

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

MARLI MARQUES

**TUBERCULOSE PULMONAR EM REGIÃO DE FRONTEIRA DO MATO GROSSO
DO SUL:
MAGNITUDE DA DOENÇA, DA RESISTÊNCIA ÀS DROGAS E CEPAS
CIRCULANTES**

**CAMPO GRANDE
2015**

MARLI MARQUES

**TUBERCULOSE PULMONAR EM REGIÃO DE FRONTEIRA DO MATO GROSSO
DO SUL:
MAGNITUDE DA DOENÇA, DA RESISTÊNCIA ÀS DROGAS E CEPAS
CIRCULANTES**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação da Profª Dra. Sonia Maria Oliveira de Andrade.

**CAMPO GRANDE
2015**



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
CPG - Coordenadoria de Pós-Graduação
SIGPOS - Sistema de Gestão de Pós-Graduação



Ata de Defesa de Dissertação
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias
Doutorado

Aos trinta e um dias do mês de março do ano de dois mil e quinze, às oito horas, no Anfiteatro II, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Sonia Maria Oliveira de Andrade (DTA/UFMS), Ana Maria Campos Marques (UNIDERP), Maria Lucia Ivo (UFMS), Julio Henrique Rosa Croda (UFGD), Maria do Socorro Nantua Evangelista (UnB) para julgar o trabalho da aluna: **MARLI MARQUES**, CPF 45312001953, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título **"TUBERCULOSE PULMONAR EM REGIÃO DE FRONTEIRA DE MATO GROSSO DO SUL: MAGNITUDE DA RESISTÊNCIA A DROGAS E CEPA CIRCULANTE"**. A presidente da Banca Examinadora, Sonia Maria Oliveira de Andrade, declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações como orientadora. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu Parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR

Dra. Sonia Maria Oliveira de Andrade

Dra. Ana Maria Campos Marques

Dra. Maria Lucia Ivo

Dr. Julio Henrique Rosa Croda

Dra. Maria do Socorro Nantua Evangelista

Dr. Rivaldo Venancio da Cunha (Suplente)

ASSINATURA

[Handwritten signatures of examiners]

AValiação

A

A

A

A

A

A

RESULTADO FINAL:

☒ Aprovação

☐ Aprovação com revisão

☐ Reprovação

OBSERVAÇÕES: Após as considerações da banca, que sugeriu ajustes no documento final, sem que eles tenham interferido no mérito do trabalho, a aluna foi considerada aprovada.

Nada mais havendo a ser tratado, a Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

[Handwritten signature of Sonia Maria Oliveira de Andrade]
Orientadora

[Handwritten signature of Marli Marques]
Aluna

Dedico este trabalho a todos os pacientes que tiveram tuberculose, em especial, à colega enfermeira que vivenciou as dificuldades de ser paciente, em fazer a adesão ao tratamento, seja pelas náuseas, baixa estima, desânimo, demora para concluir o tratamento até a cura, durante os longos seis meses. Essa colega que, por ocasião da defesa, voltou a refletir sobre as condições do seu organismo quando do adoecimento, visto ter perdido 20 quilos, pergunta: será que a principal razão da adesão ao tratamento foi o apoio recebido? Acessibilidade ao tratamento? Sorte? E, para nossa indignação, conclui ter sido uma pessoa com mais sorte que os outros pacientes com tuberculose.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu direcionamento durante todas as etapas deste trabalho.

Minha orientadora, Profa. Dra. Sonia Maria Oliveira de Andrade. Primeiramente obrigada por ter me acolhido e orientado no mestrado e no doutorado pela confiança e autonomia dispensada durante o processo de construção da tese. Retomar a vida acadêmica me remeteu aos velhos tempos em que nada além dos estudos povoavam nossos pensamentos e renovou o desejo de encontrar soluções a problemas complexos servindo como estímulo na busca incessante por respostas.

Convivi, trabalhei e fui estimulada e incentivada pela Dra. Eunice Atsuko Totumi Cunha. O seu compromisso e parceria com a equipe do Programa de Controle da Tuberculose foi contagiante. O seu desejo de fazer sempre mais e melhor não apenas me estimulou a trabalhar pela tuberculose, como a me permitir e ampliar o conhecimento e permanecer na luta independente das adversidades. Sua atuação profissional é uma constante fonte de inspiração e sua prontidão em apresentar uma solução para os mais diferentes problemas fortaleceu nossos laços de amizade e de convívio familiar.

