



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA**  
**NÚCLEO DE SAÚDE**  
**CENTRO INTERDEPARTAMENTAL DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL E**  
**BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EXPERIMENTAL**

**VÍVIAN GABRIELE PAES GONÇALVES**

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR POR *SPOLIGOTYPING* DE  
ISOLADOS DE *Mycobacterium tuberculosis* NA POPULAÇÃO MASCULINA DO  
MUNICÍPIO DE PORTO VELHO – RO**

**Porto Velho – RO**

**2017**



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA**  
**NÚCLEO DE SAÚDE**  
**CENTRO INTERDEPARTAMENTAL DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL E**  
**BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EXPERIMENTAL**

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR POR *SPOLIGOTYPING* DE  
ISOLADOS DE *Mycobacterium tuberculosis* NA POPULAÇÃO MASCULINA DO  
MUNICÍPIO DE PORTO VELHO - RO**

Dissertação de Mestrado apresentada sob orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Manuela da Fonseca Moura do Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental, Área de concentração: Relação Patógeno-Hospedeiro.

Orientanda: Vívian Gabriele Paes Gonçalves

**Porto Velho – RO**

**2017**

G635i Gonçalves, Vívian Gabriele Paes.

Investigação epidemiológica e molecular por Spoligotyping de isolados de *Mycobacterium tuberculosis* na população masculina no município de Porto Velho-RO / Vívian Gabriele Paes Gonçalves. -- Porto Velho, RO, 2017.

96 f.

Orientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Manuela da Fonseca Moura

Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Fundação Universidade Federal de Rondônia

1. *Mycobacterium tuberculosis*. 2. Spoligotyping. 3. Prisões. I. Moura, Maria Manuela da Fonseca. II. Título.

CDU 616-002.5(811.1)

## FOLHA DE APROVAÇÃO

VÍVIAN GABRIELE PAES GONÇALVES

### INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR POR *SPOLIGOTYPING* DE ISOLADOS DE *Mycobacterium tuberculosis* NA POPULAÇÃO MASCULINA DO MUNICÍPIO DE PORTO VELHO- RO

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental da Fundação Universidade Federal de Rondônia.

Aprovada em 07 de junho de 2017.

Componentes da banca examinadora:

---

Prof. Dra. Maria Manuela da Fonseca Moura – Vinculada à UNIR/RO

Presidente da banca

---

Dr. Harrison Magdinier Gomes – Vinculado à FIOCRUZ/RJ

1º membro da banca

---

Dra. Cleoni Alves Mendes de Lima – Vinculada ao LACEN/RO

2º membro da banca

PORTO VELHO

2017

Aos meus pais, Gonçalves e Hilda, que com tanto amor e zelo me apoiaram.

Ao meu esposo, Victor Paulo, que pacientemente sonhou junto esta conquista.

A minha avó, Maria Stella, que sempre carinhosa me tranquiliza com suas palavras.

Aos meus irmãos, Livia e César, que me divertem nos momentos de preocupação.

## AGRADECIMENTOS

A Deus Pai Todo Poderoso que me acompanhou e me deu discernimento até aqui.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Manuela da Fonseca Moura, pelo incentivo para desenvolver este trabalho.

À bióloga, Dr<sup>a</sup> Cleoni Alves Mendes de Lima, por me enriquecer com seus ensinamentos diários.

Aos professores doutores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental, por contribuir para a minha formação enquanto pesquisadora.

Aos familiares e amigos que tiveram paciência nos meus momentos de ausência para estudar.

Aos amigos biomédicos, Liziane Rolim Dantas e Anderson Silva, do Laboratório de Tuberculose do LACEN/Rondônia.

Ao graduando, José Avelino Costa, pelas dicas preciosas de informática.

À técnica de laboratório, Luzinete, por sua disposição em me ajudar no que precisava.

À enfermeira Nilda Oliveira Barros, Coordenadora Estadual em Tuberculose, pelos dados fornecidos.

Aos pesquisadores colaboradores, Dr. Harrison Magdinier Gomes e equipe do Laboratório de Biologia Molecular aplicada à Micobactérias (LABMAN) da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro.

Ao técnico, Marcelo Ivens da Fiocruz/RJ, pela compilação dos dados em dendogramas.

Ao Alessandro da Silva Jovino da Secretaria de Estado da Justiça, pelas informações penitenciárias fornecidas.

Às Instituições colaboradoras, Universidade Federal de Rondônia - UNIR e Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia – LACEN/RO pela parceria no desenvolvimento deste estudo.

À Instituição fomentadora Fundação de Amparo à Pesquisa de Rondônia/FAPERO/CNPQ, pelo auxílio financeiro para a conclusão deste importante trabalho.

“Nós somos o que fazemos repetidamente.  
A excelência, portanto, não é um ato, mas um hábito.”

Aristóteles

## RESUMO

GONÇALVES, VGP. Investigação epidemiológica e molecular por *Spoligotyping* de isolados de *Mycobacterium tuberculosis* na população masculina do município de Porto Velho- RO / GONÇALVES, VGP. Dissertação de Mestrado em Biologia Experimental / Fundação Universidade Federal de Rondônia – UNIR

A tuberculose (TB) é uma doença crônica de rápido contágio em aglomerados populacionais como as unidades prisionais provocada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Devido à sua resistência a diversos fármacos novas estratégias são necessárias para o controle da TB. Neste trabalho realizou-se a identificação molecular de isolados de *M. tuberculosis* da população masculina em três unidades prisionais do município de Porto Velho, Rondônia, e os dados foram comparados com os da população em geral no período de janeiro de 2014 a junho de 2015. É um estudo transversal realizado na Casa de Detenção Dr. José Mário Alves da Silva (Urso Branco), Penitenciária Estadual Ênio dos Santos Pinheiro e Penitenciária Estadual Edvan Mariano Rosendo (Panda). As amostras foram analisadas no Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia e Laboratório de Biologia Molecular aplicada a Micobactérias da Fundação Oswaldo Cruz/ Rio de Janeiro. Amostras de escarro foram submetidas à baciloscopia, cultura para micobactérias, teste de sensibilidade aos antimicrobianos e identificação molecular pela técnica de *Spoligotyping*. Em nosso estudo, as análises por *Spoligotyping* demonstraram a atual situação dos isolados de *M. tuberculosis* circulantes na região havendo a predominância de 62,8% (140/223) da família LAM, seguido da família X com 11,6% (26/223), perfis novos em 9,4% (21/223), Haarlem 7,6% (17/223) e família T com 4% (9/223). Foram encontradas sublinhagens LAM 1, LAM 2, LAM 3, LAM 4, LAM 5, LAM 6, LAM 9, LAM 11-ZWE, X1, X2, X3, T1, T2, T3, AMBIGOUS: T3T2, EAI5 e EAI6-BGD1, e ainda 21 amostras com perfis novos e quatro perfis com famílias mal definidas com SIT 4, SIT 232, SIT 402, e SIT 2110. A população geral apresentou uma diversidade de 59 perfis em comparação com a população privada de liberdade, que apresentou apenas 22. As unidades prisionais apresentaram formação de grupos específicos de aglomerações como observado na família LAM em número significativamente maior e exclusividade da subfamília T3. Apenas 11 SIT se repetem tanto no presídio quanto na população o que representa 18,3% de similaridade dos SIT entre a população geral e presídios. Verifica-se que os índices de TB se mantem praticamente nos mesmos patamares há décadas, e no município de Porto Velho, são necessárias políticas públicas de saúde para a diminuição dos casos de TB com a implementação da busca ativa de sintomáticos respiratórios na população geral assim como na carcerária.

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*. *Spoligotyping*. Prisões



## ABSTRACT

GONÇALVES, VGP. Epidemiological and molecular investigation by Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the male population in prison units and comparison with isolates of the general population of Porto Velho- RO / GONÇALVES, VGP. Master's Dissertation in Experimental Biology / Federal University of Rondônia Foundation - UNIR

Tuberculosis (TB) is a chronic disease of rapid contagion in population clusters such as the prison units caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Due to its resistance to several drugs new strategies are necessary for the control of TB. In this work the molecular identification of *M. tuberculosis* isolates from the male population was carried out in three prison units in the municipality of Porto Velho, Rondônia, and the data were compared with those of the general population in January 2014 to June 2015. It is a cross-sectional study conducted at the Detention House Dr. José Mário Alves da Silva (Urso Branco), State Penitentiary Ênio dos Santos Pinheiro and State Penitentiary Edvan Mariano Rosendo (Panda). The samples were analyzed in the Central Laboratory of Public Health of Rondônia and Laboratory of Molecular Biology applied in Mycobacteria of the Oswaldo Cruz Foundation / Rio de Janeiro. Sputum samples were submitted to smear microscopy, mycobacterial culture, antimicrobial susceptibility test and determination of molecular variants of Spoligotyping technique. In our study, as analyzes by Spoligotyping, we demonstrated the current situation of circulating *M. tuberculosis* isolates in the region, with a predominance of 62.8% (140/223) of the LAM family, followed by the X family with 11.6% (223), new profiles in 9.4% (21/223), Haarlem 7.6% (17/223) and T family with 4% (9/223). LAM 1, LAM 2, LAM 3, LAM 4, LAM 5, LAM 6, LAM 9, LAM 11-ZWE, X1, X2, X3, T1, T2, T3, AMBIGUOUS: T3T2, EAI5 and EAI6-BGD1 SIT 4, SIT 232, SIT 402, and SIT 2110. The general population presented a diversity of 59 profiles in comparison with the population deprived of freedom, which presented only 22. The prison units presented formation of groups agglomerations as observed in the LAM family with a significantly higher number and exclusive presence of subfamily T3. Only 11 SIT are repeated both in the prison and in the population, which represents 18.3% of SIT similarity between the general population and prisons. It is verified that the TB indices have remained practically at the same levels for decades, and in the municipality of Porto Velho, public health policies are necessary for the reduction of TB cases with the implementation of the active search for symptomatic respiratory in the general population as well as in prisons.

Key-words: *Mycobacterium tuberculosis*. Spoligotyping. Prisons

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> – Sistema CRISPR-cas.....	29
<b>Figura 2</b> – Estrutura do <i>locus</i> DR no genoma micobacteriano (A). Princípio da amplificação <i>in vitro</i> da região DR por PCR (B).....	30
<b>Figura 3</b> – Taxa de incidência estimada de tuberculose no mundo, 2015.....	31

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Distribuição das famílias dos 167 isolados de <i>M. tuberculosis</i> da população geral no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	54
<b>Gráfico 2</b> - Distribuição das famílias dos 56 isolados de <i>M. tuberculosis</i> da população privada de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	54
<b>Gráfico 3</b> - Coeficiente de incidência de tuberculose em Rondônia, 2003 – 2012.....	63
<b>Gráfico 4</b> - Número de casos positivos de TB em todas as formas em Rondônia, 2014– 2016.....	63

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Esquemas terapêuticos para casos novos de tuberculose utilizados ao longo dos anos.....	24
<b>Quadro 2</b> – Atual esquema básico atual para tratamento de tuberculose em adultos e adolescentes.....	25
<b>Quadro 3</b> – Quantitativo de casos de TB confirmados por Ano Diagnóstico segundo Situação de Encerramento no período de 2013 a 2015.....	33
<b>Quadro 4</b> – Quantitativo de casos novos de tuberculose no Brasil, Região Norte e Rondônia no período de 2014 a 2015.....	33
<b>Quadro 5</b> – Taxa de incidência de tuberculose no Brasil, Região Norte e Rondônia no período de 2014 a 2015.....	34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Situação de encerramento dos casos de tuberculose notificados da população privada de liberdade.....	49
<b>Tabela 2</b> – Número de sintomáticos respiratórios e contatos examinados da população geral no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	50
<b>Tabela 3</b> – Número de baciloscopias de escarro realizadas no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	50
<b>Tabela 4</b> – Resultado das baciloscopias de escarro da população geral e privados de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	51
<b>Tabela 5</b> – Quantitativo de cultura para micobactérias realizadas no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	51
<b>Tabela 6</b> – Resultado das culturas para micobactérias da população geral e privados de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	51
<b>Tabela 7</b> – Quantitativo de testes de sensibilidade aos antimicrobianos realizados no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.....	52
<b>Tabela 8</b> – Resultado dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos dos 223 isolados de <i>M. tuberculosis</i> no período de 2014 a junho de 2015.....	53
<b>Tabela 9</b> – Distribuição de 167 isolados por <i>Spoligotyping</i> da população geral e 56 isolados da população privada de liberdade.....	55

**LISTA DE SIGLAS**

7H9	Meio de Mildebrook 7H9
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BCG	Bacilo Calmette-Guérin
CRISPR	<i>Clustered regularly interspaced short palindromic repeat</i>
CMtb	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
DR	<i>Direct Repeat</i>
E	Etambutol
ETR	Repetição exata em Tandem
FIMCA	Faculdades Integradas Aparício Carvalho
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
H	Isoniazida
H37Rv	Cepa de referência de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ILTB	Infecção latente da tuberculose
INFOPEN	Informações Penitenciárias
IS6110-RFLP	Polimorfismo de fragmentos de restrição
LABMAM	Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia
LJ	Meio de Löwenstein-Jensen
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MIRU	Unidades Repetitivas Micobacterianas
ODM	Objetivos de Desenvolvimento do Milênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNAISP	Política Nacional de Atenção Integral à Saúde das Pessoas Privadas de Liberdade no Sistema Prisional
PPL	População Privada de Liberdade
R	Rifampicina
RDRR	Região Determinante da Resistência à Rifampicina

RT-PCR	Transcriptase Reversa - PCR
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SITE-TB	Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose
SITVITWEB	Base de Dados por SpolDB4
<i>Spoligotyping</i>	Tipagem por oligonucleotídeos espaçadores
TB	Tuberculose
TB-MDR	Tuberculose Multidrogarresistente
TB-SPRINT	Protocolo de Hibridização
TB-XDR	Tuberculose extensivamente resistente
TDO	Tratamento diretamente observado
TRM-TB	Teste Rápido Molecular para Tuberculose
TSA	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos
Z	Pirazinamida

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	x
<b>LISTA DE GRÁFICOS</b>	xi
<b>LISTA DE QUADROS</b>	xii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xiii
<b>LISTA DE SIGLAS</b>	xiv
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	18
<b>1.1 Tuberculose</b>	19
<b>1.2 Coinfecção HIV/TB</b>	21
<b>1.3 Mecanismo de patogenicidade</b>	22
<b>1.4 Antibioticoterapia <i>versus</i> resistência</b>	23
<b>1.5 Vacina BCG</b>	26
<b>1.6 Exames diagnósticos para <i>M. tuberculosis</i></b>	27
<b>1.7 Tipagem Molecular por <i>Spoligotyping</i></b>	27
<b>1.8 Dados epidemiológicos</b>	31
<b>1.9 Tuberculose em unidades prisionais</b>	34
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	37
<b>3. OBJETIVOS</b>	38
<b>3.1 Objetivo Geral</b>	38
<b>3.2 Objetivos Específicos</b>	38
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	39
<b>4.1 Critérios de inclusão</b>	39
<b>4.2 Critérios de exclusão</b>	40
<b>4.3 Coleta de dados</b>	40
<b>4.4 Coleta e transporte de amostras</b>	40
<b>4.5 Biossegurança</b>	41
4.6 Baciloscopia para escarro	41
4.7 Cultura para micobactérias	44
4.7.1 Cultura em meio Löwenstein-Jensen	44
4.7.2 Cultura em meio Ogawa-Kudoh	45
4.7.3 Armazenamento de colônias para extração de DNA	46
4.7.4 Extração de DNA	46
4.7.5 <i>Spoligotyping</i>	47
<b>4.8 Análise de dados</b>	48
<b>4.9 Aspectos éticos</b>	48
<b>5. RESULTADOS</b>	49



<b>6. DISCUSSÃO</b>	57
<b>7. CONCLUSÃO</b>	69
<b>REFERÊNCIAS</b>	70
<b>ANEXO A – Comitê de Ética</b>	81
<b>ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e</b>	83
<b>ANEXO C – Dendograma da população privada de liberdade</b>	86
<b>ANEXO D – Dendograma da população geral</b>	88
<b>ANEXO E – Dendograma com <i>Spoligotyping</i></b>	89
	92

## 1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade relacionadas às doenças infecciosas nos países em desenvolvimento. Um desafio notável para o controle da TB envolve a incidência observada entre as populações de maior risco, incluindo a carcerária. No ambiente prisional, essa desigualdade é resultante de fragilidades sociais inerentes ao próprio indivíduo, bem como ser um espaço de superlotação, com ventilação deficiente, nutrição precária, consumo de drogas e doenças associadas que convivem com precários ou inexistentes serviços de saúde (DARA et al, 2009).

Visando a redução desta doença, o Plano Global para o Combate da Tuberculose 2011-2015 (*The Global Plan to Stop Tuberculosis 2011-2015*) proposto pela OMS (Organização Mundial de Saúde) teve a finalidade de reduzir drasticamente a carga da doença até 2015. De acordo com o que foi pactuado nos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM) onde a Tuberculose aparece no 6º objetivo intitulado: combater a AIDS, a malária e outras doenças. O Plano ainda apresenta como principal meta: eliminar a tuberculose como problema de saúde pública até o ano 2050.

Segundo o Ministério da Saúde (2016), o Brasil atingiu as metas propostas pela OMS em 2015, bem como a redução dos coeficientes de prevalência e de mortalidade previstos. Entretanto, a análise dos indicadores epidemiológicos e operacionais dos casos novos e de retratamento demonstrou que o controle da tuberculose ainda continua sendo um desafio no país.

Para Gouveia e colaboradores (2010), evidencia-se, portanto, a necessidade da elaboração e da implantação de programas específicos de vigilância epidemiológica e de luta contra a tuberculose na população carcerária. Poucos, porém, são os estudos que retratam a real situação das penitenciárias brasileiras quanto à ocorrência de casos de tuberculose.

Segundo o Gerenciador de Ambiente Laboratorial (2014), em Porto Velho, no ano de 2012, das 700 amostras de escarro analisadas apenas 27 (3,85%) eram da população privada de liberdade (PPL) sendo que 8 culturas foram positivas, o que equivale à 29,6% de positividade.

Com base neste alto percentual de positividade de culturas de escarro na unidade carcerária, verificou-se a necessidade de estudar a real situação da Tuberculose dentro das unidades prisionais do Município de Porto Velho e contribuir para a investigação

epidemiológica nesta população considerada vulnerável e comparar seus isolados com os encontrados na população geral.

### 1.1 Tuberculose

O ano de 1882 ficou marcado na História da Tuberculose. Em Berlim, Hermann Heinrich Robert Koch (1843-1910) apresentou o artigo *Die Aetiologie der Tuberculose* (A Etiologia da Tuberculose), anunciando o agente causador da TB e contendo afirmações do postulado de Koch: 1) o organismo deve ser encontrado em cada caso da doença; 2) o organismo não deve ser encontrado como um parasita acidental ou inofensivo em outras doenças; e 3) o organismo, após seu isolamento em cultura pura deve reproduzir a mesma doença (SAKULA, 1983).

Robert Koch isolou e cultivou cepas de *Mycobacterium tuberculosis* a partir de tubérculos macerados, identificando-o como o agente etiológico da tuberculose e que passou então a ser conhecido como bacilo de Koch. Ele não apenas demonstrou a bactéria causadora da doença como estabeleceu critérios aplicados à maioria das doenças causadas por bactérias utilizados até hoje (DANIEL, 2005).

Este agravo instalou-se no Brasil desde sua colonização, disseminando-se entre as classes menos favorecidas. Durante o século XIX, a concepção da doença como “mal romântico” foi extremamente difundida, sobretudo entre os poetas da época. No início do século XX, a doença passou a ser claramente percebida como um preocupante problema de saúde pública. A partir de então, um conjunto de ações de vigilância contribuiu para a importante redução da mortalidade da TB no país (MACIEL et al., 2012).

Com o advento da Biologia Molecular, estudos epidemiológicos e evolutivos mostraram a existência de um grupo de espécies de micobactérias geneticamente muito semelhantes com cerca de 99,9% de similaridade ao nível de DNA e que provocam a tuberculose em diversos mamíferos que se denominou o Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMtb). O CMtb é composto pelo *Mycobacterium tuberculosis*; *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium canettii*, “*Mycobacterium mungi*” (ALEXANDER et al., 2010; INGEN, 2012). Este Complexo provavelmente evoluiu para o Mundo a partir do Chifre da África a partir do *M. canettii*, que é o organismo filogenético relacionado ao CMtb mais antigo (BLOUIN et al., 2012).

A história evolutiva do CMtb se deve às pressões seletivas relacionadas com a resposta imune, que na maioria das vezes controla a sobrevivência e a replicação bacteriana, e mudanças na demografia humana (BRITES; GAGNEUX, 2012). A estrutura populacional do CMtb é altamente subdividida geograficamente, e as diferentes linhagens genéticas correspondentes às regiões geográficas parecem ter se adaptado às populações locais (GAGNEUX et al, 2006).

O sequenciamento do genoma da cepa H37Rv, foi publicado em 1998, tendo-se observado o tamanho de 4 milhões de pares de bases, com 3.959 genes. A partir desse primeiro sequenciamento outros foram feitos em cepas diferentes observando-se uma ampla variabilidade das mesmas (COLE et al., 1998).

A disseminação da TB no mundo coloca o Brasil como integrante do grupo dos 22 países de alta carga priorizados pela OMS (Organização Mundial de Saúde), países esses que concentram 80% dos casos de tuberculose no mundo, sendo que o Brasil ocupa a 16ª posição em número absoluto de casos (MS, 2015).

A procura de casos compreende tanto os métodos de diagnóstico quanto as ações organizadas para operacionalizá-los, envolvendo os serviços e a comunidade. Estas ações estão voltadas para os grupos com maior probabilidade de apresentar tuberculose, quais sejam: sintomáticos respiratórios (pessoas com tosse e expectoração por três semanas ou mais); contatos de casos de tuberculose; suspeitos radiológicos; pessoas com doenças e/ou em condição social que predisponham à tuberculose. Os contatos são definidos como toda pessoa, parente ou não, que coabita com um doente de tuberculose e constituem um grupo para o qual se recomenda uma atitude de busca ativa (MS, 2004).

Denomina-se "Caso de Tuberculose" todo indivíduo com diagnóstico confirmado por baciloscopia ou cultura e aquele em que o médico, com base nos dados clínico-epidemiológicos e no resultado de exames complementares, firma o diagnóstico de Tuberculose (MS, 2004).

Já o termo "Caso Novo" utiliza-se para o doente com tuberculose que nunca usou ou usou por menos de um mês drogas antituberculosas (MS, 2004). A recidiva da TB ocorre como um novo episódio da doença após a cura de um episódio anterior e se deve à reativação endógena ou à reinfeção exógena (SONNENBERG et al., 2002). O reingresso após tratamento apresenta maior risco de multirresistência de cepas, pois houve interrupção do esquema inicial podendo gerar resistência ao bacilo.

Os dados mais recentes indicam que a taxa de incidência provavelmente se estabilizou, mas o desafio é inverter a tendência e reduzir globalmente a mortalidade e, em longo prazo eliminar a doença que segundo Young e colaboradores (2008) uma maior compreensão da biologia será a chave para avanços radicais no controle da TB. A TB tem relação direta com a

miséria e com a exclusão social. No Brasil, ela é uma doença que afeta, principalmente, as periferias e aglomerados urbanos denominados de favelas, e, geralmente, está associada às más condições de moradia e de alimentação, à falta de saneamento básico, ao abuso de álcool, tabaco e de outras drogas (MS, 2012).

Um problema que se levanta na propagação da doença é que a busca tradicional pelos contatos domiciliares não é capaz de identificar a transmissão ocorrida durante contatos breves e casuais entre indivíduos (FOK et al., 2008).

