



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA

Tese de Doutorado

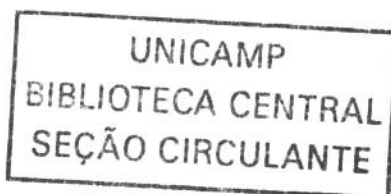
*Epidemiologia molecular da tuberculose entre
pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência
Humana atendidos em um hospital universitário
brasileiro*

Mariângela Ribeiro Resende

Campinas – SP

2002

i





UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA

***Epidemiologia molecular da tuberculose entre
pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência
Humana atendidos em um hospital universitário
brasileiro***

Autor: Mariângela Ribeiro Resende

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Carvalho Ramos

Tese apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Doutor em Clínica Médica, área de Clínica Médica.

Campinas – SP
Agosto/2002

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	R311e
V	EX
TOMBO BC/	51834
PROC.	16-837-02
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 111,00
DATA	16/12/02
Nº CPD	

CM00177389-3

BIB ID 272465

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

R311e

Resende, Mariângela Ribeiro

Epidemiologia molecular da tuberculose entre pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana atendidos em um Hospital Universitário Brasileiro / Mariângela Ribeiro Resende. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Marcelo de Carvalho Ramos

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. HIV (Vírus). 2. Infecção Hospitalar. 3. Tuberculose. 4. Transmissão. I. Marcelo de Carvalho Ramosl. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

Aluno(a): *MARIÂNGELA RIBEIRO RESENDE*

Orientador(a): *Prof.Dr. MARCELO DE CARVALHO RAMOS*

marcelo

Membros:

Professor Doutor Afrânio Lineu Kritski

Professor Doutor Eduardo Alexandrino Sérvolo de Medeiros

Professor Doutor Rogério de Jesus Pedro

Professora Doutor Eduardo Mello de Capitani

**Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Ciências Básicas,
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 30/08/2002

Aos meus queridos pais, Janeaut (*In memorian*)
e Anita, pelas lições de ética, garra e sabedoria.

Aos meus queridos irmãos Marilene, Mariluce, Márcio,
Marilda, Marise, Marília e Marcos,
frutos de uma frondosa árvore sólida,
pelo carinho e pela partilha.

Ao meu amado companheiro Plínio, pela cumplicidade,
alegria e pelo amor compartilhado dia a dia.

À minha querida sogra Zelina
(*In memorian*), pelo carinho e pelas lições de sabedoria e simplicidade.

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes que fizeram parte deste estudo o meu profundo respeito e que a pesquisa e a tecnologia possam ser revertidas em melhoria assistencial.

Ao Prof. Dr. Marcelo de Carvalho Ramos, pela orientação competente, pela motivação pelas técnicas moleculares e pela amizade.

À Prof. Dra. Lucilaine Ferrazoli, pela disponibilidade, atenção e presteza na colaboração para análise dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Afrânio Lineu Kritski, pelo espírito fomentador e pelas sugestões ao projeto.

À Profa. Dra. Priscila Maria de Oliveira Papaiordanou, pela energia motivadora e amizade.

À Profa. Dra. Maria Cecília Villares e à equipe do laboratório de Micobacterias: Dra. Angela Von Nowakonski, Wagner Roberto de Andrade, Marcel Loh e Dalva Conceição Florêncio, pela disponibilização do laboratório, realização do processamento inicial dos espécimes e pela costumeira atenção.

Às pós-graduandas Ana Lúcia Roscani e Alessandra Panunto, pela amizade e colaboração nos momentos de dificuldade de uma clínica no laboratório.

À Clarisa Ramos pela colaboração nas dificuldades durante os experimentos.

Aos colegas do Núcleo de Vigilância Epidemiológica HC-Unicamp, da CCIH do Caism e do Hospital Mário Gatti: Alexandre, Aline, Edna, Eliane, Eliene, Elis, Gema, Lia, Márcia, Olívia, Priscila, Roseli Calil, Rosely Moralez, Seila, Sueli e Verônica, pelo companheirismo, pela paciência e cooperação.

Às enfermeiras envolvidas no controle da tuberculose no HC-Unicamp: Izilda, Sônia e Verônica, pelo compromisso e pela fidelidade aos pacientes.

Aos colegas que assistiram aos pacientes: docentes, médicos assistentes e médicos residentes da disciplina de Doenças Transmissíveis da FCM-Unicamp.

Aos amigos e familiares: Icidério, Mário Afonso, José Vicente, Renato, Reni, Saron, Penha, Levino, Célia, Carlos, José Luís, Rodrigo, Renatinho, Ricardo, Juninho, Daniel, Vanessa, Marcinho, Anitinha, Flávia, Tiago, Lucas e Pietra pelo apoio, carinho e compreensão pela ausência em momentos especiais do convívio.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xvii
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	xxiii
RESUMO	xxix
1. INTRODUÇÃO.....	31
1.1. A coinfeção tuberculose e vírus da imunodeficiência humana.....	33
1.2. História natural da infecção pelo <i>M. tuberculosis</i> em pacientes infectados pelo HIV.....	34
1.3. Transmissibilidade do <i>M. tuberculosis</i>	35
1.4. Métodos moleculares aplicados à epidemiologia da tuberculose.....	37
2. OBJETIVOS.....	43
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	47
3.1. Período de estudo.....	49
3.2. Desenho do estudo.....	49
3.3. Caracterização do local de estudo.....	49
3.4. População de estudo e seleção da casuística.....	51
3.4.1. Critérios de inclusão.....	51
3.4.2. Critérios de exclusão.....	51
3.5. Avaliação dos casos.....	52
3.5.1. Epidemiologia clássica.....	52

3.5.2. Caracterização microbiológica e molecular dos isolados de <i>M. tuberculosis</i>	54
3.6. Análise dos resultados	58
3.7. Aspectos éticos da pesquisa.....	59
3.8. Suporte financeiro.....	59
4. RESULTADOS.....	61
4.1. População de estudo.....	63
4.2. Características demográficas.....	65
4.3. Caracterização clínica da tuberculose.....	66
4.4. Caracterização da infecção pelo HIV.....	66
4.5. Atendimento no HC-Unicamp e institucionalização.....	69
4.6. Comparação por período de diagnóstico da tuberculose.....	70
4.7. Caracterização microbiológica e molecular.....	72
4.8. Investigação epidemiológica dos isolados em agrupamentos genotípicos.....	74
4.9. Tipagem molecular de isolados referentes a episódios múltiplos de TB.....	80
4.10. Fatores de risco para agrupamentos genotípicos.....	81
5. DISCUSSÃO.....	87
5.1. Distribuição geral dos casos.....	89
5.2. Apresentação da TB no âmbito da coinfeção pelo HIV.....	90
5.3. Atendimento no HC-Unicamp e institucionalização.....	91
5.4. Tipagem molecular pelo IS6110-RFLP.....	92
5.5. Transmissão recente do <i>M. tuberculosis</i>	93
5.6. Fatores de risco para agrupamento genotípico.....	96

5.7. Investigação epidemiológica e análise molecular.....	98
5.8. Episódios múltiplos de TB.....	98
5.9. Transmissão da TB no ambiente hospitalar.....	99
5.10. Medidas de controle da TB entre pacientes infectados pelo HIV.....	102
6. CONCLUSÃO.....	105
7. SUMMARY.....	109
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
9. ANEXOS.....	133
Anexo 1. Critérios de notificação e investigação dos casos de tuberculose no HC-Unicamp.....	135
Anexo 2. Definição nacional de caso de AIDS em indivíduos com 13 anos de idade ou mais, para fins de vigilância epidemiológica (BRASIL, 1998)	137
Anexo 3. Definição nacional de caso de AIDS, em indivíduos menores de 13 anos, para fins de vigilância epidemiológica (BRASIL, 2000a).....	141
Anexo 4. Ficha utilizada para coleta de dados clínico-epidemiológicos e microbiológicos dos pacientes estudados.....	143
Anexo 5. Municípios componentes da direção regional de saúde XXII do estado de São Paulo.....	145
Anexo 6. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.....	147
Anexo 7. Quimioprofilaxia para tuberculose em pacientes infectados pelo HIV - Atualização das recomendações para tratamento da coinfeção HIV- tuberculose em adultos e adolescentes (BRASIL, 2000b).....	149

Lista de Siglas e Abreviaturas

16S rRNA	ácido ribonucleico ribossomal 16 S
A	adenina
ADA	adenosina deaminase
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Alu II	endonuclease de restrição Alu II
APPCR	“arbitrarily primed polymerase chain reaction” – reação em cadeia da polimerase com iniciadores arbitrários
ATS	“American Thoracic Society”
BAAR	bacilo álcool-ácido resistente
BCG	bacilo Calmette Guerin
bp	pares de base
C	citossina
CDC	“Centers For Disease Control and Prevention” – Centro para o Controle e Prevenção de Doenças
CTBA	N-cetil-N, N, N, - trimetil-amônio bromida
DIRXII	Direção Regional de Saúde XII
DNA	ácido desoxirribonucleico
DOTS	“direct observed treatment short” – tratamento diretamente observado de curta duração
DR	seqüência “direct repeat”
DST/AIDS	Doenças Sexualmente Transmissíveis/ Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ECL	“direct nucleic acid labelling and detection systems” - sistema de detecção e marcação de ácidos nucleicos.
ETR	“exact tandem repeat”
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
G	guanina
GTG5	seqüência guanina, timina e guanina
H37Rv	cepa de referência do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

HAART	terapia antiretroviral altamente efetiva
HCl	ácido clorídrico
HC-Unicamp	Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas
Hinf I	endonuclease de restrição Hinf I
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HRP	peroxidase marcada radioativamente
IS	seqüência de inserção
IS1081	seqüência de inserção 1081
IS1547	seqüência de inserção 1547
IS3	seqüência de inserção 3
IS6110	seqüência de inserção 6110
katG	gene da catalase
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
mbp64	gene <i>mbp</i> 64 do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MOTT	micobactérias outras que não <i>tuberculosis</i>
MPTR	“major polymorphic tandem repeat”
mtp40	gene <i>mtp</i> 40 do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
N95	“not oil resistance – 95% efficiency filter”
NaCl	cloreto de sódio
NALC-NaOH	N-Acetyl-L-cysteína- hidróxido de sódio
NaOH	hidróxido de sódio
NAP	p-Nitro- α -acetylamino- β -Hydroxypropiofenona
°C	grau Celsius
PCR	“polimerase chain reaction” – reação em cadeia da polimerase
PGRS	seqüência repetida rica em guanina e citosina
PPD	derivado protéico purificado
PvuII	endonuclease de restrição obtida <i>Proteus vulgaris</i> II
RFLP	“Restriction Fragment Length Polimorphism” – Polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição

RIVM	“National Institute of Public Health and the Environment”, Bilthoven, Holanda
Rx	radiografia
T	timina
T CD4+	linfócitos timo-dependentes CD4+
TB	tuberculose
TB-MDR	tuberculose multidroga-resistente
TE	tris/HCl/EDTA
tripla GTG	seqüência tripla guanina, timina e guanina
UPGMA	“unweighted pair group method arithmetic”
VNTR	“variable numbers of tandem repeats”
WHO	“World Health Organization” – Organização Mundial da Saúde

Lista de tabelas e figuras

	Página
Figura 1. Incidência das condições associadas entre os casos de AIDS notificados em maiores de 12 anos, Brasil, 1980-1999 (Guimarães, 2000).	33
Figura 2. História natural da infecção tuberculosa na população geral e em indivíduos coinfectados pelo HIV.	35
Tabela 1. Diferentes métodos de tipagem e genes para diferenciação de 90 cepas do complexo <i>M. tuberculosis</i> , número de perfis genotípicos obtidos e reprodutibilidade (Adaptado de KREMER <i>et al.</i> , 1999).	39
Tabela 2. Estudos com base populacional da epidemiologia molecular da TB em diversos países.	41
Tabela 3. Caracterização das unidades de atendimento a pacientes com HIV e TB no HC-UNICAMP.	50
Tabela 4. Distribuição anual dos casos de TB notificados no HC-UNICAMP segundo a associação ao HIV, pesquisa de BAAR positiva no escarro, cultura positiva para <i>M. tuberculosis</i> e seleção para o estudo, 1996 a julho de 2001.	63
Figura 3. Distribuição dos casos de tuberculose notificados entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV e casos bacilíferos associados ao HIV por ano, de 1996 a 2000.	64
Figura 4. Distribuição dos casos de tuberculose associados ao HIV, notificados no HC-UNICAMP, de acordo com a confirmação e critérios diagnósticos.	64
Tabela 5. Distribuição dos pacientes com tuberculose associada ao HIV, segundo a realização do IS6110-RFLP e características demográficas estudadas, de 1996 a julho de 2001.	65

Tabela 6.	Distribuição dos 254 pacientes com tuberculose associada ao HIV segundo apresentação da TB e realização do IS6110-RFLP, 1996 a julho de 2001.	67
Tabela 7.	Distribuição dos 254 pacientes com tuberculose associada ao HIV segundo variáveis referentes à infecção pelo HIV e de acordo com a realização do IS6110-RFLP, 1996 a julho de 2001.	68
Tabela 8.	Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV, segundo o seguimento no HC-UNICAMP e realização do IS6110-RFLP, 1996 a julho de 2001.	69
Tabela 9.	Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo antecedentes de institucionalização e realização de IS6110-RFLP, 1996 a julho de 2001.	70
Tabela 10.	Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo as características epidemiológicas e clínicas e período, de 1996 a julho de 2001.	71
Tabela 11.	Distribuição dos isolados de <i>M. tuberculosis</i> referentes aos pacientes com TB associada ao HIV de acordo com o espécimen e realização do IS6110-RFLP, de janeiro de 1996 a julho de 2001.	72
Tabela 12.	Distribuição da ocorrência dos isolados de <i>M. tuberculosis</i> genotipados, segundo o mês e ano de isolamento.	73
Figura 5.	Matriz de similaridade e perfis de IS6110 – RFLP de 109 cepas de <i>M. tuberculosis</i> isoladas de 109 pacientes com tuberculose associada ao HIV, atendidos no HC-UNICAMP- Janeiro de 1996 a Julho de 2001.	75
Figura 6.	Matriz de similaridade e perfis de IS6110 – RFLP de cepas de <i>M. tuberculosis</i> isoladas de pacientes com tuberculose associada ao HIV, pertencentes a um dos 13 agrupamentos genotípicos.	76
Figura 7.	Distribuição temporal dos 35 isolados de <i>M. tuberculosis</i> pertencentes aos 13 agrupamentos genotípicos identificados.	77

Tabela 13.	Distribuição dos pacientes em agrupamentos genotípicos segundo características epidemiológicas, apresentação da TB, antecedentes de institucionalização, atendimento no hospital-dia, internações prévias e vínculo epidemiológico.	78
Tabela 14.	Distribuição dos pacientes com episódios múltiplos de TB, cujos isolados foram submetidos ao IS6110-RFLP, segundo as datas do 1º e do 2º isolamento do <i>M. tuberculosis</i> .	80
Tabela 15.	Distribuição dos 109 pacientes com TB associada ao HIV segundo as características demográficas e a participação em agrupamento genotípico, de 1996 a julho de 2001.	81
Tabela 16.	Distribuição dos 109 pacientes com TB associada ao HIV, segundo a apresentação da TB e a participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001.	82
Tabela 17.	Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo a apresentação da infecção pelo HIV e a participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001.	83
Tabela 18.	Distribuição dos 109 pacientes com tuberculose associada ao HIV, de acordo com o acompanhamento no HC-UNICAMP, institucionalização e participação em agrupamento genotípico.	84
Tabela 19.	Distribuição dos 33 pacientes com TB bacilífera associada ao HIV segundo a apresentação da TB, apresentação da infecção pelo HIV e participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001.	85
Tabela 20.	Distribuição dos pacientes bacilíferos com tuberculose associada ao HIV de acordo com os dados de atendimento no HC-UNICAMP, institucionalização prévia e participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001.	86
Tabela 21.	Surtos de TB descritos em hospitais. Adaptado de Craven, Steger & Hirschhorn, 1996.	100

No Brasil, a epidemiologia molecular da tuberculose é pouco conhecida, além disso, as instituições de cuidados à saúde, bem como as correccionais e de tratamento de pessoas infectadas pelo HIV, congregam pacientes altamente susceptíveis e práticas inadequadas de controle da transmissão da doença. Este estudo avaliou um grupo de pacientes infectados pelo HIV como sentinela para a transmissão da tuberculose em um hospital de referência, com os objetivos de determinar a ocorrência de transmissão recente do *M. tuberculosis* e os fatores de risco a ela relacionados. Foi realizado um estudo retrospectivo de investigação epidemiológica clássica e genotipagem (IS6110-RFLP) entre pacientes infectados pelo HIV, com cultura positiva para o *M. tuberculosis*, atendidos no HC-UNICAMP de 01/1996 a 07/2001. No período foram notificados 1596 casos de tuberculose; deste total 560 eram infectados pelo HIV. A TB foi confirmada em 490 (30,7%) pacientes, sendo o diagnóstico através de cultura positiva para *M. tuberculosis* em 254 casos. A apresentação pulmonar da TB ocorreu em 81,1% dos casos e TB disseminada em 20,8% dos casos. Em 45,3% dos pacientes já havia sido diagnosticada alguma doença definidora de AIDS previamente à TB. A mediana da contagem de linfócitos T CD4+ no momento do diagnóstico da TB foi 86 cells/mm³. O IS6110-RFLP de 109 isolados de *M. tuberculosis* identificou 87 padrões únicos e 13 agrupamentos genotípicos envolvendo 35 (32,1%) pacientes. O número de pacientes em cada agrupamento variou de dois a seis. Vínculos epidemiológicos foram observados em 11 (31,4%) casos. Destes, transmissão hospitalar foi provável em cinco casos. Esta transmissão foi provavelmente relacionada à visitas concorrentes no hospital-dia para pacientes infectados pelo HIV e atendimento por longo período no ambulatório de Infectologia. Este estudo estabeleceu a ocorrência de provável transmissão recente em cerca de um terço do grupo estudado. Identificou vínculo epidemiológico em um número pequeno de casos, demonstrando a necessidade de investigação de contato mais ativa e expandida. Evidenciou, ainda, a possibilidade de transmissão hospitalar através da determinação de vínculos intra-hospitalares, bem como a associação entre seguimento prévio no HC-UNICAMP e participação em agrupamentos genotípicos.

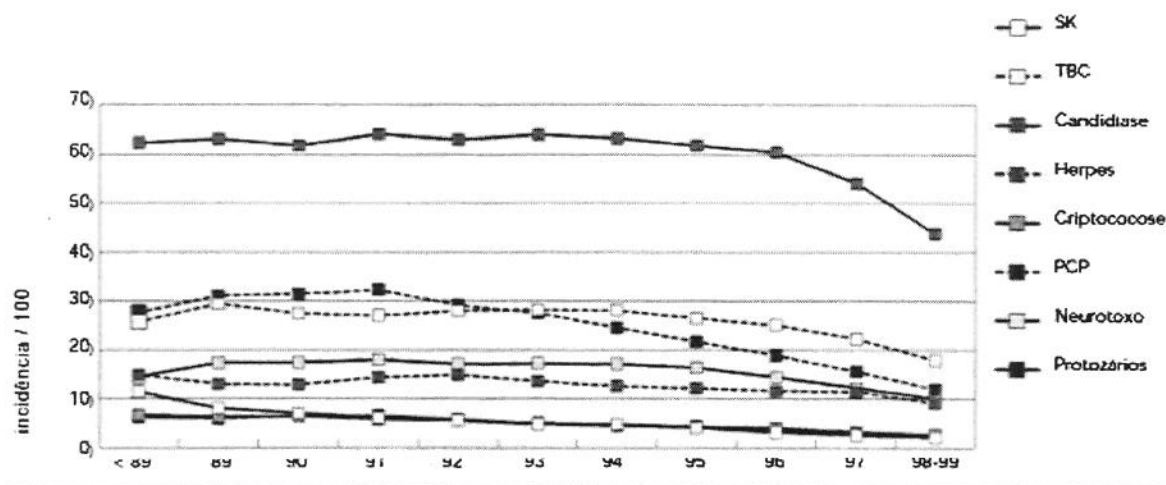
INTRODUÇÃO

1.1. A COINFEÇÃO TUBERCULOSE E VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

A associação do *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) trouxe perspectivas desanimadoras, no que diz respeito ao controle da tuberculose (TB) (PITCHENIK, 1990; HOPEWELL, 1992; DE COCK & WILKINSON, 1995). É estimado que em nível mundial, cerca de um terço dos 40.000.000 de indivíduos vivendo com HIV/AIDS (UNAIDS, 2001) estejam coinfectados pelo *M. tuberculosis* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). A África concentra 68% destes indivíduos, seguida pelo sudeste asiático (22%), América Latina e Caribe (8%) (DYE *et al.*, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

No Brasil, o número acumulado de casos de AIDS, de 1980 a setembro de 2001, foi 222.356 pessoas (BRASIL, 2001). Entre os 157.775 casos de AIDS notificados de 1980 a 1999, a TB foi a segunda doença definidora mais freqüente, acometendo 25,5% dos pacientes no momento da notificação (GUIMARÃES, 2000; Fig. 1).

