2010.

CHEGOU, N. N. et al. Beyond the IFN- γ horizon: biomarkers for immunodiagnosis of infection with Mycobacterium tuberculosis. **European Respiratory Journal**, [s.l.], v. 43, n. 5, p. 1472-1486, dez. 2013.

CLIFFORD, V. et al. Interferon gamma release assays for monitoring the response to treatment for tuberculosis: a systematic review. **Tuberculosis**, v. 95, n. 6, p. 639-650, 2015.

DANIEL, T. M. The origins and precolonial epidemiology of tuberculosis in the Americas: can we figure them out. **The international journal of tuberculosis and lung disease**, e. 4, n. 5, p. 395-400, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10815731>> Acesso em: 07/03/2022.

DANIEL, T. M. **The history of tuberculosis**: Respiratory Medicine. e. 100, n. 11, p. 1862/1870, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2006.08.006>>. Acesso em:07/03/2022

DAVIS, B. D. et al. **Tratado de microbiología**. 1996.

DE MORAIS REIS, A. C. S. et al. O cenário de políticas públicas do brasil diante do quadro das doenças negligenciadas. **Saúde & ciência em ação**, v. 2, n. 2, p. 99-107, 2016.

DHEDA, K. et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis. **The lancet Respiratory medicine**, v. 5, n. 4, p. 291-360, 2017.

DENKINGER, C. M. et al. Gamma Interferon Release Assay for Monitoring of Treatment Response for Active Tuberculosis: an Explosion in the Spaghetti

Factory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 607–610, fev. 2013.

DERETIC, V. et al. Mycobacterium tuberculosis inhibition of phagolysosome biogenesis and autophagy as a host defence mechanism. **Cellular microbiology**, v. 8, n. 5, p. 719-727, 2006.

DUARTE, R. et al. Tuberculosis, social determinants and co-morbidities (including HIV). **Pulmonology**, v. 24, n. 2, p. 115-119, 2018.

FARGA, V.; CAMINERO, J. Tuberculosis, editorial Mediterraneo, 3ra. 2011.

DYRHOL-RIISE, A. M. et al. Diagnosis and follow-up of treatment of latent tuberculosis; the utility of the QuantiFERON-TB Gold In-tube assay in outpatients from a tuberculosis low-endemic country. **BMC infectious diseases**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2010.

FERRARA, G. et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with Mycobacterium tuberculosis: a prospective study. **The Lancet**, v. 367, n. 9519, p. 1328-1334, 2006.

FOGEL, N. Tuberculosis: a disease without boundaries. **Tuberculosis**, v. 95, n. 5, p. 527-531, 2015.

FRITH, J. History of tuberculosis. Part 1-phthisis, consumption and the white plague. **Journal of Military and Veterans Health**, e. 22, n. 2, p. 29-35, 2014. Disponível em: <<https://jmvh.org/article/history-of-tuberculosis-part-1-phthisis-consumption-and-the-white-plague/>> Acesso em: 07/03/2022.

GAUTAM, P. B.; MISHRA, A; KUMAR, S. Prevalence of rifampicin resistant mycobacterium tuberculosis and associated factors among presumptive tuberculosis patients in eastern Uttar Pradesh: a cross sectional study. **Int J Community Med Public Health**, v. 5, n. 6, p. 2271-2276, 2018.

GENGENBACHER, M; KAUFMANN, S. HE. Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 3, p. 514-532, 2012.

GLAZIOU, P. et al. Global Epidemiology of Tuberculosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 34, n. 01, p. 003–016, 4 mar. 2013.

GOLETTI, D. et al. Can we predict tuberculosis cure? What tools are available?. **European Respiratory Journal**, v. 52, n. 5, 2018.

HOEL, I. M. et al. IP-10 dried blood spots assay monitoring treatment efficacy in extrapulmonary tuberculosis in a low-resource setting. **Scientific reports**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 1-9, mar. 2019

HORNE, D. J. et al. Sputum monitoring during tuberculosis treatment for predicting outcome: systematic review and meta-analysis. **The Lancet infectious diseases**, v. 10, n. 6, p. 387-394, 2010.