Estudos envolvendo técnicas de biologia molecular têm sido de grande relevância, tanto para a compreensão de mecanismos de transmissão e virulência do bacilo como para a busca de novas estratégias para o diagnóstico e intervenções terapêuticas (SILVA et al., 2003).

## **1.2 Coinfecção HIV/TB**

O surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) promoveu rapidamente uma profunda modificação no panorama epidemiológico das doenças infecciosas e, em especial, sua associação com a tuberculose propiciou condições para o recrudescimento da mortalidade provocada pela moléstia.

Segundo Campos (2001), verificou-se uma comorbidade associada à tuberculose, após o surgimento da AIDS em 1981, com um incremento no número de casos de TB em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Desde a década de 1980, o HIV tem sido um dos principais fatores que contribuíram para o ressurgimento da tuberculose tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento (MUNIZ et al., 2004; PRADO et al., 2011). Esse vírus alterou o equilíbrio entre os seres humanos e o bacilo de Koch, assim como teve um impacto evidente na epidemiologia, na história natural e na evolução clínica da tuberculose (MAHER et al., 2010; SESTER et al., 2010). A coinfecção tuberculose/HIV resulta em taxas de mortalidade mais altas do que a infecção somente pelo HIV (OLIVEIRA et al., 2004).

A TB representa a primeira causa de morte em pacientes com AIDS no Brasil. Pacientes que possuem coinfecção TB/HIV têm maior probabilidade de apresentar um desfecho desfavorável ao tratamento da tuberculose (MS, 2012).

O risco de desenvolver tuberculose (TB) é estimado entre 26 e 31 vezes maior em pessoas vivendo com HIV do que entre aqueles sem infecção por HIV. Em 2014, houve 9,6 milhões de novos casos de tuberculose, dos quais 1,2 milhões entre pessoas vivendo com HIV (WHO, 2016).

No Brasil, a presença de HIV era conhecida em 66% de todos os pacientes de TB com uma prevalência foi de 15,9% entre os prisioneiros e 17,4% entre a população geral (BOURDILLON et al., 2017).

### 1.3 Mecanismo de Patogenicidade

A TB é uma doença crônica e que tem muitas manifestações clínicas podendo afetar vários órgãos, sendo o mais comum acometer adultos com doença pulmonar crônica. Estima-se que um terço da população mundial é infectado com o *M. tuberculosis*, proporcionando um enorme reservatório de doença (YOUNG et al., 2008).

O humano ao ser infectado pelo *M. tuberculosis* desenvolve uma resposta imune (RI) complexa predominantemente celular, mensurável pela resposta de hipersensibilidade na realização da prova tuberculínica, a qual dependerá da participação de macrófagos e monócitos – células que realizam o processo de fagocitose do microrganismo, atuando desde os momentos iniciais da resposta imunológica, tendo papel crucial na ocorrência da infecção, e linfócitos T, especialmente os Th1, os quais liberam interferon gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 2 (IL-2) e outras linfocinas (DEMISSIE et al., 2004; DELVES et al., 2006).

Embora uma das funções primárias dos macrófagos seja o de destruir os agentes patogênicos intracelulares, o CMtb desenvolveu mecanismos de sobrevivência no organismo humano (BRITES; GAGNEUX, 2012) através da formação de granulomas que consistem em grupos de células do sistema imunológico extensivamente em torno de focos de infecção. Tornou-se claro que as micobactérias promovem ativamente a formação de granuloma e utilizam as estruturas imunológicas como seu nicho de replicação (RAMAKRISHNAN, 2012).

Além disso o potencial de transmissão é aumentado pela formação de cavitações pulmonares. Apesar da imunidade do hospedeiro ser essencial para um controle eficiente da replicação bacteriana, também contribui para a sobrevivência e transmissão do bacilo uma vez que a existência do *M. tuberculosis*, em estado latente, pode ocasionar a doença mediante imunossupressão do indivíduo (BRITES; GAGNEUX, 2012).

#### 1.4 Antibioticoterapia *versus* Resistência

O bacilo *Mycobacterium tuberculosis* é um patógeno aeróbio estrito, de multiplicação lenta e com alta proporção de mutantes resistentes à fármacos (MITCHISON, 2004). Para Carvalho e colaboradores (2007), a resistência do *M. tuberculosis* aos tuberculostáticos tem surgido como grave ameaça à Saúde Pública.

A resistência à rifampicina pode ser considerada como um marcador para a multirresistência. Pacientes que desenvolvem resistência a esse medicamento têm baixa perspectiva frente ao tratamento, necessitando utilizar medicamentos de segunda linha como alternativa (ISEMAN, 1993; DROBNIIEWSKI, 1997).

Dos quatro mecanismos conhecidos pelos quais se dá resistência bacteriana (conjugação, transformação e *indels*), o *M. tuberculosis* adquire resistência aos fármacos por mutação e bombas de efluxo (DALCOMO, 2007; SPIES, 2007).

Esta resistência à rifampicina se dá através de mutações no gene *rpoB*. Já a resistência à isoniazida se deve a uma mutação mais frequentemente observada no gene *katG*. A região RDRR (Região Determinante da Resistência à Rifampicina) sofre um defeito de aptidão significativo conferindo susceptibilidade aos fármacos quando crescidos na ausência de rifampicina (GAGNEUX et al., 2006).

Segundo Ramaswamy & Musser (1998), aproximadamente 95% das cepas clínicas de *M. tuberculosis* resistentes à rifampicina abrigam uma mutação em uma região de 81 pares de base de *rpoB* conhecida como Região Determinante da Resistência à Rifampicina (RDRR).

Muitos outros polimorfismos nos genes envolvidos na resistência do bacilo à imunidade humana foram relatados, mas a tuberculose resistente é de caráter complexo, determinado por muitos genes com pequenos efeitos (MOLLER et al., 2010).

Em 2013, um estudo sobre o genoma de várias estirpes sensíveis e multirresistentes de *M. tuberculosis* foi realizado para estudar os mecanismos de resistência a antibióticos (ZHANG et al., 2013).

A utilização inadequada dos medicamentos – seja pelo número de ingestões, pelo emprego de esquemas de baixa potência ou pelo abandono do tratamento, tem contribuído para o surgimento da resistência do *M. tuberculosis* aos fármacos (YOUNG et al., 2008).

As drogas rifampicina (R) e isoniazida (H) são as principais utilizadas no tratamento da TB, sendo empregada no esquema primário de tratamento (ISEMAN, 1996; PETRINI, 1999). A tuberculose multidrogarresistente (TB-MDR) é definida como resistente, pelo menos, às

drogas isoniazida (H) e rifampicina (R), incluindo ou não resistência às outras drogas como pirazinamida (Z) e etambutol (E).

A principal ferramenta responsável pela vigilância dos casos resistentes de tuberculose no Brasil, o Sistema de Informação de Tratamentos Especiais da Tuberculose (SITE-TB), que teve início em 2014, notificou e acompanhou 260 casos novos de monorresistência (resistência a um fármaco antituberculose), 81 de polirresistência (resistência a dois ou mais fármacos antituberculose, exceto a associação de rifampicina-R e isoniazida-H), 374 de multirresistência (resistência a pelo menos R e H) e 56 casos de resistência extensiva - resistência a R e H, uma fluoroquinolona e um medicamento injetável de segunda linha (MS, 2015).

Mais recentemente, o aumento da tuberculose multirresistente (TB-MR) e da tuberculose extensivamente resistente (TB-XDR) tem complicado ainda mais o cenário da doença (Fundação Oswaldo Cruz, 2008). A TB-XDR se refere à presença de cepas multirresistentes que também são resistentes às fluoroquinolonas e a qualquer medicamento injetável considerado de segunda linha para o tratamento - amicacina, kanamicina ou capreomicina (NATHANSON et al., 2010).

Os esquemas terapêuticos e seus respectivos tempos de duração, adotados para o tratamento da TB no Brasil ao longo dos anos podem ser vistos no Quadro 1, onde desde o ano 2009 acontece com duas fases de tratamento sendo uma com duração de 2 meses e outra com 4 meses.

**Quadro 1** – Esquemas terapêuticos para tuberculose utilizados ao longo dos anos.

Ano	Esquemas Terapêuticos	Duração (meses)
1944	S	24
1952	SH	18
1964*	SHP	18
1965	3SHP/3HP/6H	12
1971	3SHT/HT	12
1979	2HRZ/4HR	6
2009	2RHZE/4RH	6

Estreptomicina (S), Isoniazida (H), Ácido para-amino salicílico (P), Tiacetazona (T), Pirazinamida (Z), Rifampicina (R) e Etambutol (E). \*A partir do ano de 1964, padronizou-se o esquema terapêutico para o tratamento da tuberculose em todo o Brasil. Fonte: FIOCRUZ, 2008.



No Quadro 2, segue o esquema terapêutico básico composto, nos dois primeiros meses, pelo Coxip 4 (comprimido contendo em dose fixa combinada rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol); e nos quatro últimos meses pela rifampicina e isoniazida (cápsula contendo 300 mg de rifampicina e 200 mg de isoniazida), esquema já utilizado na rede pública de saúde desde 2010 (MS, 2010). De acordo com a Nota Técnica do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT) do Ministério da Saúde, a mudança se justifica pela constatação do aumento da resistência primária à isoniazida (de 4,4% para 6,0%) e à isoniazida associada à rifampicina (de 1,1% para 1,4%), observado no II Inquérito Nacional de Resistência aos Fármacos Anti-TB, realizado no período de 2007-2008, em comparação com os resultados do I Inquérito Nacional, conduzido em 1995 a 1997.

**Quadro 2** – Atual esquema básico para tratamento de caso novo de tuberculose em adultos e adolescentes.

Regime	Fármaco	Faixa de peso	Unidades/dose	Duração (meses)
2RHZE Fase intensiva	RHZE 150/75/400/275 Comprimido em dose fixa combinada	20 a 35 Kg 36 a 50 Kg >50 Kg	2 comprimidos 3 comprimidos 4 comprimidos	2
4RH Fase de manutenção	RH 300/200 ou 150/100 cápsula	20 a 35 Kg 36 a 50 Kg >50 Kg	1 cápsula 300/200 1 cáp 300/200 + 1 cáp 150/100 2 cápsulas 300/200	4

2 RHZE: 2 meses em uso de Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol

4 RH: 4 meses em uso de Rifampicina e Isoniazida

RHZE: Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol

RH: Rifampicina e Etambutol

R: Rifampicina; H: Isoniazida; Z: Pirazinamida; E: Etambutol

Fonte: Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde

A identificação e o tratamento de indivíduos com infecção latente tuberculosa (ILTb) é uma estratégia eficaz para prevenção e futura reativação (MAARTENS, 2007). Num cenário prospectivo para a TB-MDR, consideram-se prioridades como linhas de investimento e de pesquisa, os campos da prevenção, do diagnóstico e do tratamento. Para o controle da transmissão seriam prioritários investimentos na implementação da estratégia TDO – tratamento diretamente observado, na melhor efetividade dos esquemas de curta duração prevenindo a emergência de formas resistentes; e o uso cada vez maior da epidemiologia molecular na descrição de microepidemias, e na detecção de *clusters* (DALCOMO; ANDRADE; PICON, 2007).

Tsolaki e colaboradores (2004) sugerem que algumas deleções de *M. tuberculosis* oferecem vantagens, a curto prazo, para escapar do sistema imune do hospedeiro e podem também reduzir a carga de elementos genéticos do microrganismo. Ainda podem conferir fortes vantagens, como a resistência a antibióticos, ou bloquear a latência e assim promover a transmissão.

Logo, a identificação de marcadores para rápida determinação de tuberculose droga resistente torna-se eficaz para o combate da prevalência de tuberculose multidrogarresistente (TB-MDR). As mutações de genes seletivos de *M. tuberculosis* tem sido usado como correlação para resistência a droga anti-TB (COSTA et al., 2009).

## 1.5 Vacina BCG

A vacina BCG (Bacilo Calmette-Guérin) foi desenvolvida entre 1906 e 1919, por Camille Calmett e Albert Guerin no Instituto Pasteur em Paris. Os pesquisadores obtiveram uma cepa atenuada do *Mycobacterium bovis* original após 13 anos de passagens sucessivas em meios de cultura, realizadas a cada três semanas, perfazendo o total de 231 passagens. A partir de 1921, a vacina produzida com *M. bovis* atenuado passou a ser utilizada em humanos, recebendo o nome de BCG (GRANGE et al., 1983; STARKE & CONNELLY, 2004).

Esta vacina é prioritariamente indicada para crianças de 0 a 4 anos, com obrigatoriedade para menores de 1 ano, como dispõe a Portaria no 452, de 6 de dezembro de 1976, do Ministério da Saúde (MS, 2008).

Trata-se de uma vacina atenuada e cada dose administrada contem cerca de 200 mil a mais de um milhão de bacilos. Quando administrada, a vacina não protege os indivíduos já infectados pelo *Mycobacterium tuberculosis* nem evita o adoecimento por infecção endógena ou exógena, mas oferece proteção aos não infectados contra as formas mais graves, tais como a meningoencefalite tuberculosa e a tuberculose miliar, na população menor de 5 anos. Em regiões geográficas com elevada prevalência de infecção por micobactérias não tuberculosas, a proteção do BCG é reduzida, razão pela qual seu rendimento é baixo em termos de saúde pública (MS, 2011).

A variação da proteção da vacina BCG tem sido atribuída a diversos fatores, a exemplo de diferenças na exposição a micobactérias ambientais, características genéticas da população, diferenças na virulência do *M. tuberculosis*, alto risco de reinfecção, diferenças nas cepas de BCG ou diferenças nutricionais. Aspectos metodológicos relacionados aos diferentes estudos

também foram identificados como fatores contribuintes para esta variação (STARKE & CONNELLY, 2004).

### **1.6 Exames dignósticos para *M. tuberculosis***

A pesquisa bacteriológica é um método de importância fundamental, tanto para o diagnóstico como para o controle de tratamento da tuberculose. A baciloscopia direta do escarro permite descobrir as fontes mais importantes de infecção: os casos bacilíferos (MS, 2002).

Apesar dos avanços recentes em diagnósticos rápidos, a microscopia do escarro permanece o teste mais amplamente utilizado em países de baixa renda e é provavelmente o único meio para o acesso ao diagnóstico e tratamento (MADHUKAR, 2008; DYE, 2010; CATTAMANCHI et al, 2011). No entanto, tem sensibilidade limitada, e até 50% dos casos são rotineiramente perdidos. Para que a baciloscopia direta seja positiva, é necessária a presença de pelo menos 5.000 – 10.000 bacilos/mL de escarro (ULRICHS, 2005; BRASIL, 2008; CHEN et al, 2012). A identificação de amostra positiva para *M. tuberculosis* apresenta maior sensibilidade quando associada à cultura para micobactérias.

A cultura para micobactérias apesar das dificuldades para a sua realização é o padrão ouro para o diagnóstico da TB, devido sua alta sensibilidade e especificidade (BOLLELA, 1999). Embora, a cultura bacteriana ainda seja considerada padrão-ouro para a detecção da tuberculose, esta técnica tem duração de 4 a 8 semanas e exige técnicos qualificados e laboratórios bem equipados, os quais estão raramente disponíveis em países em desenvolvimento (COMAS; GAGNEUX, 2011). É um método de diagnóstico altamente sensível que permite a detecção de um mínimo de 10 a 100 bacilos viáveis no volume do material cultivável. Existem vários meios de cultura para micobactérias, o mais utilizado no Brasil e aprovado pela Organização Mundial de Saúde é o meio sólido Löwenstein-Jensen (LJ).

### **1.7 Tipagem Molecular por *Spoligotyping***

Com o avanço das técnicas em biologia molecular e a descrição do genoma completo da cepa H37Rv do *M. tuberculosis* em 1998 (COLE et al., 1998), novos métodos em tipagem molecular têm promovido avanços importantes no entendimento da variabilidade genética em *M. tuberculosis* (RITACCO et al, 2012).

A técnica *Spoligotyping* tem sido muito útil para diferenciar isolados de *M. tuberculosis* em diferentes áreas geográficas. Baseia-se no polimorfismo do DNA no *locus* denominado “*Direct Repeat*” (DR) no genoma do *M. tuberculosis* (JANSEN et al., 2002<sup>a</sup>). O *locus* DR é um membro da família de sequências CRISPR, encontrado em todas as Archaea e cerca de 40% de Eubacteria (JANSEN et al., 2002<sup>b</sup>).

Kamerbeek e colaboradores (1997) desenvolveram um método simples que permite a detecção e tipificação simultânea de *M. tuberculosis* e reduz o tempo entre a suspeita da doença e sua tipificação de 1 ou vários meses para 1 ou 2 dias. A técnica de *Spoligotyping* analisa uma região cromossômica de 36 pb específica para o CMtb, o *locus* DR. Além de permitir reconhecimento de cepas que fazem parte da cadeia de transmissão, também permite a classificação das micobactérias do CMtb em famílias através de padrões específicos dos espaçadores.

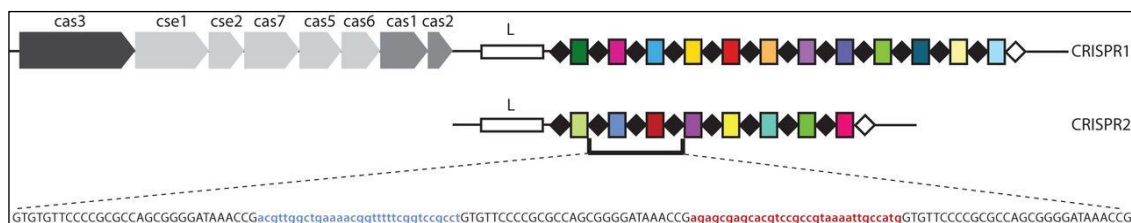
Segundo Driscoll (2009), o *Spoligotyping* é um método rápido, utilizando a PCR para a genotipagem de estirpes do CMtb. Os dados de *Spoligotyping* podem ser representados em termos absolutos (digitalmente), e os resultados podem ser facilmente compartilhados entre laboratórios, permitindo assim a criação de grandes bancos de dados internacionais. O estudo através de *Spoligotyping* foi padronizado há mais de 20 anos, e dezenas de milhares de isolados foram analisados, dando uma visão global da diversidade de estirpes MTB. O método é altamente reprodutível e tem sido desenvolvido em um ensaio de alto rendimento para grandes projetos de epidemiologia molecular.

Nos Estados Unidos, *Spoligotyping* é empregado em quase todos os casos positivos recentemente identificados de tuberculose como parte de um programa nacional de genotipagem. As vantagens deste método incluem seu baixo custo, seus resultados de dados digitais, a boa correlação de seus resultados com outros marcadores genéticos, seu nível justo de diferenciação global de linhagens, sua capacidade de alto rendimento e fornecer informações sobre espécies. No entanto, as fraquezas do método incluem a incapacidade do *Spoligotyping* para diferenciar bem dentro de famílias de grandes grupos, como a família Beijing, o potencial para a evolução convergente de padrões, o sucesso limitado na melhoria do ensaio através da expansão e a dificuldade em obter os equipamentos e materiais especializados para o seu uso (DRISCOLL, 2009).

Com a descoberta do Sistema CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), verificou-se que o estudo das cepas variantes por *Spoligotyping* se trata da utilização deste sistema. De acordo com Shariat & Dudley (2016), os CRISPR, são *loci* bacterianos cuja natureza dinâmica permitiu que fossem aproveitadas como alvos ideais para o

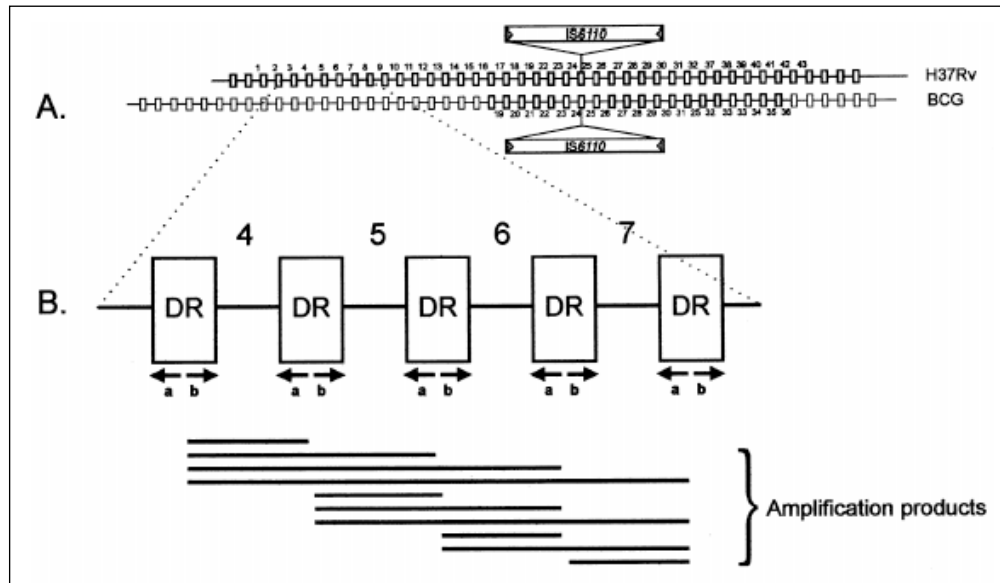
subtipo molecular. Na figura 1, observa-se o Sistema CRISPR – *cas* consiste em pequenas porções do DNA bacteriano compostas por repetições de nucleotídeos. Cada uma dessas repetições encontra-se adjacente a um “protoespaçador” (“espaçador de DNA”), que corresponde a uma região não-codificante inserida no DNA bacteriano após o contato com genomas invasores provenientes de bacteriófagos ou plasmídeos.

A transcrição do *locus* CRISPR resulta em pequenos fragmentos de RNA com capacidade de desempenhar o reconhecimento de um DNA exógeno específico e atuar como um guia de modo a orientar a nuclease *Cas*, que irá promover a clivagem e consequente eliminação do DNA invasor, caso este entre novamente em contato com a bactéria, atuando como importante mecanismo de defesa contra DNAs invasores (WIEDENHEFT et al., 2012).



**Figura 1** – Sistema CRISPR-*cas* – *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, apresenta uma porção líder não codificante inserida no DNA bacteriano que após contato com genomas invasores provindos de bacteriófagos ou plasmídeos resulta em fragmentos de RNA com capacidade de reconhecimento de DNA exógeno específico e norteando a Nuclease *Cas* na clivagem e eliminação do DNA invasor caso entre em contato novamente com a bactéria. Fonte: SHARIAT & DUDLEY, 2016.

Na figura 2-A, os cromossomos de *M. tuberculosis* H37Rv e *M. bovis* BCG contêm 48 e 41 DRs, respectivamente (representados como retângulos), que são intercalados com espaçadores únicos variando em comprimento de 35 a 41 pb. Os espaçadores (numerados) utilizados correspondem a 37 espaçadores de *M. tuberculosis* H37Rv e 6 de *M. bovis* BCG. O local de integração do elemento de inserção IS6110 é representado. Na figura 2-B, qualquer DR pode servir como alvo para estes iniciadores; Portanto, o DNA amplificado é composto por uma mistura de um grande número de fragmentos de tamanhos diferentes. Mostra-se a combinação de fragmentos que seriam produzidos por amplificação *in vitro* de um alvo DR contendo apenas cinco DR contíguas (KAMERBEEK et al., 1997).



**Figura 2** – Estrutura do locus DR no genoma micobacteriano (A). Princípio da amplificação *in vitro* da região DR por PCR (B).

As principais estirpes que infectam humanos foram classificadas em sete spoligotipos de acordo com as regiões em que aparecem preponderantemente: o tipo 1 contém o Leste Africano-Indiano (EAI) e algumas estirpes Manu (Indígenas); o tipo 2 é o grupo de Beijing; o tipo 3 é composto pelas estirpes da Ásia Central (CAS); o tipo 4 de Gana e Haarlem (H/T); o tipo 5 da América Latina-Mediterrâneo (LAM) e estirpes S, T na África Ocidental e X, além de desconhecidos (BRUDEY et al., 2006).