Agradeço, ainda, ao Prof. Dr. Antônio Ruffino-Netto que, ao longo de minha caminhada, em diversos momentos, mostrou-se disposto a ajudar sempre, por acreditar e investir naqueles que se interessam pela tuberculose. Ele me fez encontrar outras explicações para problemas que me pareciam simples, mas careciam de novos conhecimentos. Desenvolvi um profundo respeito por esse terno e generoso professor, que nos dá o privilégio de ouvir suas encantadoras histórias de vida.

Pude estreitar relações com a consultora do Ministério da Saúde, a Prof.^a Dra. Maria do Socorro Nantua Evangelista. Como poderia agradecer a alguém que me recebeu com tanto carinho em sua casa, compartilhando do conforto e atenção de suas filhas e pelo empenho em se fazer presente nas diferentes etapas de desenvolvimento do Projeto.

À Prof. Dra. Clarice Queico Fugimura Leite que, gentilmente, abriu as portas do laboratório de biologia molecular disponibilizando toda a estrutura necessária para que as amostras fossem processadas, bem como contribuindo, sobremaneira, na finalização do artigo.

À Prof.^a Dra. Ana Maria Campos Marques, pelo apoio na discussão do tema, em momentos nada apropriados, e de forma muito profissional e amiga, apoiou, ensinou e me incentivou na finalização do estudo.

Ao jovem Prof. Dr. Júlio Croda, grande inspirador nos trabalhos de tuberculose em Mato Grosso do Sul. Suas sugestões foram valiosas e ampliaram as discussões dos resultados por meio das ferramentas da estatística. Mais do que sua experiência, sua disponibilidade e prontidão em responder às dúvidas, permitindo avançar na conclusão da pesquisa.

Aos que contribuíram na elaboração dos artigos, minha especial gratidão. Suas contribuições ou sugestões deram novo formato aos artigos: Dra. Ângela M. Marques, Prof. Elenir Rose Jardim Cury Pontes, Prof. Dr. Baldomero Antonio Kato da Silva, Prof. Dr. Paulo Cesar Basta, Dr. Adolfo C. Barreto Santos e Msc. Antonio Francisco de Souza Filho.

Agradeço aos colegas da Secretaria de Estado de Saúde, com quem compartilhava minha ansiedade pela falta de tempo para dedicar-me aos estudos; aos colegas de turma da pós-graduação de Doenças Infecciosas e Parasitárias, pelo convívio amistoso; aos familiares que se preocupavam com o andamento da tese visto os compromissos de trabalho; e ao meu marido que, mesmo não aceitando tamanho sacrifício, apoiou na tabulação e avaliação da redação do segundo artigo.

Com muito carinho, agradeço às minhas filhas Larissa e Letícia que, além de me incentivarem a concluir os estudos, tornaram mais familiar a língua inglesa bem como o uso da informática que seguidamente nos rouba tempo e impede que o trabalho avance. Obrigada!!!