Figura 1. Incidência das condições associadas entre os casos de AIDS notificados em maiores de 12 anos, Brasil, 1980-1999 (GUIMARÃES, 2000)

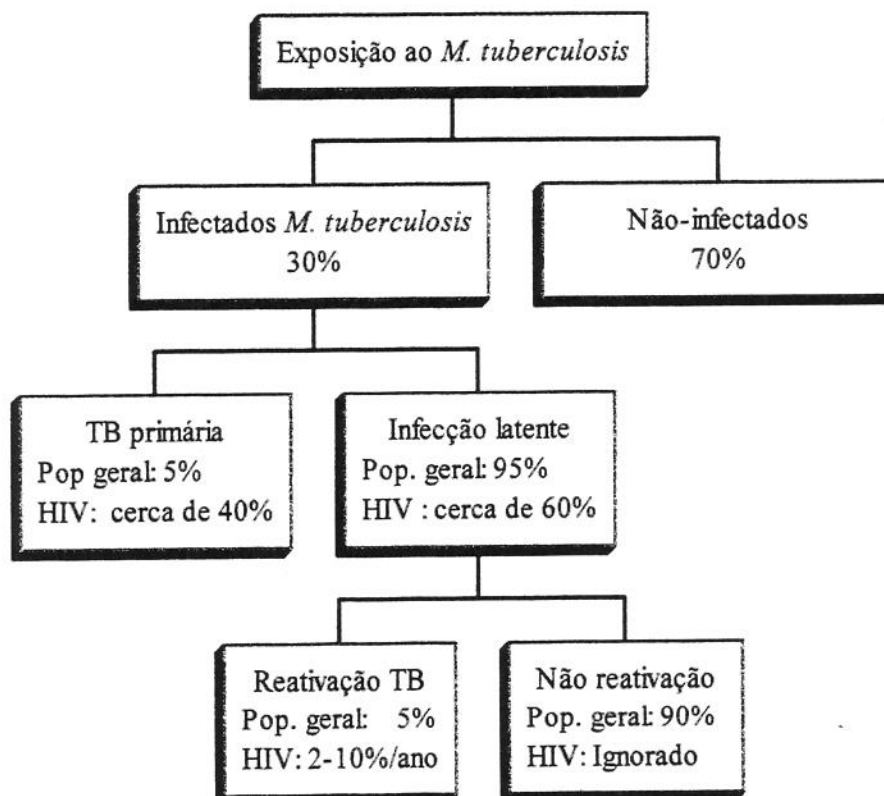


SK: sarcoma de kaposi; TBC: tuberculose; PCP: pneumonia por *Pneumocystis carinii*, Neurotoxó: neurotoxoplasmose.

1.2. HISTÓRIA NATURAL DA INFECÇÃO PELO *M. tuberculosis* EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV

A infecção pelo HIV representa o mais expressivo fator de risco para TB primária após exposição, assim como para reativação de infecção latente pelo *M. tuberculosis* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). A progressão para doença ativa após exposição inicial (infecção recente) é extremamente elevada (40%) se comparada à da população geral que é de 5%. Soma-se a este risco a elevada taxa de reativação de infecção tuberculosa nesta população de coinfetados, de aproximadamente 2% a 10% por ano, enquanto que para a população geral este é o risco ao longo de toda a vida (SELWYN *et al.*, 1989) (Fig. 2). Além disso a ocorrência de infecção tuberculosa primária não confere proteção às reinfecções subseqüentes. Desta forma o adoecimento por TB em pacientes coinfetados pelo HIV ocorre em função de infecção primária recente, reativação de infecção latente e reinfecção recente (McDERMOTT & GLASSROTH, 1997). Estima-se que a proporção de cada uma destas vias patogênicas varie de acordo com a situação epidemiológica das duas enfermidades em determinada população. Os estudos de tipagem molecular têm demonstrado a contribuição de cada uma destas vias na patogênese da TB.

Figura 2. História natural da infecção tuberculosa na população geral e em indivíduos coinfectados pelo HIV (SELWYN *et al.*, 1989; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996; McDERMOTT & GLASSROTH, 1997).



1.3. TRANSMISSIBILIDADE DO *M. tuberculosis*

A compreensão da dinâmica de transmissão do *M. tuberculosis* entre indivíduos infectados pelo HIV é fundamental para o controle da TB, pois o maior risco de infecção associado à progressão acelerada da doença fecha um ciclo de disseminação em um grupo particularmente susceptível (CASTRO & DOOLEY, 1993; CRAVEN, STEGER, HIRSCHHORN, 1996).

Considerando-se que ocorre uma menor frequência de doença cavitária e uma maior proporção de casos extrapulmonares associados ao HIV, teoricamente, a infecciosidade deveria ser menor ou igual a de pacientes apenas com TB (NARAIN, RAVIGLIONE, KOCHI., 1992).

Entretanto, diversos surtos de TB foram descritos associados ao HIV com altas taxas de ataque (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1991; BECK-SAGUÉ *et al.*, 1992; COTTE, FOUGERAT, TREPO, 1992; FISCHL *et al.*, 1992; MORO *et al.*, 1998).

Estudo realizado no Zaire demonstrou que o risco de TB pulmonar foi semelhante entre os contatos domiciliares de pacientes infectados e não-infectados pelo HIV (KLAUSNER, RYDER, BAENDE, 1993). Por outro lado, CAYLÁ *et al.* (1996) demonstraram, mediante estudo caso-controle, risco superior de desenvolvimento de doença entre contatos de pacientes soropositivos. Estudo multicêntrico italiano, também evidenciou um risco quase três vezes maior entre profissionais que assistiam a pacientes infectados pelo HIV (DI PERRI *et al.*, 1993).

Por outro lado, trabalhos mais recentes têm demonstrado menor transmissibilidade associada ao HIV. Esta evidência foi demonstrada por CAUTHEN *et al.* (1996) pela análise de 3.253 contatos, bem como por CRUCIANI *et al.* (2001) por meio de estudo de meta-análise. Estes autores avaliaram estudos com profissionais da área de saúde e com contatos de pacientes infectados ou não pelo HIV e concluíram que a TB entre pacientes HIV soropositivos não é intrinsecamente mais transmissível que entre pacientes não-infectados. Portanto, é provável que o maior risco de transmissibilidade associado ao HIV esteja relacionado a fatores extrínsecos ao paciente, como o diagnóstico tardio, a grande frequência de procedimentos indutores de tosse (coleta de escarro induzido, broncoscopia, aerossóis de pentamidina). Outro agravante é que pacientes infectados pelo HIV têm contato direto com outros casos soropositivos, seja através da admissão em enfermarias, hospital-dia, albergues ou presídios, o que oferece maior risco de transmissão (LUTWICK *et al.*, 1992; GREENBERG & ANEZ, 1992).

Nas duas últimas décadas, ocorreu a demonstração objetiva de surtos de TB adquiridos em instituições de cuidados à saúde ou correccionais. O desenvolvimento de técnicas moleculares permitiu a melhor compreensão da dinâmica de transmissão do *M. tuberculosis* (COHN & O'BRIEN, 1998).

1.4. MÉTODOS MOLECULARES APLICADOS À EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE

Segundo SMALL & MOSS, 1993, a epidemiologia molecular consiste “na integração de técnicas de biologia molecular que identificam cepas específicas de organismos, associadas à epidemiologia, com o objetivo de entender a distribuição da doença na população”. Com este escopo, diversos métodos de tipagem podem ser utilizados para demonstrar o parentesco entre cepas do *M. tuberculosis* e têm instrumentalizado o entendimento da TB numa determinada população.

Dentre os métodos fenotípicos, a fagotipagem representou durante muitos anos um instrumento para a identificação de cepas relacionadas; no entanto, existem várias limitações relacionadas ao método, como o tempo utilizado para a execução da técnica e o baixo poder discriminatório. Os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, apesar de grande valia na condução individual dos casos, se mostraram também limitados para investigações epidemiológicas. Contrapondo-se aos métodos acima, aqueles baseados na caracterização de partes do genoma do *M. tuberculosis*, permitem detectar eventuais variações ou identidades que possibilitam a identificação de clones da bactéria (VAN SOOLINGEN & HERMANS, 1995).

COLLINS & DE LISLE (1984) foram os primeiros pesquisadores que utilizaram endonucleases de restrição do DNA cromossomal do *M. tuberculosis*. Entretanto, a análise visual era de difícil discriminação devido ao grande número de fragmentos de restrição cromossomais gerados. Na tentativa de melhorar o poder discriminatório associou-se a hibridização com sondas de ácidos nucleicos dirigidas a regiões variáveis do genoma, que resultou na produção de um número limitado de bandas, o que facilitou a análise. Estas regiões do cromossoma são denominadas seqüências de inserção (IS), e a variabilidade dos seus sítios é a base para a produção do polimorfismo no comprimento dos fragmentos de restrição. (PLIKAYTIS, PLIKAYTIS & SHINNICK, 1992, PLIKAYTIS *et al.*, 1993) A seqüência de um destes elementos, IS6110, foi descrita por THIERRY, CAVE, EISENACH (1990) e foi relacionada à família IS3, descoberta em membros das *Enterobacteriaceae*. A maioria das cepas de *M. tuberculosis* carrega de dez a 15 cópias do IS6110, que estão presentes com grande variabilidade nos sítios cromossômicos.

O IS6110 é um elemento genético que induz rearranjos com alta frequência; entretanto, apesar desta extrema capacidade de rearranjo, estudos experimentais demonstraram que esta sequência é capaz de permanecer estável através de várias gerações do microorganismo, permitindo delinear a distribuição clonal da infecção em uma população (VAN EMBDEN *et al.*, 1993). Embora a análise dos padrões de “Restriction fragment length polymorphism” (RFLP) em populações européias e norte-americanas tenha demonstrado polimorfismo e estabilidade, não foi observada grande heterogeneidade em isolados de algumas regiões da África e da Ásia (RADHAKRISHNAN, KUMAR, MUNDAYOOR, 2001; YEN *et al.*, 1993; FOMUKONG *et al.*, 1994). No Brasil, os isolados tipados têm demonstrado um número suficiente de cópias de IS6110 (superior a cinco), sendo necessários estudos com base populacional para confirmação deste achado (SUFFYS, IVENS de ARAUJO, DEGRAVE, 1997).

Até recentemente, apenas três outras sequências de inserção, além do IS6110, haviam sido identificadas no genoma do *M. tuberculosis*: IS1081, IS1547 e o elemento IS-like. Com o estabelecimento da sequência completa do DNA do *M. tuberculosis* da cepa de referência H37Rv foram descobertas outras 25 sequências de inserção (COLE *et al.*, 1998). Foram identificadas, ainda, sequências curtas repetitivas de cinco tipos: “major polymorphic tandem repeat” (MPTR), “exact tandem repeat” (ETR), “direct repeat” (DR), sequência repetida rica em Guanina e Citosina (PGRS) e a sequência tripla GTG. As três últimas têm sido utilizadas em métodos de subtipagem, quando as cepas possuem número pequeno de cópias de IS6110 (KREMER *et al.*, 1999).

Os métodos utilizados para tipagem molecular do *M. tuberculosis* combinam métodos de PCR, hibridização e RFLP dirigidos a regiões específicas do genoma da bactéria. Apesar das diferentes técnicas e diferentes alvos do genoma, o IS6110-RFLP ainda tem sido considerado o padrão para os estudos epidemiológicos, seja pela melhor reprodutibilidade, assim como pela sensibilidade (KREMER *et al.*, 1999) (Tab. 1). O método IS6110-RFLP limita-se a casos com cultura positiva para o *M. tuberculosis*, o que impede a sua utilização para a análise dos indivíduos infectados, questão de grande importância no contexto da transmissão intra-hospitalar da TB. Outras limitações relacionam-se à operacionalidade da técnica que exige um longo tempo para sua realização,

pois envolve desde o crescimento no meio sólido até a revelação em autoradiografias, além do elevado custo e laboriosa execução.

Tabela 1. Diferentes métodos de tipagem e genes para diferenciação de 90 cepas do complexo *M. tuberculosis*, número de perfis genotípicos obtidos e reprodutibilidade (Adaptado de KREMER *et al.*, 1999)

Alvo	Método	Média de bandas	Nº de tipos obtidos	Reprodutibilidade (%)
IS6110	RFLP (<i>Pvu</i> II)	10	84	100
	<i>Mixed-linker</i> PCR	8	81	100
	IS6110 PCR inverso	4	NR	6
IS6110/MPTR	IS6110 <i>ampliprinting</i>	7	NR	39
IS6110/PGRS	DRE-PCR	5	63	58
PGRS	RFLP (<i>Alu</i> II)	9	70	100
Locus DR	Spoligotipagem	28	61	94
	RFLP (<i>Alu</i> I)	2	48	100
ETRs A-E	Tipagem VNTR	5	56	97
(GTG) ₅	RFLP (<i>Hinf</i> I)	4	30	94
Genoma total	APPCR	8	71	71
IS1081	RFLP (<i>Pvu</i> II)	6	12	100
mtp40	RFLP (<i>Pvu</i> II)	3	12	100
mbp64	RFLP (<i>Pvu</i> II)	1	8	100
katG	RFLP (<i>Pvu</i> II)	2	5	100
Gene 16S rRNA	RFLP (<i>Pvu</i> II)	1	5	100

Técnicas como a spoligotipagem, baseadas em PCR tendem a ser utilizadas como triagem para o IS6110-RFLP. A spoligotipagem é um método de triagem prático para estudos epidemiológicos em larga escala ou para detecção precoce de casos suspeitos de transmissão recente (GOGUET DE LA SALMONIERE *et al.*, 1997; SOLA *et al.*, 1998). Entretanto, para a identificação de casos independentes, somente a evidência de padrões diferentes é conclusiva. Em casos de padrões similares sem evidente conexão

epidemiológica é aconselhável a utilização de teste confirmatório da clonalidade entre as cepas através do IS6110-RFLP (BONORA *et al.*, 1999).

Existem evidências de que os padrões de RFLPs são indicadores confiáveis da identidade entre cepas, sendo possível inferir origem comum entre os isolados. Desta forma, podem ser enumeradas diversas aplicações dos métodos de tipagem molecular: avaliação dos padrões de transmissão da TB numa determinada população, avaliação da transmissão em instituições fechadas, análise da genética populacional e evolucionária do *M. tuberculosis* e estudos de patogenicidade, dentre outros (GICQUEL, 1993).

Na tentativa de responder às questões relevantes relacionadas à TB nos países em desenvolvimento, a Organização Mundial da Saúde (OMS) considera como áreas prioritárias para aplicação da análise de RFLP (COHN & O'BRIEN, 1998) nestes países os estudos com base na comunidade, da transmissão hospitalar e os da TB associada ao HIV.

Os estudos com base populacional têm avaliado a dinâmica de transmissão da TB na comunidade (Tab. 2). Eles permitem delinear a transmissão recente numa determinada população e os fatores de risco a ela associados. O conhecimento destas variáveis contribuem para a redefinição das medidas de controle. Nos países desenvolvidos foram realizados estudos em grandes centros urbanos como Nova York (ALLAND *et al.*, 1994) São Francisco (SMALL *et al.*, 1994) e Amsterdam (VAN DEUTEKOM *et al.*, 1997), dentre outros.

Nos países em desenvolvimento, os estudos com base populacional são escassos e somente nos últimos anos têm sido realizados. Estudos realizados na África demonstraram uma elevada taxa de transmissão recente do *M. tuberculosis*. (GOODFREY-FAUSSET *et al.*, 2000; LOCKMAN *et al.*, 2001; KALLENIOUS *et al.*, 1999) Estudo comparativo entre cepas oriundas da Etiópia, Tunísia e Holanda sugeriram a existência de cepas de *M. tuberculosis* específicas de regiões que podem ser agrupadas em um número limitado de famílias (HERMANS *et al.*, 1995) (Tab. 2).

Tabela 2. Estudos com base populacional da epidemiologia molecular da TB em diversos países

Estudo	Local	Nº de casos	Frequência de agrupamento genotípico (%)
GENEWEIN <i>et al.</i> , 1993	Berna, Suíça	163	27,6
SMALL <i>et al.</i> , 1994	São Francisco, EUA	473	40,0
ALLAND <i>et al.</i> , 1994	Nova York, EUA	104	37,5
HERMANS <i>et al.</i> , 1995	Etiópia	158	36,0
	Tunísia	190	58,4
	Holanda	153	18,9
VAN DEUTEKOM <i>et al.</i> , 1997	Amsterdam, Holanda	459	47,0
GUTIÉRREZ <i>et al.</i> , 1998	Paris, França	272	35,7
SAMPER <i>et al.</i> , 1998	Zaragoza, Espanha	226	39,0
VAN SOOLINGEN <i>et al.</i> , 1999	Holanda	4266	46,0
CHIN <i>et al.</i> , 2000	Berkely, EUA	221	33,0
GARCIA-GARCIA <i>et al.</i> , 2000	México	95	40,0
GODFREY-FAUSSETT <i>et al.</i> , 2000	Zâmbia	371	50,0
DIAZ <i>et al.</i> , 2001	Havana, Cuba	51	45,0
LOCKMAN <i>et al.</i> , 2001	Botswana	301	42,0
DIEL <i>et al.</i> , 2002	Hamburgo, Alemanha	398	33,9
MCCONKEY <i>et al.</i> , 2002	St. Louis, EUA	61	38,0

A transmissão intra-hospitalar foi documentada no final da década de 80 e início da década de 90, pela ocorrência de surtos intra-hospitalares, com envolvimento de pacientes e profissionais da área de saúde. Diversos surtos foram relacionados à multirresistência e à infecção pelo HIV (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1991; BECK-SAGUÉ *et al.*, 1992; FISCHL *et al.*, 1992; SNIDER & DOOLEY, 1993; MORO *et al.*, 1998).

A transmissão no ambiente hospitalar e no âmbito da coinfeção pelo HIV estão intimamente relacionadas e necessitam ser melhor avaliadas, sobretudo nos países em desenvolvimento.

Existem inúmeras questões relacionadas à epidemiologia molecular da TB entre pacientes infectados pelo HIV que necessitam ser estudadas, como por exemplo a relativa distribuição de recaída e reinfecção, a recorrência mais alta que nos indivíduos não-infectados pelo HIV, a patogenicidade de cepas específicas e a influência da institucionalização e de outros fatores de risco para infecção recente além do próprio HIV.

No Brasil, a epidemiologia molecular do *M. tuberculosis* é pouco conhecida, além disso, as instituições de cuidados à saúde, bem como as correccionais e de tratamento de pessoas soropositivas, congregam pacientes altamente susceptíveis e práticas inadequadas de controle da transmissão da TB (KRITSKI, LAPA e SILVA, CONDE, 1998; MACHADO *et al.*, 1998; RESENDE, SINKOC e PAPAIORDANOU, 2000).

Este estudo pretende avaliar a transmissão da TB em um grupo de pacientes infectados pelo HIV em um hospital de referência e assim contribuir com a definição de medidas de controle da doença.