Os padrões de *Spoligotyping* permitiram agrupar isolados de acordo com a semelhança para criar clados ou famílias. Além disso, padrões distintivos foram ligados às espécies definidas do complexo *M. tuberculosis*. A tipagem molecular tem sido utilizada em estudos epidemiológicos com isolados de *M. tuberculosis* em várias regiões do mundo tentando determinar a diversidade de clones e a dispersão de cepas em grupos populacionais (FILLIOL et al., 2002).

Cada família está subdividida em *Spoligo International Type* (SIT) que são os nucleotídeos presentes ou ausentes nas regiões do spoligo que caracterizam uma determinada família e dentro dessa família as mutações vão indicar a que SIT já encontrado ou já estudado corresponde determinando-se assim a sua provável origem (FILLIOL et al., 2002)

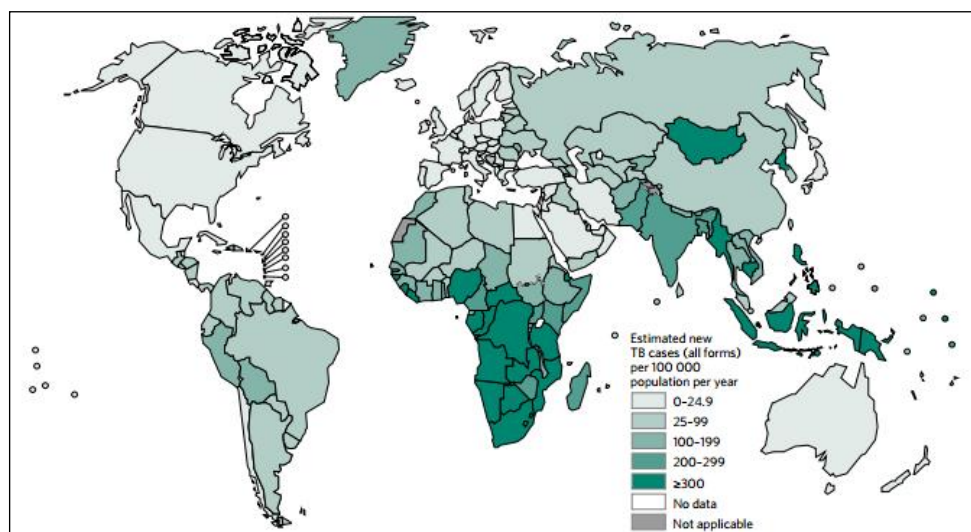
Em 2012, foi disponibilizado um novo banco de dados (SITVIT) que contempla três tipos principais de marcadores moleculares de *M. tuberculosis*: 1) os marcadores de *Spoligotyping* (formato 43 espaçadores); 2) os marcadores de MIRU (número variável de

repetições em Tandem) com 12 loci e; 3) cinco repetições em Tandem exatas (ETR) usadas para análise de VNTR do complexo de *M. Tuberculosis*, onde cada locus ETR contém múltiplas cópias em tandem de uma unidade de repetição particular. A associação de todas elas gera um perfil de alelos útil para a identificação e os estudos evolutivos do complexo de *M. tuberculosis*.

A Base de Dados Sitvitweb conta com 62.589 isolados provenientes de 153 países, enviados ao Instituto Pasteur de Guadalupe (DEMAY, 2012). Com organização e estabelecimento de um banco de dados internacional este método tornou-se vantajoso, pois é muito informativo sobre endemicidade ou isolados onipresentes (FILLIOL, 2002), e tornou-se possível uma visão global da distribuição geográfica dos genótipos (SOLA et al., 2001).

### 1.8 Dados Epidemiológicos

Segundo dados divulgados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2015, foram diagnosticados e notificados 10,4 milhões de casos de tuberculose no mundo, sendo 28.500 casos por dia. A causa de morte por tuberculose perfaz um quantitativo de 1,8 milhão de óbitos incluindo 400.000 mortes de coinfectados por HIV/AIDS, sendo 4.900 óbitos por dia (WHO, 2016). A tuberculose está entre as 10 principais doenças que causam mortes em todo o mundo, conforme dados da OMS (2016), sendo a primeira causa de morte em indivíduos coinfectados HIV/TB.



**Figura 3** – Taxa de incidência estimada de tuberculose no mundo, 2015  
Fonte: WHO, 2016.

Em 2010, foram diagnosticados e notificados 6,2 milhões de casos de tuberculose no mundo, sendo 5,4 milhões de casos novos, equivalentes a 65% dos casos estimados para o mesmo ano. Em 2012, somente Índia e China juntas representavam 40% dos casos notificados no mundo (MS, 2012). O Brasil está no *ranking* dos 20 países que mais concentram casos de tuberculose no mundo (WHO, 2016). De acordo com a figura 3, em 2015, 60% dos casos mundiais ocorreram na China, Índia, Indonésia, Nigéria, Paquistão e África do Sul (WHO, 2016). Comparando-se com anos anteriores, em 2015 se verificou um aumento de casos de TB diagnosticados no mundo.

Somente metade das pessoas tratadas contra tuberculose foram curadas nos casos de multidrogaassistente. E a OMS tem a perspectiva que até 2030 reduza em 90% as mortes por tuberculose e em, 80% os casos de TB comparados com 2015 (WHO, 2016).

No ano de 2013, o país diagnosticou 71.123 novos casos de tuberculose, sendo 69.274 em 2014 e 67.790 casos novos em 2015, representando redução do número de novos casos. Observou-se que entre os homens, a faixa etária mais acometida compreende 40 e 59 anos, e para as mulheres, 20 a 39 anos (MS, 2014). Segundo o Ministério da Saúde (2012), aproximadamente, 66% dos casos de tuberculose notificados é do sexo masculino.

Segundo dados do Ministério da Saúde através do SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação (2016), a taxa de mortalidade de tuberculose no Brasil foi de 2,2 em 2014; na região norte (2,4) e em Rondônia (1,4). Para o SINAN (2016), a taxa de incidência de tuberculose na Região Norte foi de 43,4 casos para cada grupo de 100 mil habitantes em 2014 e sofreu diminuição para 38,9 em 2015.

Segundo dados do SINAN, em 2013, o Estado de Rondônia apresentou uma proporção de cura de casos novos bacilíferos de 65,1% e a proporção de encerramento dos casos novos de tuberculose foi de 90,0% e está melhor detalhada no quadro 3.

Já no período de 2014 e 2015, a taxa de incidência de tuberculose foi de 32,1% e 28,8%, respectivamente. O percentual de 41,1% dos casos novos de tuberculose realizou tratamento para TB. Para os casos de retratamento, 23,5% realizaram exame de cultura para micobactérias. Entre os casos novos bacilíferos, 35,6% foram contatos examinados.



**Quadro 3** – Quantitativo de casos de TB confirmados por Ano Diagnóstico segundo Situação de Encerramento no período de 2013 a 2015.

Situação de Encerramento	2013	2014	2015
Ignorado/Branco	4	18	219
Cura	461	436	230
Abandono	95	121	72
Óbito por tuberculose	13	10	4
Óbito por outras causas	14	15	15
Transferência	80	68	103
TB-DR	3	2	1
Mudança de Esquema	-	8	3
Falência	-	1	1
Abandono Primário	-	1	-
Total	670	680	648

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net

Os quadros 4 e 5 apresentam o quantitativo de casos novos e a taxa de incidência de TB no país, na região norte e em Rondônia. Comparando-se os 2014 e 2015, verificou-se uma redução do número de novos casos e também da taxa de incidência de TB.

**Quadro 4** – Quantitativo de casos novos de tuberculose no Brasil, Região Norte e Rondônia no período de 2014 a 2015.

Local/Ano	2014	2015
Brasil	69.274	67.790
Região Norte	7.490	6.803
Rondônia	562	509

Fonte: SINAN/SVS/MS, 2016

Apesar da pequena redução do número de casos novos de TB não se pode menosprezar este quantitativo de casos uma vez que se trata de uma doença infecciosa e intensificar a vigilância e a busca de sintomáticos respiratórios e contatos para diagnóstico deste agravo.

**Quadro 5** – Taxa de incidência de tuberculose no Brasil, Região Norte e Rondônia no período de 2014 a 2015.

Local/Ano	2014	2015
Brasil	34,2	33,2
Região Norte	43,4	38,9
Rondônia	32,1	28,8

Fonte: SINAN/SVS/MS, 2016.

No quadro 5, Rondônia aparece com taxa de incidência inferior quando comparada à Região Norte e Brasil nos dois anos analisados. Em 2012, o Estado apresentou taxas de incidência de 34,5/100 mil habitantes para todas as formas de tuberculose e de 18,7/100 mil habitantes para os casos bacilíferos (MS, 2014).

### 1.9 Tuberculose em Unidades Prisionais

A Tuberculose é um importante problema de saúde na população privada de liberdade (PPL), especialmente em países de baixa e média renda (SANCHEZ, 2013). Segundo o Ministério da Saúde (2004), o sistema prisional apresentou incidência de tuberculose de 2.676 casos por 100.000 habitantes, um valor 33 vezes maior quando comparada à taxa de incidência da população geral. Corroborando com este dado, o estudo realizado no Brasil por Bourdillon e colaboradores (2017) onde afirmaram que, em geral, a taxa média de notificação anual entre prisioneiros foi 31,3 vezes maior comparado com a taxa média da população em geral.

Sanchez e colaboradores (2005), observaram prevalência de TB em 4,6 por uma análise sistemática realizada nas unidades prisionais do sistema. As altas taxas de TB encontradas em prisões não representam somente uma crise institucional de saúde pública, mas também uma ameaça ao controle da TB na população geral.

As penitenciárias são locais que propiciam a ocorrência de transmissão da tuberculose uma vez que a grande proporção de reclusos provém de populações socioeconomicamente desfavorecidas onde o fardo da doença pode ser elevado e de acesso limitado aos cuidados médicos.

Como os aglomerados populacionais nas unidades prisionais são reservatórios para a disseminação da tuberculose dentro do presídio e uma ameaça à população que visita seus familiares, são necessárias ações de vigilância e controle a fim de se identificar os indivíduos

sintomáticos respiratórios com tosse produtiva dentro da unidade prisional e garantir o tratamento.

Esta assistência à saúde da pessoa privada de liberdade é garantida pela Lei de Execução Penal (Lei nº 7.210, de 11 de junho de 1984) em seu artigo 14 ressalva que quando o estabelecimento penal não estiver aparelhado para prover a assistência médica necessária, esta será prestada em outro local, mediante autorização da direção do estabelecimento.

Segundo o Ministério da Saúde (2012), estratégias específicas devem ser desenvolvidas para o controle da tuberculose entre alguns grupos populacionais que vivem em condições desfavoráveis de moradia e alimentação, em conglomerados humanos, e entre pessoas imunocomprometidas e dificuldades de acesso aos serviços de saúde. Foi definido que entre as populações prioritárias estão: a população em situação de rua, a população privada de liberdade, a população indígena e as pessoas que vivem com HIV/AIDS.

No Brasil, a PPL apresentou, em 2013, coeficiente de incidência de 985,3/100.000 habitantes. Em 2014, com o objetivo de fortalecer as ações de controle da tuberculose no sistema prisional, foi iniciada a implementação de atividades para o rastreamento de casos de tuberculose em alguns presídios no Brasil (MS, 2015).

Os casos de tuberculose entre a população privada de liberdade apresentam o percentual de 6,8% de casos notificados no Brasil, embora o Sistema Prisional corresponda a somente 1,3% da população do país (Ministério da Justiça e Cidadania, 2015). O isolamento do apenado com TB está indicado nas seguintes situações: 1) casos identificados no momento do ingresso na prisão, pelo período de 15 dias; 2) casos confirmados ou suspeitos de resistência; 3) falência de tratamento (MS, 2011).

Segundo o último levantamento realizado pelo INFOPEN (Informações Penitenciárias) em 2015, o Sistema Prisional no Estado de Rondônia conta com 54 estabelecimentos penais e 10.550 vagas nas diversas casas de detenção. Os presídios do município de Porto Velho – Rondônia contam com 3.004 vagas, 5.912 reeducandos e compreendem 15 estabelecimentos penais. São demonstrados com respectivo quantitativo de apenados: Casa De Detenção Dr. José Mário Alves Da Silva/Urso Branco (557); Penitenciária Estadual Antônio Félix (248); Penitenciária Estadual Edvan Mariano Rosendo (898); Penitenciária De Médio Porte/Pandinha (328); Penitenciária Estadual Aruana (249); Penitenciária Estadual Feminina/PENFEM (143); Presídio Provisório Feminino (49); Unidade Semiaberto e Aberto Feminino/USAAF (140); Penitenciária Estadual Ênio dos Santos Pinheiro (643); Colônia Agrícola Penal Ênio dos Santos Pinheiro (333); Unidade de Internação Masculina - Medidas De Segurança (23); Centro de Ressocialização Vale do Guaporé (297); Unidade de Monitoramento Eletrônico do Sistema

Penitenciário (652) e Casa de Prisão Albergue Masculino (1.352). As Unidades Penitenciárias de Porto Velho apresentam uma taxa média de superpopulação de 96% ocorrendo, portanto, déficit de vagas.

Para Oliveira e Cardoso (2004), o impacto da tuberculose nos presídios não se limita aos detentos, afeta também a comunidade com que se relacionam, ou seja, familiares e funcionários dos presídios, durante e após a detenção. Na população em geral, cada doente não tratado pode infectar de 10 a 15 pessoas em um ano, e uma ou duas manifestam a doença, fazendo com que ela permaneça na população como endemia.

Estudos epidemiológicos realizados em vários países mostrou que a transmissão da tuberculose dentro das prisões contribui significativamente para as altas taxas de incidência de TB observadas nas populações carcerárias (CLARK et al., 1997; IJAZ et al., 2004). No Brasil, os resultados gerados por vários artigos demonstraram homogeneidade nos portadores de tuberculose, sendo facilmente identificados seus perfis (ANDRZEYVSKI & LIMBERGER, 2013).

## 2. JUSTIFICATIVA

Segundo Informações Penitenciárias (2016), o Brasil é o quarto país do mundo com maior número de encarcerados, com crescimento de 86% entre os anos de 2007 a 2015. Verifica-se a redução da taxa de incidência de tuberculose e aumento de 40% de detecção de casos na população encarcerada. Nos últimos sete anos, o número de casos de tuberculose identificados nos presídios correspondeu a 8% dos casos de tuberculose reportados ao Ministério da Saúde anualmente (BOURDILLON et al., 2015).

Globalmente, as populações encarceradas estão entre as com altos índices de notificações, frequentemente excedendo 20 vezes quando comparados com a população não-encarcerada (BAUSSANO et al., 2010). Além disso, vários estudos transversais demonstraram a alta prevalência de TB não diagnosticada entre os presos no Brasil (BAUSSANO et al., 2010; KUHLEIS et al., 2012).

Os apenados geralmente vivem em ambientes insalubres e não têm os recursos ou hábitos para se manter saudável. Eles também podem ter hábitos insalubres ou vícios que contribuem para a sua saúde precária e fatores de risco para o desenvolvimento de TB, como o alcoolismo, o tabagismo e o uso de drogas. Por estas razões, os reclusos entram em prisão com doenças pré-existentes ou com maior risco de adoecer em relação à população em geral (DARA et al., 2009).

Além disso, no Brasil, uma das principais causas para a proliferação da doença é a superlotação dos presídios que favorece a propagação da TB dentro das unidades de reclusão. Após a entrada dos reclusos no sistema prisional, estão expostos a vários fatores que contribuem para a evolução da tuberculose, como o encarceramento, a superlotação, uma maior prevalência de infecção pelo HIV e desnutrição (LOBACHEVA et al., 2007; BANU et al., 2010; ABEBE et al., 2011; TODRYS et al., 2011).

A importância em verificar os casos de tuberculose em aglomerados urbanos tem intuito de avaliar a incidência da doença e os polimorfismos existentes em *Mycobacterium tuberculosis* circulantes em Porto Velho. Com a caracterização genotípica e a análise dos isolados, pode-se perceber de que maneira a distribuição da doença se encontra dentro da prisão e, desta forma, adotar medidas de vigilância para redução dos casos de TB.

Logo, comparar os isolados identificados na população prisional com a população geral permite acompanhar a variabilidade genética existente das cepas circulantes além de colaborar para estratégias de vigilância para controle da doença.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

- Realizar a investigação epidemiológica e identificação molecular de *Mycobacterium tuberculosis* em cultura de escarro na população masculina em três unidades prisionais no município de Porto Velho – RO no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Analisar as baciloscopias, cultura de escarro em meio Löwenstein-Jensen e Ogawa Kudoh, além de testes de sensibilidade;
- Caracterizar os isolados de *Mycobacterium tuberculosis* por tipagem molecular por *Spoligotyping*;
- Comparar os isolados identificados na população privada de liberdade com os isolados da população geral.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, onde foram analisadas 756 amostras de escarro de indivíduos adultos do sexo masculino na faixa etária de 18 a 60 anos de idade admitidos nas três maiores unidades prisionais da capital de Rondônia no período de janeiro de 2014 a junho de 2015. As unidades selecionadas para o estudo foram: Casa de Detenção Dr. José Mário Alves da Silva - Urso Branco, Penitenciária Estadual Ênio dos Santos Pinheiro e Penitenciária Estadual Edvan Mariano Rosendo – Panda.

Para fins comparativos, a pesquisa analisou 1.260 amostras de escarro de indivíduos adultos de ambos os sexos na faixa etária de 18 a 60 anos de idade atendidos pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia (LACEN/RO) no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.

Para a análise das amostras de escarro, realizou-se baciloscopia, cultura para micobactérias e para os casos positivos, o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA). Para a extração do DNA micobacteriano, as amostras de colônias de *M. tuberculosis* sofreram choque térmico por 30 minutos. As alíquotas contendo 200 µL de tampão TE 1X e colônia foram submetidas à choque térmico. O choque térmico ocorreu por cerca de 30 minutos onde aqueceram-se os microtubos em banho maria à 100°C por 10 minutos e em seguida colocado em banho de gelo por 2 minutos. Este processo ocorreu por 3 vezes para a garantia da exposição completa do material genético da micobactéria.

Em seguida, extraiu-se o material genético dos bacilos de Koch utilizando *kit* QIAprep® Spin Miniprep e PureLink® Genomic DNA. Depois, o DNA extraído foi quantificado por espectrofotômetro NanoDrop<sup>2000</sup> e realizou-se a caracterização dos isolados pela técnica *Spoligotyping* com Protocolo de Hibridização (TB-SPRINT) da Beamedex® no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Micobactérias (LABMAM) da Fundação Oswaldo Cruz/ Rio de Janeiro.

### 4.1 Critérios de Inclusão

Foram inclusos na pesquisa: os indivíduos adultos do sexo masculino na faixa etária de 18 a 60 anos reclusos nos presídios participantes do estudo que se encontravam sintomáticos respiratórios ou como contatos de casos de tuberculose. Além de indivíduos adultos da população geral de ambos os sexos na faixa etária de 18 a 60 anos atendidos pelo Laboratório de Tuberculose do LACEN/RO.

## **4.2 Critérios de Exclusão**

Foram excluídos da pesquisa: os participantes que não aceitaram participar e as amostras insuficientes para os testes em laboratório.

## **4.3 Coleta de dados**

Para a coleta de dados, os reclusos que apresentaram tosse com expectoração a mais de 3 semanas foram encaminhados até o ambulatório da unidade prisional onde receberam atendimento de um enfermeiro. Realizou-se uma entrevista pelo enfermeiro da unidade prisional com uma explicação detalhada da pesquisa ao reeducando bem como a possibilidade de desistência a qualquer momento. Foi orientado sobre o correto preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Para a população em geral, foram utilizados os dados da ficha de solicitação de cultura do Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia (LACEN/RO) e acerca do início dos sintomas e local da coleta, utilizaram-se informações do Banco de Dados em Tuberculose no Sistema de Informação de Agravos de Notificação/SINAN, pois agrega as informações registradas nas fichas de notificação de casos de tuberculose, cujo preenchimento é obrigatório em todos os serviços de saúde.

## **4.4 Coleta e Transporte de Amostras**

Após o aceite da participação na pesquisa, foi entregue um coletor estéril transparente, com tampa rosqueável e identificado para cada participante. Solicitou-se uma quantidade de 5 a 10 mL de escarro para que não houvesse prejuízo no desempenho do exame. O participante foi orientado à forma adequada de coleta de escarro segundo o Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias (MS, 2008).

As amostras de escarro foram colhidas pelos participantes no início da manhã e transportadas à temperatura de 2 a 8°C em caixa térmica ao Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia - LACEN/RO.



## 4.5 Biossegurança

Pela Classificação dos Agentes Etiológicos Baseado no Grau de Risco, a espécie *Mycobacterium tuberculosis* integra o grupo de risco III, juntamente com outros microorganismos capazes de infectar através de aerossóis. Para reduzir a geração de aerossóis pelos procedimentos laboratoriais e sua dispersão, é preciso a utilização de um conjunto de medidas técnicas como: boas práticas microbiológicas, cabines de segurança biológica (CSB), centrífugas com caçapa de segurança, luvas, máscaras N 95/99, aventais, toucas descartáveis e calçados fechados (MS, 2008).

Apesar de se saber que o *M. tuberculosis* pertence ao grupo de risco III, alguns procedimentos para o diagnóstico da TB podem ser realizados em laboratórios de nível de segurança II, podendo citar, como exemplo, a baciloscopia direta e processamento de amostras biológicas por métodos que não exijam agitação (MS, 2008). Toda a manipulação das amostras foi realizada obedecendo os critérios de Biossegurança preconizados pelo Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias (MS, 2008).

## 4.6 Baciloscopia para escarro

Mesmo com os avanços tecnológicos, a baciloscopia corada pelo método de Ziehl-Neelsen (ZN), é um método de simples execução e particularmente importante no combate à tuberculose por ser de baixo custo para detectar casos bacilíferos.

As baciloscopias foram realizadas pelo método de ZN, de acordo com o Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias (MS, 2008).

Inicialmente, organizou-se a cabine de segurança biológica. Retirou-se lentamente a tampa da amostra para evitar a formação de aerossóis e a colocou suavemente virada para cima, na bandeja. Quebrou-se ao meio um palito de madeira e se retirou, com as duas pontas farpadas do palito, a partícula maior e mais purulenta da amostra e em seguida, depositou na lâmina. Homogeneizou-se com a ponta do palito estendendo a amostra, até o extremo oposto da lâmina com uma das partes do palito em posição horizontal.

Com o palito na mesma posição, realizou-se movimentos de “vai e vem” em cima da amostra até obter um esfregão homogêneo cobrindo 2/3 da lâmina, sem deixar espaços vazios. Descartou-se as duas partes do palito na caixa de papelão rígido para descarte de materiais

contaminados. Depois, colocou-se a lâmina com o esfregaço voltado para cima, para secar em temperatura ambiente. Após a secagem da lâmina, fixou o esfregaço por 3 vezes na chama do bico de Bunsen e em seguida, submeteu-se a lâmina à coloração.

As lâminas foram colocadas com o esfregaço voltado para cima, sem encostar umas nas outras e de acordo com o número de ordem de registro no suporte para corar. Logo, forrou-se um funil de vidro com papel de filtro e filtrado a fucsina fenicada a 0,3% para dentro do frasco conta-gotas com volume suficiente para cobrir todo o esfregaço das lâminas. Enrolou-se um chumaço de algodão na ponta de uma haste de metal com proteção contra aquecimento numa das extremidades; umedeceu-se o algodão com álcool etílico com cuidado para não escorrer álcool etílico na haste; colocou-se fogo no algodão umedecido com álcool etílico; e passou a chama lentamente por debaixo das lâminas até que ocorreu a emissão de vapores visíveis, retirou-se imediatamente a chama para evitar que a fucsina fervesse.