JASENOSKY, L. D. et al. T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans. **Immunological reviews**, v. 264, n. 1, p. 74-87, 2015.

JIANG, T. T. et al. Serum amyloid A, protein Z, and C4b-binding protein β chain as new potential biomarkers for pulmonary tuberculosis. **PloS one**, v. 12, n. 3, p. e0173304, 2017.

KAMADA, A.; AMISHIMA, M.. QuantiFERON-TB® Gold Plus as a potential tuberculosis treatment monitoring tool. *European Respiratory Journal*, v. 49, n. 3, 2017.

KANG, S.; BROWN, H. M.; HWANG, S. Direct antiviral mechanisms of interferon-gamma. **Immune network**, v. 18, n. 5, 2018.

KANADE, S. et al. Pattern of missing probes in rifampicin resistant TB by Xpert MTB/RIF assay at a tertiary care centre in Mumbai. **Indian Journal of Tuberculosis**, v. 66, n. 1, p. 139-143, 2019.

KOZAKEVICH, G. V; DA SILVA, R. M. Tuberculose: revisão de literatura. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 44, n. 4, p. 34-47, 2015.

LAN, Z. et al. Drug-associated adverse events in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: an individual patient data meta-analysis. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 383-394, 2020.

LEE, S. W.; LEE, C.-T.; YIM, J.-J. Serial interferon-gamma release assays during treatment of active tuberculosis in young adults. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 300, 16 dez. 2010. MASSABNI, A. C.; BONINI, E. H. Tuberculose: história e evolução dos tratamentos da doença. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 22, n. 2, p. 6-34, 1 maio 2019.

LESOSKY, M. et al. Plasma biomarkers to detect prevalent or predict progressive tuberculosis associated with Human Immunodeficiency Virus-1. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. 2, p. 295-305, 2019.

LEWINSOHN, D. M. et al. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 2, p. e1-e33, 2017.

LIU, Qingyun et al. China's tuberculosis epidemic stems from historical expansion of four strains of Mycobacterium tuberculosis. **Nature ecology & evolution**, e. 2, n. 12, p. 1982-1992, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0680-6>> Acesso em: 07/03/2022

LIU, C. H; LIU, H.; GE, B. Innate immunity in tuberculosis: host defense vs pathogen evasion. **Cellular & molecular immunology**, v. 14, n. 12, p. 963-975, 2017.

LIU, Q. et al. Proteomic profiling for plasma biomarkers of tuberculosis progression. **Molecular Medicine Reports**, v. 18, n. 2, p. 1551-1559, 2018.

LUBBERS, R. et al. Complement component C1q as serum biomarker to detect active tuberculosis. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 2427, 2018.

MADIGAN, M. T. et al. **Brock biology of microorganisms**. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall, 2006.

MARSICO, G. A. **Tratamento cirúrgico da tuberculose pulmonar**, Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto, v. 5, n. 2, 2006. Disponível em: http://revista.hupe.uerj.br/detalhe_artigo.asp?id=241. Acesso em: 07/03/2022

MARTINI, M. *et al.* **The history of tuberculosis: the social role of sanatoria for the treatment of tuberculosis in Italy between the end of the 19th century and the middle of the 20th**, J. Prev. Med. Hyg., v. 59, n. 4, p. E323–E327, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2018.59.4.1103>. Acesso em: 07/03/2022

MARTINEZ, L. et al. Transmission of Mycobacterium tuberculosis in households and the community: a systematic review and meta-analysis. **American journal of epidemiology**, v. 185, n. 12, p. 1327-1339, 2017.

MAYER-BARBER, K. D.; BARBER, D. L. Innate and adaptive cellular immune responses to Mycobacterium tuberculosis infection. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 12, p. a018424, 2015.

MENZIES, D.; JOSHI, R.; PAI, M. Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings [state of the art series. Occupational lung disease in high-and low-income countries, edited by M. Chan-Yeung. Number 5 in the series]. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 11, n. 6, p. 593-605, 2007.