OBJETIVOS

- Avaliar os padrões genotípicos de cepas de *M. tuberculosis*, através do IS6110-RFLP, isoladas de pacientes com tuberculose, infectados pelo HIV atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.
- Verificar a ocorrência de agrupamentos de cepas de *M. tuberculosis* com o mesmo perfil genotípico.
- Avaliar os fatores de risco relacionados aos agrupamentos genotípicos, entre os pacientes com tuberculose infectados pelo HIV, atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PERÍODO DE ESTUDO

De janeiro de 1996 a julho de 2001

3.2. DESENHO DO ESTUDO

- Coorte retrospectivo

3.3. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (HC-Unicamp), hospital universitário de 404 leitos, referência terciária para Campinas e região. Na década de 90 foram notificados por ano, em média, 288 casos de TB. Houve um progressivo aumento dos casos notificados de 1990 a 1994, em 1995 ocorreu um pseudosurto (DE C RAMOS *et al.*, 1999) e de 1996 a 1999 o número de casos apresentou uma tendência de redução (RESENDE *et al.*, 2000).

Os pacientes com TB e HIV são atendidos em diversas unidades da instituição, sendo que a enfermaria de Moléstias Infecciosas, os ambulatórios de Infectologia e o leito-dia (hospital-dia) para pacientes com AIDS concentram a maior parte dos atendimentos (Tab. 3). O atendimento ambulatorial é realizado nos diversos ambulatórios da disciplina de Infectologia localizados no prédio do HC-Unicamp e na Unidade de Pesquisa Clínica em AIDS.

Tabela 3. Caracterização das unidades de atendimento a pacientes com HIV e TB no HC-Unicamp

Indicador	Hospital-dia	Enfermaria de Moléstias Infecciosas
Nº leitos	18	18
Nº leitos/quarto	1 quarto com 4 leitos 7 com 2 leitos cada	1 com 4 leitos, 7 com 2 leitos
Salas de isolamento	Os quartos são transformados em quartos privativos de acordo com a demanda.	
Média mensal de pacientes-dia	ND	466*
Nº de atendimentos/dia	25	-----
Controles de engenharia**	Não existem controles específicos para prevenção de transmissão de patógenos por via aérea (pressão negativa, filtros HEPA). Os pacientes com suspeita de TB bacilífera são isolados em quartos privativos sem controles de engenharia.	

ND: não disponível; *Média dos anos de 1996 a 2001**Após o período do estudo, a partir de julho de 2001 foram instalados controles de engenharia na enfermaria de Moléstias Infecciosas.

Precauções para transmissão por aerossóis têm sido adotadas para os pacientes com suspeita de TB e consistem na utilização de quarto privativo (sem controles de engenharia), uso de respirador N95 pelo profissional da área de saúde para o atendimento ao paciente, limitação da saída do paciente do quarto e quando estritamente necessário uso de máscara comum pelo mesmo (GARNER, 1996). Como parte do controle da TB na instituição, o programa de triagem tuberculínica para profissionais iniciou-se em 1998. Em estudo realizado em 1996, a prevalência de infecção tuberculosa entre profissionais do HC-Unicamp nas áreas com alto número de internações por TB foi 76,4%, superior à da população geral brasileira (RESENDE, 1996).

3.4. POPULAÇÃO DE ESTUDO E SELEÇÃO DA CASUÍSTICA

3.4.1. Critérios de inclusão

- Pacientes notificados com TB confirmada por meio de cultura positiva para o complexo *M. tuberculosis*, infectados pelo HIV, internados e ou atendidos em qualquer unidade do HC-Unicamp (Anexo 1). Evidência laboratorial de infecção pelo HIV foi considerada segundo os critérios do Ministério da Saúde do Brasil (Anexos 2 e 3).
- Para pacientes com notificações múltiplas, foi incluído apenas o primeiro episódio com cultura positiva durante o período avaliado.

3.4.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos da avaliação epidemiológica convencional pacientes:

- cujo caso foi encerrado como mudança diagnóstica devido ao isolamento de outras micobactérias que não *tuberculosis* (MOTT) ou devido a outros diagnósticos;
- episódios múltiplos subsequentes de um mesmo paciente.

Foram excluídos da análise molecular, pacientes:

- cujos isolados não foram recuperados, seja por não-crescimento no subcultivo ou por contaminação da cultura;
- com apenas uma cultura positiva com RFLP idêntico a de isolado de outro paciente processado no laboratório no mesmo dia, por se tratar de provável contaminação laboratorial;
- cujos isolados apresentaram menos de cinco cópias de IS6110 ao RFLP, pelo baixo poder discriminatório da técnica nesta situação.

A seleção dos casos foi realizada pela comparação dos resultados das culturas para *M. tuberculosis* do laboratório de Microbiologia com o banco de notificações do Núcleo de Vigilância Epidemiológica do HC-Unicamp e com os resultados de sorologia anti-HIV pelo sistema de informatização do HC-Unicamp. Após a seleção dos casos foi realizada a revisão de prontuário e tipagem molecular.

3.5. AVALIAÇÃO DOS CASOS

3.5.1. EPIDEMIOLOGIA CLÁSSICA

Os seguintes dados foram obtidos por meio de pesquisa de prontuário, mediante ficha padronizada (Anexo 4):

A. Demográficos

- idade; gênero; etnia: caucasóide, negróide, asiático;
- município de residência: Campinas, Região – Direção Regional de Saúde DIRXII (Anexo 5), outras cidades do estado de São Paulo e cidades de outros estados.

B. Relacionados à infecção pelo HIV

- categoria de exposição: sexual, sangüínea por drogadição, sangüínea por transfusão, sexual associada à sangüínea, vertical, ignorada;
- intervalo entre o diagnóstico de AIDS e a ocorrência da TB. Foram considerados para a definição de AIDS a revisão do programa Nacional de DST/AIDS (Anexos 2 e 3) (BRASIL, 1998; BRASIL, 2000);
- contagem de linfócitos T CD4+: o exame foi realizado na rotina de seguimento do paciente, pelo laboratório de AIDS do HC-Unicamp pela técnica de citometria de fluxo. Foi considerado o exame mais próximo à cultura, realizado até 60 dias antes ou até 60 dias após o diagnóstico microbiológico.

C. Referentes à TB

1. Antecedentes pessoais e familiares de TB

- tratamento anterior para TB e evolução do tratamento anterior (cura, abandono, falência);
- antecedente familiar de TB e grau de parentesco.

2. Apresentação clínica

- forma: pulmonar, extrapulmonar ou pulmonar associada à extrapulmonar.
- localização das formas extrapulmonares: foi utilizada a classificação da AMERICAN THORACIC SOCIETY/CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2000 (pleural, ganglionar, ósteoarticular, genitourinária, disseminada, meníngea, peritoneal e outras).

TB disseminada foi considerada nas seguintes situações:

- padrão miliar à radiografia de tórax e ou
- cultura positiva para *M. tuberculosis* no sangue e ou
- TB em dois sítios não contíguos extrapulmonares cujo diagnóstico tenha sido feito por cultura ou anátomopatológico ou citoquímica associada ao teste da adenosina deaminase (ADA) em líquido pleural ou líquido céfalo-raquidiano ou diagnóstico clínico associado à resposta ao tratamento específico.

3. Precauções para prevenção da transmissão aérea, adotadas nas internações

Esta variável foi avaliada apenas nos casos internados com pesquisa de BAAR positiva no escarro. Foi analisado o intervalo entre a internação até a instituição das precauções para prevenção da transmissão por aerossóis. Foi considerado retardo:

- a ausência de instituição imediata das precauções nas unidades de internação e/ou
- a permanência por tempo prolongado (> 24 h.) no Pronto Socorro.

D. Antecedentes de institucionalização prévia ao diagnóstico de TB.

- Instituições: casas moradias para pacientes HIV, penitenciárias, sanatórios, abrigos, outros.

E. Atendimento no HC-Unicamp

- data do início do acompanhamento no HC-Unicamp;
- unidade de atendimento inicial;
- atendimento no hospital-dia para pacientes infectados pelo HIV, previamente à TB;
- internações anteriores ao diagnóstico de TB, unidade de internação e número de internações. Duração da internação, período e leito ocupado durante a internação.

3.5.2. CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MOLECULAR DOS ISOLADOS DE *M. tuberculosis*

Os isolados referentes aos pacientes foram selecionados a partir do banco de culturas do laboratório de Micobactéria/Microbiologia/Departamento de Patologia Clínica, laboratório de nível II (AMERICAN THORACIC SOCIETY/CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1990). Estes isolados foram subcultivados no meio de cultura Löwenstein-Jensen após a cultura inicial e estocados a -20°C . A cultura inicial foi realizada a partir de amostras processadas na rotina do Laboratório de Microbiologia.

Após a coleta dos espécimes foi realizada a liquefação e a descontaminação, pelo uso de N-Acetil-L-cisteína-hidróxido de sódio (método NALC-NaOH) (METCHOCK, NOLTE, WALLACE JR, 1999). A pesquisa de BAAR foi realizada pela técnica de Ziehl-Neelsen. As culturas iniciais foram realizadas até setembro de 1996 em meio de Löwenstein Jensen e a detecção feita visualmente. A partir de setembro de 1996 foi implementado o sistema de detecção automatizado BACTEC 460® (Becton Dickinson) em meio 12B e 13B para espécimes em geral e sangue e medula óssea, respectivamente. A identificação da micobactéria foi realizada por testes bioquímicos até setembro de 1996 e pelo p-Nitro- α -acetyl-amino- β -Hydroxypropiophenona (NAP) no período subsequente.

TIPAGEM MOLECULAR PELA TÉCNICA IS6110-RFLP

Foi utilizada a técnica de IS6110-RFLP conforme padronização de VAN EMBDEN *et al.* (1993) que consiste nas seguintes etapas: extração do DNA genômico do *M. tuberculosis*, digestão pela *PvuII*, “Southern Blotting”, hibridização e detecção em autoradiografias.

A técnica de IS6110-RFLP desde o subcultivo a partir da cultura original até a detecção foi realizada pela própria pesquisadora. Para a avaliação do perfil genotípico foi considerado apenas um isolado por paciente.

A. Isolamento do DNA genômico do *M. tuberculosis*

O isolado de interesse foi subcultivado em meio de Löwestein Jensen e incubado a 37°C até crescimento claramente visível (duas a quatro semanas). Após este período, procedeu-se a extração a partir de no mínimo uma alçada de células que foram transferidas para um tubo de microcentrifugação. As etapas seguintes consistiram em: morte celular pelo calor (banho a 80°C); ruptura celular através da adição de 50 µg de Lisozyma (10mg/ml) e incubação a 37°C por uma noite; adição da solução SDS/proteinase K a 10% (75 µl) e incubação a 65°C; adição de NaCl 5M (100 µl) e de solução de CTBA(N-cetyl-N, N, N, -trimethyl amônio bromida /NaCl (100 µl) e incubação a 65°C. Todas estas etapas foram realizadas em cabine de segurança biológica classe II. Para a remoção dos complexos de CTAB-proteína/polissacarídeos foi adicionado clorofórmio/álcool isoamílico (750 µl) e centrifugado por 5' a 12000rpm. O sobrenadante foi transferido, seguindo-se adição de isopropanol (0,6 do volume) para a precipitação dos ácidos nucleicos. Deixado no mínimo 30' à temperatura de -20°C e centrifugado por 15' com remoção do sobrenadante. À película aderida ao tubo foi adicionado 1 ml de etanol 70%, centrifugado e removido o sobrenadante; a seguir nova centrifugação e remoção do etanol. Após a secagem, a película foi ressuspensa em tampão TE (Tris/HCl/EDTA). Para estimativa da concentração de DNA foram realizados: espectrofotometria de luz ultravioleta (Pharmacia GeneQuant®) e eletroforese em gel de agarose a 0,8% .

B. Digestão do DNA por *PvuII*

O DNA do *M. tuberculosis* foi digerido pela enzima *PvuII*, endonuclease de restrição que cliva o DNA pelo reconhecimento da sequência de inserção IS6110. Esta sequência é clivada nos seguintes segmentos: CAG | CTG e GTC | GAC.

A concentração de DNA estimada para digestão foi 4,5 µg, sendo adicionado 2µl de água, 2µl do tampão de digestão e 1µl da enzima de restrição *PvuII* (10U/ml) para um volume final de 20µl, com incubação por 4 horas a 37°C.

Após a digestão, os fragmentos de DNA foram visualizados por eletroforese curta em gel de agarose a 0,8% para estimar a concentração adequada para o gel de transferência.

C. Separação dos fragmentos de DNA por eletroforese

O DNA cromossômico da cepa referência RIVM *M. tuberculosis* (Mt.14323) e os isolados a serem estudados foram aplicados em gel de agarose a 1%. A cepa Mt.14323 foi utilizada como um marcador externo para análise computadorizada, tendo sido gentilmente cedida pelo Instituto Adolfo Lutz Central. Os parâmetros para a eletroforese foram: 100V por 10' e a seguir 32V por um tempo total de aproximadamente 20 horas.

D. “Southern Blotting”: método de transferência por capilaridade

Após a eletroforese, o gel foi exposto à luz ultravioleta e tratado com HCl 0,25 M (500 ml) para depuração parcial. Em seguida, os sítios depurados foram clivados por tratamento alcalino (NaOH 0,4M, 500ml). A seguir, foi montado o sistema de transferência por capilaridade que permitiu a passagem do DNA do gel para a membrana Hybond™ N+ pelo fluxo do NaOH 0,4 M.

E. Hibridização e detecção

Preparação da sonda

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi utilizada para a produção da sonda a partir de DNA extraído da cepa de referência Mt. 14323 e dos seguintes iniciadores:

1. INS-1 (5'CGTGAGGGGCATC GAGGTGGC) e
2. INS-2 (5'GCGTAGGCGTCGGTGACAAA)

O PCR foi realizado a partir da solução: tampão 10x (5µl), dNTP solução (4µl), iniciador 1 (5µl), iniciador 2 (5µl), Taq polimerase (0,25µl), água destilada (0,75µl) e 30µl do DNA alvo. O programa utilizado foi: 3' 96° C (1x), 1' a 96° C, 1' a 65° C, 2' a 72° C (30 ciclos), 6' a 72° C (1x). Os produtos do PCR, evidenciando fragmentos com comprimento de 245pb foram examinados por eletroforese e purificados por método em coluna usando o Kit de purificação QIAquick® (QIAGEN).

Pré-hibridização e hibridização

O kit "ECL™ direct nucleic acid labelling and detection systems" (AmershamPharmacia) foi utilizado para a hibridização e detecção. Este sistema consiste em: reagente de marcação direta para a sonda de DNA com peroxidase marcada radioativamente (HRP). A HRP catalisa a oxidação do substrato luminol que, na presença do potencializador químico, resulta em emissão de luz detectável no filme.

Para a marcação da sonda (10ng/µl) realizou-se denaturação em banho-maria a 100° C, adição do reagente para marcação do DNA (kit ECL™); e do glutaraldeído (kit ECL™) e incubação por 10 minutos a 37°C.

Ao filtro colocado no cilindro de hibridização foi adicionado o tampão de hibridização (kit ECL™) e pré-hibridizado por 30-60' a 42°C. A seguir foi adicionada a sonda marcada e mantido a 42°C a 6rpm durante a noite.

Após o descarte da solução de hibridização a membrana foi lavada com o tampão primário de uréia pré-aquecido, por duas vezes. A seguir o tampão primário foi substituído pelo secundário (SSC 2x) e o filtro lavado por 5 minutos na plataforma de agitação por duas vezes.

Detecção

Para detecção foram utilizados os reagentes de detecção 1 (Hidroxigenperóxido) e 2 (Luminol) do kit ECL™ misturados em igual volume e colocados sobre o filtro e a seguir revelados através de radiografia. A primeira exposição durou cerca de 15' e a segunda variou na dependência da primeira de 5 a 120'.

3.6. ANÁLISE DOS RESULTADOS

Foi estruturado um banco de dados pela utilização do programa Epi-info versão 6.04b (DEAN *et al*, 1994). As características do grupo de pacientes com isolados submetidos ao IS6110-RFLP foram descritas de forma comparativa ao total de pacientes infectados pelo HIV com TB confirmada por cultura. Com propósitos descritivos, foram definidos dois períodos: primeiro de 1996 a 1997, período inicial da terapia antiretroviral de alta efetividade (HAART) e segundo período, de 1998 a julho de 2001 (pós implementação da HAART).

Os resultados obtidos mediante a realização do IS6110-RFLP foram analisados por comparação visual dos padrões genotípicos dos isolados de *M. tuberculosis* e pelo programa GelCompar® (versão 4.0, Applied Maths, Kortrijk, Belgium). O programa Gel Compar® utilizado, pertence ao Instituto Adolfo Lutz Central – Seção de Micobactérias, São Paulo. Os pacientes cujos isolados apresentaram perfis idênticos (100% de identidade genotípica), no que se refere ao número e posições das cópias de IS6110 ao RFLP, foram definidos como agrupamento genotípico e aqueles com isolados únicos em não-agrupamento genotípico. Para execução da matriz de similaridade (dendrograma) foram utilizados o coeficiente de Dice e “unweighted pair group method arithmetic” (UPGMA), com tolerância de 2% e otimização de 2%.

Os testes de Qui-quadrado com correção de Yates ou o Exato de Fisher bi-caudal foram empregados para variáveis categóricas e o de Kruskal-Wallis para as variáveis contínuas para testar a associação de agrupamento genotípico às características clínicas e epidemiológicas e também para outras análises de associação.

3.7. ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Por se tratar de estudo retrospectivo, as informações foram coletadas do prontuário do paciente e da ficha de notificação compulsória. A inclusão na pesquisa não implicou em nenhuma mudança na condução clínica individual dos casos, tão pouco em exames ou procedimentos complementares adicionais ou esquemas terapêuticos diversos daqueles recomendados pelo médico que assistiu ao paciente. Os dados de identificação dos pacientes foram mantidos em sigilo. Não foram coletados novos exames microbiológicos, tendo sido utilizados os isolados de *M. tuberculosis* estocados pelo laboratório de Microbiologia.

Devido ao caráter retrospectivo do estudo, não implicando em riscos diretos aos pacientes e diante da dificuldade de se obter os termos de consentimento livre e esclarecido, foi solicitado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas a liberação da necessidade de obtenção deste consentimento. No entanto, os pesquisadores se comprometeram a enviar os resultados relevantes para os prontuários dos pacientes, e mesmo comunicá-los, caso os dados possibilitassem benefícios ou indicassem riscos para a saúde daqueles ainda vivos.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas aprovou sem restrições o Protocolo de Pesquisa parecer n.º 199/2000, dispensando a necessidade de consentimento informado (Anexo 7).

3.8. SUPORTE FINANCEIRO

Este projeto recebeu auxílio-pesquisa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo 00/03897-1.

RESULTADOS

4.1. POPULAÇÃO DE ESTUDO

Durante o período de estudo foram notificados no HC-Unicamp 1.596 casos de TB, sendo 560 (35,1%) soropositivos para o HIV. A distribuição anual dos casos confirmados de TB associados ou não ao HIV é mostrada na Tab. 4. Entre os 490 casos confirmados de TB nos pacientes infectados pelo HIV, houve uma maior frequência de pesquisa de BAAR positiva no escarro no segundo período do estudo ($p=0.02$, CI95% 1.7 (1.08-2.67) (Fig. 3). No primeiro período, foram confirmados 216 casos de TB em pacientes infectados pelo HIV, sendo 47,2% diagnosticados por cultura, enquanto no período subsequente 63,9% de 274 casos ($p=0,017$) apresentaram este critério diagnóstico.

Houve isolamento do *M. tuberculosis* em 277 (56,5%) casos referentes a 254 pacientes (Fig. 4). Portanto, foram excluídos da análise descritiva e molecular 23 episódios múltiplos de TB. Dos 254 pacientes, 142 (55,9%) foram excluídos da análise molecular, pois os isolados de *M. tuberculosis* não foram recuperados. Cento e doze (44,1%) pacientes tiveram isolados submetidos ao IS6110-RFLP (Tab. 4). Entre os 112, foram excluídos dois (0,9%) casos devido à possibilidade de contaminação cruzada laboratorial e um (0,5%) caso devido à existência de apenas três cópias de IS6110 ao RFLP.