Após marcar o tempo de 5 minutos assim que ocorreu a primeira emissão de vapores, repetiu-se mais duas vezes o passo da chama na lâmina; inclinou-se cada uma das lâminas e derramou a fucsina na pia; abriu-se vagarosamente a torneira até obter um filete de água corrente para lavar as lâminas; deixou-se o filete de água cair em cima do número de cada lâmina, para que escorrer suavemente sobre o esfregaço até eliminar todo o corante. Após lavar também o lado oposto ao esfregaço de cada lâmina para eliminar a fucsina; colocou-se cada lâmina novamente no suporte com o esfregaço voltado para cima.

A descoloração do esfregaço foi realizada cobrindo completamente a lâmina com a solução descorante de álcool-ácido a 3%, e se esperou 1 minuto; e após segurou-se a lâmina pela borda numerada, inclinou e derramou a solução descorante na pia; deixou-se o filete de água corrente cair em cima do número de cada lâmina, para escorrer suavemente sobre o esfregaço e eliminar o Álcool-Ácido, observando se os esfregaços ficaram descorados, considerou-se descorado o esfregaço que apresentou coloração esbranquiçada ou levemente rosada.

Depois filtrou-se apenas o volume suficiente de azul de metileno para cobrir o esfregaço das lâminas coradas; após cobriu-se o esfregaço de cada uma das lâminas com o azul de metileno já filtrado, esperou-se 30 segundos; inclinou-se cada lâmina segurada com uma pinça anatômica e pela borda numerada, e derramou-se o azul de metileno na pia; deixou-se cair um filete de água corrente em cima do número da lâmina, para escorrer suavemente sobre o esfregaço até eliminar todo o azul de metileno a 0,3%; Girou-se cada lâmina e se lavou também o lado oposto ao esfregaço para eliminar o azul de metileno a 0,3%; Colocou-se cada uma das lâminas em posição vertical para secar em uma estante de tubos forrada com papel absorvente.

Seguindo o Manual de Recomendações para Controle da Tuberculose no Brasil (2011), a leitura das baciloskopias ocorreram em microscópio óptico, analisando no mínimo 100 campos, ou seja, aqueles campos nos quais se observaram elementos celulares de origem pulmonar (leucócitos, fibras mucosas e células ciliares). Conforme critérios para Leitura e Interpretação dos Resultados da Baciloscopia de Escarro pelo Método de Ziehl-Neelsen, estão descritos a seguir:

- a) Não são encontrados BAAR em 100 campos = relata-se o resultado como negativo;
- b) São encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos = relata-se apenas a quantidade de BAAR encontrada;
- c) São encontrados de 10 a 99 BAAR, em 100 campos = relata-se o resultado como positivo (+);
- d) É encontrada em média de 1 a 10 BAAR por campo, nos primeiros 50 campos observados = relata-se o resultado como positivo (++);
- e) É encontrada em média mais de 10 BAAR por campo, nos primeiros 20 campos observados = relata-se o resultado como positivo (+++).

#### **4.7 Cultura para Micobactérias**

Simultaneamente à baciloscopia, realizou-se a cultura para micobactérias do escarro, conforme orientação Programa Nacional do Controle da Tuberculose (MS, 2008). Os meios de cultura mais comumente utilizados são os sólidos à base de ovo, Löwenstein-Jensen (LJ) e Ogawa-Kudoh (OK). Têm a vantagem de serem os de menor custo e de apresentarem um índice de contaminação menor. A desvantagem do meio sólido é o tempo de detecção do crescimento bacteriano que varia de 14 a 30 dias, podendo se estender por até oito semanas.

O exame de cultura abrange 5 etapas: (1) pré-tratamento das amostras clínicas – prepara as amostras, de acordo com suas características, para as demais etapas metodológicas; (2) fluidificação-descontaminação – utiliza agentes químicos para homogeneizar a amostra clínica e eliminar outros microrganismos da mesma; (3) semeadura em meio de cultura – proporciona o contato das micobactérias existentes na amostra com as substâncias nutritivas; (4) incubação que fornece a temperatura correta e constante, necessária para a multiplicação das micobactérias; e (5) leitura dos tubos semeados e registro dos resultados – verifica a presença de colônias ou de turvação e/ou de contaminação, como sinal de presença de micobactérias e registra a ocorrência.

As sementeiras de amostras de escarro em meio de cultura foram realizadas de forma asséptica em área de biossegurança NB3 em cabine de segurança biológica Classe II B2 ou B3. Foram utilizados equipamentos de proteção individual e o descarte adequado do material contaminado.

#### **4.7.1 Cultura em meio Löwenstein-Jensen**

Para a cultura de Löwenstein-Jensen, colocou-se em cima da bandeja de metal somente o coletor da amostra para processamento; transferiu-se a amostra, no máximo 5 mL, para o tubo de centrífuga de 30 mL ou 50 mL, deixando escorrer suavemente o escarro pela parede interna do tubo, cuidando para não derramar. Caso escorresse o material para fora do tubo, limpou-se com gaze embebida em Solução de Fenol a 5%. Colocou-se o tubo de centrífuga contendo a amostra em uma estante. Repetiu-se esse procedimento para todas as amostras. Adicionou-se com pipeta estéril a cada um dos tubos de centrífuga a Solução de NaOH 4%, na quantidade correspondente ao mesmo volume da amostra. Utilizou-se uma pipeta para cada amostra. Fechou-se bem os tubos de centrífuga e agitou com a mão ou em agitador mecânico até formar uma mistura bem homogênea. Realizou-se o procedimento fora da CSB. Colocaram-se os tubos de centrífuga na estufa  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 15 minutos, para fluidificação-descontaminação.

Retornou-se para a cabine de segurança biológica e completou-se até o volume de 30 mL ou 50 mL com água destilada estéril ou Solução Tampão Fosfato pH 6,8. Procedeu-se à neutralização gotejando a Solução Neutralizante até o material apresentar a cor amarela âmbar. Após cada gota agitou-se suavemente o tubo para homogeneizar. A cor amarela âmbar indicou que houve mudança do pH para a faixa entre 6,5 e 7,2 e que a amostra estava adequada para ser semeada. Em caso de dúvida, quando ocorreu outra mudança de cor mas sem aparecer a cor âmbar característica, por exemplo, durante a neutralização de materiais sanguinolentos, utilizou-se a fita de pH para verificar se houve a viragem. Para tanto, colocou-se com uma pipeta estéril, uma gota da amostra que estava sendo processada, sobre uma fita de pH dentro de uma placa de Petri ou um pequeno tubo de ensaio e observou-se o pH da amostra. Se o pH estivesse acima de 7,2 continuou-se gotejando a Solução Neutralizante. Se o pH estivesse abaixo de 6,5 gotejou-se a solução de NaOH a 4%, gota a gota até que atingisse o pH adequado. Fora da cabine, centrifugou-se a  $3.000 \times g$  por 15 minutos. Após a parada total da centrífuga, esperou-se 5 minutos para abrir. Retirou-se as caçapas fechadas da centrífuga e colocou-as na CSB. Dentro da cabine, abriram-se as caçapas e acondicionaram-se os tubos da centrífuga em uma estante. Desprezou-se o sobrenadante de cada tubo de centrífuga em um recipiente a prova

de respingos; semeou-se com pipeta estéril, 0,1mL do sedimento em cada um dos tubos de meio de cultura, distribuindo em toda a superfície do meio.

No caso de existir água de condensação nos tubos de meio de cultura, desprezou-se a mesma sobre gaze ou papel de filtro estéril antes de semear. Fora da cabine, identificaram-se os tubos e retiraram-se os tubos de meios de cultura semeados da estante e movimentou-se cada um deles de modo que o inóculo banhe a superfície do meio. Acondicionaram-se os tubos de meios inclinados em uma bandeja de polipropileno, de maneira que o lado da tampa ficasse ligeiramente mais alto e com a superfície do meio voltada para cima. Cuidou-se para não sobrepor os tubos evitando acidentes ao transportar a bandeja. Identificou-se a data de semeadura na bandeja. Realizou-se a incubação dos tubos de cultura e realizou-se a limpeza, descontaminação da bancada e o descarte do material contaminado.

#### **4.7.2 Cultura em meio Ogawa-Kudoh**

A cultura para micobactérias por Ogawa- Kudoh é um método de execução simples, rápida e fácil, utiliza o NaOH 4% como agente descontaminante, sendo recomendado para a utilização em laboratórios de menor complexidade, pois não requer o uso de centrífuga. Indicado para amostras de escarro espontâneo (MS, 2008).

Dentro da cabine de segurança bacteriológica, colocou-se 3 mL de solução de NaOH a 4% em cada tubo estéril já identificado, utilizando pipeta estéril com auxílio de pipetador automático; em seguida, abriu-se lentamente o coletor da amostra a ser processada; introduziu-se o *swab* no pote contendo escarro, girando cuidadosamente dentro da amostra até que o mesmo ficou impregnado com a porção mais purulenta; inseriu-se o *swab* impregnado com a amostra no tubo contendo Solução de NaOH a 4%, sem encostar na parede, e deixou-se em repouso até 2 minutos (1,5 a 2 minutos); após esse tempo, passou-se um *swab* exclusivo sob a superfície de cada tubo com meio OK mediante movimentos rotatórios e em “zigue-zague” de maneira a espalhar bem o inóculo; descartou-se o *swab* no recipiente plástico contendo hipoclorito de sódio a 5%; fechou-se os tubos de meio de cultura sem rosquear a tampa até o fim e colocou na estante;

Acondicionaram-se os tubos de meios de cultura inclinados em uma bandeja de polipropileno, de maneira que o lado da tampa do tubo ficasse ligeiramente mais alto e com a superfície do meio voltada para cima; com identificação nos mesmos. As amostras foram incubadas em câmara climatizada a 37°C por até 60 dias. A leitura foi realizada em bancada

bem iluminada, após 48 horas de incubação houve fechamento dos tubos, e posterior leitura de 7 em 7 dias.

Com os seguintes critérios de leitura em escala semiquantitativa:

- a) Menos de 20 colônias = “Cultura Positiva” (número de colônias).
- b) De 20 a 100 colônias = “Cultura Positiva” (+).
- c) Mais de 100 colônias separadas = “Cultura Positiva” (++)
- d) Colônias confluentes (tapete) = “Cultura Positiva” (+++);
- e) Sem crescimento e sem sinal de contaminação = “Cultura Negativa”

#### **4.7.3 Armazenamento de colônias para extração de DNA**

Após o crescimento das colônias de *M. tuberculosis* em meio de cultura, retirou-se 2 alçadas equivalentes à 20 µL das colônias com auxílio de alça descartável. E em seguida, foram armazenados 20 µL das colônias em microtubo com 400 µL de tampão TE 1X. Cada amostra aliquotada foi acondicionada a 70°C negativos. Posteriormente, realizou-se choque térmico nas alíquotas antes da extração de DNA.

#### **4.7.4 Extração de DNA**

A extração de DNA das colônias de *M. tuberculosis* ocorreu com a utilização de 2 kits comerciais: QIAprep® Spin Miniprep e PureLink® Genomic DNA. Apesar de ser considerado simples por utilizar *kit* comercial, o procedimento de extração de DNA micobacteriano utilizando etapa de purificação pode acarretar ao processo diversas possibilidades de perda do DNA, desde a escolha da porção menos adequada do escarro a ser trabalhada até a perda durante a transferência da fração aquosa após partição em líquidos imiscíveis (ASSIS et al., 2007).

A extração de DNA foi realizada com o kit QIAprep® Spin Miniprep e seguiu as etapas recomendadas pelo fabricante. Primeiramente, ressuspendeu-se 100 µL da amostra armazenada em tampão TE 1X em 250 µL de tampão P1 e transferiu para um microtubo; adicionou-se 250 µL de tampão P2 e misturou o tubo por inversão 4 a 6 vezes; adicionou-se 350 µL de Tampão N3 e misturou imediatamente por inversão 4 a 6 vezes; centrifugou-se por 10 minutos a 17.900 x g; retirou o sobrenadante e inseriu na coluna do *kit*; centrifugou-se por 60 segundos e descartou o tubo coletor; para a lavagem, adicionou 500 µL de tampão PB e centrifugou por 1 minuto. Descartou o tubo coletor e adicionou-se 750 µL de tampão PE e centrifugou por 60

segundos; descartou-se o tubo coletor, e centrifugou-se em rotação máxima por 1 minuto para remover resíduo do tampão de lavagem; inseriu-se um microtubo estéril de 1,5 mL na coluna. Adicionou-se 50 µL de H<sub>2</sub>O deionizada e centrifugou-se por 1 minuto; e armazenou-se em temperatura de 20°C negativos.

O kit PureLink® Genomic DNA também seguiu as recomendações do fabricante onde foi ressuspensão em 100 µL do tampão TE com colônia em 180 µL de tampão de digestão; depois, adicionou-se 20 µL de Proteinase K para lise das células e se homogeneizou com o auxílio de vórtex; incubou-se o tubo por 30 minutos em banho seco a 55°C; adicionou-se 20 µL de RNase ao lisado misturando no vórtex, e incubou-se em temperatura ambiente por 2 minutos; adicionou-se 200 µL de tampão e misturou-se com vórtex até obter uma solução homogênea; adicionou-se 200 µL de etanol a 96% ao lisado; homogeneizou-se com auxílio de vórtex por 5 segundos até obter uma solução homogênea. Na coluna fornecida pelo *kit*, aplicou-se aproximadamente 640 µL do lisado; centrifugou-se a coluna por 10.000 x g durante 1 minuto em temperatura ambiente.

Em seguida, descartou-se o tubo coletor e inseriu-se um novo tubo fornecido pelo kit; adicionou-se 500 µL de tampão de lavagem 1 preparado em etanol; centrifugou-se em temperatura ambiente a 10.000 x g por 1 minuto; descartou-se o tubo coletor e inseriu-se um novo tubo; adicionou-se à coluna, 500 µL de tampão de lavagem 2 preparado com etanol; centrifugou-se a coluna em rotação máxima por 3 minutos na temperatura ambiente, descartou-se o tubo coletor; colocou-se a coluna em um tubo estéril de 1,5 mL; adicionou-se à coluna, 50 µL de tampão de eluição; incubou-se em temperatura ambiente por 1 minuto e centrifugou-se a coluna em rotação máxima por 1,5 minutos à temperatura ambiente; descartou-se a coluna e o material extraído foi armazenado à temperatura de 20°C negativos.

#### **4.7.5 Spoligotyping**

Inicialmente, em uma capela de fluxo laminar, preparou-se o *mastermix* utilizando para cada reação: H<sub>2</sub>O destilada qsp; tampão (1x), dNTP (0,2 mM); MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM); primer DrA (20µM), primer DrB (20 µM); Taq DNA polimerase (1,5 U); e amostra com DNA (~10ng). Depois adicionou 23 µl em cada poço da placa e em seguida, 2 µl do DNA da amostra. O volume final de cada reação foi de 25 µL. Incubou-se a placa no termociclador para a ciclagem de 25 ciclos sendo 96°C por 3 minutos, 96°C por 1 minuto, 55° C por 1 minuto, 72° C por 30 segundos e 72°C por 5 minutos.

Foram utilizados 2 controles positivos (cepas referência H37Rv e *M. bovis*) e 1 controle negativo (H<sub>2</sub>O deionizada). Para a realização da técnica, primeiro, ressuspendeu-se as microesferas por 20 segundos no vórtex e 20 segundos no sonicador. Em seguida, preparou-se uma mistura de *mix* de esferas - *microbeads* (1,54 µL) e TMAC 1,5X (31,46 µL) para um volume total de 33 µL para cada reação. Homogeneizou-se a mistura (*microbeads* e TMAC 1,5 X) por 20 segundos no vórtex e 20 segundos no sonicador. Dispensou-se 33 µL da mistura em cada poço da microplaca.

Nos micropoços da placa já contendo a mistura, adicionou 2 µL de produto de PCR – DNA biotilado amplificado e 15 µL de TE, homogeneizou-se delicadamente. Lacrou-se a placa adequadamente para evitar a evaporação e levou ao termociclador no seguinte programa: 98°C por 10 minutos (para desnaturar o amplificado de DNA biotilado) seguido de 52°C por 20 minutos (hibridização).

Centrifugou-se a placa contendo as amostras a 400 rpm por 7 minutos. Aspirou 40 µL do sobrenadante cuidadosamente não tocando no fundo dos poços. Adicionou 40 µL de TE em cada poço de amostra. Preparou uma solução de Estreptavidina-R-Ficoeritrina (1µg/µL) em solução de hibridização TMAC 1X tendo como concentração final de 5 µg/mL.

A partir desta solução, acrescentou em cada poço de amostra 25 µL da mistura (Estreptavidina-R-Ficoeritrina e TMAC 1x) tendo, assim, o volume final de 75 µL. Homogeneizou-se delicadamente. Colocou-se a placa no aparelho LABScan™ 100 para incubação à 52°C por 5 minutos. Após 5 minutos, o aparelho iniciou a leitura das amostras.

#### **4.8 Análise de dados**

Os dados foram compilados e receberam tratamento estatístico por meio dos softwares adequados onde para o método *Spoligotyping* (KAMERBEEK et al, 1997) utilizou-se planilhas em Microsoft Office Excel 2016 analisadas segundo a classificação SITVITWEB (2012) e realizada análise de dendograma por BioNumerics versão 7.5.

#### **4.9 Aspectos éticos**

Os participantes da pesquisa preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em anexo B. Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa pelas Faculdades Integradas Aparício Carvalho (FIMCA), sob o número do parecer nº 1.671.793/2016, anexo A.



## 5. RESULTADOS

Segundo dados do INFOPEN em 2015, as três penitenciárias do estudo abrigavam 2.098 detentos em regime de pena fechado sendo: 557 detentos da Casa de Detenção Dr. José Mário Alves da Silva/Urso Branco, porém, com vagas para 456 e apresentando um déficit de 101 vagas; a Penitenciária Estadual Edvan Mariano Rosendo/Panda com 898 detentos apresentando 360 vagas e déficit de 528 vagas; a Penitenciária Estadual Ênio dos Santos Pinheiro com 180 vagas, mas abriga 643 detentos e apresenta déficit de 463 vagas.

Na última atualização do INFOPEN em novembro de 2016, as 3 unidades prisionais possuíam um quantitativo de 2.376 reeducandos sendo: 818 na Casa de Detenção Dr. José Mário Alves da Silva/Urso Branco, 643 na Penitenciária Ênio Pinheiro e 915 na Penitenciária Panda. De um ano para outro, apresentou um aumento de 741 detentos nas unidades prisionais.

Em 2014, a população privada de liberdade rondoniense através das fichas de notificação do SINAN registrou o tipo de entrada de 603 novos casos de tuberculose, desses: 42 recidivas, 67 reingressos e 48 transferências de localidade. Já em 2015, apresentou 289 novos casos, 25 recidivas, 23 reingressos e 15 transferências (SINAN, 2016). Estas transferências de reeducandos ocorrem de uma unidade prisional para outra no mesmo município ou de uma unidade para outra na comarca.

Na população privada de liberdade, o encerramento de casos de TB por cura aumentou quando se compara o ano 2014 e 2015, conforme tabela 1. Não houve caso de óbito por TB no período estudado.

**Tabela 1**– Situação de encerramento do tratamento dos casos de tuberculose notificados da população privada de liberdade.

Situação de Encerramento	2014		2015		Total	
	N	%	N	%	N	%
Cura	29	53,7	51	70,8	80	65,6
Abandono de tratamento	13	24,1	11	15,3	24	19,7
Transferência de local	7	13,0	10	13,9	17	13,9
Óbito por TB	0	0	0	0	0	0
Óbito por outras causas	1	1,9	0	0	1	0,8
Total	54	100,0	72	100,0	122	100,0

Fonte: SINAN/2016

Neste estudo, inicialmente foram investigados os indivíduos sintomáticos respiratórios e também seus contatos, ou seja, as pessoas com quem teve contato no período. Na tabela 2, a população geral apresentou sintomáticos respiratórios (72,1%) enquanto a população privada

de liberdade (77,1%). Houve um aumento de 3,5 vezes no número de casos de TB identificados nas unidades prisionais pela intensificação da busca de sintomáticos respiratórios quando comparado com anos anteriores. Proporcionalmente, o quantitativo de baciloscopias de escarro realizado na população privada de liberdade foi superior ao da população geral em 8,28 vezes.

**Tabela 2** – Número de sintomáticos respiratórios e contatos examinados da população geral e privados de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.

Indivíduo	População Geral		PPL	
	N	%	N	%
Sintomático respiratório	908	72,1	583	77,1
Contato examinado	352	27,9	173	22,9
Total	1.260	100,0	756	100,0

Com base nos dados das fichas de notificação do SINAN, nem todos os contatos de casos de TB realizaram o exame de escarro para investigação. Somente em alguns casos foram realizados exames em todos os contatos de cada cela. Houve vários casos em que se realizou o exame apenas do sintomático respiratório e não se realizou dos contatos. A busca ativa por sintomáticos respiratórios e contatos deve ser contínua no serviço de saúde mantendo o controle epidemiológico e evitando a propagação da doença.

Para a pesquisa do *M. tuberculosis*, realizou-se a baciloscopia de escarro e na tabela 3, apresenta-se o quantitativo de baciloscopias analisadas na população geral (62,5%) e população privada de liberdade (37,5%).

**Tabela 3** – Número de baciloscopias de escarro realizadas no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.

População	2014		2015		Total	
	N	%	N	%	N	%
Geral	870	58,0	390	75,6	1.260	62,5
Privada de Liberdade	630	42,0	126	24,4	756	37,5
Total	1.500	100,0	516	100,0	2.016	100,0

Os detentos tiveram uma vigilância em tuberculose mais intensificada do que na população em geral. O reflexo disto se verifica nas tabelas 3 e 6 com um quantitativo muito inferior de culturas e baciloscopias de escarro quando comparado à população geral demonstrando um percentual menor de casos positivos na população privada de liberdade. Na

tabela 4, apresentam-se os resultados positivos e negativos das baciloscopias de escarro realizadas no período estudado.

**Tabela 4** – Resultado das baciloscopias de escarro da população geral e privados de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015

Resultado	População Geral		PPL	
	N	%	N	%
Positivo	260	20,7	42	5,5
Negativo	1.000	79,3	714	94,5
Total	1.260	100,0	756	100,0

Na tabela 4, verifica-se que 20,7% (260/1.260) das baciloscopias de escarro da população geral foram positivas enquanto a população privada de liberdade representou 5,5% (42/756). Neste estudo, também foram realizadas culturas para micobactérias das amostras de escarro como demonstra a tabela 5.

**Tabela 5** – Quantitativo de cultura para micobactérias realizadas no período de janeiro de 2014 a junho de 2015

População	2014		2015		Total	
	N	%	N	%	N	%
Geral	988	58,8	487	69,2	1.475	61,9
Privada de Liberdade	692	41,2	217	30,8	909	38,1
Total	1.680	100,0	704	100,0	2.384	100,0

A tabela 5 apresenta 1.475 (61,9%) culturas para micobactérias na população geral realizadas sendo superior à população privada de liberdade com 909 (38,1%). Das culturas realizadas na PPL, 2% (19/909) apresentaram-se positivas para MNT (micobactérias não tuberculosas) e 3,9% (36/909) como culturas contaminadas ou inconclusivas. O quantitativo de 368 culturas a mais se deve às repetições realizadas nos casos de contaminação de meio de cultura.

O resultado das culturas para micobactérias é demonstrado na tabela 6 onde 22,4% são positivas para a população geral e 8,2%, para os privados de liberdade.