Ministério da Saúde (BR). **Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde; 2021.

NAVA-AGUILERA, E. et al. Risk factors associated with recent transmission of tuberculosis: systematic review and meta-analysis. **The International journal of tuberculosis and lung disease**, v. 13, n. 1, p. 17-26, 2009.

NAFADE, V. et al. A bibliometric analysis of tuberculosis research, 2007–2016. **PloS one**, v. 13, n. 6, p. e0199706, 2018.

OLIVEIRA, R. G. Sentidos das Doenças Negligenciadas na agenda da Saúde Global: o lugar de populações e territórios. *Ciência & Saúde Coletiva* [online].

2018, v. 23, n. 7 [Acessado 20 Setembro 2022], pp. 2291-2302. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1413-81232018237.09042018>>. ISSN 1678-4561.

PAI, M.; BEHR, M. Latent Mycobacterium tuberculosis Infection and Interferon-Gamma Release Assays. **Microbiology Spectrum**, v. 4, n. 5, 14 out. 2016.

PASCUAL-PAREJA, J. F et al. Treatment of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)**, v. 36, n. 8, p. 507-516, 2018.

PETRONE, L. et al. Blood and urine inducible protein 10 as potential markers of disease activity. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, [s.l.], v. 20, n. 11, p. 1554-1561, nov. 2016.

RABAHI, M. F et al. Tratamento da tuberculose. **Jornal brasileiro de pneumologia**, v. 43, p. 472-486, 2017.

ROSEMBERG, J. Tuberculose-Aspectos históricos, realidades, seu romantismo e transculturação. **Boletim de pneumologia sanitária**, e. 7, n. 2, p. 5-29, 1999. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.hp?script=sci_arttext&pid=S0103460X19990002002. Acesso em: 07/03/2022.

SAMUELS, J. P. et al. Comorbidities and treatment outcomes in multidrug resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018.

SAUZULLO, I. et al. In Vivo and In Vitro Effects of Antituberculosis Treatment on Mycobacterial Interferon- γ T Cell Response. **PLoS ONE**, v. 4, n. 4, p. e5187, 13 abr. 2009.

SAKTIAWATI, A. M. et al. Diagnosis of tuberculosis through breath test: a systematic review. **EBioMedicine**, v. 46, p. 202-214, 2019.

SCHRIEFER, A.; CARVALHO, E. M. Biomarcadores em medicina. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, 2008.

SEUNG, K. J.; KESHAVJEE, S; RICH, M. L. Multidrug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 9, p. a017863, 2015.

SILVA, AP. FIOCRUZ. Tuberculose: médica explica os sintomas, o diagnóstico e prevenir. **Comunicação e Informação**, 2014.

SILVA, D. R et al. **Fatores de risco para tuberculose: diabetes, tabagismo, álcool e uso de outras drogas**. J. bras. pneumol., São Paulo , v. 44, n. 2, p. 145-152, abr. 2018 .

SILVA, P. E. A. D.; MONTAÑES, C. M.; CLAVER, J. A. A. TUBERCULOSE: HISTÓRIA E PERSPECTIVAS ATUAIS. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 69–78, 2017. DOI: 10.14295/vittalle.v15i1.7567. Disponível em: <https://seer.furg.br/vittalle/article/view/7567>. Acesso em: 10 mar. 2022.

RIBEIRO, S. et al. T-SPOT. TB responses during treatment of pulmonary tuberculosis. **BMC infectious diseases**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2009.

SHARAN, R.; KAUSHAL, D. Vaccine strategies for the Mtb/HIV copandemic. **npj Vaccines**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2020.

THERON, G. et al. Correlation of Mycobacterium Tuberculosis Specific and Non-Specific Quantitative Th1 T-Cell Responses with Bacillary Load in a High Burden Setting. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e37436, 22 maio 2012.

VAN CREVEL, R.; OTTENHOFF, T. H.; VAN DER MEER, Jos WM. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 15, n. 2, p. 294-309, 2002.