Tabela 4. Distribuição anual dos casos de TB notificados no HC-Unicamp segundo a associação ao HIV, pesquisa de BAAR no escarro, cultura para *M. tuberculosis* e seleção para o estudo, 1996 a julho de 2001

	1º período						2º período						Total
	1996		1997		1998		1999		2000		2001		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
TB notificados	323	---	337	---	324	---	251	---	241	---	120	---	1596
Coinfecção HIV	132	40,9	125	37,1	107	33,0	81	32,3	81	33,6	34	28,3	560
TB confirmada	117	36,2	99	29,4	99	30,6	71	28,3	73	30,3	31	25,8	490
BAAR ⊕ escarro	23	19,7	18	18,2	30	30,3	22	31,0	17	23,3	9	29,0	119
Cultura ⊕ <i>Mtb</i>	55	47,0	47	47,5	51	51,5	49	69,0	52	71,2	23	74,2	277
Selecionados	55	40,2	46	46,5	48	48,5	41	57,7	42	57,5	22	71	254

⊕ positivo

⊕ positivo

Figura 3. Distribuição dos casos de tuberculose notificados entre os pacientes infectados e não-infectados pelo HIV e casos bacilíferos associados ao HIV por ano, de 1996 a 2000

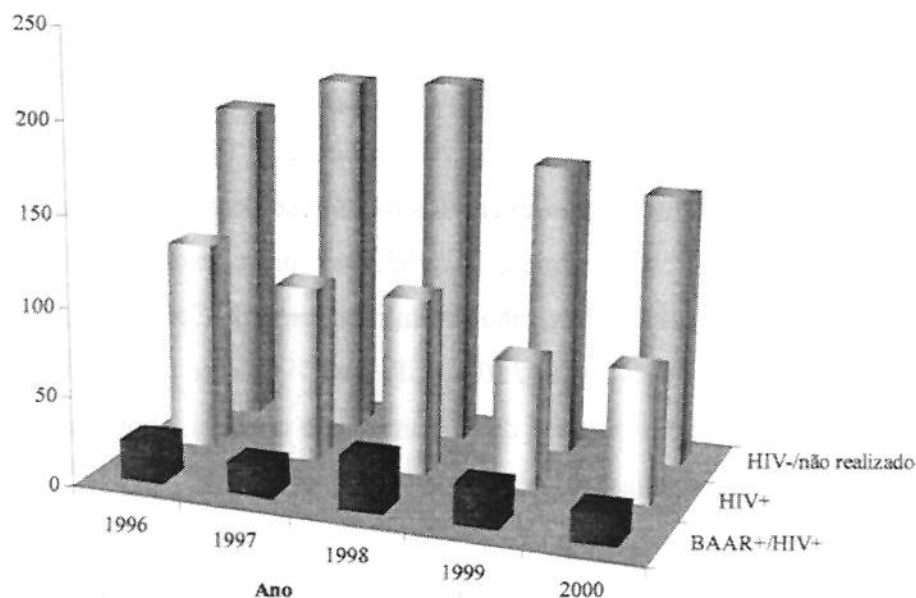
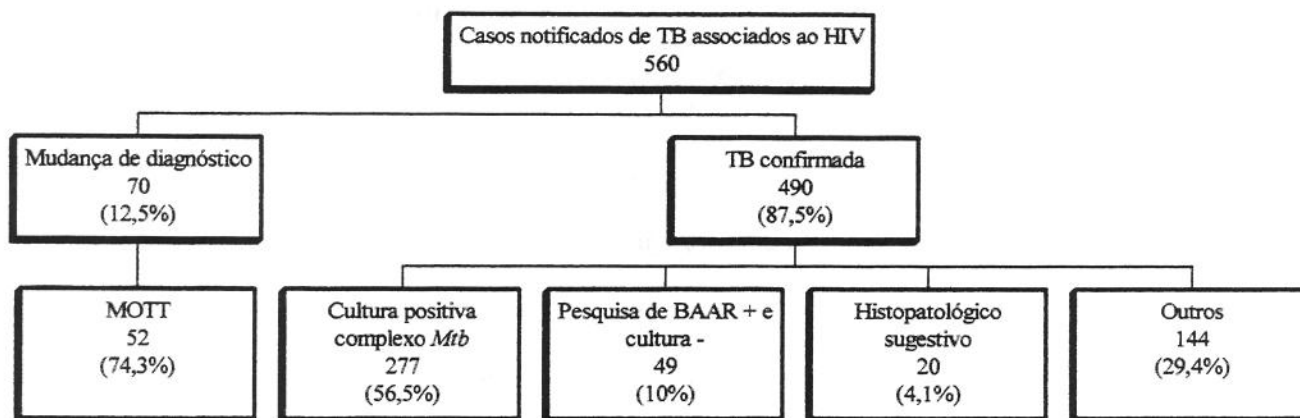


Figura 4. Distribuição dos casos de tuberculose associados ao HIV, notificados no HC-Unicamp de 1996 a julho de 2001, de acordo com a confirmação e critérios diagnósticos



4.2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

A relação entre o número de pacientes do sexo masculino e feminino foi 2,5 entre os 254 pacientes incluídos e de 2,5 entre aqueles com isolados submetidos ao IS6110-RFLP. Cento e oitenta e dois indivíduos (71,7%) eram caucasóides, com mediana de idade de 32 anos e 51,2% eram procedentes da cidade de Campinas (Tab. 5).

Tabela 5. Distribuição dos pacientes com tuberculose associada ao HIV, segundo a realização do IS6110-RFLP e características demográficas estudadas, de 1996 a julho de 2001

Característica	Pacientes				Valor de <i>p</i>	Odds ratio (IC 95%)
	IS6110-RFLP		Total			
	N=109 N	%	N=254 N	%		
Gênero						
masculino	81	74,3	182	71,7	0,695	1,14(0,67 -1,97)
feminino	28	25,7	72	28,3		
Idade (anos)						
Mediana (mínimo – máximo)	33 (2 –80)		32 (1-80)		0,170	----
Etnia						
Caucasóide	80	73,4	183	72,0	0,892	1,07(0,63 -1,83)
Negróide/asiática	28/1	26,6	69/2	27,9		
Procedência						
Campinas	55	50,4	130	51,2	0,899	0,97(0,60 -1,56)
Outras cidades	54	49,6	124	48,8		
DIR XII	42	38,5	91	35,8		
Outras cidades SP	9	8,3	27	10,6		
Outro estado	3	2,8	6	2,4		

4.3. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA DA TUBERCULOSE

A apresentação exclusivamente pulmonar ocorreu em 84 (33,1%) casos, extrapulmonar isolada em 48 (18,9%) e extrapulmonar associada à pulmonar em 122 (48,0%) pacientes. Dentre os 206 (81,1%) pacientes com envolvimento pulmonar, a pesquisa de BAAR foi positiva no escarro em 78 (37,9%) e a doença cavitária ocorreu em 16 (7,8 %).

As localizações extrapulmonares mais freqüentes foram: doença disseminada (30,6%) e ganglionar (26,5%). O envolvimento pulmonar foi semelhante entre o grupo de pacientes cujos isolados foram submetidos à tipagem molecular e o total de pacientes com cultura positiva [$p=0,855$ (OR=1,10; IC95%:0,59-2,07)], assim como doença cavitária e pesquisa de BAAR no escarro positiva (Tab. 6).

4.4. CARACTERIZAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HIV

Dentre os pacientes avaliados, a categoria de exposição mais freqüente foi a sexual (75,2%) seguida de drogadição isoladamente (24,0%) ou associada à sexual (13,0%). O diagnóstico da infecção pelo HIV ocorreu previamente à TB em 171 (67,3%) pacientes, enquanto o diagnóstico de doenças definidoras de AIDS foi anterior à TB em 115 (45,3%) casos. Desta forma, o diagnóstico da TB foi definidor de AIDS em 54,7% dos casos.

Naqueles pacientes com diagnóstico de AIDS prévio ao da TB, o intervalo mediano entre o diagnóstico das duas doenças foi 18 meses. Entre os 154 (60,6%) pacientes que realizaram contagem de linfócitos T CD4+, 76% apresentaram esta contagem inferior a 200 células por mm^3 . A mediana de linfócitos CD4+ foi 86 cells/ mm^3 (Tab. 7). A mediana de CD4+ foi 134, 96 e 81 cells/ mm^3 para os pacientes com apresentação pulmonar, extrapulmonar isoladamente e pulmonar associada a extra-pulmonar, respectivamente ($p=0,159$). Entre os casos de TB disseminada a mediana de CD4+ foi 58 cells/ mm^3 . As características referentes à infecção pelo HIV foram similares entre a totalidade dos casos e o grupo de pacientes com isolados submetidos ao IS6110-RFLP.

Tabela 6. Distribuição dos 254 pacientes com TB associada ao HIV segundo apresentação da TB e realização do IS6110-RFLP, 1996 a julho de 2001

Característica	Pacientes				Valor de <i>p</i>	Odds ratio (IC 95%)
	IS6110-RFLP		Total			
	N=109		N=254			
	N	%	N	%		
Forma da TB						
Pulmonar	33	30,3	84	33,1	0,758	---
Pulmonar + Extrapulmonar	57	52,3	122	48,0		
Extrapulmonar	19	17,4	48	18,9		
Localização extrapulmonar	76	69,7	170	66,9	0,601	1,14(0,68-1,9)
Miliar/disseminada	27	35,5	53	30,6	---	---
Ganglionar	22	28,9	45	26,5	---	---
Genitourinária	7	9,2	8	4,7	---	---
Pleural	6	7,9	27	15,9	---	---
Meníngea	4	5,3	13	7,6	---	---
Outras	10	13,0	24	14,1	---	---
Abdominal/TGI	2	2,6	9	5,3	---	---
Cutânea	2	2,6	4	2,3	---	---
Seios da face	3	3,9	3	1,8	---	---
Ocular	1	1,3	1	0,6	---	---
Pericárdio/peritônio	2	2,6	5	2,9	---	---
Osteoarticular/muscular	-	-	2	1,2	---	---
Doença cavitária (P e PEP)						
Presente	9	10,0	16	7,8	0,280	---
Ausente	74	82,2	161	78,1		
Ignorado	7	7,8	29	14,1		
BAAR + escarro (P e PEP)						
Negativa/ não realizada	57	69,7	128	62,1	0,948	0,95
Positiva	33	30,3	78	37,9		(0,55-1,64)

P=pulmonar; EP= extra-pulmonar

Tabela 7. Distribuição dos 254 pacientes com TB associada ao HIV segundo variáveis referentes à infecção pelo HIV e de acordo com a realização do IS6110-RFLP, de 1996 a julho de 2001

Característica	Pacientes				Valor de <i>p</i>	Odds ratio (IC 95%)
	IS6110-RFLP		Total			
	N=109		N=254			
Categoria de exposição	N	%	N	%		
Sangüínea	27	24,9	63	24,8	0,701	0,89 (0,54-1,45)
Drogadição IV	26	23,9	61	24,0		
Transfusional	1	0,9	2	0,8		
Sexual	55	50,5	191	75,2		
Hetero	39	35,8	76	29,9		
Homossexual	12	11,0	19	7,5		
Bissexual	4	3,7	12	4,7		
Vertical	4	3,7	13	5,1		
Sangüínea + sexual	17	15,6	33	13,0		
Ignorada	6	5,5	38	15,0		
Diagnóstico do HIV						
Prévio à TB	71	67,0	171	67,3	0,777	0,91 (0,55-1,50)
Concomitante	38	33,0	83	32,7		
Diagnóstico de AIDS						
Prévio à TB	49	45,0	115	45,3	0,953	0,99 (0,61-1,59)
Concomitante	60	55,0	139	54,7		
Intervalo AIDS/TB (meses)						
Mediana (percentil 25 e 75)	18,5 (9-37,5)		18 (9-28)			---
CD4+ (cells/mm³) #	0-50	26	34,2	49	31,8	---
	51-199	36	47,4	68	44,2	
	200-499	10	13,2	26	16,9	
	≥500	4	5,3	11	7,1	
	média (mediana)	148	(77,5)	162	(86)	0,632

Realizada em 76 e 154, respectivamente.

4.5. ATENDIMENTO NO HC-UNICAMP E INSTITUCIONALIZAÇÃO

A TB foi o motivo para o início do seguimento no HC-Unicamp em cerca de 40% dos pacientes. Entre os pacientes com seguimento prévio a mediana de acompanhamento foi 123 dias. Atendimento prévio no hospital-dia ocorreu em 15% dos casos, enquanto que internação prévia em 25,6% (Tab. 8). Retardo na instituição das precauções para transmissão por aerossóis esteve presente em 50% dos casos bacilíferos que foram internados no período do estudo.

Vinte e seis pacientes referiram institucionalização prévia, sendo casas de apoio para indivíduos infectados pelo HIV em dez casos. Os dados de institucionalização foram desconhecidos para 41,7% dos casos (Tab. 9).

Tabela 8. Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV, segundo o seguimento no HC-UNICAMP e realização do IS6110-RFLP, de 1996 a julho de 2001

Acompanhamento no HC-UNICAMP	Pacientes				Valor de <i>p</i>	<i>Odds ratio</i> (IC95%)
	IS6110-RFLP		Total			
	N=109		N=254			
	N	%	N	%		
Seguimento prévio	64	58,7	152	59,8	0,933	0,95 (0,54-1,55)
Mediana tempo seguimento	72		123			----
Visita prévia hospital-dia	17	15,6	38	15,0	0,996	1,05(0,54-2,04)
Internações prévias	28	25,7	65	25,6	0,911	1,01 (0,58-1,73)
Retardo nas precauções*	10	47,6	22	50	0,932	0,91 (0,28-2,91)

*Pacientes bacilíferos internados (n=21 e 44, respectivamente).

Tabela 9. Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo antecedentes de institucionalização e realização de IS6110-RFLP, de 1996 a julho de 2001

Característica	Pacientes				Valor de <i>p</i>
	IS6110-RFLP		Total		
	N=109		N=254		
	N	%	N	%	
Institucionalização prévia					
Sim	26	23,8	63	24,8	0,084
Não	49	44,9	85	33,5	
Ignorado	34	31,2	106	41,7	
Tipo de instituição					
Presídio	12	46,1	27	42,9	0,960
Casa de apoio HIV	13	50,0	30	47,6	
Outras	1	3,8	6	9,5	

4.6. COMPARAÇÃO POR PERÍODO DE DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE

A avaliação segundo o período de diagnóstico da TB é mostrada na Tab. 10. A distribuição dos pacientes quanto à idade foi diferente nos dois períodos com um maior número de indivíduos acima de 40 anos no primeiro período em relação ao segundo (28,7% x 17,6%). As características de apresentação da TB e da infecção pelo HIV mantiveram-se semelhantes nos dois períodos. Houve uma tendência de aumento dos casos bacilíferos no segundo período (32,9% x 40,9%; $p=0,313$).

Tabela 10. Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo as características epidemiológicas, clínicas e período, de 1996 a julho de 2001

Característica	Pacientes				Valor de p	Odds ratio (IC 95%)
	1996-1997		1998-2001			
	N=101		N=153			
	N	%	N	%		
Sexo masculino	75	74,3	107	69,9	0,544	0,81 (0,44-1,48)
Idade – mediana (mínimo-máximo) - anos		34 3-56		31 1-80	0,024	-----
Etnia -caucasóide	74	73,3	109	71,2	0,834	2,03 (0,60-2,03)
Envolvimento pulmonar	79	78,2	127	83,0	0,429	0,74 (0,37-1,46)
BAAR + no escarro*	26	32,9	52	40,9	0,313	0,71 (0,37-1,33)
Doença cavitária*	4	5,1	12	9,4	0,381	0,51 (0,13-1,80)
Doença disseminada	19	18,8	34	22,2	0,619	0,81 (0,41-1,59)
Tratamento prévio de TB	18	17,8	31	20,3	0,749	0,85 (0,43-1,70)
Uso de drogas ilícitas#	36	42,8	58	43,9	0,987	1,05 (0,58-1,90)
Intervalo médio (meses) entre o diagnóstico de AIDS e o de TB (mediana)		22,0 (16)		26,6 (19)	0,386	-----
Diagnóstico prévio HIV	75	74,3	96	62,7	0,075	1,71 (0,95-3,10)
Diagnóstico prévio de AIDS	51	50,5	64	41,8	0,219	1,42 (0,83-2,44)
CD4+ média (mediana) (cells/mm ³)**	123,6	(85)	180,9	(89)	0,462	----
Seguimento prévio no HC/Unicamp	62	61,3	80	52,3	0,193	1,45 (0,84-2,50)
Mediana tempo de seguimento no HC-Unicamp (dias)		436		706	0,161	----
Atendimento prévio no hospital-dia	18	17,8	20	13,1	0,390	1,44 (0,68-3,04)
Hospitalização prévia no HC-Unicamp	23	24,2	42	29,2	0,487	0,78 (0,41-1,47)
Óbito	35	34,6	39	25,5	0,306	1,36 (0,78-2,36)

*Somente casos pulmonares; # ignorado em 17 e 21; ** realizado em 51 e 103, respectivamente.

4.7. CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MOLECULAR

Foram identificados 420 isolados correspondentes aos 254 pacientes, com semelhança na distribuição dos espécimes clínicos submetidos ao IS6110 e o total. Houve predomínio de isolados de origem respiratória em ambos os grupos $p=0,951$ (OR=0,99; 0,64-1,54) (Tab. 11).

Tabela 11. Distribuição dos isolados de *M. tuberculosis* referentes aos pacientes com TB associada ao HIV de acordo com o espécime e realização do IS6110-RFLP, de janeiro de 1996 a julho de 2001

Espécime	Pacientes			
	IS6110-RFLP realizado		Total	
	N=112		N=420	
	N	%	N	%
Respiratório	60	53,6	226	53,8
Escarro	55	49,5	197	46,9
Secreção traqueal	1	0,9	10	2,4
BAL/lavado brônquico	4	3,7	16	3,8
Biópsia de pulmão	-	-	3	0,7
Outros	52	46,4	194	46,2
Secreção/tecido ganglionar	10	8,9	50	11,9
Sangue/ medula óssea	8	7,1	32	7,7
Líquor	8	7,1	24	5,7
Urina	7	6,2	20	4,8
Líquido pleural/pleura	3	2,7	22	5,2
Liq pericárdico/ascítico	-	-	6	1,4
Outras secreções	5	4,5	9	2,1
Lavado gástrico	3	2,7	9	2,1
Fígado/ baço	4	3,6	9/ 1	2,4
Fezes	-	-	3	0,7
Biópsia de pele	2	1,8	5	1,2
Tecido muscular / cerebral	1/1	1,8	3/1	1,0

Dos 254 pacientes selecionados, foi realizada a tipagem molecular através do IS6110-RFLP de 112 (44,1%) isolados correspondentes a 112 pacientes (Tab. 12). Entre os 112, foram excluídos dois (0,9%) casos devido a possibilidade de contaminação cruzada laboratorial e um (0,5%) caso devido a existência de apenas três cópias de IS6110 ao RFLP.

Tabela 12. Distribuição da ocorrência dos isolados de *M. tuberculosis* genotipados, segundo o mês e ano de isolamento

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	total
Janeiro	1	3	0	3	2	1	10
Fevereiro	0	0	2	3	1	3	9
Março	1	3	1	0	0	5	10
Abril	0	0	2	0	2	0	4
Maio	0	1	0	1	0	0	2
Junho	0	1	2	4	1	2	10
Julho	3	6	2	3	3	0	17
Agosto	2	2	5	1	1	-	11
Setembro	1	3	6	2	1	-	13
Outubro	2	4	0	2	3	-	11
Novembro	1	2	1	0	4	-	8
Dezembro	2	0	1	1	3	-	7
	13	25	22	20	21	11	112

Dentre os 109 pacientes avaliados foram identificados 87 perfis genotípicos diferentes de *M. tuberculosis* (Fig. 5). Trinta e cinco (32,1%) casos foram distribuídos em 13 agrupamentos genotípicos de 2 a 6 pacientes, de acordo com a identidade genotípica ao IS6110-RFLP (Fig. 6). Foram observados 74 perfis genotípicos únicos (não agrupamento genotípico). O número de cópias de IS6110 identificado por isolado variou de 5 a 21 (mediana=10). A distribuição temporal dos isolados pertencentes a agrupamentos genotípicos ao longo do período estudado é ilustrada na Fig. 7. Pacientes pertencentes ao agrupamento genotípico IV, maior do estudo, foram identificados durante todo o período.