**Tabela 6** – Resultado das culturas para micobactérias da população geral e privados de liberdade no período de 2014 a junho de 2015

Resultado	População Geral		PPL	
	N	%	N	%
Positiva para <i>M. tuberculosis</i>	282	22,4	62	8,2
Negativa para <i>M. tuberculosis</i>	978	77,6	694	91,8
Total	1260	100,0	756	100,0

Comparando as tabelas 4 e 6, há uma sensibilidade maior de detecção de *M. tuberculosis* na cultura para micobactérias do que na baciloscopia, 8,2% e 5,5% respectivamente, na população privada de liberdade. Logo, demonstra-se necessária a associação da baciloscopia e cultura de escarro para diagnóstico precoce de tuberculose. Estas tabelas indicam que as 42 baciloscopias positivas e 62 culturas positivas proporcionaram o diagnóstico precoce de 20 casos de tuberculose detectados com a realização da baciloscopia e cultura para micobactérias. Portanto, representou um aumento de 32,2% (20/62) no diagnóstico precoce de TB na PPL.

Foram realizados testes de sensibilidade de quatro antibióticos usados que podem ser observados nas tabelas 7 e 8.

**Tabela 7** – Quantitativo de testes de sensibilidade aos antimicrobianos realizados no período de janeiro de 2014 a junho de 2015

População	2014		2015		Total	
	N	%	N	%	N	%
Geral	154	73,7	60	84,5	214	76,4
Privada de liberdade	55	26,3	11	15,5	66	23,6
Total	209	100,0	71	100,0	280	100,0

A tabela 7 apresenta o quantitativo de testes de sensibilidade realizados no período sendo 76,4% da população geral e 23,6% dos privados de liberdade. Já a tabela 8 demonstra os resultados dos TSA dos 223 isolados de *M. tuberculosis*.

**Tabela 8** – Resultado dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos dos 223 isolados de *M. tuberculosis* no período de janeiro de 2014 a junho de 2015

TSA	População Geral		PPL	
	N	%	N	%
Sensível a RHSE	140	83,8	53	94,6
Resistente à S	13	7,8	3	5,4
Resistente à SHR	3	1,8	-	-
Resistente à HS	3	1,8	-	-
Resistente à HR	2	1,2	-	-
Resistente a RHSE	1	0,6	-	-
Resistente à SE	1	0,6	-	-
Resistente à H	1	0,6	-	-
Resistente a R	1	0,6	-	-
Intermediário para S	1	0,6	-	-
Inconclusivo	1	0,6	-	-
Total	167	100,0	56	100,0

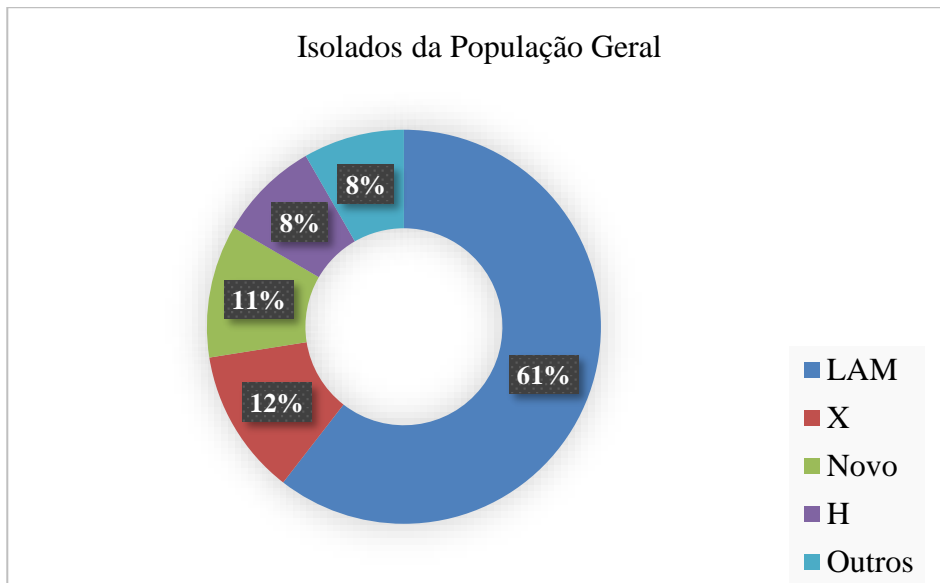
Fármacos testados: Isoniazida (H), Estreptomicina (S), Etambutol (E) e Rifampicina (R).

Conforme tabela 8, dos 167 isolados da população geral, 140 (83,8%) apresentaram sensibilidade e 27 (16,3%) com resistência, sendo estes: resistente à Estreptomicina (13), Estreptomicina, Isoniazida e Rifampicina (3), Isoniazida e Estreptomicina (3), Isoniazida e Rifampicina (2), Rifampicina, Isoniazida, Estreptomicina e Etambutol (1), Estreptomicina e Etambutol (1), Isoniazida (1), Rifampicina (1), Inconclusivo (1) e intermediário para Estreptomicina (1). A PPL apresentou apenas 5,4% de monorresistência à Estreptomicina nos 56 isolados analisados.

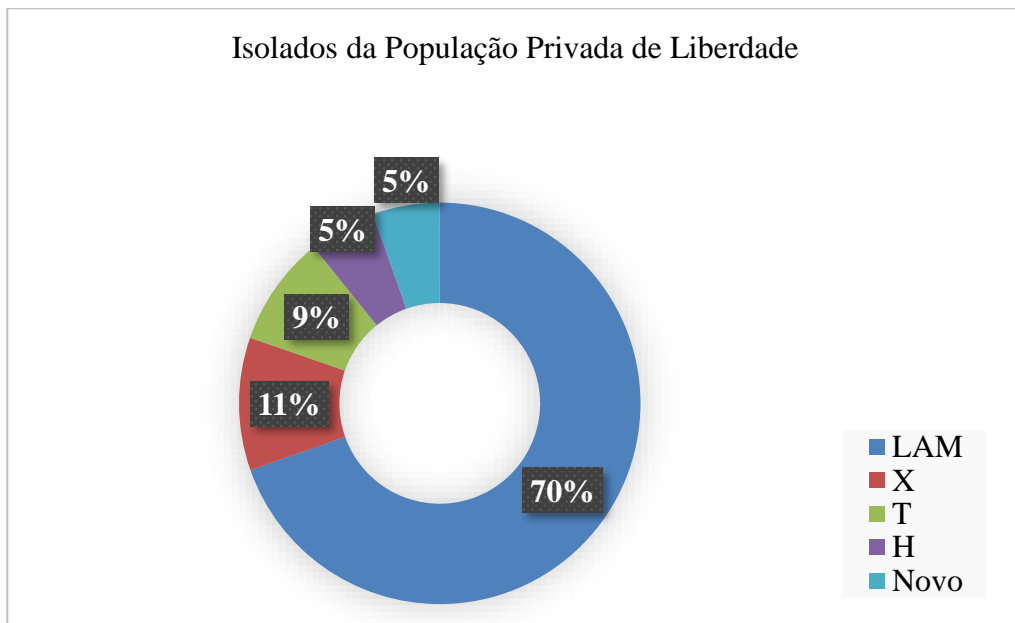
A distribuição da variabilidade de famílias dos 223 isolados de *M. tuberculosis* por *Spoligotyping* é apresentada para melhor visualização através dos gráficos 1 e 2, sendo 167 da população geral e 56 da privada de liberdade.

A família LAM foi a mais frequente tanto na população geral (61%) quanto na privada de liberdade (70%). Seguida da família X, com 12% na população geral e 11% na privada de liberdade. A família Haarlem com 8% na população geral e 5% nos privados de liberdade. A família T com 9% foi exclusiva da população privada de liberdade. Novos perfis representaram 11% dos isolados analisados da população geral e 5%, os privados de liberdade.

**Gráfico 1** - Distribuição das famílias dos 167 isolados de *M. tuberculosis* da população geral no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.



**Gráfico 2** – Distribuição das famílias dos 56 isolados de *M. tuberculosis* da população privada de liberdade no período de janeiro de 2014 a junho de 2015.



Existem seis famílias identificadas (LAM, X, T Haarlem, EAI, AMBIGUOUS: T3T2) onde a família LAM tem 8 subfamílias (LAM 1, LAM 2, LAM 3, LAM 4, LAM 5, LAM6, LAM 9, LAM 11-ZWE), X (X1, X2, X3), T (T1, T2, T3), Haarlem (H1, H2, H3), EAI (EAI5, EAI6-BGD1) e AMBIGUOUS: T3T2), além de famílias desconhecidas e novos perfis.

**Tabela 9** – Distribuição de 167 isolados por *Spoligotyping* da população geral e 56 isolados da população privada de liberdade.

Família	SIT	População Geral		Privada de Liberdade	
		N	%	N	%
LAM 1	20	4	2,4	4	7,2
	753				
	1803				
LAM 2	17	1	0,6	-	-
LAM 3	33	4	2,4	-	-
	111				
	1491				
LAM 4	60	2	1,2	1	1,8
	1895				
	2514				
LAM 5	93	11	6,6	1	1,8
	216				
LAM 6	ORPHAN	16	9,5	3	5,3
	64				
	95				
	396				
LAM 9	42	62	37,1	30	53,6
	150				
	452				
	1671				
	1758				
	2263				
LAM 11-ZWE	59	1	0,6	-	-
X1	1080	2	1,2	-	-
X2	185	2	1,2	-	-
X3	92	16	9,6	6	10,7
	1751				
T1	ORPHAN	1	0,6	3	5,3
	453				
	2499				
T2	52	3	1,8	-	-
	392				
	1664				
T3	37	-	-	2	3,6
	565				
H1	47	3	1,8	1	1,8
	151				
H2	2	5	3,0	1	1,8
H3	3	6	3,6	1	1,8
	50				

(Continua)

(Conclusão)

	2503				
	2643				
((EAI5	924	4	2,4	-	-
EAI6-BGD1	702	1	0,6	-	-
AMBIGOUS:T3T2	73	1	0,6	-	-
Desconhecida	4	4	2,4	-	-
	232				
	402				
	2110				
Perfil novo	-	18	10,8	3	5,3
TOTAL		167	100,0	56	100,0

Na tabela 9, na família LAM encontrada na população geral, houve predomínio da subfamília LAM 9 (37,1%), seguido de LAM 6 (9,5%), LAM 5 (6,6%), LAM 1 (2,4%), LAM 3 (2,4%), LAM 2 e LAM 11-ZWE com 0,6% cada. Já os isolados dos privados de liberdade apresentaram 53,6% LAM 9; 7,2% LAM 1; 5,3% LAM 6; LAM 4 e LAM 5 com 1,8% cada. Houve ausência das subfamílias LAM 2, LAM 3 e LAM11-ZWE verificadas na população geral.



## 6. DISCUSSÃO

A ocorrência de tuberculose ativa em prisões tem sido geralmente é relatada como sendo maior do que os níveis médios relatados para a população geral correspondente (ANGIE et al., 2000; DARA et al., 2009). A taxa de incidência anual estimada e a fração atribuível à população mostram que um melhor controle de tuberculose nas prisões pode potencialmente proteger os presos e os funcionários da propagação de TB dentro da prisão e reduzir significativamente a carga nacional da TB (BAUSSANO et al., 2010).

As prisões representam um reservatório para a transmissão da doença à comunidade em geral. A infecção por TB pode se espalhar para a população em geral através de funcionários da prisão, visitantes e contatos próximos de prisioneiros libertos (NIVEAU, 2006). A dinâmica de transmissão entre reeducandos e a população em geral tem sido hipotetizada para desempenhar um papel fundamental na condução da incidência, prevalência e mortalidade da TB na população em geral (STUCKLER et al., 2008).

A infraestrutura dos presídios contribui para a disseminação da TB e um dos principais obstáculos identificados nas unidades prisionais é a ausência de ventilação cruzada, ou seja, duas aberturas adjacentes através do qual a ventilação pode passar sem obstruções. É considerada mais eficaz do que a ventilação unilateral para controle de infecção pelo ar (WHO, 2009) como é o caso da Tuberculose.

A ocorrência de TB em prisões vem sendo descrita como um alarmante problema de saúde pública em muitos países. A prevalência mundial de TB entre detentos pode ser até 50 vezes maior do que as médias nacionais (WHO, 2007; BAUSSANO et al., 2010).

Em 2012, a prevalência de TB em todo mundo foi estimada em 169 casos por 100.000 habitantes (WHO, 2013), enquanto a prevalência média de TB em presídios de diferentes regiões do mundo, entre 1993 e 2011, foi de 1.913 casos por 100.000 habitantes (VINKELES et al., 2013).

De acordo com dados de 2017 do Centro Internacional de Estudos em Prisões (*International Centre for Prison Studies*), o Brasil tem a quarta maior população carcerária do mundo com 650.950 reclusos residentes em 1.424 unidades prisionais (dados de 2014) e 393.953 vagas. O país apresenta uma taxa de população prisional de 316 reclusos/100.000 habitantes com base numa estimativa da população de 206.280.000 habitantes.

Múltiplos estudos em prisões em todo o Brasil têm documentado prevalência de TB em mais de 2.000 casos por 100.000 presos (WHO, 2013; ESTEVAN et al., 2013; KUHLEIS et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2012; FOURNET et al., 2006). Corroborando com o nosso estudo,

onde houve uma prevalência de 2.609/100.000 habitantes na população privada de liberdade sendo que na população geral os dados são de 93/100.000 habitantes.

Em 2013, 812 amostras de escarro foram analisadas em Rondônia, sendo 50,5% (410/812) da população geral de Porto Velho e 31,6% (257/812) da população privada de liberdade. Comparando os anos 2012 e 2013, houve um aumento de 13,6% na quantidade de amostras analisadas provindas das unidades prisionais e, por conseguinte, um aumento da busca para diagnóstico de casos de TB. Verificou-se que 18% (74/410) das culturas da população geral eram positivas e 6,6% (17/277) nos reeducandos. Constatou-se também que neste mesmo período o aumento da demanda de amostras das unidades prisionais deveu-se à realização de exames nos indivíduos sintomáticos respiratórios além dos contatos de TB. A população privada de liberdade teve 6,6% (17/257) de resultados de cultura positiva. Resultou em um aumento de 2,1 vezes no número de casos de TB diagnosticado dentro das unidades prisionais.

Em nosso estudo no ano 2014, 1.500 amostras de escarro foram analisadas onde 58% (870/1.500) proveniente da população geral e 42% (630/1.500) da PPL. No primeiro semestre de 2015, 75,6% (390/516) foram da população geral e 24,4% (126/516) da população prisional. Apesar dos sintomáticos respiratórios apresentarem número maior de amostras que os contatos, é preciso intensificar o diagnóstico de TB em amostras de contatos.

A tabela 1 apresenta a situação de encerramento dos casos de TB na PPL onde se observa o abandono em torno de 20%. É necessária a implementação do tratamento diretamente observado – TDO de alta qualidade nos presídios uma vez que a duração de 6 meses de tratamento contribui para o abandono. Em estudo de corte de Teixeira (2006), o Brasil já configurava situação desfavorável para o encerramento de casos de TB com 9% de abandono dos casos positivos mesmo que acompanhados por TDO.

Em Manaus, segundo estudo de Lavor e colaboradores (2016), a estratégia DOTS (*Directly Observed Treatment, Short-course*) foi implantada parcialmente, porém sem efetividade. É necessário reforçar que não se trata apenas de supervisionar a tomada do medicamento, mas de um conjunto de atividades. Considera-se a potencialidade da estratégia DOTS viável no controle da TB.

A diminuição da libido está relacionada em alguns casos de pacientes com TB e podem contribuir para o abandono. Em estudo de Bertazone e Gir (2000), no que diz respeito à frequência da excitação, 18,0% dos pacientes referiram não apresentar excitação, ou seja, apresentavam excitação antes da manifestação da doença e após o aparecimento da mesma não mais a sentiam.

A adesão ao tratamento representa um desafio no controle da TB. Os fatores de proteção – interesse em se tratar e nível de informação sobre a doença – e o reconhecimento do uso de droga como fator de risco devem integrar estratégias de cuidado ao doente, buscando reduzir os índices de abandono para recuperação da saúde (PAIXÃO & GONTIJO, 2007). O abandono de tratamento supervisionado diferencia-se do não supervisionado, pois exige a supervisão das doses ingeridas dos medicamentos antituberculosos. Assim, identifica-se o abandono no início, permitindo uma ação corretiva imediata (FERREIRA, SILVA E BOTELHO, 2005).

O atendimento nos serviços de saúde e experiências anteriores de tratamento da doença estão também relacionados ao abandono do tratamento, demonstrando que a falta de interação e comunicação entre profissionais e pacientes pode levar ao abandono e ao não comparecimento à unidade de saúde (CHIRINOS & MEIRELLES, 2011).

Em estudo realizado por Zanini e colaboradores (2013) no Sudeste do Brasil, foram considerados sintomáticos respiratórios 68% dos detentos avaliados (178/262), entre esses, 25 (14%) foram diagnosticados com TB ativa com prevalência de 9.542/100.000. Nas unidades prisionais, a presença de sintomáticos respiratórios associados à baixa escolaridade, uso de álcool e drogas, reincidência na prisão, TB prévia e HIV positivo são agravantes para a infecção por TB e contribuem para o aumento de casos de TB neste ambiente.

Nas prisões européias, estima-se que a prevalência da tuberculose seja até 17 vezes maior do que na população geral (AERTS et al., 2006). Uma situação epidemiológica similar foi descrita nos países subdesenvolvidos, incluindo Bangladesh, Tailândia, Etiópia e Brasil, onde a prevalência da tuberculose foi relatada como sendo quatro, oito, sete e 64 vezes maior, respectivamente, entre prisioneiros em comparação com a população em geral (JITTIMANEE et al., 2007; CHIANG et al., 2002; BANU et al., 2010; ABEBE et al., 2011; ABRAHAO, NOGUEIRA, MALUCELLI, 2006; SANCHEZ et al. 2005; AERTS et al., 2001).

Em nosso estudo, a população privada de liberdade apresentou 77,1% (583/756) de sintomáticos respiratórios e 22,9% (173/756) de contatos examinados, onde 5,5% (42/756) estavam com tuberculose. Assim se observa que embora tivesse havido um grande número de sintomáticos respiratórios apenas 5,5% apresentou positividade na baciloscopia.

No Centro Oeste do Brasil, Paião e colaboradores (2016), num estudo em uma rede de 12 prisões verificaram que a infecção por tuberculose e as taxas da doença foram extraordinariamente elevadas. Um número maior de intervenções, incluindo exames mais frequentes e uso de terapia preventiva, podem ser necessários para reduzir a TB neste ambiente de alta transmissão. Além disso, as altas taxas de TB encontradas nessas prisões não só

representam uma crise instituída de saúde pública, mas também uma ameaça ao controle da TB na população em geral (DARA et al., 2015).

Em outro estudo realizado, Urrego e colaboradores (2015), mostraram que houve redução de 25% no tempo gasto até o diagnóstico de TB em 3 prisões brasileiras hipotetizando que a pesquisa de BAAR com esfregaço e cultura poderia evitar mais transmissão e, assim, reduzir a incidência de TB. Corroborando com nosso estudo, onde houve 32,2% de diagnóstico precoce de casos de tuberculose com a realização da baciloscopia e cultura para micobactérias (tabelas 6 e 9).

A infecção latente merece uma preocupação por parte da vigilância epidemiológica, pois em trabalho realizado em Minas Gerais por Navarro e colaboradores (2016), a prevalência de ILTB (infecção latente por Tuberculose) dentro das penitenciárias estudadas foi alta. Além disso, a ILTB estava associada ao relato de contato com casos de tuberculose e ao uso de drogas inaláveis. Os achados demonstram que são necessárias melhorias nas condições de encarceramento e a utilização de outras estratégias, como a triagem por radiografia de tórax, para a descoberta de casos de tuberculose e redução da infecção pelo *M. tuberculosis* no sistema penitenciário.

Os abandonos de tratamento para TB podem gerar resistência aos antibióticos de 1ª linha sendo necessário alterar as drogas utilizadas para as de 2ª linha. Nos presídios, é importante que a ingestão dos comprimidos seja assistida pelos profissionais de saúde como uma forma de garantir que não haja abandono de tratamento e conseqüentemente, a resistência do *M. tuberculosis*.

Para Macedo e colaboradores (2013), o abandono do tratamento está associado a presos jovens, com menor escolaridade, em uso de álcool, com recidivas de TB e tratamento sem supervisão direta. Os efeitos adversos do uso contínuo da medicação por 6 meses e a longa duração do tratamento contribuem para os casos de abandono.

Rondônia é o primeiro Estado Brasileiro em percentual de abandono de casos de TB com confirmação laboratorial com 17% e 16,4%, em 2014 e 2015, respectivamente. Porto Velho desponta como sexta capital do país em casos de abandono de tratamento com coeficiente de incidência de tuberculose de 66/100.000 habitantes sendo que o Brasil tem em média 33,6/100.000 habitantes. Em relação ao abandono, é considerada a segunda capital em percentual de abandono com 25% (MS, 2014; MS, 2015). O mesmo percentual de abandono em 2014 é apresentado nos apenados. Já em 2015, o percentual de abandono nos presídios sofreu uma redução de 10% enquanto que na população em geral da capital se manteve em 20,3%.

Num estudo realizado por Marques e colaboradores (2014), em municípios sul-mato-grossenses fronteiriços ao Paraguai e à Bolívia, a região de fronteira apresentou as taxas de incidência de 49,1/100.000 habitantes, taxa de mortalidade (4,0/100.000) e de abandono do tratamento (11,3%) como 1,6, 1,8 e 1,5 vez maiores do que na região não fronteiriça.

A extensão da fronteira do Estado de Rondônia com a república da Bolívia é de 1.342 quilômetros em uma faixa de 150 Km de largura e compreendendo 27 municípios, segundo dados do IBGE (2016). Os municípios rondonienses localizados na faixa da fronteira boliviana são Guajará-Mirim, Nova Mamoré, Costa Marques, Alta Floresta do Oeste, São Francisco do Guaporé, Alto Alegre dos Parecis, Pimenteiras do Oeste e Cabixi. O fácil trânsito da população fronteiriça ao Estado de Rondônia faz com que o controle epidemiológico dos casos de TB não exista contribuindo para os altos índices da doença na capital Porto Velho e em Rondônia.

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), na Bolívia, a taxa de tuberculose pulmonar foi de 59,9/100 mil habitantes em 2010, sendo que as cidades Guajará-Mirim (do lado brasileiro) e *Guayaramerín* (do lado boliviano) são separadas pelo Rio Mamoré que divide os dois países (Brasil e Bolívia) nesta região. Nos portos oficiais desses países, há o trânsito de grande fluxo de mercadorias e de pessoas seja para trabalhar ou para passeios turísticos. Os casos de TB podem ocorrer com mais frequências nas regiões de fronteira com países Sul Americanos como é o caso do Brasil e Bolívia.

Com a ideia de investigar a TB numa região de fronteira, Braga e colaboradores (2011) revelaram em estudo que o comportamento epidemiológico da TB na área da tríplice fronteira Brasil/Paraguai/Argentina se caracterizou por: 1) taxas de notificação ascendentes ou estáveis; 2) municípios com incidência de TB acima da média estadual e, principalmente, que 3) era uma região de elevada incidência e, portanto, de alta transmissão dessa endemia.

Se a TB está presente na população geral, ela também está presente nas unidades prisionais como Bourdillon e colaboradores (2017) apresentaram em estudo onde as taxas de notificação média anual de 2009-2014 entre prisioneiros são cerca de 20% em Rondônia, 13% no Rio de Janeiro, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Acre com cerca de 40%. Em 2014, os casos de TB notificados nos presídios de Porto Velho foram: 43 na Casa de Detenção Dr. José Mário Alves da Silva (Urso Branco) e 15 na Penitenciária Estadual Ênio dos Santos Pinheiro. Sendo que em 2015 foram: 43 no Urso Branco e 5 na Penitenciária Ênio Pinheiro.