VELASCO-VELÁZQUEZ, M. A et al. Macrophage—Mycobacterium tuberculosis interactions: role of complement receptor 3. **Microbial pathogenesis**, v. 35, n. 3, p. 125-131, 2003.

VENTOLA, C. L. Te AntibioticResistanceCrisis. Part 1: Causes andTreats. **PharmacyandTerepeutics**, v. 40, n. 4, p. 277-283, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25859123>. Acesso em: 10 mar. 2022.

VIEIRA, I. C. **O pioneirismo da Madeira no tratamento da tuberculose em meados do século XIX**. *Ler História*, n. 61, p. 85-103, 2011. Disponível em: <https://journals.openedition.org/lerhistoria/1603>. Acesso em: 07/03/2022.

WHO. **Global tuberculosis report 2018**. World Health Organization. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565646>. Acesso em: 31/08/2022.

WHO. **Global tuberculosis report 2021**. World Health Organization. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/publications/digital/global-tuberculosis-report-2021/tb-diseaseburden/incidence>. Acesso em: 31/08/2022

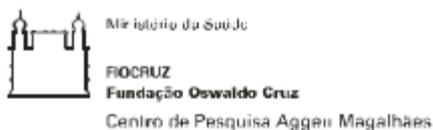
YOON, C. et al. Point-of-care C-reactive protein-based tuberculosis screening for people living with HIV: a diagnostic accuracy study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 12, p. 1285-1292, 2017.

ZIMMER, A. J. et al. Biomarkers That Correlate with Active Pulmonary Tuberculosis Treatment Response: a Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of clinical microbiology**, v. 60, n. 2, p. e0185921, 2022.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Questionário socioeconômico e clínico do paciente



Registro: _____

Grupo: _____

Investigação da associação do perfil imunológico dos pacientes de tuberculose sensíveis e multirresistentes às drogas com o perfil genotípico dos isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*

FOLHA DE IDENTIFICAÇÃO (DESTACAR E ARMAZENAR SEPARADO DO QUESTIONÁRIO APOS O PREENCHIMENTO)

1. Nome do entrevistador: _____
 2. Data da entrevista: _____

DADOS DO PACIENTE

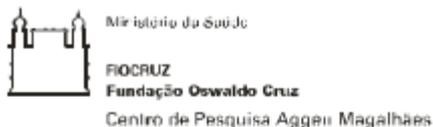
3. Nome: _____
 4. Data de nascimento: / / 5. Local de Nascimento: _____
 6. Nome da mãe: _____
 7. Endereço: _____

 Bairro: _____ Cidade: _____ Estado: _____
 8. Telefones: () _____
 E-mail: _____

I- DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS (questionário 1):

1. A qual gênero (sexo) você pertence?
 a) masculino b) feminino c) não desejo informar
2. Qual a sua cor/raça?
 a) branca c) amarela e) indígena
 b) preta d) parda f) não desejo informar
3. Qual a sua idade? _____
4. Qual a sua situação habitacional:
 a) Própria b) Alugada c) Cedida d) Morador de rua
 e) Com parentes f) Outras _____

ESTE QUESTIONÁRIO É CONFIDENCIAL E VOCE É LIVRE PARA RECUSAR-SE A RESPONDER A QUALQUER UMA DAS PERGUNTAS LISTADAS. EM NENHUMA HIPÓTESE ESTAS PERGUNTAS SERÃO REALIZADAS A SEU RESPONSÁVEL (QUESTIONÁRIO IV).



Registro: _____

Grupo: _____

5. Quantas pessoas moram com você na sua residência? _____

6. Já esteve em penitenciária? (Se não pulara para questão 7)

Sim ____ Não ____ Não sei/não desejo informar ____

7. Qual sua situação trabalhista:

a) Empregado/ cart. Assinada b) Autônomo c) Desempregado

d) Estudante e) Aposentado f) Emprego informal g) Não desejo informar

8. Qual o seu grau de escolaridade?

a) Ensino Fundamental Incompleto b) Ensino Fundamental Completo

c) Ensino médio incompleto d) Ensino médio Completo e) Ensino superior Incompleto

f) Ensino Superior Completo

II- ESTADO GERAL DE SAUDE (questionário 2)