4.8. INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DOS PACIENTES COM ISOLADOS EM AGRUPAMENTOS GENOTÍPICOS

Foi identificado possível vínculo epidemiológico em 11 (31,4%) dos 35 pacientes com isolados em agrupamentos genotípicos. Em cinco (13,5%) houve possibilidade de transmissão no hospital: atendimento no hospital-dia associado à procedência (2) e atendimento ambulatorial comum por longo período (3). Nos demais é possível que a transmissão tenha ocorrido na comunidade parentesco (4 em 2 agrupamentos genotípicos), procedência e uso de drogas (2). (Tab. 13).

Figura 5. Matriz de similaridade e perfis de IS6110 – RFLP de 109 cepas de *M. tuberculosis* isoladas de 109 pacientes com tuberculose associada ao HIV, atendidos no HC-Unicamp, de 1996 a julho de 2001

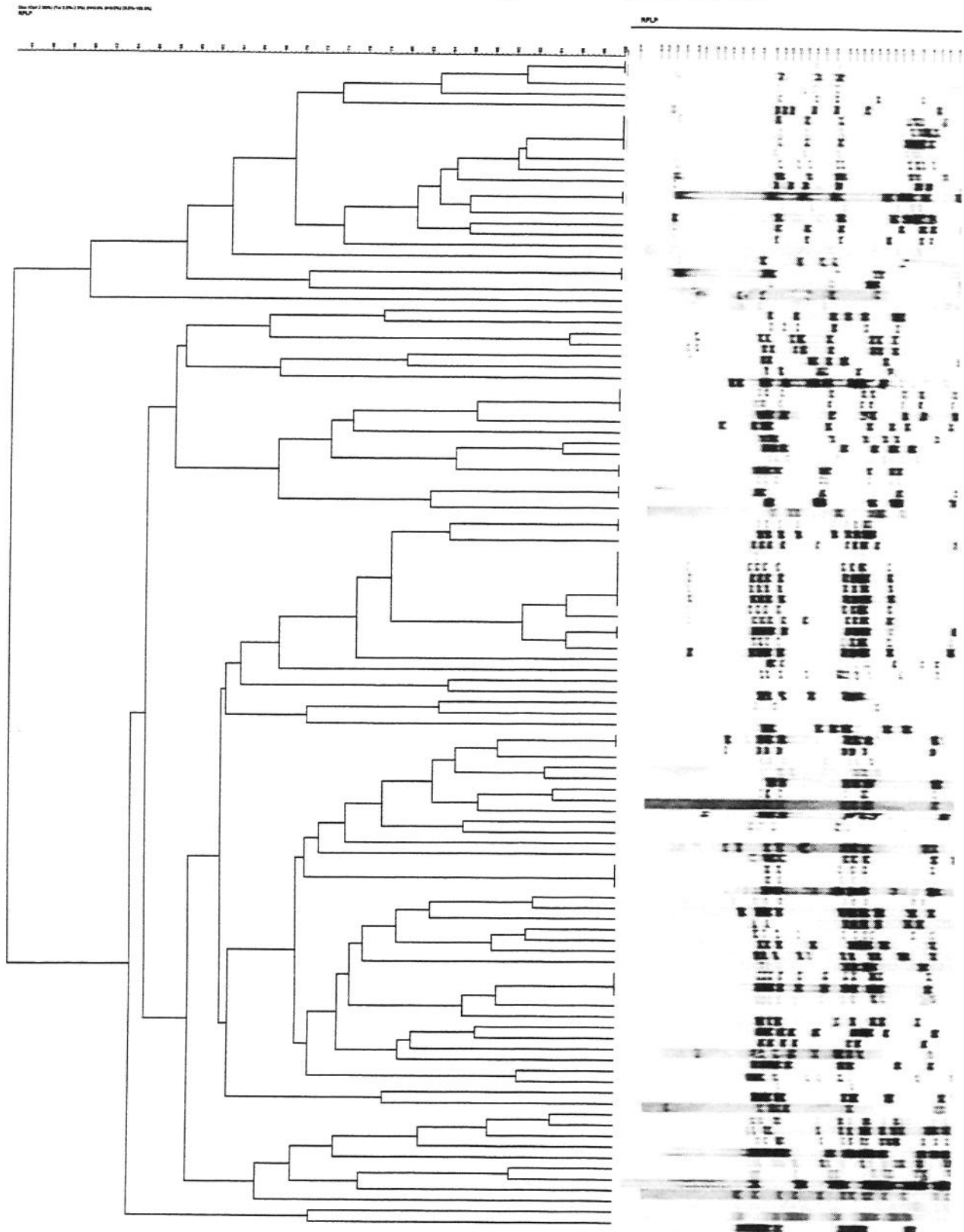


Figura 6. Matriz de similaridade e perfis de IS6110 – RFLP de cepas de *M. tuberculosis* isoladas de pacientes com tuberculose associada ao HIV pertencentes a um dos 13 agrupamentos genotípicos

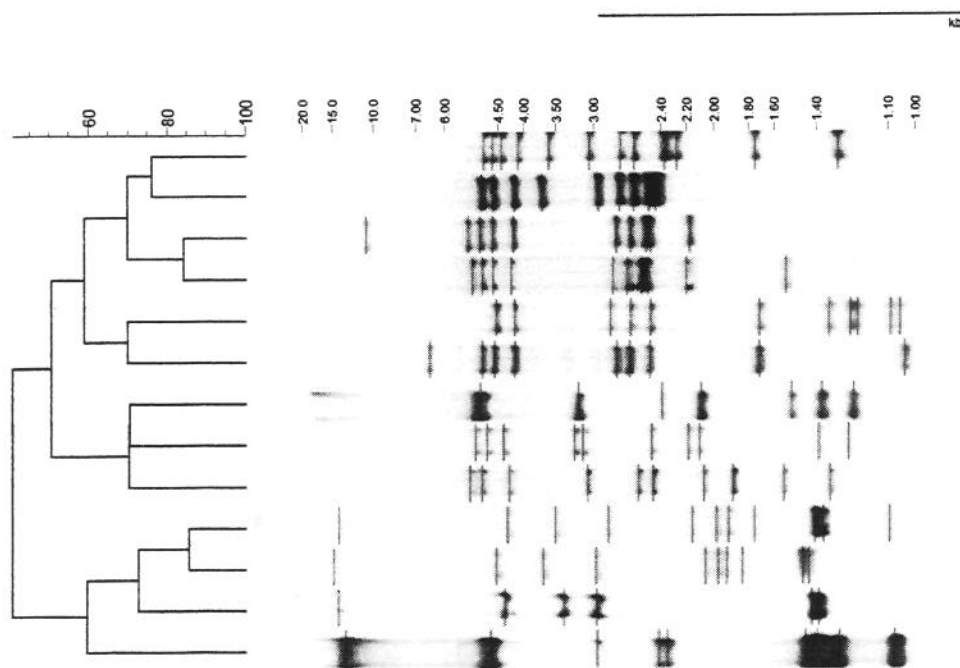


Figura 7. Distribuição temporal dos 35 isolados de *M. tuberculosis* pertencentes aos 13 agrupamentos genotípicos identificados.

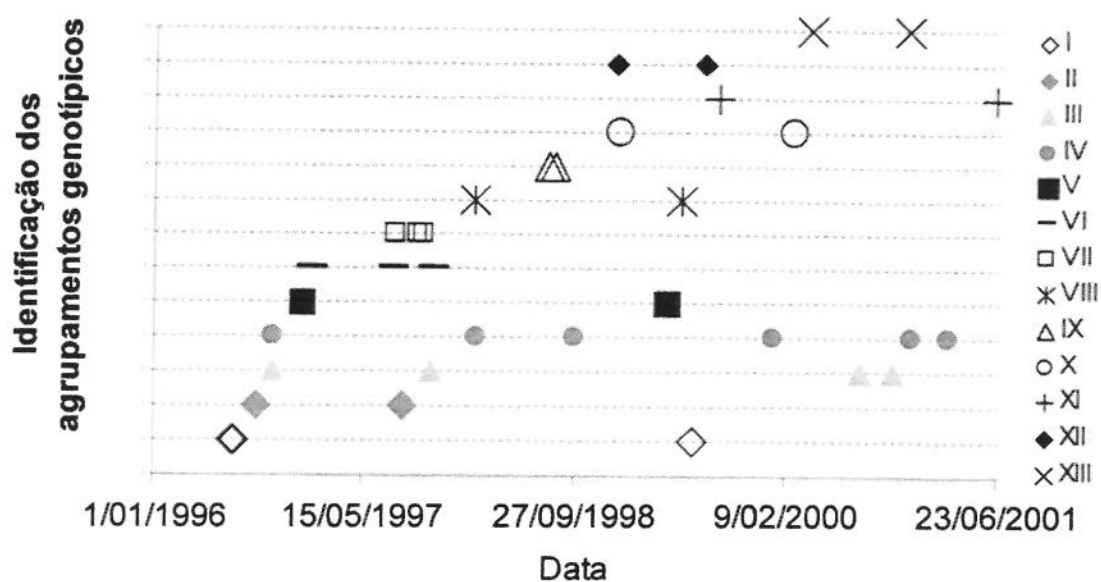


Tabela 13. Distribuição dos pacientes em agrupamentos genotípicos, segundo características epidemiológicas, apresentação da TB, antecedentes de institucionalização, atendimento no hospital-dia, internações prévias e vínculo epidemiológico

Data	Idade	Proce- dência	Forma	Doença cavitária	BAAR + escarro	Institucional - lização	Hospital -dia	Interna- ções prévias	Vínculo epidemiológico
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO I									
08/07/1996	46	CPS	EP	N	-	I	S	S	Não
12/07/1996	46	CPS	PEP	N	-	I	S	S	Estabelecido
05/07/1999	32	Vinhedo	P	N	-	N	N	N	-----
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO II									
04/09/1996	27	CPS	P	N	+	I	N	N	Não
20/08/1997	31	CPS	P	N	-	N	N	N	Estabelecido
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO III									
11/10/1996	34	VP	PEP	N	+	I	N	S	Não
23/10/1997	52	CPS	PEP	N	+++	S	N	N	estabelecido
04/08/2000	22	SN	PEP	N	-	N	N	N	-----
23/10/2000	2	CPS	P	N	-	N	N	S	-----
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO IV									
11/10/1996	48	MGuacu	PEP		+	I	N	S	Não
10/02/1998	54	CPS	PEP	N	-	N	N	N	Estabelecido
28/09/1998	35	CPS	PEP	N	-	N	N	N	-----
10/01/2000	6	VP	P	N	-	I	N	N	-----
04/12/2000	30	Sumaré	PEP	N	-	N	N	N	-----
01/03/2001	31	IND	EP	N	-	S	N	N	-----
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO V									
18/12/1996	29	CPS	PEP	N	-	N	N	N	Não
04/05/1999	43	Vinhedo	PEP	S	-	I	N	N	estabelecido

Continuação tabela 13

AGRUPAMENTO GENOTÍPICO VI									
13/01/1997	25	Jundiaí	PEP	I	-	I	S	N	Irmãos
23/07/1997	35	CPS	P	N	-	I	S	N	-----
29/10/1997	27	CPS	EP	N	-	N	N	N	Não estabelecido
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO VII									
30/07/1997	41	CPS	P	N	-	I	N	N	Ambulatório
29/09/1997	45	MG	P	N	-	I	S	S	MI longo período
30/09/1997	44	CPS	P	N	-	N	N	N	
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO VIII									
04/02/1998	31	CPS	PEP	N	-	N	N	N	Não
07/06/1999	58	CPS	PEP	N	-	I	N	N	estabelecido
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO IX									
28/07/1998	12	CPS	EP	N	-	N	S	S	Não
13/08/1998	43	CPS	P	N	-	N	N	N	estabelecido
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO X									
13/01/1999	43	Sumaré	P	N	-	S	N	S	Não
27/02/2000	39	HBA	PEP	N	-	N	N	N	estabelecido
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO XI									
04/09/1999	29	APR	PEP	N	-	I	N	S	Procedência e
21/06/2001	30	APR	P	Não	+	S	S	S	uso de drogas
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO XII									
02/01/1999	44	Sumaré	PEP	N	-	N	N	N	Mesmo período
29/07/1999	40	Sumaré	EP	N	-	I	N	S	hospital-dia e mesma cidade
AGRUPAMENTO GENOTÍPICO XIII									
05/04/2000	30	IND	PEP	N	+	S	S	N	Parentesco
26/11/2000	30	CPS	EP	N	-	I	S	N	-----

APR: Amparo; CPS: Campinas; HBA: Holambra; IND: Indaiatuba; MG: Minas Gerais; Mguaçu: Moji-Guaçu; SN: Serra Negra; VP: Várzea Paulista; P: pulmonar; EP: extrapulmonar; PEP: pulmonar + extrapulmonar; N: não; S: sim; I: ignorado.

4.9. TIPAGEM MOLECULAR DE ISOLADOS REFERENTES A EPISÓDIOS MÚLTIPLOS DE TB

Dos 23 episódios múltiplos de TB com cultura positiva identificados durante o período de estudo foram recuperados oito isolados de quatro pacientes. O intervalo médio entre um isolado e outro foi 9,5 meses (mediana=6), com mínimo de quatro meses e máximo de 22 meses (Tab.14).

Os perfis de IS6110-RFLP foram idênticos entre os isolados pertencentes a um mesmo paciente.

Tabela 14. Distribuição dos pacientes com episódios múltiplos de TB, cujos isolados foram submetidos ao IS6110-RFLP, segundo as datas do 1º e do 2º isolamento do *M. tuberculosis*

Paciente	1º espécime	Data do 1º isolamento	2º espécime	Data do 2º isolamento	Participação agrupamento genotípico
1	Fígado	16/01/1997	Gânglio	10/07/1997	Não
2	Urina	21/03/1997	Urina	29/01/1999	Não
3	Escarro	05/04/2000	Sangue	09/10/2000	Sim
4	Gânglio	04/08/2000	Gânglio	22/12/2000	Sim

4.10. FATORES DE RISCO PARA AGRUPAMENTO GENOTÍPICO

As características demográficas foram semelhantes entre os pacientes pertencentes a agrupamentos genotípicos e não pertencentes a agrupamentos genotípicos. É necessário destacar que das quatro crianças incluídas, três pertenciam a algum dos agrupamentos genotípicos identificados (Tab. 15).

Tabela 15. Distribuição dos 109 pacientes com TB associada ao HIV segundo as características demográficas e a participação em agrupamento genotípico, de 1996 a julho de 2001

	Agrupamento genotípico N=35		Não-agrupamento genotípico N=74		Valor de <i>p</i>	<i>Odds ratio</i> (IC 95%)
	N	%	N	%		
Gênero						
Masculino	24	68,6	57	77,0	0,479	1,54 (0,57-4,16)
Feminino	11	31,4	17	23,0		
Idade Mediana	34		33		0,388	---
Percentil 25 e 75	29-44		28-40			
Etnia						
Caucasóide	27	77,1	53	71,6	0,706	1,34 (0,48-3,80)
Negróide/ asiático	10	22,9	21	28,4		
Procedência						
Campinas	17	48,6	38	51,3	0,947	0,89 (0,37-2,16)
Outras cidades	18	51,4	36	48,6		

Houve um predomínio de formas pulmonares associadas a extrapulmonares entre os pacientes avaliados, sem diferenciação entre agrupamento e não-agrupamento genotípico. Não houve diferença entre os grupos no que diz respeito à classificação da TB, pesquisa de BAAR no escarro e presença de cavidade na radiografia de tórax (Tab. 16).

Tabela 16. Distribuição dos 109 pacientes com TB associada ao HIV, segundo a apresentação da TB e a participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001

	Agrupamento		Não-agrupamento		Valor de <i>p</i>	<i>Odds ratio</i> (IC 95%)
	genotípico		genotípico			
	N	%	N	%		
Forma						
Pulmonar/pulmonar + extrapulmonar	29	82,9	61	82,4	0,829	1,03 (0,32-3,41)
Extrapulmonar	6	17,1	13	17,6		
Classificação da TB						
1º tratamento	30	85,7	65	87,8	0,765	1,20 (0,32-4,40)
Recidiva	5	14,3	9	12,2		
BAAR + no escarro						
Presente	6	17,1	27	36,5	0,067	0,36 (0,12-1,07)
Ausente	29	82,9	47	63,5		
Cavidade Rx tórax						
Presente	1	2,9	8	10,8	0,267	0,24 (0,01-2,06)
Ausente	34	97,1	66	89,2		

As variáveis 'categoria de exposição', 'apresentação prévia de doença definidora de AIDS' e 'contagem de linfócitos CD4+' não foram relacionadas à ocorrência de agrupamento genotípico. Drogadição foi menos freqüente entre os pacientes em agrupamento genotípico (25,7%) em relação àqueles não pertencentes a agrupamento genotípico (45,9%) ($p=0,070$) (Tab. 17).

Tabela 17. Distribuição dos pacientes com TB associada ao HIV segundo a apresentação da infecção pelo HIV e a participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001

	Agrupamento genotípico		Não- agrupamento genotípico		Valor de <i>p</i>	<i>Odds ratio</i> (IC 95%)
	N	%	N	%		
Drogadição						
Presente	9	25,7	34	45,9	0,070	0,41 (0,15-1,07)
Ausente	26	74,3	40	54,1		
Doença definidora de AIDS						
Prévia	19	54,3	30	40,5	0,254	1,74 (0,71-4,28)
Concomitante	16	45,7	44	59,5		
Mediana (meses)	18		24		0,240	----
Percentil 25 e 75	7 – 39		12 – 36			
CD4+ (cel/mm³)*						
Mediana	57		81		0,659	
Percentil 25 e 75	31-263		36,5-169,5			----

*n=24 e 52.

Seguimento prévio no HC-Unicamp foi relacionado a agrupamento genotípico (74,3% x 51,3%) ($p=0,039$), entretanto internações prévias ou seguimento no hospital-dia não foram associados a agrupamento genotípico (Tabela 18). A letalidade entre os pacientes agrupados e não agrupados genotipicamente foi semelhante 34,3% e 27,0%, respectivamente ($p=0,581$).

Tabela 18. Distribuição dos 109 pacientes com tuberculose associada ao HIV, de acordo com o acompanhamento no HC-Unicamp, institucionalização e participação em agrupamento genotípico

	Agrupamento		Não-agrupamento		Valor	Odds ratio
	genotípico		genotípico			
	N	%	N	%	de p	(IC 95%)
Início do seguimento no						
HC/UNICAMP						
Prévio à TB	26	74,3	38	51,3	0,039	2,74 (1,05 –
Concomitante	9	25,7	36	48,7		7,31)
Mediana de seguimento	287		35,5		0,085	-----
HC-Unicamp (dias)						
Hospital-dia (prévio)						
Sim	7	20,0	10	13,5	0,556	1,60 (0,48-5,24)
Não	28	80,0	64	86,5		
Internações prévias						
Sim	11	31,4	17	23,0	0,479	1,54 (0,57-4,16)
Não	24	68,6	57	77		
Institucionalização						
prévia#						
Sim	4	11,4	22	29,7	0,182	0,38 (0,09-1,44)
Não	31	88,6	52	70,3		----

#Dados ignorados em 15 dos pacientes agrupados e em 19 dos pacientes não-agrupados genotipicamente.

A avaliação dos fatores de risco relacionados à apresentação da TB e à infecção pelo HIV entre os pacientes com TB bacilífera é mostrada na Tab. 19. O diagnóstico de AIDS previamente à TB foi mais freqüente entre os pacientes bacilíferos em agrupamentos genotípicos (83,3%) que nos não pertencentes a agrupamentos genotípicos 22,2% (p=0,009).

Tabela 19. Distribuição dos 33 pacientes com TB bacilífera associada ao HIV segundo a apresentação da TB, apresentação da infecção pelo HIV e participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001

	Agrupamento genotípico		Não-agrupamento genotípico			
	N	%	N	%	Valor de p	Odds ratio (IC 95%)
Forma						
Pulmonar	2	33,3	10	37,0	1,000	0,85(0,09-7,27)
PEP	4	66,7	17	63,0		
Classificação da TB						
1º tratamento	4	66,7	26	96,3	0,078	0,08(0,00-1,52)
Recidiva	2	33,3	1	3,7		
Cavidade Rx tórax						
Presente	0	----	5	18,5	0,556	----
Ausente	6	100	22	81,5		
Drogadição						
Presente	4	66,7	12	44,4	0,374	
Ausente	2	33,3	15	55,6		
Diagnóstico de AIDS						
Prévio	5	83,3	6	22,2	0,009	17,5(1,39-494)
Concomitante	1	16,7	21	77,8		
Mediana (meses)		13		18	0,268	----
Mediana CD4+ (cel/mm ³)#		63		90	0,291	----

não realizado em 3 e 18 casos respectivamente.