Nas unidades prisionais, a busca ativa de casos de TB e a realização de baciloscopia e cultura para micobactérias contribuíram para o diagnóstico precoce. Embora exista um esforço para o diagnóstico precoce, a notificação dos casos de TB ocorre com inúmeras falhas no

preenchimento adequado das notificações além dos casos subnotificados podendo haver um quantitativo muito superior tanto na população geral quanto na privada de liberdade.

As baciloscopias realizadas na população geral totalizaram 1.260 onde 20,7% (260/1260) foram positivas enquanto que em 756 baciloscopias realizadas em prisioneiros, 5,5% (42/756) delas eram positivas. Portanto, há uma frequência 4 vezes maior de baciloscopia positiva na população geral que a encontrada nos presídios.

Pensando de outro modo, se na população geral foram feitas 1.260 baciloscopias onde 260 foram positivas e se a frequência de baciloscopias positivas fosse de 20,7% nos privados, logo, deveria ter-se encontrado 156 baciloscopias positivas e não somente 42.

Observou-se um maior rastreamento de casos de TB na unidade carcerária que na população geral, pois 36% (756/2098) dos detentos obtiveram investigação de tuberculose e apenas 0,3% (1260/428.526) da população geral foi rastreada.

Nosso estudo demonstra que a pesquisa do *M. tuberculosis* através da baciloscopia e cultura foi mais intensificada nos presídios que na população geral. A busca por casos de TB deveria ser realizada entre presidiários e população geral da mesma forma e com maior rastreamento de casos também na população geral.

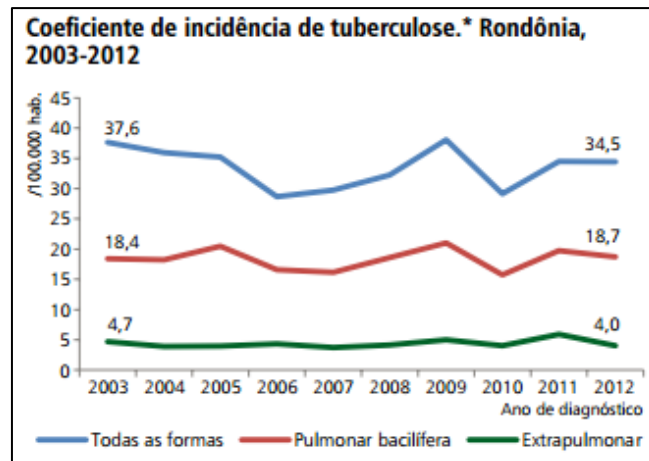
A partir destas análises, constata-se que a população dos presídios por se encontrarem num espaço delimitado e serem foco deste estudo apresentou uma vigilância mais eficaz da tuberculose com detecção precoce de casos, já que são feitos muito mais testes, do que na população geral cujo atendimento ocorre por demanda espontânea nas unidades básicas de saúde.

Com isso, verifica-se a necessidade de campanhas de saúde para conscientização da população e profissionais de saúde na busca ativa de casos bacilíferos de TB e, desse modo, diminuir drasticamente a frequência da tuberculose no País.

Em trabalho realizado por Deribew e colaboradores (2012) na Etiópia onde também não se faz busca ativa para tuberculose, foram rastreados para TB pulmonar um total de 30.040 adultos em 10.882 domicílios e observaram que havia 4,3 casos de TB pulmonar não diagnosticada para cada caso de TB diagnosticado.

Segundo dados do SINAN, presentes no gráfico 3, de 2003 a 2012 constata-se que não há diminuição de casos de TB pulmonar em Rondônia e os coeficientes de incidência de tuberculose nas formas bacilíferas se mantêm os mesmos apresentando uma linha contínua no gráfico ao invés da diminuição de casos.

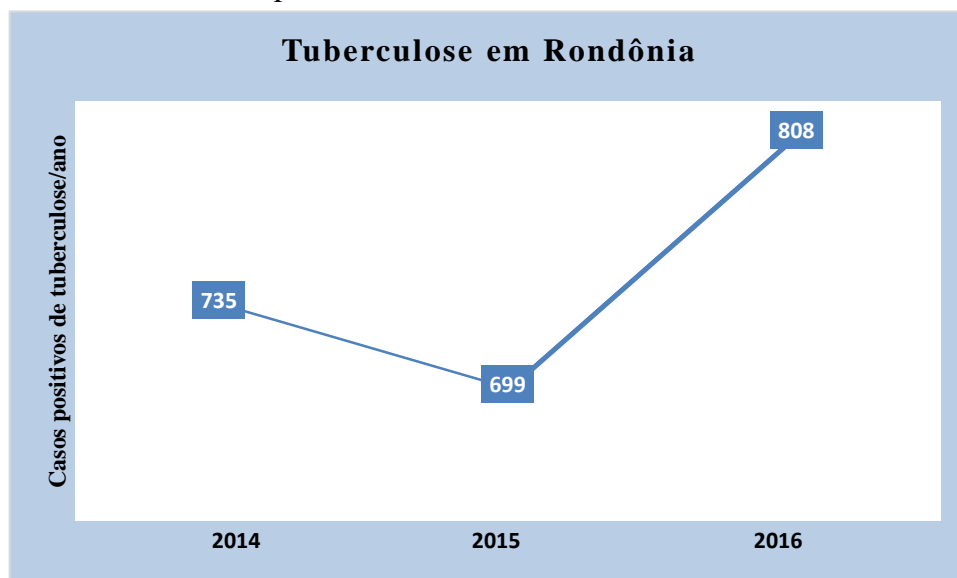
**Gráfico 3** – Coeficiente de incidência de tuberculose em Rondônia, 2003 – 2012.



Fonte: SINAN/SVS-MS e IBGE. \* Por 100 mil habitantes.

Em Rondônia, no ano de 2014, foram registrados 735 casos pulmonar e extrapulmonar, já em 2015 o número diminuiu para 699, e em 2016 voltou a aumentar ultrapassando os números registrados em 2014, com 808 registros de pacientes infectados. O gráfico 4 mostra o número de casos positivos de TB (todas as formas) no Estado no período de 2014 a 2016 tendo um considerável aumento de casos diagnosticados no último ano.

**Gráfico 4** – Número de casos positivos de TB em todas as formas em Rondônia, 2014–2016.



Fonte: SINAN/2016

Os casos diagnosticados na população geral se mantêm elevados uma vez que Rondônia é uma região de fronteira com outros países e vizinho de Estados como Acre e Mato Grosso com altos índices de TB. O quantitativo elevado de casos de TB na população geral é também reflexo do movimento migratório de outros países Sul-Americanos.

Nas unidades prisionais, a alta taxa de encarceramento combinadas com altas taxas de infecção, indicam que as prisões podem ser importantes reservatórios de transmissão para a população em geral. São necessárias intervenções urgentes para abordar a disseminação sem obstáculos da TB nas prisões brasileiras (PAIÃO et al., 2016).

Uma questão que pode ser levantada é a liberdade condicional e uso de tornozeleiras, para esta população que antes estava reclusa, uma vez que sai da unidade prisional, contamina a população em geral e necessita, portanto, de uma vigilância epidemiológica muito maior. O estabelecimento de novas estratégias de busca de sintomáticos respiratórios e campanhas de conscientização são necessárias para a redução dos casos de tuberculose que ao longo dos anos se mantém com números alarmantes de casos diagnosticados.

Em relação aos testes de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), o quantitativo de testes foi de 76,4% (214/280) na população geral e 23,6% (66/280) nos privados de liberdade. Os resultados dos TSA dos isolados da população geral apresentaram 83,8% (140/167) de sensibilidade aos quatro fármacos testados (Estreptomicina, Isoniazida, Rifampicina e Etambutol) e os privados de liberdade, 94,6% (53/56).

Apenas 5,4% (3/56) da população privada de liberdade tiveram resistência à droga Estreptomicina. Embora haja esta monorresistência, não há correlação entre esses isolados, pois dois pertencem às subfamílias LAM 9 e LAM 4, e um outro isolado à uma família não definida.

Verifica-se assim que a resistência aos fármacos está acontecendo em baixa proporção nas unidades prisionais, mas se encontra em maior quantidade na população geral, 16,2% (27/167), fato preocupante já que essa resistência pode ser adquirida entre contatos de maneira não controlada.

Em relação às famílias determinadas pelo *Spoligotyping* na população geral, 25 (15,1%) apresentaram resistência a pelo menos uma droga, sendo 18 (72%) pertencentes a família LAM. Na distribuição para os casos de resistência a pelo menos uma droga a família LAM 9 apresentou 12 casos; LAM 6 um caso; LAM 5, três (3); LAM 4, um (1); H3 dois casos; H1, um; sem família definida um e com perfil novo três isolados, sendo que este último apresentou resistência somente à Estreptomicina. Ao comparar o estudo realizado por Mendes de Lima (2012), dados não publicados, a família LAM apresentou uma taxa de resistência semelhante ao nosso estudo com 71,4%. Quando se observa resistência à Rifampicina e Isoniazida (principais drogas no tratamento da tuberculose) 5/6 isolados também pertencem a família LAM e apenas um da família H3.

A genotipagem por *Spoligotyping* torna-se uma importante ferramenta no monitoramento de isolados em diferentes contextos epidemiológicos, especialmente a



tuberculose em nossa região. A possibilidade de caracterizar genética e demograficamente estes micro-organismos contribui para o melhor entendimento de como a doença é distribuída nesta população, no esclarecimento das transmissões e das contaminações cruzadas e na implementação de ações para o controle da tuberculose (FURNALETO et al., 2013).

Uma família latino-americana-mediterrânea de *M. tuberculosis* foi inicialmente sugerida com base na análise filogenética de um grande conjunto de dados de *Spoligotyping*, e seu nome reflete as origens das cepas (SOLA et al., 2001). De acordo com Gagneux e colaboradores (2006), a família LAM faz parte da linhagem euro-americana grande e heterogênea (uma das seis linhagens de *M. tuberculosis* humano).

Em estudo realizado envolvendo vários países sul americanos realizado por Ritacco e colaboradores (2012), houve predominância de resistência na família LAM com 37,2%, seguido de Haarlem 28,9% e T 17,2%.

Para as análises de isolados de *M. tuberculosis*, no Brasil foram realizados vários estudos entre eles Furlaneto e colaboradores (2013) no Pará encontraram as famílias LAM, T e Haarlem como as mais frequentes. A família EAI está entre as mais frequentes na população paraense; no entanto é raramente relatada na América do Sul. Em Minas Gerais, as principais famílias foram constituídas por isolados pertencentes aos seguintes genótipos: 55,3% (63/114) LAM; 10,5% (12/114) superfamília T mal definida; 7% (8/114) Haarlem; 5,3% (6/114) X; 2,6% (3/114); EAI e Manu, cada um com 0,9% (1/114) dos isolados (MIRANDA et al., 2011).

Na Espanha, em um período de 11 anos (1998-2008), Gavin e colaboradores (2012) analisaram 480 isolados de *M. tuberculosis* multirresistente (MDR-TB) cujas famílias LAM e Haarlem foram responsáveis pela maior parte da transmissão de MDR-TB local, representando assim 26,8% e 22% respectivamente, sendo que 42% das cepas pertenciam a imigrantes provenientes de 28 países, com representação maior da América Central 65 (40%).

Em relação à distribuição dos vários genótipos de *M. tuberculosis* no mundo, em estudo Brudey e colaboradores (2006) observaram 45 genótipos distintos, dos quais 35 previamente relatados e 11 ainda não relatados. Sessenta e um genótipos apresentaram-se compartilhados por duas a 15 amostras e 29 genótipos eram únicos. As famílias LAM, T, Haarlem e EAI foram as mais frequentes.

Em estudo de Deribew e colaboradores (2012) realizado na Etiópia, o *Spoligotyping* revelou que a maioria das cepas foram da família T, um achado que está de acordo com os de estudos anteriores de outras partes da Etiópia. O isolado T3 foi relatado anteriormente como sendo frequente na Etiópia como estirpes multidrogarresistentes. Em nosso estudo, a família T3 foi restrita à população privada de liberdade e apresentou 2 (dois) casos com monorresistência.

Corroborando com nossos achados, em Rondônia, no estudo de Mendes de Lima (2012), dados não publicados, 90 isolados de *M. tuberculosis* foram analisados por *Spoligotyping* e as famílias identificadas foram: LAM (68,9%), seguida da Família T (13%); X3 (6%); Haarlem (3%); EAI (3%); U (3%) e família S (2%). As Famílias LAM e T juntas representaram 81,9% das amostras. A Família LAM foi representada pelas subfamílias: LAM 9 (75%), LAM 6 (16%); LAM 3 (5%); LAM4 (3%); LAM 5, 2 e 1 juntos com 1,5%. Sendo que a subfamília LAM 9 obteve frequência maior de SIT 42 (67%). Apresentou quatro grandes *clusters* em 5 famílias (LAM, T, Haarlem, X, EAI) e representantes desconhecidos (*orphan* e novos).

Em nosso estudo, as análises dos isolados por *Spoligotyping* demonstraram a atual situação dos isolados de *M. tuberculosis* circulantes na região havendo a predominância de 62,8% (140/223) da família LAM, seguido da família X com 11,6% (26/223), perfis novos em 9,4% (21/223), Haarlem 7,6% (17/223) e família T com 4% (9/223). O predomínio de LAM é um fator já esperado, sendo que a subfamília LAM 9 é comum e com frequência muito alta em todo o país e na América Latina.

É importante referir que a presença de 21 perfis novos mostra que embora existam reuniões constantes a nível mundial para classificar esses novos perfis que aparecem, ainda se encontram diversas variações que acabam não entrando em nenhuma família conhecida mostrando o grande poder que a bactéria tem de estar continuamente se modificando.

A PPL apresentou 8,9% (5/56) de família T sendo 5,3% (3/56) T1 e 3,6% (2/56) T3. A subfamília T3 foi restrita à população privada de liberdade e não foi encontrada na população geral. A família T inclui cepas que tem ausência dos espaçadores 33-36 e é uma família que não é bem definida levando a convergência, e a uma classificação não real dos isolados.

Em relação aos SIT encontrados, verificaram-se 41 SIT (68,3%) diferentes na população geral e 19 SIT (31,7%) nos presídios o que perfaz no total 60 SIT diferentes. Destes, apenas 11 se repetem tanto no presídio quanto na população geral o que representa apenas 18,3% de similaridade dos SIT entre as duas populações.

Na população em geral, observaram-se 10 subfamílias (LAM1, LAM3, LAM4, LAM5, LAM6, LAM9, H1, H3, T2 e X3) com diferentes SIT enquanto na população prisional, seis subfamílias (LAM 1, LAM 6, LAM 9, T1, T3 e X3) com SIT diferentes. Assim, nos presídios se identificou um menor número de famílias (11), portanto, uma menor diversidade de SIT (19) encontrados quando comparados com a população geral com 19 famílias e apresentando 41 diferentes SIT, fato que já era esperado visto que o tamanho populacional das prisões é menor.

Para a existência de uma maior diversidade de SIT nas diferentes famílias várias hipóteses podem ser consideradas: 1) várias mutações ocorrendo dentro dos presídios tentando

a bactéria sobreviver num ambiente diferente; 2) presidiários advindos de diferentes regiões e trazendo diferentes mutações; 3) e/ou a população geral, embora possa ter essas variantes, não foram observados neste estudo. De certo, seriam necessários mais estudos para verificar se esse fenômeno permanece ou é apenas um acaso isolado.

Em relação aos isolados com famílias desconhecidas, os mesmos apresentaram o SIT 4, SIT 232, SIT 402, e SIT 2110. Através do SITVITWEB, observou-se que os locais de ocorrência das famílias do SIT 4 são: na Argentina, Áustria, Bélgica, Bangladesh, Bulgária, Brasil, Canadá, Alemanha, França, Haiti, República Dominicana, Itália, Uganda, Estados Unidos, Kênia, Venezuela, Zâmbia, Turquia, Tanzânia, Paraguai, Portugal, Países Baixos e Malásia. O SIT 232 ocorreu no México, Países Baixos e Estados Unidos (ano 2000), ainda não havia sido observado no Brasil e foi um dos isolados identificados em nosso estudo. Os isolados identificados com SIT 402 ocorreram na Áustria, Brasil (ano 2003), Argélia, França, Geórgia, Portugal, Rússia, Estados Unidos e Uganda. O SIT 2110 ocorreu no Brasil e Estados Unidos (SITVITWEB, 2016).

É possível visualizar no dendograma geral (anexo D) os agrupamentos (clusters) de famílias nas populações prisionais distintas da população em geral mostrando assim que existe variabilidade entre as cepas da população em geral e dos presídios.

Segundo o Ministério da Saúde (2017), Porto Velho apresentou o pior desempenho entre as capitais com apenas 27,9% dos contatos examinados dos casos novos de TB pulmonar com confirmação laboratorial. Este dado demonstra que os novos casos de TB na capital não estão sendo detectados contribuindo para a manutenção dos índices da doença.

No entanto, o grande problema dos casos de tuberculose é a descoberta tardia da doença e diagnóstico com resultados de baciloskopias de 2 ou 3 cruces. A falha no diagnóstico inicial faz com que ocorra um aumento no número de internações por tuberculose uma vez que o paciente se encontra extremamente debilitado. O diagnóstico precoce de casos tanto na população privada de liberdade quanto geral deve ser permanente de forma a contribuir para a diminuição dos índices da TB em Porto Velho.

Desse modo, conclui-se que a população geral está muito mais desassistida do que a população presidiária, pelo menos no que diz respeito ao ano de 2014 e 2015. A falta de políticas públicas eficazes para assistir à população geral faz com que a tuberculose se mantenha praticamente nos mesmos patamares há décadas. Para haver uma diminuição real da doença deveria se fazer uma busca ativa de sintomáticos respiratórios na população. Para isso, propomos um estudo amostral de verificação da frequência da tuberculose em dois bairros de

Porto Velho, um com um padrão de vida mais alto e outro mais carente para se comparar como ocorre a distribuição da tuberculose em Porto Velho e a verdadeira dimensão desta doença.

## 7. CONCLUSÃO

Com a implementação deste estudo dentro das três unidades prisionais, houve um aumento do quantitativo de novos casos diagnosticados quando comparados aos anos anteriores. Nas unidades prisionais, a busca ativa de casos de tuberculose com realização de baciloscopia e cultura para micobactérias permitiram o diagnóstico precoce em 32,2% dos casos de TB pulmonar, notou-se a eficácia da associação da baciloscopia e cultura. A população geral aparece com 22,4% de culturas positivas para *M. tuberculosis* enquanto que a PPL com 8,2%.

Nos isolados analisados, a família LAM representou 61% na população geral e 70% na PPL sendo a família com presença significativa nas duas populações estudadas. A família X obteve percentagem equivalente tanto na população geral (12%) quanto nos apenados (11%). Ocorreram casos específicos de subfamília T3 exclusiva nas unidades prisionais. Além de serem identificados novos perfis em percentual significativo na população geral (11%). Houve apenas 18,3% de similaridade de SIT nas duas populações.

Em relação à resistência aos antimicrobianos utilizados, não houve casos de resistência às drogas de primeira linha do tratamento da tuberculose em Unidade prisional, porém a população geral apresentou alguns casos de resistência aos fármacos.

Assim como a população privada de liberdade, a população geral também necessita de um olhar diferenciado na busca ativa de sintomáticos respiratórios e contatos já que foram identificados inúmeros casos e apresentou uma diversidade maior de famílias e de SIT identificados. Compreender a dinâmica de transmissão do *M. tuberculosis* contribui para implementação de estratégias de saúde para o controle da doença tanto da população privada de liberdade quanto da população geral.

Futuramente, pretende-se: 1) aprofundar este estudo incorporando mais dados destes isolados com a utilização da técnica de MIRU-VNTR (*Mycobacterial Interspersed Repetitive Units -Variable Number Tandem Repeat*); 2) avaliar os novos perfis tanto da população privada de liberdade quanto da população geral para publicação em revistas conceituadas; 3) constituir um banco de perfis dos isolados identificados por *Spoligotyping* para futuros estudos comparativos e 4) propor um estudo amostral em dois bairros de Porto Velho com georreferenciamento.

## REFERÊNCIAS

ABEBE DS, BJUNE G, AMENI G, BIFFA D, ABEBE F. **Prevalence of pulmonary tuberculosis and associated risk factors in Eastern Ethiopian prisons.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2011;15:668–73.

ABRAHÃO RM, NOGUEIRA PA, MALUCELLI MI. **Tuberculosis in county jail prisoners in the western sector of the city of São Paulo, Brazil.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2006;10:203–8.  
AERTS A, DE HALLER R. **DOTS and DOTS plus: what's in a name.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:879–80.

AERTS, A., HAUER, B., WANLIN, M., AND VEEN, J. **Tuberculosis and tuberculosis control in European prisons.** *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006; 10: 1215–1223

AIT KHALED, N. et al. **Epidemiologie de la tuberculose et de laresitanceantiberculex aux.** *Rev Mal Respir*, n.18, p. s8-5s, 1997

ALEXANDER K.A.; LAVER P.N.; WARREN R.M, et al. **Novel *Mycobacterium tuberculosis* complexpathogen, *M. mungi*.** *EmergInfectDis.* 2010.;16:1296–9.

ANDRZEYVSKI A, LIMBERGER JB. **Tuberculose no sistema prisional: revisão sistemática da epidemiologia, diagnóstico e tratamento farmacológico.** *Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria*, v. 14, n. 2, p. 189-198, 2013.

ANGIE B, ANN A, MALGOSIA G, MICHAEL K, HANS K, et al. **Tuberculosis control in prisons: A Manual for Programme Managers** Geneva: World Health Organization; 2000.

ASSIS, N. C. S. et al. **Diagnóstico molecular da tuberculose pulmonar.** *J Brás PatolMedLab*, v. 43, n. 1, p. 1-7, fev. 2007.

BANU S, HOSSAIN A, UDDIN MK, UDDIN MR, AHMED T, KHATUN R, MAHMUD AM, HYDER KA, LUTFOR AB, KARIM MS, ZAMAN K, KHAN MA, BARUA PC, LUBY SP 2010. **Pulmonary tuberculosis and drug resistance in Dhaka central jail, the largest prison in Bangladesh.** *PLoS ONE* 21: e10759.

BAUSSANO I, WILLIAMS BG, NUNN P, BEGGIATO M, FEDELI U, Scano F. **Tuberculosis incidence in prisons: a systematic review.***PLoS Med.* 2010;7(12):e1000381.

BERTAZONE, E C, GIR, E. **Aspectos Gerais Da Sexualidade Dos Portadores De Tuberculose Pulmonar Atendidos Em Unidades Básicas De Saúde De Ribeirão Preto-SP.** *Rev. Latino-Am. Enfermagem* Vol.8 No.1 Ribeirão Preto Jan. 2000.

BOURDILLON P, CRODA J, KO A, ANDREWS JR. **Rapidly Increasing Tuberculosis Burden in Brazilian Prisons Offsets Gains in General Population.** Int J TubercLungDis. 2015;19(12):S436–7.

BOURDILLON P, GONÇALVES, CCM, PELISSARI, D M, ARAKAKI-SANCHEZ, D. KO, AI, CRODA, J. ANDREWS, JR. **Increase in Tuberculosis Cases among Prisoners, Brazil, 2009-2014.** Emerg Infect Dis. 2017 Mar; 23(3): 496–499.

BRAGA, J U. HERRERO, M B, CUELLAR, C M. **Transmissão da tuberculose na tríplice fronteira entre Brasil, Paraguai e Argentina.** Cad. Saúde Pública vol.27 no.7 Rio de Janeiro July 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Tuberculose-Guia de Vigilância Epidemiológica.** 1ª edição, Brasília, 2002.