Altura: _____ Peso: _____

1. Fumante a) Sim b) Não

2. Etilista a) Sim b) Não

3. Possui algumas das comorbidades a seguir?

() Diabetes () Câncer () Imunodeficiência () Hemofilia () Outras _____

4. Esta tomando algum medicamento?

Sim ____ E de uso controlado? Sim ____ Não ____ Não sabe informar ____

Se a resposta foi sim, Qual? _____

Ha quanto tempo? _____ Ultima vez que tomou? _____

5. Tem ou teve contato com pessoas com tuberculose? Sim ____ Não ____

6. Este contato foi:

() Casa - grau de parentesco? _____

() Trabalho () Escola

() Familiares/Pessoas próximas fora residência.

() Outros Qual? _____

7. Foi vacinado com BCG? Sim ____ Não ____ Não sabe informar ____

ESTE QUESTIONÁRIO É CONFIDENCIAL E VOCE É LIVRE PARA RECUSAR-SE A RESPONDER A QUALQUER UMA DAS PERGUNTAS LISTADAS. EM NENHUMA HIPÓTESE ESTAS PERGUNTAS SERÃO REALIZADAS A SEU RESPONSÁVEL (QUESTIONARIO IV).



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães

Registro: _____

Grupo: _____

8. Possui cicatriz BCG? Sim _____ (anotar o diâmetro em mm): _____ Não _____

9. Trabalha em hospitais ou outros serviços de atendimento a pacientes?

Sim _____ por quanto tempo? _____ Não _____ Não sabe informar _____

10. Já teve tuberculose? Não _____ Sim _____ Há quanto tempo foi diagnosticado _____

10.1. Já iniciou o tratamento? Sim _____ Não _____

10.2. Abandonou o tratamento? Sim _____ Não _____

10.3. Tratou-se por quanto tempo?

() Menos de 2 meses () 2 a menos de 4 meses

() 4 a menos de 6 meses () 6 meses ou mais sem cura

() Completou o tratamento com cura

10.4. Já apresentou falência do tratamento? Sim _____ Não _____

OBS: _____

10.5. Teve alguma reação adversa ao tratamento? Não _____ Sim _____

qual?

10.6 Apresentou resistência ao tratamento ? _____

Resistência primária _____ Resistência secundária _____

11. Já teve algum problema nos pulmões? Não _____

Sim _____ Em que ano? _____ Qual o problema? _____

12. Quais são os seus principais sintomas ?

Tosse () a) Seca sem expectoração (catarro) b) Com expectoração (catarro) c) Com sangue

() Cansado () Febre () Sudorese Noturna Perda de peso () _____ kg

Outros sintomas _____

13. A quanto tempo está em tratamento para tuberculose atualmente? _____

ESTE QUESTIONÁRIO É CONFIDENCIAL E VOCE É LIVRE PARA RECUSAR-SE A RESPONDER A QUALQUER UMA DAS PERGUNTAS LISTADAS. EM NENHUMA HIPÓTESE ESTAS PERGUNTAS SERÃO REALIZADAS A SEU RESPONSÁVEL (QUESTIONARIO IV).



Miraflores da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães

Registro: _____

Grupo: _____

III- OUTRAS (questionário 3 - CONFIDENCIAL):

1. Você tem/teve alguma doença sexualmente transmissível? Sim ___ Não ___ Não deseja informar ___

1.1. Qual doença? _____

1.2. Qual tratamento foi realizado? _____

1.3. Qual a duração do tratamento? _____

2. Já lhe foi oferecido alguma vez antes o teste anti-HIV? () Não () Sim

Você realizou o teste? () Não () Sim Qual foi o resultado? () Negativo () Não deseja informar

() Positivo Está em tratamento para o HIV? Não ___ Não deseja informar ___ Sim ___

3. Já teve COVID-19? Sim () Não ()

4. Já tomou a vacina para COVID-19? Sim () Não ()

Se sim, qual e quantas doses? _____

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Outras informações relevantes: _____

ESTE QUESTIONÁRIO É CONFIDENCIAL E VOCE É LIVRE PARA RECUSAR-SE A RESPONDER A QUALQUER UMA DAS PERGUNTAS LISTADAS. EM NENHUMA HIPÓTESE ESTAS PERGUNTAS SERÃO REALIZADAS A SEU RESPONSÁVEL (QUESTIONARIO IV).