Os dados relativos ao atendimento no HC-Unicamp e referentes à institucionalização entre os pacientes bacilíferos são mostrados na Tab. 20. Não houve diferença entre os pacientes agrupados e não-agrupados genotipicamente quanto ao atendimento no hospital-dia, internações prévias e antecedentes de institucionalização.

Tabela 20. Distribuição dos 33 pacientes bacilíferos com tuberculose associada ao HIV de acordo com os dados de atendimento no HC-Unicamp, institucionalização prévia e participação em agrupamento genotípico, 1996 a julho de 2001

	Agrupamento genotípico		Não agrupamento genotípico		Valor de <i>p</i>	<i>Odds ratio</i> (IC 95%)
	N	%	N	%		
Hospital-dia (prévio)						
Sim	1	16,7	0	----	0,182	----
Não	5	93,3	27	100		
Internações prévias						
Sim	3	50,0	4	14,8	0,093	5,75(0,60-62,57)
Não	3	50,0	23	85,2		
Institucionalização prévia						
Sim	3	50,0	10	37,1	0,220	----
Não	0	----	12	44,4		
Ignorado	3	50,0	5	18,5		

DISCUSSÃO

5.1. DISTRIBUIÇÃO GERAL DOS CASOS

Um número expressivo de casos de TB associados ao HIV (35% do total) foi notificado ao Núcleo de Vigilância do HC-Unicamp, no período de estudo (Tab. 4). Esse coeficiente é semelhante ao de outros estudos realizados em hospitais de referência brasileiros, nos quais é relatada uma frequência de 15 a 50% (KRITSKI, LAPA e SILVA, CONDE, 1998; MACHADO *et al.*, 1998) de indivíduos infectados pelo HIV entre os pacientes com TB. Esta frequência contrasta com aquela observada entre pacientes com TB atendidos em unidades básicas de saúde (5 a 10%).

As características dos casos de TB atendidos em hospitais têm sido influenciadas de forma significativa pelos avanços no cuidado dos pacientes infectados pelo HIV. As medidas de controle relacionadas ao HIV apresentam um impacto direto no controle da TB no ambiente hospitalar. O uso da HAART, amplamente disponível no Brasil pode estar relacionado a uma tendência de redução da TB observada entre pacientes infectados pelo HIV (JONES *et al.*, 2000; SANTORO-LOPES *et al.*, 2002; GUIMARÃES, 2000). Neste estudo esta tendência de redução foi observada a partir de 1998 (Fig. 4).

No presente estudo, o diagnóstico de TB foi confirmado através de bacterioscopia, cultura ou histopatológico em 70,6% (Fig. 5). Em 277 (56,5%) casos o diagnóstico foi realizado pela cultura positiva para o complexo *M. tuberculosis*. O tratamento empírico da TB no âmbito da coinfeção tem sido referido como frequente em função das manifestações atípicas, elevada frequência de formas extrapulmonares e gravidade dos casos. Na série avaliada houve uma melhora do critério diagnóstico ao longo do período estudado, provavelmente associada à introdução de métodos de detecção e identificação automatizados para o isolamento de micobactérias na rotina de investigação dos casos.

Dentre os pacientes com cultura positiva, incluídos no estudo, as características demográficas como razão entre sexo masculino e feminino, mediana de idade e etnia refletiram o comportamento da epidemia de AIDS no país. A procedência dos pacientes representou a área de cobertura do HC-Unicamp, sendo 88,9% dos indivíduos oriundos da região da DIRXII (Tab. 5) (Anexo 5).

5.2. APRESENTAÇÃO DA TB NO ÂMBITO DA COINFECÇÃO PELO HIV

Entre os 254 pacientes incluídos, a TB foi a doença definidora de AIDS em 54,7% dos casos avaliados; esta frequência tem sido referida por outros autores e tem sido relacionada à maior patogenicidade do *M. tuberculosis* quando comparado a outros agentes causadores de infecções entre os indivíduos infectados pelo HIV (JONES *et al.*, 1993). Os dados nacionais acerca da AIDS fazem referência à TB em 25,5 % dos casos no momento da notificação, sendo a segunda doença definidora de AIDS, mais frequente, precedida apenas por monilíase (GUIMARÃES, 2000). TB como doença definidora de AIDS manteve-se na mesma proporção se comparados os dois períodos de estudo, ao contrário do referido por GIRARDI *et al.*, (2000) que observaram uma maior frequência de TB pulmonar como doença definidora de AIDS nos anos pós-HAART (78% x 58%; $p<0,05$).

O acometimento pulmonar esteve presente em 80,8% dos pacientes avaliados. Apesar desta elevada frequência, a pesquisa de BAAR foi positiva em apenas 37,9% dos casos pulmonares. Doença cavitária ocorreu em uma baixa frequência (7,8%), como já descrito por outros autores. (PITCHENIK & RUBINSON, 1985; JONES *et al.*, 1997; PERLMAN *et al.*, 1997; FRIEDMAN & SELWYN, 2000). No presente estudo os indivíduos envolvidos apresentaram uma mediana de CD4+ baixa, justificativa para apresentações radiológicas diferentes do padrão clássico, elevada frequência de baciloscopia negativa e ocorrência frequente de TB disseminada (30,6%).

A apresentação polimorfa da TB no âmbito da coinfeção tem sido destacada e associada aos níveis de CD4+ (JONES *et al.*, 1993). Assim, a doença pode ocorrer em qualquer estágio da imunossupressão, com um amplo espectro de apresentação desde doença cavitária naqueles com CD4 mais elevado até doença disseminada com micobacteremia em grupos de pacientes com imunossupressão avançada. (LEE *et al.*, 2000). Neste estudo, os pacientes com doença disseminada apresentaram média de CD4+ significativamente inferior àqueles com manifestação exclusivamente pulmonar, 84 e 242 cells/mm³, respectivamente ($p=0,002$).

A linfadenite foi comum na série avaliada (26,5%) semelhante ao encontrado em outros estudos, nos quais a frequência deste acometimento variou de 22 a 31%. (CHAISSON *et al.*, 1987; MODILEVSKY, SATTler, BARNES, 1989). TB intra-abdominal foi observada em 5,3% dos casos avaliados. Esta forma tem sido caracterizada em indivíduos infectados pelo HIV por lesões viscerais e linfadenopatia intra-abdominal com necrose, em contraste ao envolvimento peritoneal mais comum nos indivíduos não-infectados pelo HIV (FEE *et al.*, 1995).

Apresentações não usuais foram observadas tais como sinusite, endoftalmite e piomiosite por *M. tuberculosis*. Estas formas reforçam a necessidade de envio de quaisquer espécimes clínicos para realização de cultura de micobactéria na investigação de pacientes infectados pelo HIV.

As formas de apresentação da TB não diferiram quando comparado o primeiro ao segundo período de estudo (Tab. 10). Os padrões de apresentação são compatíveis com os relatos da era pré-HAART. Após a introdução da HAART, entretanto, tem-se observado uma mudança nas formas de apresentação da TB com tendência a um espectro clínico mais próximo daquele apresentado pela população geral. (GIRARDI *et al.*, 2000). É provável que a avaliação detalhada dos esquemas terapêuticos utilizados poderia ter evidenciado esta questão. Estudos desenhados com este objetivo são necessários para avaliar o impacto da HAART nas formas de apresentação da TB em países com intermediária e elevada prevalência da doença, como o Brasil.

5.3. ATENDIMENTO NO HC-UNICAMP E INSTITUCIONALIZAÇÃO

Cerca de 60% dos pacientes incluídos já faziam seguimento prévio no HC-Unicamp; entretanto, apenas 25,6% e 15% dos pacientes haviam sido internados ou atendidos no hospital-dia previamente ao diagnóstico de TB, respectivamente.

A hospitalização no momento do diagnóstico da TB foi associada ao retardo na instituição das precauções por aerossóis em 50% dos casos bacilíferos desta série. RESENDE, SINKOC, PAPAORDANOU (2000) demonstraram, na mesma instituição, evidência de retardo na instituição das precauções para indivíduos infectados pelo HIV, assim como associação entre atraso na instituição das precauções e a ausência de suspeita de TB na admissão e carga bacilar no escarro.

Estudo norte-americano (GRANT, 1998) observou atraso de isolamento em 20,6% dos casos de TB com cultura positiva, hospitalizados. GREENAWAY *et al.*, (2002) associaram o retardo no diagnóstico de TB à apresentações atípicas e à taxas baixa ou intermediária de admissão hospitalar de pacientes com TB. Os atrasos na instituição das precauções são relatados como fatores de risco para surtos intra-hospitalares, pois propiciam a disseminação da doença (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1994).

Os dados de institucionalização não foram conhecidos para 41,7% dos casos. Institucionalização prévia foi referida por 24,8% dos pacientes. É possível que um maior número de pacientes tivesse apresentado institucionalização prévia, entretanto esta informação não pode ser obtida devido ao desenho retrospectivo do estudo.

5.4. TIPAGEM MOLECULAR PELO IS6110-RFLP

O grupo de pacientes cujos isolados foram tipados foi representativo da totalidade de pacientes com cultura positiva no que se refere às características demográficas, epidemiológicas e clínicas (Tab. 5, 6, 7, 8 e 9).

Dos isolados submetidos ao IS6110-RFLP, 53,5% eram de origem respiratória. Uma vez que a distribuição foi uniforme durante o período de estudo, e o estudo compreendeu 67 meses, é possível um adequado delineamento dos perfis de transmissibilidade do *M. tuberculosis* nesta população (Tab. 11). Estudos em curtos períodos de tempo são menos fidedignos do perfil de transmissibilidade da doença uma vez que isolados relacionados podem não ser incluídos no período de estudo (VYNNYCKY *et al.*, 2001).

O número de cópias da IS6110 superior a cinco em 99,1% dos isolados tipados (mediana=10) referenda a utilização do método na população estudada, uma vez que para isolados com um número inferior a cinco existe a necessidade de um método de tipagem adicional para garantir o poder discriminatório. Este resultado confirma o perfil de múltiplas cópias de IS6110 já evidenciado em outros estudos brasileiros (IVENS-DE-ARAÚJO *et al.*, 1998, FERRAZOLI *et al.*, 2000; FANDINHO *et al.*, 2000). Ao contrário dos isolados da América e Europa, em alguns países da Ásia (Malásia, Vietnã e Índia) o perfil das cepas apresentou baixo polimorfismo ao IS6110-RFLP, não sendo portanto o método apropriado com bom poder discriminatório para a diferenciação de cepas oriundas daqueles locais (FOMUKONG *et al.*, 1994; YUEN *et al.*, 1993; DAS *et al.*, 1995).

Houve uma similaridade entre os perfis genotípicos deste estudo e os descritos por FERRAZOLI *et al.*, 2000 na cidade de São Paulo. O agrupamento em um pequeno número de famílias tem sido descrito por outros autores que sugerem a possibilidade de pressão seletiva da vacinação com BCG, que poderia selecionar determinados perfis genotípicos, bem como a interferência do fluxo migratório (HERMANS *et al.*, 1995).

5.5. TRANSMISSÃO RECENTE DO *M. TUBERCULOSIS*

A análise do IS6110-RFLP de um número substancial de isolados identificou 32,1% dos casos em um dos 13 agrupamentos genotípicos. É consenso na literatura de que a ocorrência de isolados idênticos seja indicativo de transmissão recente. Esta inferência tem sido respaldada por diversos estudos epidemiológicos que evidenciam a similaridade genotípica entre isolados relacionados (VAN SOOLINGEN & HERMANS, 1995).

Desta forma, os estudos de transmissão da TB, instrumentalizado pelas técnicas moleculares têm se baseado em diferentes modelos: populacionais, estudo de surtos, hospitalares e em outras instituições fechadas (presídios, abrigos).

Estudos com base populacional têm demonstrado que a transmissão recente do *M. tuberculosis* em países desenvolvidos pode variar de 24,0% na Suíça (SUDRÉ *et al.*, 1999) a 46,0% na Holanda.(VAN SOOLINGEN *et al.*, 1999). Outros estudos em centros urbanos encontraram taxas ao redor de 40% entre os casos novos de TB: Nova York (37,5%) (ALLAND *et al.*, 1994), São Francisco (40%) (SMALL *et al.*, 1994). Nos países em desenvolvimento, tem sido observada frequência de isolados em agrupamentos genotípicos entre 30 e 50%: em Botswana 42% (LOCKMAN *et al.*, 2001), 50% em Zâmbia (GODFREY-FAUSSETT *et al.*, 2000), 36% na Etiópia e 58,4% na Tunísia (HERMANS *et al.*,1995).

Estudos com base hospitalar como os de TUDÓ *et al.*, 2001 (Espanha), FRENCH *et al.*, 1998 (EUA), encontraram 24,5% e 54%, respectivamente, de isolados em agrupamentos genotípicos entre indivíduos atendidos em hospitais. SEPKOWITZ *et al.*(1995) em avaliação multicêntrica em hospitais de Nova York, encontraram 43% de 201 isolados em agrupamentos genotípicos. Em outro estudo realizado na mesma cidade, MAGNANI *et al.*, (2001) observaram que 54% de 180 casos pertenciam a agrupamentos genotípicos. Estes estudos incluíram populações infectadas e não-infectadas pelo HIV.

No Brasil, estudos com base-populacional são escassos. Entretanto, estudos realizados em unidades de referência para AIDS e TB em áreas metropolitanas mostraram que 38% dos pacientes com TB associada ao HIV atendidos em centro de referência ambulatorial em São Paulo (FERRAZOLI *et al.*, 2000), e 19% de pacientes internados em dois hospitais da cidade do Rio de Janeiro (FANDINHO *et al.*, 2000) puderam ser alocados em agrupamentos genotípicos, o que sugere transmissão recente nestes casos. SUFFYS *et al.*, 2000, em estudo comparativo, identificaram 37% e 22% de isolados pertencentes a agrupamentos genotípicos entre 79 casos oriundos do Rio Grande do Sul e 115 do Rio de Janeiro, respectivamente. As diferenças encontradas foram relacionadas ao maior número de imigrantes de outras regiões do país para o Rio de Janeiro, o que poderia contribuir com a maior variabilidade. Além desta hipótese para explicar a menor ocorrência de agrupamentos genotípicos, as características amostrais foram diferentes com uma menor proporção de isolados por número de habitantes do Rio de Janeiro em relação ao Rio Grande do Sul.

Em outras instituições fechadas que congregam indivíduos infectados pelo HIV, como presídios e casas de apoio, altas taxas de infecção recente têm sido relatadas (DALEY *et al.*, 1992; MARCH *et al.*, 2000). No Brasil, estudo de infecção recente entre presidiárias baseado em triagem tuberculínica encontrou 29% de viragem tuberculínica e adoecimento em 9,9 por 100 pessoas por ano (FERREIRA *et al.*, 1996). MOREIRA-DE-OLIVEIRA, OLIVEIRA & SILVEIRA, 1999, identificaram numa amostra de 52 isolados de *M. tuberculosis*, de 41 internos do sistema penitenciário de Campinas, 53,8% de isolados agrupados genotipicamente.

A frequência de agrupamentos genotípicos sofre interferência de diversos fatores, e a comparação de dados obtidos em diferentes locais deve considerar as características do grupo, da instituição, da cidade e do período avaliado. Desta forma, podem interferir nos resultados obtidos: o tamanho da população avaliada, as características específicas da população avaliada (ausência de moradia fixa, o uso de drogas ilícitas) e a efetividade do programa de controle da TB naquela determinada área avaliada.

A frequência de agrupamentos genotípicos observada neste estudo reforça a possibilidade de que a transmissão recente do *M. tuberculosis* contribua com um número maior do que o anteriormente estimado para casos novos de TB entre indivíduos co-infectados pelo HIV, mesmo em países com alta prevalência de TB, como já sugerido por GILKS *et al.*, (1997).

Neste estudo, a análise molecular demonstrou que determinados clones do *M. tuberculosis* isolados de pacientes infectados pelo HIV, como o do agrupamento IV persistiram por até cinco anos na comunidade. Este achado ressalta a importância dos indivíduos infectados pelo HIV como reservatórios com um grande potencial de adoecimento pelo *M. tuberculosis*.

5.6. FATORES DE RISCO PARA AGRUPAMENTO GENOTÍPICO

Diversos fatores de risco associados a ocorrência de agrupamento genotípico têm sido descritos na literatura. A infecção pelo HIV, assim como o estágio da imunossupressão, têm sido apontados como fatores de risco para agrupamento genotípico (SMALL *et al.*, 1994, TABET *et al.*, 1994; SHAFER *et al.*, 1995a; FERRAZOLI *et al.*, 2000). Entretanto no presente estudo, a população infectada não foi comparada a indivíduos não infectados. Em contrapartida, resultados discordantes que não associam a infecção pelo HIV à ocorrência de agrupamento genotípico têm sido relatado. (FRENCH *et al.*, 1998, LOCKMAN *et al.*, 2001). SMALL *et al.*, 1994 sugeriram que cepas de pacientes com AIDS poderiam apresentar características peculiares de transmissibilidade, mas YANG *et al.*, 1995 não evidenciaram tal comportamento em estudo realizado na Tanzânia.

Não houve associação da idade e a participação em agrupamentos genotípicos, ainda que entre as quatro crianças em que foi realizada a tipagem molecular, três pertenciam a agrupamentos genotípicos. É provável que a ausência de associação estatisticamente significativa decorra do pequeno número de isolados tipados em crianças, bem como pela homogeneidade de faixa etária entre os pacientes incluídos, 72 % entre 20 e 40 anos. A faixa etária foi encontrada como fator de risco para transmissão recente nos estudos de DIAZ *et al.*, 2001; MC CONKEY *et al.*, 2002, dentre outros.

Não houve relação entre a forma de apresentação da TB e a ocorrência de agrupamento genotípico. TUDÓ *et al.*, (2001) relacionaram a presença de cavidade à participação em agrupamento genotípico. No presente estudo, o pequeno número de pacientes incluídos com doença cavitária pode ter interferido neste resultado. No estudo de LOCKMAN *et al.*, 2001, os pacientes foram classificados do ponto de vista clínico como TB primária ou de reativação, sendo a classificação comparada ao perfil de RFLP. Não houve relação entre a classificação clínica e a molecular, demonstrando uma superposição das manifestações entre os indivíduos coinfectados.

Em contraposição aos achados de BARNES *et al.*, 1997 e de MC CONKEY *et al.*, 2002, o uso de drogas ilícitas não foi associado a agrupamento genotípico na amostra analisada. Alguns autores sugerem que, além dos fatores demográficos e epidemiológicos relacionados à drogadição, o uso de drogas pode acarretar uma pressão seletiva para a emergência de bacilos resistentes a intermediários nitrogenados reativos, o que pode conferir vantagens biológicas ao bacilo, conferindo maior patogenicidade e maior probabilidade de disseminação e participação em agrupamentos genotípicos (FRIEDMAN *et al.*, 1997).

O seguimento prévio no HC-Unicamp foi associado a agrupamento genotípico. Este achado é um indicador da maior probabilidade de exposição a TB no ambiente hospitalar. Embora não tenha sido demonstrado no estudo, é possível que o maior seguimento no HC-Unicamp implique também em maior exposição em outros locais que congregam indivíduos infectados pelo HIV. Não houve associação entre seguimento no hospital-dia e internações prévias e agrupamento genotípico.

Entre os pacientes bacilíferos foi observada associação entre o intervalo do diagnóstico de AIDS e o diagnóstico de TB e a ocorrência de agrupamento genotípico. É possível que os indivíduos com maior tempo de AIDS apresentaram maior probabilidade de exposição assim como maior vulnerabilidade para o desenvolvimento da TB em função de imunossupressão mais acentuada. Apesar da plausibilidade desta hipótese, não houve associação entre agrupamento genotípico e os níveis de CD4+ apresentados no momento do desenvolvimento da TB entre os pacientes bacilíferos.