RESUMO

Trata-se de um estudo descritivo com dados do Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN) objetivando analisar a magnitude da tuberculose pulmonar (TBP) em Mato Grosso do Sul, no período de 2007-2010, considerando regiões de fronteira e não fronteira e populações indígenas e não indígenas. Foram estimadas as taxas de incidência, mortalidade, co-infecção com o HIV e percentual de abandono de tratamento. Na região de fronteira, as taxas de incidência (49,1/100 mil hab.), de mortalidade (4,0/100 mil) e de abandono do tratamento (11,3%) foram 1,6, 1,8 vezes maiores que na região não fronteiriça e estatisticamente significativo ($p < 0,001$) e abandono 1,5 vezes maior ($p = 0,013$). Entre indígenas da fronteira, as taxas de incidência (253,4/100 mil hab.) e mortalidade (11,6/100 mil hab.) foram, respectivamente, 6,4 vezes, 3,2 vezes maiores ($p < 0,001$) e co-infecção por HIV (1,9/100 mil) e ($p = 0,859$). Para estimar os níveis de resistência às drogas selecionaram-se 789 casos de TBP notificados ao SINAN e com resultado do teste de sensibilidade às drogas anti-TB (TSD) rifampicina, isoniazida, estreptomicina e etambutol. Analisou-se a associação entre características clínicas, sociodemográficas, taxas, padrão e perfil de resistência. Dos investigados, 660 (83,7%) eram sensíveis e 129 (16,3%) resistentes. Mostrou associação com resistência: não ser caso novo ($p = 0,001$), morar na fronteira ($p = 0,0142$) e alcoolismo ($p = 0,0451$). A resistência combinada (RC), primária (RP) e adquirida (RA) foram: 16,3%, 10,6% e 39,0%, respectivamente. As taxas de multidrogarresistência (MDR) combinada, primária e adquirida foram: 1,8%, 0,6% e 6,3%, respectivamente. Houve associação entre resistência e tratamento prévio ($p < 0,0001$). Existe maior chance de resistência entre doentes com Diabetes Mellitus (DM), quando comparados aos sem DM. A comparação do padrão e perfil de resistência entre fronteira *versus* não fronteira revelou superioridade na fronteira para monorresistência primária ($p = 0,001$). Para identificação dos genótipos do *M. Tuberculosis* circulantes na região de fronteira foram analisadas 60 cepas de TBP. A caracterização pelo *Spoligotyping* revelou 57 cepas com padrões distintos e 3 cepas órfãs (5,0%). A distribuição das famílias destacou a LAM com 50%, seguido da família T (sublinhagem T1) com 23,3%, família Haarlem (H) com 13,3%, e família X (sublinhagem X1) e família S, ambas com 1,7%. Taxa elevada de agrupamento de 75,1% (45/60) revelou nas duas fronteiras 10 cluster pelas subfamílias LAM9 SIT42, TI SIT53, H1 SIT47, LAM6 SIT1610, LAM3 SIT33, H3 SIT50, LAM5 SIT1337, havendo formação de cluster (SIT47 H1) entre dois presidiários. A TBP tem maior magnitude na região de fronteira, onde a população apresenta maior risco de adoecer, morrer, abandonar o tratamento, de se infectar por uma cepa monorresistente. Indivíduos indígenas apresentam maior risco de adoecer e morrer por TBP, a despeito do menor abandono de tratamento, ao passo que a população não indígena apresenta maior coinfecção por HIV e maior abandono. A taxa de qualquer resistência adquirida foi elevada enquanto a taxa de MDR assemelhou-se às estimadas para o Brasil, recomendando-se tratamento diretamente observado (TDO) para diminuir a resistência. A fronteira registrou maior monorresistência primária, o que requer cultura para sintomáticos respiratórios, TSD e TDO para todo caso diagnosticado nessa região. A endemia por TBP ocorrida na fronteira caracterizou-se por baixa diversidade genética do *M. tuberculosis* predominando as famílias LAM, T e Harleem. A despeito da elevada taxa de agrupamento e vínculo entre casos resistentes e similar genótipo, haverá necessidade de outras técnicas moleculares para melhor caracterização da transmissão ativa entre as diferentes populações. A propagação da TBP nessa região evidencia insuficiência nas ações de controle.

Descritores: Tuberculose Pulmonar. Resistência às drogas. Áreas de Fronteira. Índios Sul-Americanos. Spoligotyping. Cepas Circulantes.