APÊNDICE B

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA VOLUNTÁRIOS COM 18 ANOS COMPLETOS OU MAIS

Convidamos o (a) Senhor (a), _____ para participar do projeto de pesquisa intitulado: **“Investigação da associação do perfil imunológico dos pacientes de tuberculose sensíveis e multirresistentes às drogas com o perfil genotípico dos isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*”** que será desenvolvido no Instituto Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ). O objetivo principal desta pesquisa é estudar a resposta imunológica do paciente diante da infecção com a bactéria resistente as drogas usadas para o tratamento.

1. Caso aceite participar neste estudo, pediremos a você:
 - a) Que forneça informações relacionadas à sua pessoa, à sua atividade profissional, ao contato com pacientes com tuberculose, e ao acompanhamento de seu estado de saúde, que poderemos conseguir perguntando diretamente a você, nas suas visitas ou por telefone, medindo seu peso e altura, e por acesso às anotações médicas e exames realizados durante o seu acompanhamento;
 - b) Que forneça 4ml (1/2 colher de sopa) de escarro e 20 ml de sangue, equivalente a aproximadamente meio copinho de café, neste mesmo dia, para fazer o exame de escarro e de sangue para a infecção tuberculosa, dosagem de citocinas e para as avaliações da pesquisa.
 - c) Também pediremos que você volte para ser avaliado novamente daqui seis meses, e que doe a mesma quantidade de sangue para refazer os exames.
 - d) Gostaríamos também de lhe pedir para autorizar que nós possamos usar o material que sobrar das suas amostras de sangue na continuação deste trabalho, em futuros projetos de pesquisa. Essa autorização é importante caso você não ache necessário que nós o procuremos novamente para obter sua autorização no futuro explicando em que novo projeto estes restos de amostra serão utilizados. Nós asseguramos que seus dados permanecerão confidenciais, e que o comitê de ética em pesquisas avaliará o estudo a ser proposto antes que utilizemos estes restos de amostras. O fato de você não concordar neste momento com a utilização futura destes restos de amostra também não atrapalha sua participação neste estudo nem o cuidado médico que você esteja recebendo ou que possa necessitar por causa dos procedimentos realizados para a pesquisa.

Consente que utilizemos restos de suas amostras em projetos futuros?

Sim Não



2. Qualquer teste que seja feito com suas amostras que dê resultados que possam ser úteis para seu acompanhamento e tratamento serão fornecidos ao seu médico.
3. Estamos entregando a você uma segunda via deste documento para que possa lê-lo cuidadosamente. Estamos também lendo com você todas essas informações para que você tenha a oportunidade de tirar todas as dúvidas com a equipe do projeto, mas a qualquer momento você pode contatar a equipe e questionar e tirar dúvidas sobre o estudo.

Antes de sua participação no projeto citado, tem total liberdade de pedir esclarecimentos adicionais que julguem necessários. Tais informações serão prestadas por quaisquer dos responsáveis pelo estudo. A participação do(a) Senhor(a) na pesquisa poderá causar riscos, como constrangimento nas abordagens, incômodo ou dor no braço para a coleta de sangue. Os dados obtidos durante a pesquisa serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores, assegurando ao participante a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa, de acordo com o regimento da resolução 466/12. A sua participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. Este documento será feito em duas vias, ficando uma em posse do participante e a outra com o coordenador da pesquisa.

Solicitamos sua autorização para que a Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ) possa utilizar as informações obtidas em reuniões, congressos e publicações científicas (preservando a identidade do voluntário). Caso exista a necessidade de apresentar recursos ou reclamações em relação à pesquisa isso poderá ser feito através do contato com o Comitê de Ética do Instituto Aggeu Magalhães (telefone (81) 2101-2639) o qual tomará as medidas cabíveis.