Institucionalização em presídios, casas-moradias, albergues, ausência de moradia fixa, referidos em outros estudos (LOCKMAN *et al.*, 2001; TUDÓ *et al.*, 2001, MC CONKEY *et al.*, 2002; LEMAITRE *et al.*, 1998), não foram observados no presente estudo. É possível que tal resultado tenha sido associado ao desconhecimento desta informação em 31,2 % dos casos em que o IS6110-RFLP foi realizado.

Resistência às drogas antimicobacterianas não foi sistematicamente avaliada no estudo. Esta variável tem sido relacionada à transmissão recente sobretudo em situações epidêmicas em instituições fechadas (Tab. 21).

5.7. INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E ANÁLISE MOLECULAR

Foi estabelecido vínculo epidemiológico em apenas 31,4% dos pacientes com isolados agrupados genotipicamente. Têm-se demonstrado que somente uma parte das principais cadeias de transmissão são descobertas pelas práticas de investigação de contato, até mesmo em locais com infra-estrutura adequada para o controle da TB. As taxas de estabelecimento de vínculos variam de 5% a 46% (SMALL *et al.*, 1994, ALLAND *et al.*, 1994; HERMANS *et al.*, 1995). Em estudo com base hospitalar, FRENCH *et al.*, 1998 identificaram vínculo epidemiológico em apenas 32% de 79 pacientes em agrupamentos genotípicos. Em estudos com base populacional os achados foram 24% em Baltimore, 5,2% em Los Angeles, 10% em São Francisco e 46% em St. Louis (MC CONKEY *et al.*, 2002).

Este resultado ressalta a importância dos métodos moleculares na detecção de vínculos não identificados pela epidemiologia clássica. MC CONKEY *et al.* (2002) sugerem que se um caso de TB pertence a um determinado agrupamento genotípico, então a investigação de contato deveria ser ampliada, mais extensa e mais detalhada. Entretanto, em função do elevado custo da tipagem molecular em larga escala, os autores propõem um algoritmo que deveria ser adequado às situações e fatores de risco locais. Assim, a determinação de fatores de risco, através da realização de tipagem molecular, em uma determinada população, poderia oferecer subsídios para um modelo de investigação de contato, que pudesse ser aplicado àquela comunidade.

5.8. EPISÓDIOS MÚLTIPLOS DE TB

Apesar de terem sido identificados 23 episódios múltiplos de TB entre os pacientes com cultura positiva, foi possível recuperar apenas oito isolados referentes a quatro pacientes. Neste grupo foram observados perfis idênticos através do IS6110-RFLP.

Os resultados encontrados, entre os episódios múltiplos avaliados, sugerem recaída ou reativação; não foram observados padrões diferentes que sugerissem reinfecção, como descrito por outros autores (NARDELL *et al.*, 1986; SHAFER *et al.*, 1995b; VAN RIE *et al.*, 1999).

LOURENÇO *et al.*, 2000 identificaram cepas com perfis diferentes em três pacientes em uma série de 20 casos, sugerindo provável reinfecção exógena não associada a surto. HORN *et al.* (1994), descreveram três casos de reinfecção intra-hospitalar com cepas

resistentes à rifampicina, isoniazida, estreptomicina e etambutol em pacientes infectados pelo HIV.

5.9. TRANSMISSÃO DA TB NO AMBIENTE HOSPITALAR

Em cinco (4,6%) casos pertencentes a dois agrupamentos genotípicos, houve possibilidade de transmissão hospitalar. Em um agrupamento genotípico houve exposição por um longo período no ambulatório de Infectologia e em outro agrupamento genotípico houve possibilidade de transmissão no hospital-dia.

A realização de IS6110-RFLP tem sido sugerida como instrumento de monitorização sistemática da transmissão da TB em hospitais fora de situações epidêmicas. Os resultados obtidos neste estudo, assim como os de FRENCH *et al.* (1998) não respaldam a realização de rotina de genotipagem do *M. tuberculosis* na determinação da eficácia das medidas de controle da TB adotadas em uma determinada instituição, exceto para a resposta de questões objetivas na dinâmica de transmissão ou em suspeitas de surtos ou pseudosurtos.

Diferentes estudos descreveram a ocorrência de surtos em unidades de internação, ambulatoriais, instituições correcionais e residenciais (Tab. 21). Os surtos descritos são multifatoriais e associam susceptibilidade individual dos pacientes expostos (infecção pelo HIV, baixas contagens de CD4+, imunossupressão associada a transplante renal, neonatos) a práticas inadequadas de controle da transmissão. Estas práticas incluem: ausência de medidas administrativas que assegurem o diagnóstico rápido, o tratamento e a instituição das precauções para transmissão por aerossóis, ausência de controles de engenharia que garantam os controles de ventilação e filtração adequados e retardo no reconhecimento da multi-resistência.

Embora a associação entre retardo na instituição das precauções por aerossóis e agrupamento genotípico não tenha sido demonstrada no presente estudo, este é um fator de risco apontado pois facilita a disseminação do *M. tuberculosis* no ambiente hospitalar. (CRAVEN *et al.*, 1996; CDC, 1994).

Tabela 21. Surtos de TB descritos em hospitais. Adaptado de CRAVEN *et al.*, 1996

Estudo	Local	Nº de casos	Fatores associados
DI PERRI <i>et al.</i> , 1989	Itália	8 (taxa de ataque 44%)	- CD4+ baixo, TS anérgico
CDC, 1990	Flórida, EUA	29 TB-MDR (estudo caso-controle)	- Retardo diagnóstico de TB-MDR; - atendimento concomitante bacilífero; - clínica ou enfermaria HIV - aerolizados de pentamidina e indução de escarro; - salas com pressão positiva
BECK-SAGUÉ <i>et al.</i> , 1992	Enfermaria de HIV e ambulatorio, Miami, EUA	25 RFLP em 13 casos, 2 padrões	- Retardo diagnóstico TB-MDR; - períodos pré-fixados para suspensão do isolamento; - doença avançada pelo HIV; - exposição a caso BAAR+ MDR; - consulta concomitante ao uso de aerolizado de pentamidina por caso TB-MDR
DOOLEY <i>et al.</i> , 1992	Unidades HIV, San Juan, Porto Rico	12 (taxa de ataque 5%)	- Internação mesmo quarto TB ativa
EDLIN <i>et al.</i> , 1992	Nova York, EUA	18 (13 RFLP idênticos)	- Hospitalização prévia (6 meses), - internação na enfermaria com caso TB-MDR
FISCHL <i>et al.</i> , 1992	Miami, EUA	62 MDR (10 isolados 3 padrões)	- Contato com clínica de HIV; - AIDS (mediana de CD4+ 78)
JEREB <i>et al.</i> , 1993	Unidade de transplante renal, EUA	6 (5 transplantados renais e 1 HIV)	- Retardo diagnóstico; - retardo no isolamento; - ventilação ineficiente; - procedimentos indutores de aerossóis
BOUVET <i>et al.</i> , 1993	Paris, França	6 casos (HIV) 1 PAS	- Tempo de contato

Estudo	Local	Nº de casos	Fatores associados
CORONADO <i>et al.</i> , 1993	Nova York, EUA	16 MDR (I,R,S) (6 isolados idênticos)	- Circulação de pacientes sem precauções; - falta de pressão negativa nos quartos; - infecção pelo HIV; - admissão prévia
AZNAR <i>et al.</i> , 1995	Enfermaria de pediatria, Sevilha, Espanha	2 surtos (6 crianças)	- Ausência de investigação acompanhantes (pais); - práticas inadequadas de controle de infecção.
IKEDA <i>et al.</i> , 1995	Nova York, EUA	8 TB-MDR, HIV e outros imunossuprimidos	- Infeciosidade prolongada devido a TB-MDR - Controle ambiental inadequado.
MORO <i>et al.</i> , 1998	Hospitais de Milão (2), Itália	116 TB-MDR; RFLP idêntico em 82/ 92	- Contato hospitalar com TB-MDR; - HIV
RITACCO <i>et al.</i> , 1997	Buenos Aires, Argentina	124 TB-MDR; RFLP idêntico em 92% de 77	- Retardo diagnóstico; - isolamento inadequado; - ausência de drogas efetivas
KENYON <i>et al.</i> , 1997	Chicago, EUA	7 TB-MDR HIV+	- Não aderência isolamento; - retardo diagnóstico
PEARSON <i>et al.</i> , 1992	Nova York, EUA	23 TB-MDR (14/16 RFLP idênticos)	- Hospitalização prévia; - HIV+
BREATHNACH <i>et al.</i> , 1998	Londres, Inglaterra	7 TB-MDR, HIV +	- Isolamento pressão positiva; - retardo diagnóstico de resistência
NIVIN <i>et al.</i> , 1998	Berçário, Nova York, EUA	7 TB-MDR	- Caso-índice ignorado
SACKS <i>et al.</i> , 1999	Hospital, Johannesburg	6 TB-MDR	- Caso-índice com TB cavitária

Este estudo reforça as recomendações para a prevenção da transmissão intra-hospitalar, uma vez que até mesmo em países em desenvolvimento onde a exposição à TB na comunidade é elevada, a transmissão intra-hospitalar pode ocorrer e as medidas de controle de infecção devem ser adotadas, com o objetivo de prevenir a disseminação do *M. tuberculosis* no ambiente hospitalar.

5.10. MEDIDAS DE CONTROLE DA TB ENTRE PACIENTES INFECTADOS PELO HIV

As estratégias de prevenção e controle da TB em pacientes infectados pelo HIV levam em consideração tanto a possibilidade de reativação quanto a de infecção recente.

A detecção de casos é medida prioritária no controle da TB, seja em pacientes infectados ou não pelo HIV (DE COCK & WILKINSON, 1995; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996). Entre indivíduos com HIV o grau de suspeição deve ser elevado em virtude de apresentações atípicas: apresentação não cavitária, formas pulmonares com radiografia de tórax normal (PITCHENIK & RUBINSON, 1985; POZNIAK *et al.*, 1995) e formas disseminadas. Portanto, todo o paciente infectado pelo HIV com febre prolongada, pneumopatia, infecção de difícil resolução com antibioticoterapia inespecífica deve realizar pesquisa de BAAR e cultura de micobactéria no escarro e nos diferentes espécimes.

Estratégias para a garantia de aderência ao tratamento, como a de tratamento diretamente observado (DOTS) devem ser implementadas no mínimo, para os pacientes com TB bacilífera, pelo menos durante os dois meses iniciais de tratamento. Enquanto hospital de referência deve-se buscar parcerias com as unidades básicas de saúde e agentes identificados na comunidade para a supervisão. A efetividade do DOTS tem sido demonstrada na elevação das taxas de cura assim como na redução da resistência (DE COCK & CHAISSON, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Muitos pacientes com TB e HIV vivem em instituições fechadas, o que pode facilitar a supervisão pela inserção nos programas de indivíduos que vivem com o HIV. Incentivo governamental foi estabelecido no Brasil, para os pacientes que receberem alta sob supervisão, entretanto, questões operacionais ainda dificultam a implementação da estratégia DOTS em sua totalidade.

Além da detecção do caso e instituição de DOTS a investigação de contato é imperativa, pois os pacientes infectados pelo HIV, em geral, convivem com outros pacientes imunodeficientes criando uma cadeia de disseminação. O método concêntrico de investigação de contato reconhece a idéia de proximidade ou distância do caso incidente, porém alguns autores discutem que se este caso é membro de um agrupamento genotípico ou de um grupo mais propenso a estar em agrupamento genotípico, então a investigação deveria ser ampliada (Mc CONKEY, 2002). Esta abordagem apresenta alguns limitantes: primeiro a impossibilidade de realização em larga escala da tipagem molecular devido ao custo e segundo a omissão de contatos por parte do caso.

No ambiente hospitalar e em outras instituições de cuidados para pacientes HIV, impedir a disseminação da micobactéria implica em estabelecer uma hierarquia de controle que priorize as medidas administrativas, seguidas das de controle de engenharia e proteção respiratória (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1994).

Outra abordagem em relação à prevenção da TB consiste na utilização da vacinação com o BCG. Existem relatos de casos de complicações locais e de doença disseminada relacionada ao BCG, no entanto, estudos prospectivos comparativos entre crianças infectadas e não infectadas pelo HIV não mostraram diferença no risco de complicações. Desta forma, a OMS recomenda a utilização de BCG em crianças assintomáticas, filhas de mães infectadas pelo HIV em países de alta prevalência de TB, situação na qual os benefícios superam os riscos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1996).

O uso de quimioprofilaxia para pacientes adultos infectados pelo HIV com teste tuberculínico positivo tem sido efetivo em reduzir a incidência de TB, bem como a mortalidade por no mínimo 2,5 anos após o uso (BUCHER *et al.*, 1999; WILKINSON, 2000, QUIGLEY *et al.*, 2001). Estudos prospectivos demonstraram uma redução de 59% a 83% no risco de desenvolvimento de TB entre indivíduos infectados pelo HIV em função da quimioprofilaxia (PAPE *et al.*, 1993; MORENO *et al.*, 1997; WHALEN *et al.*, 1997). Persistência de fatores de risco para exposição à TB foi associada ao desenvolvimento de TB após o uso de isoniazida, sugerindo reinfecção como principal causa de doença após a quimioprofilaxia (CASADO *et al.*, 2002). Assim, a triagem tuberculínica deve ser rotineiramente realizada na época do diagnóstico do HIV e a quimioprofilaxia deve ser introduzida após a investigação exaustiva de doença ativa pelo *M. tuberculosis*.

Apesar das recomendações (AMERICAN THORACIC SOCIETY/CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION 2000b; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998; BRASIL, 2000b - Anexo 8) a operacionalização da quimioprofilaxia é falha e a aderência não tem sido adequadamente monitorada. É necessário sistematizar a triagem tuberculínica e quimioprofilaxia nos locais de referência para o atendimento de pacientes HIV, por meio do suprimento do derivado protéico purificado (PPD) e treinamento para a aplicação. Deve-se também implementar esta medida de controle em centros de testagem e aconselhamento voluntário para HIV e casas de apoio a pessoas que vivem com o HIV. Estratégias que garantam a aderência devem ser viabilizadas. Estudo realizado na Tailândia observou que a inclusão da quimioprofilaxia em programas de prevenção entre pessoas vivendo com o HIV foi capaz de reduzir a taxa de abandono de 57% para 17% (PIYAWORAWONG *et al.*, 2001).

Estas medidas associadas à melhor abordagem da infecção pelo HIV, como a HAART e a profilaxia de outras infecções oportunistas, têm demonstrado impacto na redução dos casos de TB entre os pacientes infectados pelo HIV e por consequência na população geral.

O presente estudo tem como limitações: o desenho retrospectivo que prejudicou a obtenção de informações referentes à antecedentes de contato, bem como de institucionalização que poderiam ser relevantes na elucidação de vínculos epidemiológicos; além disto, a não-realização de forma sistemática dos testes de susceptibilidade às drogas não permitiu a avaliação desta variável como fator de risco para transmissão recente do *M. tuberculosis*.

Este estudo contribuiu para a elucidação dos padrões de transmissão da TB em um grupo particularmente susceptível numa região metropolitana brasileira. Estabeleceu a ocorrência de provável transmissão recente em cerca de um terço da população estudada, estabelecendo um sentinela para a definição de medidas de controle. Identificou vínculo epidemiológico em um número pequeno de casos, mostrando a necessidade de investigação de contato mais ativa e expandida. Evidenciou a possibilidade de transmissão hospitalar através da determinação de vínculos intra-hospitalares, bem como a associação entre seguimento prévio no HC-Unicamp e participação em agrupamento genotípico.

CONCLUSÃO

- Os perfis genotípicos ao IS6110-RFLP apresentaram um grande polimorfismo, permitindo a identificação de 87 padrões distintos, com apenas um isolado apresentando menos de cinco cópias.
- A ocorrência de isolados pertencentes a agrupamentos genotípicos foi observada em 32,1% dos pacientes, permitindo inferir transmissão recente nesses casos. Foram identificados 13 agrupamentos genotípicos.
- Foi identificado como fator de risco para agrupamento genotípico o seguimento prévio no Hospital de Clínicas da Unicamp. Drogadição, estágio da infecção pelo HIV e apresentação da tuberculose não foram associados a agrupamentos genotípicos.
- O vínculo epidemiológico entre os casos agrupados com perfis idênticos foi identificado em 31,4% dos casos, evidenciando a necessidade de expandir e detalhar a investigação de contato.
- Em pelo menos cinco casos foram identificadas situações de contato no hospital entre os pacientes, com perfis idênticos que podem estar relacionadas à transmissão intra-hospitalar dos isolados identificados.

SUMMARY

Objectives: The study was performed in order to evaluate the patterns of TB transmission among HIV-infected patients attending to a reference Brazilian hospital and to evaluate the risk factors associated to TB recent transmission among persons HIV-infected.

Methods: Retrospective, molecular (IS6110-RFLP technique) and descriptive study involving HIV-infected patients with tuberculosis confirmed by culture, from January 1996 through July 2001. **Results:** Tuberculosis was reported among 1596 patients; 560 out of these were HIV associated. Tuberculosis was bacteriologically confirmed in 254 (45.3%) HIV-infected individuals. Pulmonary involvement was predominant (81.1%), however AFB smear was positive in 37.9% of cases with pulmonary disease, and lung cavitations were seen in only 7.8% of cases. Tuberculosis was the AIDS-defining illness in 54.7% of cases. The IS6110-RFLP of 109 *M. tuberculosis* isolates identified 87 distinct genotyping patterns; 13 clusters involving 35 (32.1%) patients were found. The number of patients in each cluster ranged from two to six. Nosocomial transmission was the probable source in five individuals. **Conclusions:** Recent transmission of *M. tuberculosis* could be demonstrated in approximately one third of HIV-infected patients. Epidemiological links could only be evidenced in a small number of situations, strengthening the need of more extended and detailed contact tracing among hospitals reference centers for AIDS, in developing countries.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAND, D.; KALKUT, G.E.; MOSS, A.R.; MCADAM, R.A.; HAHN, J.A.; BOSWORTH, W.; DRUCKER, E.; BLOOM B.R. - Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. **N Engl J Med**, **330**(24):1710-6, 1994.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY - CENTERS FOR DISEASE CONTROL - Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis. **Am J Respir Dis**, **142**: 725-35, 1990.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. **Am J Respir Crit Care Med**, **161**(4 Pt 1):1376-95, 2000a.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. **Am J Respir Crit Care Med**, **161**(4 Pt 2):S221-47, 2000b.
- AZNAR, J.; SAFI, H.; ROMERO, J.; ALEJO, A.; GRACIA, A.; PALOMARES, J.C. - Nosocomial transmission of tuberculosis infection in pediatrics wards. **Pediatr Infect Dis**, **14**:44-8, 1995.
- BARNES, P.F.; YANG, Z.; PRESTON-MARTIN, S.; POGODA, J.M.; JONES B.E.; OTAYA, M.; EISENACH, K.D.; KNOWLES, L.; HARVEY, S.; CAVE, M.D. - Patterns of tuberculosis transmission in Central Los Angeles. **JAMA**, **278**(14):1159-63, 1997.
- BECK-SAGUÉ, C.; DOOLEY, S.W.; HUTTON, M.D.; OTTEN, J.; BREEDEN, A.; CRAWFORD, J.T.; PITCHENIK, A.E.; WOODLEY, C.; CAUTHEN, G.; JARVIS, W.R. - Hospital outbreak of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infections. Factors in transmission to staff and HIV-infected patients. **JAMA**, **268**(10):1280-6, 1992.
- BONORA, S.; DI PERRI, G.; VINCENT, V.; GUTIERREZ, M.C.; CONCIA, E. - Use of spoligotyping in molecular epidemiology of tuberculosis. **Clin Infect Dis**, **28**(4):939-40, 1999.
- BOUVET, E.; CASALINO, E.; MENDOZA-SASSI, G.; LARIVEN, S.; VALLÉE, E.; PERNET, M.; GOTTOT, S.; VACHON, F. - A nosocomial outbreak of multidrug-