ABSTRACT

This is a descriptive study with data from the Notifiable Diseases Information System (SINAN) aiming to analyze the magnitude of pulmonary tuberculosis (PTB) in Mato Grosso do Sul, from 2007 to 2010, considering border regions and non-border and indigenous and non-indigenous populations. Were incidence rates estimated mortality, co-infection with HIV and percentage of treatment dropout. In the border region, incidence rates (49.1 / 100,000 inhabitants.), Mortality (4.0 / 100,000) and abandonment of treatment (11.3%) were 1.6, 1.8 times higher than in the non-border region, and statistically significant ($p < 0.001$) and abandonment 1.5 times higher ($p = 0.013$). Among Indian border, incidence rates (253.4 / 100,000 inhab.) And mortality (11.6 / 100,000 inhabitants.) Were, respectively, 6.4 times, 3.2 times higher ($p < 0.001$) and co-infection with HIV (1.9 / 100 000) and ($p = 0.859$). To estimate the drug resistance levels were selected 789 cases of TBP reported to SINAN and results of susceptibility testing to anti-TB drugs (TSD) rifampicin, isoniazid, streptomycin and ethambutol. We analyzed the association between clinical, sociodemographic characteristics, fees, standard and resistance profile. Of investigated, 660 (83.7%) were sensitive and 129 (16.3%) resistant. Showed an association with resistance: not new case ($p = 0.0001$), live on the border ($p = 0.0142$) and alcoholism ($p = 0.0451$). The combined resistance (RC), primary (PR) and acquired (RA) were 16.3%, 10.6% and 39.0%, respectively. The rates of multidrug (MDR) combined primary and acquired were: 1.8%, 0.6% and 6.3%, respectively. There was an association between resistance and previous treatment ($p < 0.0001$). There is a greater chance of resistance among patients with diabetes mellitus (DM) compared to those without DM. The standard of comparison and resistance profile between border versus no border was superior at the border to primary monoresistance ($p = 0.001$). To identify the genotypes of *M. tuberculosis* circulating in the border region were analyzed 60 strains of TBP. The characterization revealed by Spoligotyping 57 strains with different patterns and 3 strains orphan (5.0%). The distribution of families highlighted the LAM 50%, followed by the T family (subline T1) with 23.3%, Haarlem family (H) with 13.3%, and family X (subline X1) and S family, both with 1 7% High rate of grouping of 75.1% (45/60) showed the two borders 10 by cluster sub LAM9 SIT42, IT SIT53, H1 SIT47, LAM6 SIT1610, LAM3 SIT33, H3 SIT50, LAM5 SIT1337, with cluster formation (SIT47 H1) between two inmates. TBP has greater magnitude in the border region, where the population is at higher risk of getting sick, dying, leave the treatment of infection by a strain monoresistente. Indigenous individuals have a higher risk of illness and death by TBP, despite the lower abandonment of treatment, while the non-indigenous population is more coinfection with HIV and most abandoned. The rate of any acquired resistance was raised while the MDR rate was similar to those estimated for Brazil, it is recommended directly observed treatment (DOT) to decrease resistance. The border registered higher primary monoresistance, which requires culture for respiratory symptoms, TSD and TDO for every diagnosed case in this region. The endemic by TBP took place at the border was marked by low genetic diversity of *M. tuberculosis* predominating LAM families, and T Harleem. Despite the high bulking rate and link between resistant cases and similar genotype, there will be need for other molecular techniques to better characterize the active exchange between different populations. The spread of TBP in this region demonstrates failure in control measures.

Keywords: Pulmonary Tuberculosis. Drug resistance. Border areas. South-American Indians. *Spoligotyping*. Circulating strains.

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1 Tuberculose – panorama e desafios atuais.....	8
2.2 Métodos diagnósticos da tuberculose e da resistência às drogas.....	12
2.3 Resistência aos fármacos antituberculose.....	13
<u>2.3.1 Classificação da resistência aos fármacos antituberculose.....</u>	<u>16</u>
<u>2.3.2 Normas para Inquéritos mundiais de resistência aos fármacos antituberculose.....</u>	<u>17</u>
<u>2.3.2.1 Inquéritos mundiais de resistência aos fármacos antituberculose.....</u>	<u>18</u>
<u>2.3.3 Resistência aos fármacos antituberculose no mundo.....</u>	<u>19</u>
<u>2.3.4 Resistência aos fármacos nas Américas.....</u>	<u>21</u>
<u>2.3.5 Resistência aos fármacos antituberculose no Brasil.....</u>	<u>22</u>
<u>2.3.6 Resistência aos fármacos antituberculose em Mato Grosso do Sul.....</u>	<u>24</u>
2.4 Fatores de risco para resistência às drogas anti-tuberculosas.....	25
2.5 Biologia Molecular.....	30
<u>2.5.1 A técnica de Spoligotyping.....</u>	<u>32</u>
<u>2.5.2 Caracterização das cepas circulantes pela técnica de Spoligotyping.....</u>	<u>34</u>
3 OBJETIVOS.....	36
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Modelo de estudo e período da pesquisa.....	37
4.2 População de estudo e abrangência da pesquisa.....	37
4.3 Fontes de dados.....	38
4.4 Aspectos éticos.....	43
5 RESULTADOS	44
5.1 Artigo I.....	45
5.2 Artigo II.....	57
5.3 Artigo III.....	78
6 DISCUSSÃO	96
7 CONCLUSÃO.....	102
REFERÊNCIAS.....	103
ANEXOS.....	128