Em caso de dúvidas, o (a) Senhor (a) poderá procurar a pesquisadora: Michelle Christiane da Silva Rabello ou Ana Paula Mariano Ramos. Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ-PE. AV. Profª Moraes Rego, S/N. Campus da UFPE. Recife/PE. E-mail: michelle.rabello@cpqam.fiocruz.br. Telefone: 81 2101-2679

Nome do Paciente _____

Assinatura do paciente _____ **Data** ___/___/___

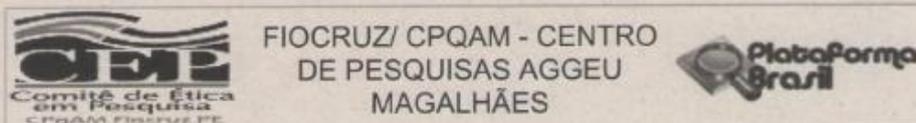
Assinatura da testemunha _____ **Data** ___/___/___

Assinatura do pesquisador responsável _____ **Data** ___/___/___

ANEXOS

ANEXO A

Aprovação do Comitê de Ética IAM



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "Investigação da associação do perfil imunológico dos pacientes de tuberculose sensíveis e multirresistentes às drogas com o perfil genotípico dos isolados clínicos de Mycobacterium tuberculosis"

Pesquisador: Michelle Christiane da Silva Rabello

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 97931218.1.0000.5190

Instituição Proponente: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

Patrocinador Principal: FUNDACAO OSWALDO CRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.034.995

Apresentação do Projeto:

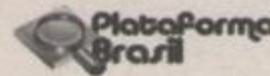
A tuberculose (TB) ainda permanece como um dos grandes problemas de saúde pública. A emergência dos casos de multirresistência as drogas (TB -MDR), juntamente com outros fatores, tem contribuído para que a TB continue sendo uma das principais causas de morte no mundo embora exista um tratamento específico e adequado. A TB-MDR é resistente a pelo menos duas drogas de primeira linha usadas para o tratamento, a isoniazida (INH) e a rifampicina (RIF). O problema da resistência às drogas também se agravou com osurgimento das cepas de Mycobacterium tuberculosis extensivamente resistentes (TB - XDR). A patogênese da infecção tuberculosa como toda infecção bacteriana resulta das interações entre o hospedeiro e a bactéria, e vários estudos tem sugerido que a diversidade genética da M. tuberculosis pode ter importantes consequências clínicas. Estudos sobre o impacto na regulação da imunidade do hospedeiro em animais e humanos tem mostrado que TNF- α , IFN- γ , IL-12 e IL-17 são importantes mediadores de uma resposta imune protetora contra TB.

Observa-se que os indivíduos que possuem infecção com cepas MDR respondem de forma distinta as drogas de segunda linha, podendo apresentar desfecho clínico de cura ou falha terapêutica. Porém, não se sabe que fatores além do genótipo do M. tuberculosis podem estão ligados à essa diferença na resposta terapêutica. Acredita-se que o sinergismo entre as drogas e a resposta imunológica do hospedeiro

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/n°
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** comiteetica@cpqam.fiocruz.br



FIOCRUZ/ CPQAM - CENTRO
DE PESQUISAS AGGEU
MAGALHÃES



Continuação do Parecer: 3.034.995

possa auxiliar o entendimento desses desfechos clínicos. Neste estudo pretendemos investigar se as cepas clínicas de *M. tuberculosis* com genótipos variados de resistência as drogas de primeira linha usadas no tratamento da tuberculose apresentam imunomodulações distintas das infecções causadas pelas cepas sensíveis as drogas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Verificar a associação do perfil imunológico dos pacientes de tuberculose sensíveis e multirresistentes as drogas com o perfil genotípico dos isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*.

Objetivo Secundário:

Caracterizar o genótipos dos isolados de *Mycobacterium tuberculosis* obtidos dos pacientes com tuberculose sensível e resistente as drogas.