BRASIL. Programa de Pneumologia Sanitária: **Relatório Técnico Anual.** Rio de Janeiro: Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde. **Manual Nacional de Vigilância Laboratorial da Tuberculose e outras Micobactérias.** 1ª edição, Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Mudanças no tratamento da tuberculose.** Rev Saúde Pública 2010;44(1):197-9

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil.** Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Tuberculose.** 2012;43(3):1-12.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico. O controle da tuberculose no Brasil: avanços, inovações e desafios** 2014;44(2):1-13.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Tuberculose. **Guia de Orientações para Coleta de Escarro.** Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde (BR). **Guia de vigilância epidemiológica.** Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Panorama da tuberculose no Brasil: Indicadores epidemiológicos e operacionais.** Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. **Lei de Execução Penal: Lei nº 7210 de 11 de julho de 1984**. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L7210.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7210.htm)> Acesso em 03.jan.2016.

BRASIL. Ministério da Justiça e Segurança Pública. **Dados do INFOPEN**. Disponível em: <<http://www.justica.gov.br/>> Acesso em 20.dez 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BLOUIN Y, HAUCK Y, SOLER C, FABRE M, VONG R, DEHAN C, CAZAJOUS G, MASSOURE P, KRAEMER P, JENKINS A, GARNOTEL E, POURCEL C, VERGNAUD G. **Significance of the identification in the horn of Africa of an exceptionally deep branching *Mycobacterium tuberculosis* clade**. PLoS ONE 7, e52841 (2012).

BOLLELA, V. R.; SATO, D. N.; FONSECA, B. A. L. **Problemas na padronização da reação em cadeia da polimerase para diagnóstico da tuberculose pulmonar**. Revista de Saúde Pública. São Paulo, v. 33,n. 3. p. 281-286, 1999.

BRITES, D., GAGNEUX, S. **Old and new selective pressures on *Mycobacterium tuberculosis***. Infect Genet Evol. 2012 Jun;12(4):678-85.

BRUDEY, K., J. R. DRISCOLL, L. RIGOUTS, W. M. PRODINGER, A. GORI, S. A. AL HAJOJ, C et al. ***Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology**. BMC Microbiol. 2006. 6:23.

CAMPOS R, PIANTA C. **Tuberculose: histórico, epidemiologia e imunologia, de 1990 a 1999, e co-infecção TB/HIV, de 1998 a 1999, Rio Grande do Sul – Brasil**. Boletim da Saúde 2001;15(1):61-71.

CARVALHO, W.S., MIRANDA, S. S., PESQUERO, J. L., GOMES, M. A. **Diagnóstico de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* à rifampicina utilizando-se da reação em cadeia da polimerase**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. vol. 43, n. 1, jan./mar., 2007

CATTAMANCHI, A.; HUANG, L.; DAVIS, J. L. **Integrated Strategies to Optimize Sputum Smear Microscopy - A Prospective Observational Study**. Am J Respir Crit Care Med. 2011. Vol 183. pp 547–551.

CHEN, P.; SHI, M.; ZHAO, G. **A Highly Efficient Ziehl-Neelsen Stain: Identifying *De Novo* Intracellular *Mycobacterium tuberculosis* and Improving Detection of Extracellular *M. tuberculosis* in Cerebrospinal Fluid**. J. Clin. Microbiol. 2012, 50(4):1166.

CHIANG CY, HSU CJ, HSU PK, SUO J, LIN TP. **Pulmonary tuberculosis in the Taiwanese prison population**. J Formos Med Assoc 2002;101:537–41.



CHIRINOS NEC, MEIRELLES BHS. **Fatores associados ao abandono do tratamento da tuberculose: uma revisão integrativa.** Texto Contexto Enferm, Florianópolis, 2011 Jul-Set; 20(3): 599-406.

CLARK PA, CEGIELSKI JP, HASSELL W. **TB or not TB? Increasing door-to-door response to screening.** Public Health Nurs 1997.14: 268-271.

COLE S. T.; BROSCHE R.; WHITEHEAD S. & BARRELL B. G. et al. **Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence.** NATURE.1998.Vol. 393 (11): 537-544.

COMAS, I.; GAGNEUX. S. **A role for systems epidemiology in tuberculosis research.** Trends in Microbiology.2011, Vol. 19, No. 10.

DALCOMO, M.P.; ANDRADE, M.K.N; PICON, P.D. **Tuberculose multirresistente no Brasil: histórico e medidas de controle.** Rev Saúde Pública 2007;41(Supl. 1):34-42

DANIEL, T. M. **Robert Koch and the pathogenesis of tuberculosis.** Int J Tuberc Lung Dis, v.9, n.11, p.1181-1182. 2005.

DARA M, GRZEMSKA M, KIMERLING ME, REYES H, ZAGORSKIY A; Coalition for Technical Assistance; International Committee of the Red Cross. **Guidelines for Control of Tuberculosis in Prisons (US).** Washington: TB/ CTA, ICRC; 2009.

DEMISSIE A, ABEBE M, ASEFFA A, ROOK G, FLETCHER H, ZUMLA A, WELDING K, BROCK I ANDERSEN P, DOHERTY TM, VACSEL Study Group. **Healthy individuals that control a latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* express high levels of Th1 cytokines and the  $\text{IL-4}$  antagonist  $\text{IL-4}\delta 2$ .** J Immunol 2004;172:6938-43

DERIBEW A, ABEBE G, APERS L, ABDISSA A, DERIBE F, WOLDEMICHAEL K, JIRA C, TESFAVE M, SHIFFA J, ASEFFA A, BEZABIH M, ABEJE T, COLEBUNDERS R. **Prevalence of pulmonary TB and spoligotype pattern of *Mycobacterium tuberculosis* among TB suspects in a rural community in Southwest Ethiopia.** BMC Infect Dis 2012 Mar 13;12:54 doi: 10.1186/1471-2334-12-54.

DELVES PJ, MARTIN S, BURTON D, ROITT IM. **Roitt's Essential Immunology.** 11th edition. Blackwell Publishing; 2006

DONOGHUE, H. D., SPIGELMAN, M., GREENBLATT, C. L., NERLICH, A. G. e ZINK, A. R. et al. **Tuberculosis: from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA.** Lancet Infect Dis, v.4, n.9, p.584-592. 2004.

DRISCOLL JR. **Spoligotyping for molecular epidemiology of the *Mycobacterium tuberculosis* complex.** Methods Mol. Biol. 2009.551:117-128

DROBNIIEWSKI, F.A. **Is death inevitable with multiresistant TB plus HIV infection?** Lancet, v. 349, p. 71-72, 1997.

DYE, C.; WILLIAMS, B.G. **The Population Dynamics and Control of Tuberculosis.** Science 2010.14;328 (5980):856-61.

ESTEVAO AO, OLIVEIRA SM, CRODA J, 2013. **Active and latent tuberculosis in prisoners in the central west region of Brazil.** Rev Soc Bras Med Trop 46: 515–518.

FERREIRA SMB, SILVA AMC, BOTELHO C. **Abandono de tratamento da tuberculose pulmonar em Cuiabá (MT) Brasil.** J Bras Pneum. 2005 Set-Oct; 31(5):427-35.

FILLIOL, I. et al. **Global distribution of Mycobacterium tuberculosis spoligotypes.** Emerg Infect Dis. 2002 Nov; 8 (11): 1347-9.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Educação a Distância. **Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço.** Rio de Janeiro: EAD/ENSP, 2008.

FOK A, NUMATA Y, SCHULZER M, FITZGERALD MJ. **Risk factors for clustering of tuberculosis cases: a systematic review of population-based molecular epidemiology studies.** Int J Tuberc Lung Dis. 2008 May;12(5):480-92.

FOURNET N, SANCHEZ A, MASSARI V, PENNA L, NATAL S, BIONDI E, LAROUZE B. **Development and evaluation of tuberculosis screening scores in Brazilian prisons.** Public Health. 2006.120:976–983.

FURLANETO, I. P, CONCEIÇÃO, E. C, BRITO, M. L, COSTA, A. R. F, MONTEIRO, J. J. B, GONÇALVES, N. V, GOMES, H. M, LIMA, K V B. **Genotipagem por spoligotyping de Mycobacterium.tuberculosis obtidos de lâminas de Ziehl-Neelsen em Belém, Estado do Pará, Brasil.** Rev Pan-AmazSaude v.4 n.1 Ananindeua mar. 2013

GAGNEUX, S., LONG, C.D., SMALL, P.M., VAN, T., SCHOOLNIK, G.K., BOHANNAN, B.J. **The competitive cost of antibiotic resistance in Mycobacterium tuberculosis.** Science. 2006. 312, 1944–1946.

GAGNEUX S, DERIEMER K, VAN T, KATO-MAEDA M, DE JONG BC, NARAYANAN S, NICOL M, NIEMANN S, KREMER K, GUTIERREZ MC, HILTY M, HOPEWELL PC, SMALL PM. **Variable host-pathogen compatibility in Mycobacterium tuberculosis.** Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006. 103:2869–2873. 10.1073/pnas.0511240103

GAVIN, P., IGLESIAS, SAMPER, S. **On behalf of the Spanish Working Group on MDR-TB. Long-term molecular surveillance of multidrug-resistant tuberculosis in Spain.** Infect. Genet.Evol. 2012. 12(4):701-10

GRANGE JM, GIBSON J, OSBORN TW, COLLINS CH, YATES MD. **What is BCG?** Tubercle. 1983;64:129-39.

HAYWARD, A.C., WATSON, J.M. **Typing of mycobacteria using spoligotyping.** Thorax, 1998.53(5): 329\_330

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acesso em: 07 nov.2016

IJAZ K, YANG Z, TEMPLETON G, STEAD WW, BATES JH, Cave MD. **Persistence of a strain of *Mycobacterium tuberculosis* in a prison system**. Int J TubLungDis 2004;8: 994-1000.

INFOPEN. Ministério da Justiça. Departamento Penitenciário Nacional. **Levantamento Nacional de Informações Penitenciárias**. 2015.

INGEN J. V., RAHIM Z., SOOLINGEN, D.V. et al. **Characterization of *Mycobacterium orygis* *M. tuberculosis* Complex Subspecies**. Emerging Infectious Diseases.2012. Vol. 18, No. 4,-653-655.

INTERNATIONAL CENTRE FOR PRISON STUDIES, 2013. **World Prison Brief: Brazil. London, United Kingdom: International Centre for Prison Studies**. Disponível em: <<http://www.prisonstudies.org/country/brazil>> Acesso em 10 abr. 2017.

ISEMAN, MD. **Treatment of multidrug-resistant tuberculosis**. N. Engl. J. Med.,v. 329, p. 784-791, 1993.

ISEMAN MD, GOBLE M. **Multidrug-resistant tuberculosis**. N Engl J Med. 1996; 334:267.

JANSEN<sup>a</sup>, R., EMBDEN, V. J.D.A.; SCHOULS, L.M. **Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes**. Mol. Microbiol. 2002. 43 (6), 1565–1575.

JANSEN<sup>b</sup>, R.; EMBDEN,V. J. D. A.; SCHOULS, L. M. et al. **Identification of a novel family of sequence repeats among prokaryotes**. OMICS. 2002. 6, 23–33.

JITTIMANEE SX, NGAMTRAIRAI N, WHITE MC, JITTIMANEE S. **A prevalence survey for smear-positive tuberculosis in Thai prisons**. IntJ Tuberc LungDis 2007;11:556–61.

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

KUHLEIS D, RIBEIRO AW, COSTA ER, CAFRUNE PI, SCHMID KB, COSTA LL, RIBEIRO MO, ZAHA A, ROSSETTI ML. **Tuberculosis in a southern Brazilian prison**. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012;107(7):909–15.

LAVÔR, D C B, PINHEIRO, J S, GONÇALVES, M J F. **Avaliação da implantação da estratégia de tratamento diretamente observado para tuberculose em um município de grande porte**. Rev Esc Enferm USP · 2016;50(2):247-254

LOBACHEVA T, ASIKAINEN T, GIESECKE J. **Risk factors for developing tuberculosis in remand prisons in St. Petersburg, Russia - a case-control study.** Eur J Epidemiol 2007;22: 121-127.

MAARTENS, G, WILKINSON, R. J. **Tuberculosis.** Lancet 2007.370:2030–2043.

MACIEL, MS, MENDES, PD, GOMES, AP, SIQUEIRA-BATISTA, R. **A história da tuberculose no Brasil: os muitos tons (de cinza) da miséria.** Rev Bras Clín Med. São Paulo, 2012; 10(3); 226-30

MADHUKAR, P., O'BRIEN R. **New Diagnostics for Latent and Active Tuberculosis: State of the Art and Future Prospects.** Semin.Respir. Crit. Care Med. 2008;29: 560-568.

MAHER D, SMEETH L, SEKAJUGO J. **Health transition in Africa: practical policy proposals for primary care.** Bull World Health Organ. 2010;88(12):943-8.

MARQUES, M, RUFFINO-NETTO, A, MARQUES, AMC, ANDRADE, SMO, SILVA, B A K, PONTES, ERJC. **Magnitude da tuberculose pulmonar na população fronteiriça de Mato Grosso do Sul (Brasil), Paraguai e Bolívia.** Cad. Saúde Pública vol.30 no.12 Rio de Janeiro Dez. 2014

MATTEELLI, A., et al. **Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis: epidemiology and control.** Expert Rev. AntiInfect. Ther. 2007,5:857–871

MENDES DE LIMA, C. **Estudo da Variabilidade Genética de Isolados de Mycobacterium tuberculosis e outras Micobactérias do Estado de Rondônia.** 2012 101 f. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) – Universidade Federal de Rondônia, Rondônia.

MIRANDA, SS; CARVALHO, WS; SUFFYS PN; KRITSKI, AL; OLIVEIRA, M; ZARATE N; ZOZIO T; RASTOGI N; GICQUEL B. **Spoligotyping of clinical Mycobacterium tuberculosis isolates from the state of Minas Gerais, Brazil.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.106 no.3 Rio de Janeiro May 2011.

MITCHISON DA. **Antimicrobial therapy of tuberculosis: justification for currently recommended treatment regimens.** SeminRespirCrit Care Med. 2004;25(3):307-15.

MOLLER, M., NEBEL, A., VAN HELDEN, PD., SCHREIBER, S. HOAL, EG. **Analysis of eight genes modulating interferon gamma and human genetic susceptibility to tuberculosis: a case-control association study.** BMC Infect Dis v.10, p.154, 2010.

MUNIZ JN, RUFFINO-NETTO A, VILLA TC, YAMAMURA M, ARCENCIO R, CARDOZO-GONZALES RI. **Epidemiological aspects of human immunodeficiency**

**virus/tuberculosis co-infection in Ribeirão Preto, Brazil from 1998 to 2003.** J Bras Pneumol.2006;32(6):529-34.

NATHANSON E, NUNN P, UPLEKAR M, et al. **MDR Tuberculosis--critical steps for prevention and control.** N Engl J Med 2010;363(11):1050-8.

NAVARRO PD, ALMEIDA IN, KRITSKI AL, CECCATO MD, MACIEL MM, CARVALHO WD, MIRANDA SS. **Prevalence of latent Mycobacterium tuberculosis infection in prisoners.** J Bras Pneumol. 2016 Sep-Oct;42(5):348-355.

NOGUEIRA PA, ABRAHAORM, GALESIVM, 2012. **Tuberculosis and latent tuberculosis in prison inmates.** Rev Saude Publica 46:119–127.

OLIVEIRA HB, MARÍN-LEÓN L, CARDOSO JC. **Differences in mortality profile of tuberculosis patients related to tuberculosis-AIDS co-morbidity.** Rev Saude Publica. 2004;38(4):503-10.

OLIVEIRA HB de, CARDOSO JC. **Tuberculose no sistema prisional de Campinas, São Paulo, Brasil.** Rev. Panam. SaludPubl. 2004;15(3):194-9.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde; Organização Mundial da Saúde. **Saúde nas Américas: panorama regional e perfis de países.** Washington DC: Organização Pan-Americana da Saúde; 2012.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Plano Global para Combate da Tuberculose.** Disponível:<[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=927&Itemid=965](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=927&Itemid=965)> Acesso em 02 mar.2015.

PAIÃO et al. **Impact of mass-screening on tuberculosis incidence in a prospective cohort of Brazilian prisoners.** BMC Infectious Diseases (2016) 16:533

PAIXÃO LMM, GONTIJO ED. **Perfil de casos de tuberculose notificados e fatores associados ao abandono.** Belo Horizonte (MG). Rev Saúde Pública. 2007 Abr; 41(2):205-13.

PETRINI B, HOFFNER S. **Drug-resistant and multidrug-resistant tubercle bacilli.** Int J Antimicrob Agents.1999;13:93-7.

PHILIPS, JA, ERNST JD. **Tuberculosis pathogenesis and immunity.** Annual Rev Pathology. 2012;7:353-84

PRADO TN, CAUS AL, MARQUES M, MACIEL EL, GOLUB JE, MIRANDA AE. **Epidemiological profile of adult patients with tuberculosis and AIDS in the state of Espírito Santo, Brazil: cross-referencing tuberculosis and AIDS databases.** J Bras Pneumol. 2011;37(1):93-9.

RAMAKRISHNAN, L. **Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis.** Nat. Rev. Immunol. 2012. 12, 352–366

RAMASWAMY, S; MUSSER JM. **Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*:** 1998 update. Tuber Lung Dis. 1998; 79:3–29.

RITACCO V., IGLESIAS M.J., SAMPER, S. **Conspicuous multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* cluster strains do not trespass country borders in Latin America and Spain** *Infection*. Genetics and Evolution. 2012. 12(4):711-7

SAKULA ALEX. **Robert Koch (1843-1910): Founder of the Science of Bacteriology and Discoverer of the Tubercle Bacillus.** Can Vet J 1983; 24: 124-127.

SANCHEZ A, MASSARI V, GERHARDT G, ESPINOLA AB, SIRIWARDANA M, CAMACHO LA, LAROUZE B. **X ray screening at entry and systematic screening for the control of tuberculosis in a highly endemic prison.** BMC Public Health. 2013;13: 983

SANCHEZ A, GERHARDT G, NATAL S, CAPONE D, ESPINOLA A, COSTA W, PIRES J, BARRETO A, BIONDI E, LAROUZE B: **Prevalence of pulmonary tuberculosis and comparative evaluation of screening strategies in a Brazilian prison.** Int J Tuberc Lung Dis 2005, 9:633–639.

SESTER M, GIEHL C, MCNERNEY R, KAMPMANN B, WALZL G, CUCHÍ P, et al. **Challenges and perspectives for improved management of HIV/*Mycobacterium tuberculosis* co-infection.** EurRespir J. 2010;36(6):1242-7.

SITVITWEB. **Instituto Pasteur de Guadalupe.** Disponível em:<<http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVITDemo/>> Acesso em: 01 mar.2015

SILVA MS, SENNA SG, RIBEIRO MO, VALIM AR, TELLES MA, KRITSKI AL, et al. **Mutations in *KatG*, *inhA* and *ahpC* genes of Brazilian isoniazid resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*.** J ClinMicrobiol. 2003;41(9):4471-74.

SOLA C, FILLIOL I, LEGRAND E, MOKROUSOV I, RASTOGI N. ***Mycobacterium tuberculosis* phylogeny reconstruction based on combined numerical analysis with IS1081, IS6110, VNTR, and DR-based spoligotyping suggests the existence of two new phylogeographical clades.** J. Mol. Evol. 2001. 53:680–689. 10.1007/s002390010255

SONNENBERG P, MURRAY J, GLYNN JR, SHEARER S, KAMBASHI B, GODFREY-FAUSSETT P. **HIV-1 and recurrence, relapse, and reinfection of tuberculosis after cure: a cohort study in South African mineworkers.** Lancet. 2001;358(9294):1687-93. Erratum in: Lancet. 2002;359(9323):2120.

STARKE JR, CONNELLY KK. **BacilleCalmette-Guerin vaccine.** In: Plotkin MEA, editor. Vaccines. Philadelphia: WB Saunders;2004. p. 456-89.

TEIXEIRA, G M. **Tuberculose na América do Sul – a posição do Brasil.** Bol. Pneumol. Sanit. v.14 n.3 Rio de Janeiro dez. 2006

TODRYS KW, AMON JJ, MALEMBEKA G, CLAYTON M 2011. **Imprisoned and imperiled: access to HIV and TB prevention and treatment and denial of human rights, in Zambian prisons.** J Int AIDS Soc 14: 8.

TSOLAKI, A. G.; HIRSHT, A.E., DERIEMER, K. **Functional and evolutionary genomics of *Mycobacterium tuberculosis*: Insights from genomic deletions in 100 strains.** Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2004.101: 4865-4870.

ULRICH, T; LEFMANN M. KAUFMANN, S. H.E et al. **Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl–Neelsen-negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue.** J Pathol. 2005; 205: 633–640.

UNITED NATIONS. **Millennium Development Goals Indicators.** The official United Nations site for the MDG Indicators. Disponível em: < <https://mdgs.un.org/unsd/mdg/default.aspx> > Acesso em: 09 jan.2016.

URREGO J, KO AI, DA SILVA SANTOS CARBONE A, PAIAO DS, SGARBI RV, YECKEL CW, ANDREWS JR, CRODA J. **The Impact of Ventilation and Early Diagnosis on Tuberculosis Transmission in Brazilian Prisons.** Am J TropMedHyg. 2015;93(4):739–46.

VINHAS, Solange Alves. **Estudo sobre características genéticas de *Mycobacterium tuberculosis* isolados de pacientes com e sem lesões cavitárias.** 2013.140 f. Ilus. Tese de doutorado. 1953-V784e

VINKELES MELCHERS NVS, VAN ELSLAND SL, LANGE JMA, BORGDORFF MW, VAN DEN HOMBERGH J. **State of Affairs of Tuberculosis in Prison Facilities: A Systematic Review of Screening Practices and Recommendations for Best TB Control.** PLoS ONE 2013; 8(1): e53644.

WENIGER, T., KRAWCZYK, J. NIEMANN, S. et al. **Online tools for polyphasic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* complex genotyping data: Now and next.** Infect.Genet.Evol. (2012), 12(4):748-54.

WHO. World Health Organization, 2013. **Global Tuberculosis Report 2013.** Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em 6.mai.2016

WHO. World Health Organization. **Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB) 2016.** Disponível em: < [http://www.who.int/tb/challenges/mdr/mdr\\_tb\\_factsheet.pdf](http://www.who.int/tb/challenges/mdr/mdr_tb_factsheet.pdf) > Acesso em 28 nov.2016.

WHO. World Health Organization. **WHO Policy on TB Infection Control in Health-Care Facilities, Congregate Settings and Households.** Geneva, Switzerland: World Health Organization. 2009.

WHO. World Health Organization. **Status Paper on Prisons and Tuberculosis**. Copenhagen: WHO; 2007.

WHO. World Health Organization, 2009. **Natural Ventilation for Infection Control in Health-Care Settings**. Disponível em: <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/natural\\_ventilation.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/natural_ventilation.pdf)> Acesso em jan. 2014.

WIEDENHEFT B, STERNBERG SH, DOUDNA JA. **RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea**. Nature 2012. 482:331–338.

YOUNG, D. B., PERKINS, MARK D., DUNCAN, K, BARRY, C.E. **Confronting the scientific obstacles to global control of tuberculosis**. The Journal of Clinical Investigation. Volume 118 Number – 1255-1265; April 2008

ZANINI RJ, VALENÇA MS, CARRION LL, SILVA LV, VON GROLL A, SILVA PA. **Respiratory symptoms and active tuberculosis in a prison in Southern Brazil: Associated epidemiologic variables**. Rev Epidemiol Control Infect 2013; 3(4):128-133.

ZHANG H, LI D, ZHAO L, FLEMING J, LIN N, WANG T, LIU Z, LI C, GALWEY N, DENG J, ZHOU Y, et al. **Genome sequencing of 161 *Mycobacterium tuberculosis* isolates from China identifies genes and intergenic regions associated with drug resistance**. Nat. Genet. 45, 1255–1260 (2013).