- Avaliar os níveis de citocinas no soro e em sobrenadante de cultura de células estimuladas com antígenos específicos para tuberculose.
- Dosar as citocinas do perfil Th1, Th2 e Th17
- Comparar os perfis imunológicos dos pacientes com tuberculose de acordo com os genótipos dos isolados de *M. tuberculosis*.
- Construir biorrepositórios de amostras de DNA/RNA de sangue periférico dos voluntários participantes do estudo (saudáveis, pacientes com tuberculose pulmonar se sensível e resistente as drogas) para futuros estudos de biomarcadores e polimorfismos genéticos associados a resistência ao tratamento da tuberculose

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

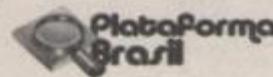
Os possíveis riscos e benefícios do projeto estão descritos da seguinte forma no formulário da Plataforma Brasil: "-Riscos: Este estudo não apresenta riscos para os voluntários da pesquisa, apenas um pequeno desconforto no momento da coleta de sangue.

- Benefícios: Este estudo irá favorecer o diagnóstico precoce da Tuberculose resistente as drogas da segunda linha"

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.670-420
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2101-2639 **Fax:** (81)2101-2639 **E-mail:** comiteetica@cpqam.fiocruz.br



FIOCRUZ/ CPQAM - CENTRO
DE PESQUISAS AGGEU
MAGALHÃES



Continuação do Parecer: 3.034.995

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande relevância científica que visa verificar a associação do perfil imunológico dos pacientes de tuberculose sensíveis e multirresistentes as drogas para a tuberculose.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos e emias documentações exigidas pelo sistema CEP/CONEP foram apresentados. Verificamos a falta da lista de assinaturas dos membros da equipe.

Recomendações:

Apresentar na ocasião de entrega de relatório parcial a lista dos integrantes da equipe com as devidas assinaturas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O referido projeto, nesta versão, apresenta todas as informações necessárias para compreensão do estudo. Não foram identificados óbices, portando, considerado aprovado. Verificar acima o que consta em recomendações.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê avaliou e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012 e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP.

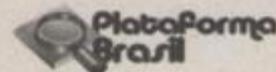
Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1172903.pdf	01/10/2018 22:07:40		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	01/10/2018 22:05:09	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito
Outros	DeclaracaoRelatorios.pdf	01/10/2018 22:02:36	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DescricaoEquipe.pdf	01/10/2018 22:01:27	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito
Outros	CartaResposta.pdf	01/10/2018 21:48:41	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº
Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-420
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)2101-2639 Fax: (81)2101-2639 E-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br



FIOCRUZ/ CPQAM - CENTRO
DE PESQUISAS AGGEU
MAGALHÃES



Continuação do Parecer: 3.034.995

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE.pdf	01/10/2018 21:41:20	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	01/10/2018 21:40:59	ANA PAULA MARIANO RAMOS	Aceito
Outros	biorrepositorio.doc	28/09/2018 15:51:42	Janaina Campos de Miranda	Aceito
Outros	folha_rosto_assinada.pdf	11/09/2018 15:12:09	Janaina Campos de Miranda	Aceito
Outros	cartadeanuenciaHC.pdf	06/08/2018 16:15:23	Michelle Christiane da Silva Rabello	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto2018.pdf	03/08/2018 11:17:38	Michelle Christiane da Silva Rabello	Aceito

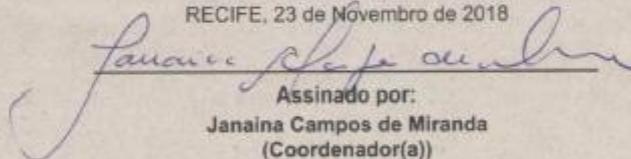
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 23 de Novembro de 2018


Assinado por:
Janaina Campos de Miranda
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, s/nº
Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.670-420
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)2101-2639 Fax: (81)2101-2639 E-mail: comiteetica@cpqam.fiocruz.br