# ANEXO

## Anexo A

FACULDADES INTEGRADAS  
APARÍCIO CARVALHO - FIMCA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Investigação Epidemiológica e Molecular da Tuberculose em Instituições Prisionais de Porto Velho -RO

**Pesquisador:** Cleoni Alves Mendes de Lima

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 46077113.5.0000.0012

**Instituição Proponente:** RONDONIA SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE

**Patrocinador Principal:** RONDONIA SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.671.793

#### Apresentação do Projeto:

A pesquisa visa determinar a prevalência de tuberculose em unidade prisional, e quando identificado um caso, determinar a prevalência em parentes que visitam o paciente.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Determinar a prevalência de tuberculose, as características dos casos e as características sócio-demográficas

e epidemiológicas dos internos e trabalhadores das diferentes unidades prisionais e população geral;

Identificação e classificação molecular em isolados de M.tuberculosis e outras microbactérias.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Há um risco mínimo durante o processo de coleta de escarro dos indivíduos sintomáticos, fato que poderá acarretar foco de transmissão. Também há riscos aos profissionais de saúde no momento da manipulação das amostras de escarro (procedimentos de rotina). Com a finalidade de minimizar

**Endereço:** Rua Araras, 241 - Prédio Adm. - 1º andar

**Bairro:** ELDORADO

**CEP:** 78.912-640

**UF:** RO

**Município:** PORTO VELHO

**Telefone:** (69)3217-8972

**Fax:** (69)3217-8972

**E-mail:** cep@fimca.com.br

## Continuação do Anexo A

FACULDADES INTEGRADAS  
APARÍCIO CARVALHO - FIMCA



Continuação do Parecer: 1.671.793

os riscos serão adotadas todas as medidas de biossegurança recomendadas pela Organização Mundial de Saúde em atividades nessa área.

### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Relevante

### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados

### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foi apresentado no parecer anterior várias pendências e que foram solucionadas.

- \* Riscos - foi reapresentado;
- \* Autorização do local da pesquisa - foi apresentado uma autorização assinada pelo secretário adjunto da Secretaria Estadual de Justiça;
- \* A folha de rosto foi apresentada;
- \* Tamanho da amostra - foi informado que são 1200 sujeitos.
- \* O TCLE foi apresentado;
- \* A folha de rosto foi apresentada;
- \* O cronograma foi atualizado.

### Considerações Finais a critério do CEP:

em reunião plenária o colegiado do CEP deliberou pela APROVAÇÃO.

### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_187260.pdf	26/04/2016 15:05:12		Aceito
Outros	folha_rosto.pdf	26/04/2016 15:04:32	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	Carta_ENFERMEIRO.pdf	26/04/2016 14:42:52	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	Carta_Fiocruz.pdf	26/04/2016 14:41:42	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	Carta_Lab_UNIR.pdf	26/04/2016 14:41:23	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito

**Endereço:** Rua Araras, 241 - Prédio Adm. - 1º andar  
**Bairro:** ELDORADO **CEP:** 78.912-640  
**UF:** RO **Município:** PORTO VELHO  
**Telefone:** (69)3217-8972 **Fax:** (69)3217-8972 **E-mail:** cep@fimca.com.br

## Continuação do Anexo A

**FACULDADES INTEGRADAS  
APARÍCIO CARVALHO - FIMCA**



Continuação do Parecer: 1.671.793

Outros	carta_SEJUS.pdf	26/04/2016 14:41:05	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	Carta_pendencia.doc	26/04/2016 14:39:08	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	CV_Cleoni_Alves_Mendes_de_Lima.pdf	26/04/2016 14:37:07	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_presidio.doc	26/04/2016 14:35:47	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	26/04/2016 14:34:38	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Folha de Rosto	fr.pdf	15/12/2015 14:49:12	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	autorizacao_lacen.pdf	15/12/2015 14:40:59	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	anuencia_fiocruz_rj.pdf	15/12/2015 14:39:48	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito
Outros	anuencia_unir.pdf	15/12/2015 14:39:13	Cleoni Alves Mendes de Lima	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PORTO VELHO, 10 de Agosto de 2016

\_\_\_\_\_  
**Assinado por:**  
**gilmar dos santos nascimento**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Araras, 241 - Prédio Adm. - 1º andar  
**Bairro:** ELDORADO **CEP:** 78.912-640  
**UF:** RO **Município:** PORTO VELHO  
**Telefone:** (69)3217-8972 **Fax:** (69)3217-8972 **E-mail:** cep@fimca.com.br

## Anexo B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

**Pesquisa:** “Investigação Epidemiológica e Molecular da Tuberculose em Instituições Prisionais de Porto Velho-RO”

**Responsáveis:** Cleoni Alves Mendes de Lima e Vívian Gabriele Paes Gonçalves sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Manuela Moura da Fonseca.

**Coleta de amostra:** Amostra de escarro dos indivíduos sintomáticos respiratórios e contatos pertencentes à unidade prisional.

**Entrevistadores:** Enfermeiro Eduardo Pinheiro da Silva.

Você está sendo convidado para participar deste estudo que tem como objetivo saber quais indivíduos dentro da unidade prisional estão com tuberculose e adotar medidas de controle da doença. Para isto, estaremos realizando a coleta da sua amostra de escarro. Esta pesquisa não traz nenhum risco para o(a) senhor(a). Apenas precisaremos de sua disposição para a coleta satisfatória do seu escarro para sabermos se você tem tuberculose ou não.

Garantimos que todas as informações fornecidas pelo(a) senhor(a) serão sigilosas (ninguém ficará sabendo) e que lhe daremos todas as informações que queira saber a respeito da pesquisa. A sua participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Caso o(a) senhor(a) não queira participar deste estudo, pode retirar seu consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

Se o(a) entrevistador(a)/ pesquisadora detectar alguma intercorrência em relação ao seu material e seu resultado de exame, você será encaminhado para tratamento de tuberculose, caso o seu exame seja positivo.

Qualquer dúvida existente durante o trabalho será respondida pelas pesquisadoras (Cleoni Alves Mendes de Lima e Vívian Gabriele Paes Gonçalves), Profa. Dra. Maria Manuela Moura da Fonseca – Centro Interdepartamental de Biologia Experimental e Biotecnologia (CIBEBI) pertencente à Universidade Federal de Rondônia – UNIR, BR – 364, Km – 9,5 sentido Acre, e também pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/RO) – R. Anita Garibaldi, 4136 – Costa e Silva. Telefones para contato: 3216 5300/9972-6549.

**Continuação do Anexo B****TERMO DE CONSENTIMENTO DO PARTICIPANTE**

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado dos objetivos da pesquisa acima, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. A pesquisadora certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que minha participação é voluntária e não pagarei nada por isso. Em caso de dúvidas, poderei contatar a pesquisadora responsável **Dra. Cleoni Alves Mendes de Lima**, pelos telefones 3216-5300/ 9972-6549, ou o profissional de Enfermagem de plantão na Unidade Prisional que estão cientes da pesquisa.

Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

---

Nome	Assinatura do participante ou digital	Data
------	---------------------------------------	------

---

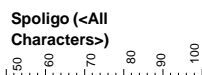
Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

## Presidio (56 entries)

Spoligo (<All Characters>)

Key	ANO	CLADO	OBSERVAÇÃO	SIT
640	14	LAM 1	PRESIDIO	20
681	14	LAM 1	PRESIDIO	20
847	14	LAM1	PRESIDIO	20
848	14	LAM 1	PRESIDIO	753
811	14	T1	PRESIDIO	2499
888	14	T1	PRESIDIO	2499
1195	14	LAM9	PRESIDIO	42
1252	14	LAM9	PRESIDIO	42
1311	14	LAM9	PRESIDIO	42
1351	14	LAM9	PRESIDIO	42
1352	14	LAM9	PRESIDIO	42
1415	14	LAM 9	PRESIDIO	42
1597	14	LAM 9	PRESIDIO	42
21	14	LAM9	PRESIDIO	42
240	15	LAM9	PRESIDIO	42
29	14	LAM9	PRESIDIO	42
322	14	LAM9	PRESIDIO	42
323	14	LAM9	PRESIDIO	42
392	15	LAM9	PRESIDIO	42
428	15	LAM9	PRESIDIO	42
490	14	LAM9	PRESIDIO	42
576	14	LAM9	PRESIDIO	42
591	15	LAM 9	PRESIDIO	42
595	14	LAM9	PRESIDIO	42
602	14	LAM9	PRESIDIO	42
63	14	LAM9	PRESIDIO	42
773	14	LAM9	PRESIDIO	42
821	14	LAM9	PRESIDIO	42
88	14	LAM9	PRESIDIO	42
979	14	LAM9	PRESIDIO	42
403	14	LAM 9	PRESIDIO	150
504	15	LAM9	PRESIDIO	150
510	15	LAM9	PRESIDIO	150
972	14	LAM9	PRESIDIO	150
425	15	LAM9	PRESIDIO	1671
331	15	NOVO	PRESIDIO	
1291	14	LAM6	PRESIDIO	64
372	14	LAM6	PRESIDIO	64
676	14	LAM9	PRESIDIO	1758
1313	14	LAM 6	PRESIDIO	396
133	15	LAM 5	PRESIDIO	216
515	15	NOVO	PRESIDIO	
401	14	LAM4	PRESIDIO	1895
304	14	NOVO	PRESIDIO	
1087	14	T1	PRESIDIO	453
1203	14	T3	PRESIDIO	565
427	15	T3	PRESIDIO	37
596	15	H1	PRESIDIO	151
1143	14	X3	PRESIDIO	92
1493	14	X3	PRESIDIO	92
369	14	X3	PRESIDIO	92
599	14	X3	PRESIDIO	92
818	14	X3	PRESIDIO	92
1146	14	X3	PRESIDIO	1751
136	15	H2	PRESIDIO	2
542	15	H3	PRESIDIO	3

Pop Geral (167 entries)



	ANO	CLADO	OBSERVAÇÃO	SIT
412	14	NOVO	POP. GERAL	
791	14	NOVO	POP. GERAL	
1447	14	LAM3	POP. GERAL	1491
1455	14	SEM CLADO	POP. GERAL	4
136b	15	H2	POP. GERAL	2
1404	14	H2	POP. GERAL	2
1464	14	H2	POP. GERAL	2
548	15	H2	POP. GERAL	2
91	14	H2	POP. GERAL	2
1579	14	EAI5	POP. GERAL	924
33	14	EAI 5	POP. GERAL	924
384	14	EAI5	POP. GERAL	924
782	14	EAI5	POP. GERAL	924
1405	14	AMBIGUOUS:T3 T2	POP. GERAL	73
659	14	T2	POP. GERAL	52
162	14	H3	POP. GERAL	50
390	14	H3	POP. GERAL	50
823	14	H3	POP. GERAL	50
124	14	H3	POP. GERAL	2503
628	14	H3	POP. GERAL	2503
549	15	X2	POP. GERAL	185
709	15	X2	POP. GERAL	185
530	15	X1	POP. GERAL	1080
943	14	X1	POP. GERAL	1080
1310	14	NOVO	POP. GERAL	
1403	14	NOVO	POP. GERAL	
30	14	LAM6	POP. GERAL	OR.
1138	14	LAM6	POP. GERAL	64
1176	14	LAM6	POP. GERAL	64
39	15	LAM6	POP. GERAL	64
587	15	LAM 6	POP. GERAL	64
6	14	LAM6	POP. GERAL	64
7	14	LAM6	POP. GERAL	64
950	14	LAM6	POP. GERAL	64
1105	14	LAM6	POP. GERAL	95
1262	14	LAM6	POP. GERAL	95
1265	14	LAM6	POP. GERAL	95
1277	14	LAM6	POP. GERAL	95
830	14	LAM6	POP. GERAL	95
857	14	LAM6	POP. GERAL	95
630	14	LAM9	POP. GERAL	1758
695	14	LAM6	POP. GERAL	396
962	14	LAM 6	POP. GERAL	64
340	15	LAM 9	POP. GERAL	2263
341	15	LAM9	POP. GERAL	2263
1025	14	LAM9	POP. GERAL	42
107	15	LAM9	POP. GERAL	42
1117	14	LAM9	POP. GERAL	42
1182	14	LAM9	POP. GERAL	42
1278	14	LAM9	POP. GERAL	42
1316	14	LAM9	POP. GERAL	42
1329	14	LAM9	POP. GERAL	42



1333	14	LAM9	POP. GERAL	42
1336	14	LAM9	POP. GERAL	42
1337	14	LAM9	POP. GERAL	42
1342	14	LAM9	POP. GERAL	42
1422	14	LAM9	POP. GERAL	42
1423	14	LAM9	POP. GERAL	42
1426	14	LAM9	POP. GERAL	42
1485	14	LAM9	POP. GERAL	42
1507	14	LAM9	POP. GERAL	42
1534	14	LAM9	POP. GERAL	42
161	14	LAM9	POP. GERAL	42
17	14	LAM9	POP. GERAL	42
222	14	LAM9	POP. GERAL	42
251	14	LAM9	POP. GERAL	42
27	15	LAM9	POP. GERAL	42
27b	15	LAM9	POP. GERAL	42
28	15	LAM9	POP. GERAL	42
292	14	LAM9	POP. GERAL	42
293	14	LAM9	POP. GERAL	42
30b	15	LAM9	POP. GERAL	42
321	15	LAM9	POP. GERAL	42
325	14	LAM9	POP. GERAL	42
333	14	LAM9	POP. GERAL	42
335	14	LAM9	POP. GERAL	42
464	14	LAM9	POP. GERAL	42
465	14	LAM9	POP. GERAL	42
466	14	LAM9	POP. GERAL	42
496	15	LAM9	POP. GERAL	42
528	15	LAM9	POP. GERAL	42
634	14	LAM9	POP. GERAL	42
642	14	LAM9	POP. GERAL	42
648	14	LAM9	POP. GERAL	42
658	14	LAM9	POP. GERAL	42
699	14	LAM9	POP. GERAL	42
699b	14	LAM9	POP. GERAL	42
704	15	LAM9	POP. GERAL	42
733	14	LAM9	POP. GERAL	42
783	14	LAM9	POP. GERAL	42
86	14	LAM9	POP. GERAL	42
870	14	LAM9	POP. GERAL	42
873	14	LAM9	POP. GERAL	42
875	14	LAM9	POP. GERAL	42
939	14	LAM9	POP. GERAL	42
432	15	LAM4	POP. GERAL	60
123	15	LAM9	POP. GERAL	150
1421	14	LAM9	POP. GERAL	150
322b	15	LAM9	POP. GERAL	150
338	15	LAM9	POP. GERAL	150
555	15	LAM9	POP. GERAL	150
650	15	LAM9	POP. GERAL	150
703	15	LAM9	POP. GERAL	150
712	15	LAM9	POP. GERAL	150
736	15	T1	POP. GERAL	OR.
286	14	LAM1	POP. GERAL	20
488	15	LAM1	POP. GERAL	20
501	14	LAM1	POP. GERAL	20
897	14	LAM2	POP. GERAL	17
1133	14	LAM5	POP. GERAL	216
1374	14	LAM5	POP. GERAL	216
395	14	LAM5	POP. GERAL	216

411	14	LAM5	POP. GERAL	216
789	14	LAM5	POP. GERAL	216
829	14	LAM5	POP. GERAL	216
932	14	LAM5	POP. GERAL	216
956	14	LAM5	POP. GERAL	216
1060	14	LAM5	POP. GERAL	93
564	14	LAM5	POP. GERAL	93
730	14	LAM5	POP. GERAL	93
379	15	NOVO	POP. GERAL	
70	15	LAM1	POP. GERAL	1803
1120	14	LAM3	POP. GERAL	33
443	14	LAM3	POP. GERAL	33
833	14	LAM3	POP. GERAL	111
67	15	LAM11-ZWE	POP. GERAL	59
892	14	NOVO	POP. GERAL	
280	14	LAM9	POP. GERAL	452
1568	14	NOVO	POP. GERAL	
346	14	T2	POP. GERAL	392
960	14	T2	POP. GERAL	1664
115	14	NOVO	POP. GERAL	
409	15	NOVO	POP. GERAL	
1567	14	SEM CLADO	POP. GERAL	2110
119	15	NOVO	POP. GERAL	
1056	14	NOVO	POP. GERAL	
1118	14	NOVO	POP. GERAL	
529	15	NOVO	POP. GERAL	
710	15	NOVO	POP. GERAL	
711	15	NOVO	POP. GERAL	
896	14	NOVO	POP. GERAL	
1304	14	NOVO	POP. GERAL	
345	14	LAM4	POP. GERAL	2514
410	15	H1	POP. GERAL	151
649	15	H1	POP. GERAL	151
382	14	H1	POP. GERAL	47
1270	14	SEM CLADO	POP. GERAL	232
838	14		POP. GERAL	402
1305	14	X3	POP. GERAL	1751
705	15	X3	POP. GERAL	1751
1131	14	X3	POP. GERAL	92
1141	14	X3	POP. GERAL	92
1432	14	X3	POP. GERAL	92
158	14	X3	POP. GERAL	92
206	14	X3	POP. GERAL	92
235	14	X3	POP. GERAL	92
525	15	X3	POP. GERAL	92
589	14	X3	POP. GERAL	92
639	14	X3	POP. GERAL	92
728	14	X3	POP. GERAL	92
925	14	X3	POP. GERAL	92
926	14	X3	POP. GERAL	92
927	14	X3	POP. GERAL	92
930	14	X3	POP. GERAL	92
9	14	H3	POP. GERAL	2643
722	15	NOVO	POP. GERAL	
473	14	EAI6-BGD1	POP. GERAL	702

Clado	<i>Spoligotyping</i>	Quantidade de isolados
LAM 9		30
X3		6
LAM 1		4
T1		3
NOVO		3
LAM 6		3
T3		2
LAM 4		1
LAM 5		1
H3		1
H2		1
H1		1

Clado	<i>Spoligotyping</i>	Quantidade de isolados
AMBIGUOUS:T3T2		1
EAI5		1
H1		3
H2		5
H3		6
LAM 3		4
LAM 6		16
LAM 9		62
LAM 1		4
LAM 11-ZWE		1
LAM 2		1
LAM 4		2
LAM 5		11
NOVO		18
SEM CLADO		4
T1		1
T2		3
X1		2
X2		2
X3		16
?		1
EAI6-BGD1		1

Distribuição de 21 novos perfis na população geral e privada de liberdade.

<i>Spoligotyping</i>	População
	População Geral

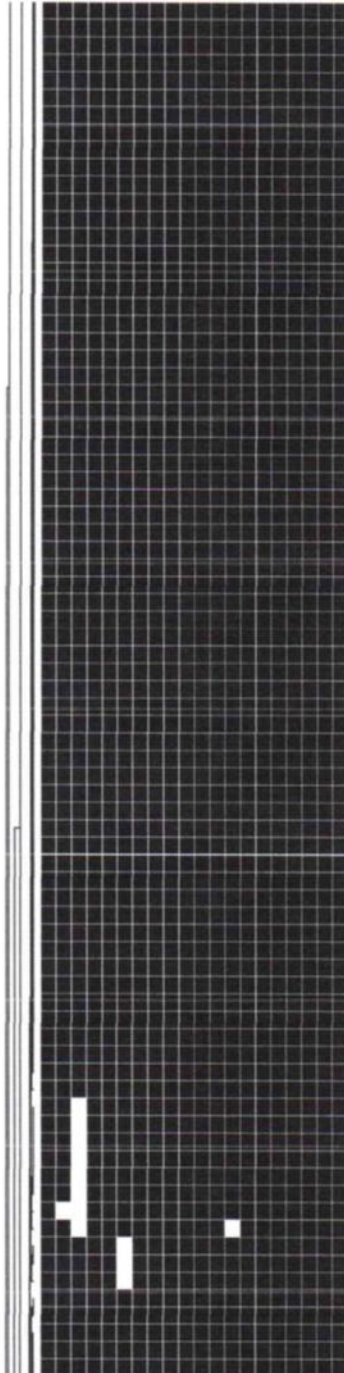
População  
Geral

Privada de  
Liberdade

Total (226 entries)

Spoligo ( Spoligo

Key	ANO	CLADO	SIT
1305	14	X3	1751
705	15	X3	1751
1146	14	X3	1751
1131	14	X3	92
1141	14	X3	92
1432	14	X3	92
158	14	X3	92
206	14	X3	92
235	14	X3	92
525	15	X3	92
589	14	X3	92
639	14	X3	92
728	14	X3	92
925	14	X3	92
926	14	X3	92
927	14	X3	92
930	14	X3	92
1143	14	X3	92
1493	14	X3	92
369	14	X3	92
599	14	X3	92
818	14	X3	92
9	14	H3	2643
722	15	NOVO	
473	14	EAIR-BGD1	702
H37Rv		H37Rv	
1087	14	T1	453
1405	14	AMBIGO.	73
659	14	T2	52
162	14	H3	50
390	14	H3	50
823	14	H3	50
1203	14	T3	565
427	15	T3	37
124	14	H3	2503
628	14	H3	2503
549	15	X2	185
709	15	X2	185
530	15	X1	1080
943	14	X1	1080
1310	14	NOVO	
123	15	LAMB	150
1421	14	LAMB	150
322b	15	LAMB	150
338	15	LAMB	150
555	15	LAMB	150
650	15	LAMB	150
703	15	LAMB	150
712	15	LAMB	150
403	14	LAM 9	150
504	15	LAMB	150
510	15	LAMB	150
972	14	LAMB	150
425	15	LAMB	1671
736	15	T1	ORPHAN
331	15	NOVO	
811	14	T1	2499
888	14	T1	2499
1025	14	LAMB	42
107	15	LAMB	42
1117	14	LAMB	42
1182	14	LAMB	42
1278	14	LAMB	42
1316	14	LAMB	42
1329	14	LAMB	42
1333	14	LAMB	42
1336	14	LAMB	42
1337	14	LAMB	42
1342	14	LAMB	42
1422	14	LAMB	42



1423	14	LAM9	42
1426	14	LAM9	42
1485	14	LAM9	42
1507	14	LAM9	42
1534	14	LAM9	42
161	14	LAM9	42
17	14	LAM9	42
222	14	LAM9	42
251	14	LAM9	42
27	15	LAM9	42
27b	15	LAM9	42
28	15	LAM9	42
292	14	LAM9	42
293	14	LAM9	42
306	15	LAM9	42
321	15	LAM9	42
325	14	LAM9	42
333	14	LAM9	42
335	14	LAM9	42
464	14	LAM9	42
465	14	LAM9	42
466	14	LAM9	42
496	15	LAM9	42
528	15	LAM9	42
634	14	LAM9	42
642	14	LAM9	42
648	14	LAM9	42
658	14	LAM9	42
699	14	LAM9	42
699b	14	LAM9	42
704	15	LAM9	42
733	14	LAM9	42
763	14	LAM9	42
86	14	LAM9	42
870	14	LAM9	42
873	14	LAM9	42
875	14	LAM9	42
939	14	LAM9	42
1195	14	LAM9	42
1252	14	LAM9	42
1311	14	LAM9	42
1351	14	LAM9	42
1362	14	LAM9	42
1415	14	LAM9	42
1597	14	LAM9	42
21	14	LAM9	42
240	15	LAM9	42
29	14	LAM9	42
322	14	LAM9	42
323	14	LAM9	42
392	15	LAM9	42
428	15	LAM9	42
490	14	LAM9	42
576	14	LAM9	42
591	15	LAM9	42
596	14	LAM9	42
602	14	LAM9	42
63	14	LAM9	42
773	14	LAM9	42
821	14	LAM9	42
88	14	LAM9	42
979	14	LAM9	42
432	15	LAM4	80
286	14	LAM1	20
488	15	LAM1	20
501	14	LAM1	20
640	14	LAM1	20
681	14	LAM1	20
647	14	LAM1	20
648	14	LAM1	753
897	14	LAM2	17
340	15	LAM9	2263
341	15	LAM9	2263
379	15	NOVO	
695	14	LAM6	396
1313	14	LAM6	396
1138	14	LAM6	64
1176	14	LAM6	64
39	15	LAM6	64