- resistant *Mycobacterium bovis* among HIV-infected patients. A case-control study. **AIDS**, 7:1453-60, 1993.
- BRASIL - Definição nacional de caso de AIDS em indivíduos com 13 anos de idade ou mais, para fins de vigilância epidemiológica, 1998. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 15/03/1998.
- BRASIL - Definição nacional de caso de AIDS em indivíduos menores de 13 anos de idade, para fins de vigilância epidemiológica, 2000. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 20/06/2000.
- BRASIL – Quimioprofilaxia para tuberculose em pacientes hiv+ - Atualização das recomendações para tratamento da coinfeção HIV-tuberculose em adultos e adolescentes, 2000b. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 05/05/2001.
- BRASIL – Boletim Epidemiológico, AIDS, julho a setembro de 2001. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 01/08/2002.
- BREATHNACH, A.S.; DE RUITER, A.; HOLDSWORTH, G.M.; BATEMAN, N.T.; O'SULLIVAN, D.G.; REES, P.J.; SNASHALL, D.; MILBURN, H.J.; PETERS, B.S.; WATSON, J.; DROBNIEWSKI, F.A.; FRENCH, G.L. - An outbreak of multi-drug-resistant tuberculosis in a London teaching hospital. **J Hosp Infect**, 39(2):111-7, 1998.
- BUCHER, H.C.; GRIFFITH, L.E.; GUYATT, G.H.; SUDRE, P.; NAEF, M.; SENDI, P.; BATTEGAY, M. - Isoniazid prophylaxis for tuberculosis in HIV infection: a meta-analysis of randomized controlled trials. **AIDS**, 13(4):501-7, 1999.
- CASADO, J.L.; MORENO, S.; FORTUN, J.; ANTELA, A.; QUEREDA, C.; NAVAS, E.; MORENO, A.; DRONDA, F. - Risk factors for development of tuberculosis after isoniazid chemoprophylaxis in human immunodeficiency virus-infected patients. **Clin Infect Dis**, 34(3):386-9, 2002.
- CASTRO, K.G. & DOOLEY, S.W. - *Mycobacterium tuberculosis* transmission in healthcare settings: is it influenced by coinfection with Human Immunodeficiency Virus. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 14(2): 65-6, 1993.
- CAUTHEN, G.M.; DOOLEY, S.W.; ONORATO, I.M.; IHLE, W.W.; BURR, J.M.; BIGLER, W.J.; WITTE, J.; CASTRO, K. - Transmission of *Mycobacterium*

- tuberculosis* from tuberculosis patients with HIV infection or AIDS. **Am J Epidemiol**, **144**(1): 69-77, 1996.
- CAYLÁ, J.A.; OLALLA, P.G.; GALDÓS-TANGÜIS, H.; VIDAL, R.; LÓPEZ-COLOMÉS, J.L.; GATELL, J.M.; JANSÁ, J.M. - The influence of intravenous drug use and HIV infection in the transmission of Tuberculosis. **AIDS**, **10**:95-100, 1996.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL - Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health care facilities. **MMWR**, **43** (RR 13): 1-132, 1994.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL - Nosocomial transmission of multidrug-resistant Tuberculosis to health-care workers and HIV-infected patients in an Urban Hospital - Florida. **MMWR** **39** (40):718-722, 1990.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL - Nosocomial transmission of multidrug resistant Tuberculosis among HIV infected persons Florida and New York, 1988 a 1991. **MMWR**, **40**(34): 585-91, 1991.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL - Outbreak of multidrug resistant Tuberculosis at a hospital New York City, 1991. **MMWR**, **42** (22): 427, 433-4, 1993.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – Prevention and treatment of tuberculosis among patients infected with human immunodeficiency virus: principles of therapy and revised recommendations. **MMWR**, **47**(RR20):1-58, 1998.
- CHAISSON, R.E.; SCHECTER, G.F.; THEUER, C.P.; RUTHERFORD, G.W.; ECHENBERG, D.F.; HOPEWELL, P.C. - Tuberculosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Clinical features, response to therapy, and survival. **Am Rev Respir Dis**, **136**(3):570-4, 1987.
- CHIN, D.P.; CRANE, C.M.; DIUL, M.Y.; SUN, S.J.; AGRAZ, R.; TAYLOR, S.; DESMOND, E.; WISE, F. - Spread of *Mycobacterium tuberculosis* in a community implementing recommended elements of tuberculosis control. **JAMA**, **283**(22):2968-74, 2000.
- COHN, D.L. & O'BRIEN, R.J. - The use of restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis for epidemiological studies of tuberculosis in developing countries. **Int J Tuberc Lung Dis**, **2**(1):16-26, 1998.

- COLE, S.T.; BROSCHE, R.; PARKHILL, J.; GARNIER, T.; CHURCHER, C.; HARRIS, D.; GORDON, S.V.; EIGLMEIER, K.; GAS, S.; BARRY, C.E. 3RD; TEKAIA, F.; BADCOCK, K.; BASHAM, D.; BROWN, D.; CHILLINGWORTH, T.; CONNOR, R.; DAVIES, R.; DEVLIN, K.; FELTWELL, T.; GENTLES, S.; HAMLIN, N.; HOLROYD, S.; HORNSBY, T.; JAGELS, K.; BARRELL, B.G. *et al.* - Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. **Nature**, **393**(6685):537-44, 1998.
- COLLINS, D.M. & de LISLE, G.W. - DNA restriction endonuclease analysis of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* BCG. **J Gen Microbiol**, **130**: 1019-21, 1984.
- CORONADO, V.G.; BECK SAGUÉ, C.M.; HUTTON, M.D.; DAVIS, B.J.; NICHOLAS, P.; VILLAREAL, C.; WOODLEY, C.L.; KILBURN, J.O.; CRAWFORD, J.T.; FRIEDEN, T.R.; SINKOWITZ, R.L.; JARVIS, W.R. - Transmission of multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* among persons with human immunodeficiency virus infection in an urban hospital: epidemiologic and restriction fragment length polymorphism analysis. **J Infect Dis**, **168**(4):1052-5, 1993.
- COTTE, L.; FOUGERAT, F.; TREPO, C. - Nosocomial transmission of Multidrug-resistant tuberculosis between AIDS patients. **Tuber Lung Dis**, **(73)**:397-8, 1992.
- CRAVEN, D.E.; STEGER, K.A.; HIRSCHHORN, L.R. - Nosocomial colonization and infection in persons infected with human immunodeficiency virus. **Infect Control Hosp Epidemiol**, **17**: 304-18, 1996.
- CRUCIANI, M.; MALENA, M.; BOSCO, O.; GATTI, G.; SERPELLONI, G. - The impact of human immunodeficiency virus type 1 on infectiousness of tuberculosis: a meta-analysis. **Clin Infect Dis**, **33**: 1922-30, 2001.
- DALEY, C.L.; SMALL, P.M.; SCHETER, G.F.; SCHOOLNIK, G.K.; McADAM, R.A.; JACOBS, W.R.; HOPEWELL, P.C. - An outbreak of Tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**, **326**:231-5, 1992.
- DAS, S.; PARAMASIVAN, C.N.; LOWRIE, D.B.; PRABHAKAR, R.; NARAYANAN, P.R. - IS6110 restriction length polymorphism typing of clinical isolates of

- Mycobacterium tuberculosis* from patients with pulmonary tuberculosis in Madras, South India. **Tuber Lung Dis**, 76:550-4, 1995.
- DE C RAMOS, M.; SOINI, H.; ROSCANNI, G.C.; JACQUES, M.; VILLARES, M.C.; MUSSER, J.M. - Extensive cross-contamination of specimens with *Mycobacterium tuberculosis* in a reference laboratory. **J Clin Microbiol**, 37(4):916-9, 1999.
- DE COCK, K.M. & CHAISSON, R.E. - Will DOTS do it? A reappraisal of tuberculosis control in countries with high rates of HIV infection. **Int J tuberc Lung Dis**, 3(6): 457-65, 1999.
- DE COCK, K.M. & WILKINSON, D. - Tuberculosis control in resource-poor countries: alternative approaches in the era of HIV. **Lancet**, 346:675-7, 1995.
- DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C. Epi Info, Version 6.04b: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. USD, Incorporated, Stone Mountain, Georgia, 1994.
- DI PERRI, G.; CADEO, G.; CASTELLI, F.; MICCIOLO, R.; BASSETTI, S.; RUBINI, F.; CAZZADORI, A.; MAROCCO, S.; CARLOTTO, A.; ADAMI, T.; VENTO, S.; MALENA, M.; CAROSI, G.; CONCIA, E.; BASSETTI, D. - Transmission of HIV-associated Tuberculosis to healthcare workers. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 14:67-72, 1993.
- DI PERRI, G.; CRUCIANI, M.; DANZI, M.C.; LUZZATI, R.; DE CHECCHI, G.; MALENA, M.; PIZZIGHELLA, S.; MAZZI, R.; SOLBIATI, M.; CONCIA, E.; BASSETTI, D. - Nosocomial epidemic of active Tuberculosis among HIV-infected patients. **Lancet**, 23/30:1502-4, 1989.
- DIAZ, R.; GOMEZ, R.I.; GARCIA, N.; VALDIVIA, J.A.; VAN SOOLINGEN, D. - Molecular epidemiological study on transmission of tuberculosis in a hospital for mentally handicapped patients in Havana, Cuba. **J Hosp Infect**, 49(1):30-6, 2001.
- DIEL, R.; SCHNEIDER, S.; MEYWALD-WALTER, K.; RUF, C.M.; RUSCH-GERDES, S.; NIEMANN, S. - Epidemiology of tuberculosis in Hamburg, Germany: long-term population-based analysis applying classical and molecular epidemiological techniques. **J Clin Microbiol**, 40(2):532-9, 2002.
- DOOLEY, S.W.; VILLARINO, M.E.; LAWRENCE, M.; SALINAS, L.; AMIL, S.; RULLAN, J.V.; JARVIS, W.R.; BLOCH, A.B.; CAUTHEN, G.M. - Nosocomial

- transmission of Tuberculosis in a hospital unit for HIV infected patients. **JAMA**, 267(19): 2632-4, 1992.
- DYE, C.; SCHEELE, S.; DOLIN, P.; PATHANIA, V.; RAVIGLIONE, M.C. – Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO global surveillance and monitoring project. **JAMA**, 282(7): 677-86, 1999.
- EDLIN, B.R.; TOKARS, J.I.; GRIECO, M.H.; CRAWFORD, J.T.; WILLIAMS, J.; SORDILLO, E.M.; ONG, K.R.; KILBURN, J.O.; DOOLEY, S.W.; CASTRO, K.G.; JARVIS, W.R.; HOLMBERG, S.D. - An outbreak of multidrug-resistant Tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **N Engl J Med**, 326(23):1514-21, 1992.
- FANDINHO, F.C.; KRITSKI, A.L.; HOFER, C.; JUNIOR CONDE, H.; FERREIRA, R.M.; SAAD, M.H.; SILVA, M.G.; RILEY, L.W.; FONSECA, L.S. - RFLP patterns and risk factors for recent tuberculosis transmission among hospitalized tuberculosis patients in Rio de Janeiro, Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, 94(3):271-5, 2000.
- FEE, M.J.; OO, M.M.; GABAYAN, A.E.; RADIN, D.R.; BARNES, P.F. - Abdominal tuberculosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**, 20:938-44, 1995.
- FERRAZOLI, L.; PALACI, M.; MARQUES, L.R.; JAMAL, L.F.; AFIUNE, J.B.; CHIMARA, E.; MARTINS, M.C.; SILVA TELLES, M.A.; OLIVEIRA, C.A.; PALHARES, M.C.; SPADA, D.T.; RILEY, L.W. - Transmission of Tuberculosis in an Endemic Urban Setting in Brazil. **Int J Tuberc Lung Dis**, 4(1):18-25, 2000.
- FERREIRA, M.M.; FERRAZOLI, L.; PALACI, M.; SALLES, P.S.; MEDEIROS, L.A.; NOVOA, P.; KIEFER, C.R.; SCHECHTMANN, M.; KRITSKI, A.L.; JOHNSON, W.D.; RILEY, L.W.; FERREIRA JUNIOR, O.C. – Tuberculosis and HIV infection among female inmates in São Paulo, Brazil: a prospective cohort study. **J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol**, 13(2):177-83, 1996.
- FISCHL, M.A.; UTTAMCHANDANI, R.B.; DAIKOS, G.L.; POBLETE, R.B.; MORENO, J.N.; REYES, R.R.; BOOTHA, A.M.; THOMPSON, L.M.; CLEARY, T.J.; LAI, S. - An outbreak of Tuberculosis caused by multiple-drug-resistant tubercle bacilli among patients with HIV infection. **Ann Intern Med**, 117(3):177-83, 1992.

- FOMUKONG, N.G.; TANG, T.H.; AL-MAAMARY, S.; IBRAHIM, W.A.; RAMAYAH, S.; YATES, M.; ZAINUDDIN, Z.F.; DALE, J.W. – Insertion sequence typing of *Mycobacterium tuberculosis*: characterization of a widespread subtype with a single copy of IS6110. **Tuber Lung Dis**, 75:435-40, 1994.
- FRENCH, A.L.; WELBEL, S.F.; DIETRICH, S.E.; MOSHER, L.B.; BREALL, P.S.; PAUL, W.S.; KOCKA, F.E.; WEINSTEIN, R.A. - Use of DNA Fingerprinting to Assess Tuberculosis Infection Control. **Ann Intern Med**, 129:856-61, 1998.
- FRIEDMAN, C.R.; QUINN, G.C.; KREISWIRTH, B.N.; PERLMAN, D.C.; SALOMON, N.; SCHLUGER, N.; LUTFEY, M.; BERGER, J.; POLTORATSKAIA, N.; RILEY, L.W. - Widespread dissemination of a drug-susceptible strain of *Mycobacterium tuberculosis*. **J Infect Dis**, 176:478-84, 1997.
- FRIEDMAN, L.N. & SELWYN, P. – Pulmonary tuberculosis: presentation, diagnosis and treatment. In: FRIEDMAN, L.N. **Tuberculosis current concepts and treatment**, 2^a ed, Boca Raton, Florida, CRC Press LLC, 2000, p. 107-38.
- GARCIA-GARCIA, M.; PALACIOS-MARTINEZ, M.; PONCE-DE-LEON, A.; JIMENEZ-CORONA, M.E.; JIMENEZ-CORONA, A.; BALANDRANO-CAMPOS, S.; OLIVERA-DIAZ, H.; VALDESPINO-GOMEZ, J.L.; SMALL, P.M. - The role of core groups in transmitting *Mycobacterium tuberculosis* in a high prevalence community in Southern Mexico. **Int J Tuberc Lung Dis**, 4(1):12-7, 2000.
- GARNER, J.S. - Guidelines for isolation precautions in hospitals - The Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 17(1):53-80, 1996.
- GENEWEIN, A.; TELENTI, A.; BERNASCONI, C.; MORDASINI, C.; WEISS, S.; MAURER, A.M.; RIEDER, H.L.; SCHOPFER, K.; BODMER, T. - Molecular approach to identifying route of transmission of tuberculosis in the community. **Lancet**, 342(8875):841-4, 1993.
- GICQUEL, B. – RFLP typing of the *Mycobacterium tuberculosis* bacilli . **Tuber Lung Dis**, 74: 223-4, 1993.
- GILKS, C.F.; GODFREY-FAUSSETT, P.; BATCHELOR, B.I.; OJOO, J.C.; OJOO, S.J.; BRINDLE, R.J.; PAUL, J.; KIMARI, J.; BRUCE, M.C.; BWAYO, J.; PLUMMER,

- F.A.; WARRELL, D.A. - Recent transmission of tuberculosis in a cohort of HIV-1-infected female sex workers in Nairobi, Kenya. **AIDS**, **11**(7):911-8, 1997.
- GIRARDI, E.; RAVIGLIONE, M.C.; ANTINUCCI, G.; GODFREY-FAUSSET, P.; IPPOLITO, G. - Impact of the HIV epidemic on the spread of other disease the case of tuberculosis. **AIDS**, **14** (Suppl 3): S47-56, 2000.
- GODFREY-FAUSSETT, P.; SONNENBERG, P.; SHEARER, S.C.; BRUCE, M.C.; MEE, C.; MORRIS, L.; MURRAY, J. - Tuberculosis control and molecular epidemiology in a South African gold-mining community. **Lancet**, **356**(9235):1066-71, 2000.
- GOGUET DE LA SALMONIERE, Y.O.; LI, H.M.; TORREA, G.; BUNSCHOTEN, A.; VAN EMBDEN, J.; GICQUEL, B. - Evaluation of spoligotyping in a study of the transmission of *Mycobacterium tuberculosis*. **J Clin Microbiol**, **35**(9):2210-4, 1997.
- GRANT, P.S. - Evaluation of infection control parameters according to the 1994 Centers for Disease Control and Prevention Tuberculosis guidelines: a 2-year experience. **Am J Infect Control**, **26**(3):224-31, 1998.
- GREENAWAY, C.; MENZIES, D.; FANNING, A.; GREWAL, R.; YUAN, L.; FITZGERALD, J.M. - Delay in diagnosis among hospitalized patients with active tuberculosis predictors and outcomes. **Am J Respir Crit Care Med**, **165**(7):927-33, 2002.
- GREENBERG, A.L. & ANEZ, T. - Delay in respiration isolation of patients with pulmonary tuberculosis and human immunodeficiency virus infection. **Am J Infect Control**, **20**(1): 16-8, 1992.
- GUIMARÃES, M.D.C. - Temporal trends in AIDS-associated opportunistic infections in Brazil, 1980-1999. **Cad Saúde Pública Rio de Janeiro**, **16**(Suppl. 1):21-36, 2000.
- GUTIERREZ, M.C.; VINCENT, V.; AUBERT, D.; BIZET, J.; GAILLOT, O.; LEBRUN, L.; LE PENDEVEN, C.; LE PENNEC, M.P.; MATHIEU, D.; OFFREDO, C.; PANGON, B.; PIERRE-AUDIGIER, C. - Molecular fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* and risk factors for tuberculosis transmission in Paris, France, and surrounding area. **J Clin Microbiol**, **36**(2):486-92, 1998.
- HERMANS, P.W.; MESSADI, F.; GUEBREXABHER, H.; VAN SOOLINGEN, D.; HAAS, P.E.W.; HEERSMA, H.; NEELING, H.; AYOUB, A.; PORTAELS, F.; FROMMEL, D.; ZRIBI, M.; VAN EMBDEN, J.D.A. - Analysis of the population

- structure of *Mycobacterium tuberculosis* in Ethiopia, Tunisia, and the Netherlands: usefulness of DNA typing for global tuberculosis epidemiology. **J Infect Dis**, 171:1504-13, 1995.
- HOPEWELL, P.C. - Impact of Human Immunodeficiency Virus infection on the epidemiology, clinical features, management, and control of Tuberculosis. **Clin Infect Dis**, 15:540-7, 1992.
- HORN, D.L.; HEWLETT, D.; HAAS, W.H.; BUTLER, R.W.; ALFALLA, C.; TAN, E.; LEVINE, A.; NAYAK, A.; OPAL, S.M. - Superinfection with rifampin-isoniazid-streptomycin-ethambutol (RISE)-resistant tuberculosis in three patients with AIDS: confirmation by polimerase chain reaction fingerprinting. **Ann Intern Med**, 121:115-6, 1994.
- IKEDA, R.M.; BIRKHEAD, G.S.; DIFERDINANDO, G.T.; BORNSTEIN, D.L.; DOOLEY, S.W.; KUBICA, G.P.; MORSE, D.L. - Nosocomial Tuberculosis: an outbreak of a strain resistant to seven drugs. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 16:152-9, 1995.
- IVENS-DE-ARAUJO, M.E.; FANDINHO, F.C.; WERNECK-BARRETO, A.M.; GONÇALVES-VELOSO, V.; GRINSTEIN, B.; LOURENÇO, M.K.; WERNECK-BARRETO, E.; DEGRAVE, W.M.; SUFFYS, P.N. - DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis* from patients with and without AIDS in Rio de Janeiro. **Braz J Med Biol Res**, 31(3):369-72, 1998.
- JEREB, J.A.; BURWEN, D.R.; DOOLEY, S.W.; HAAS, W.H.; CRAWFORD, J.T.; GEITER, L.J.; EDMOND, M.B.; DOWLING, J.N.; SHAPIRO, R.; PASCULLE, A.W.; SHANAHAN, S.L.; JARVIS, W.R. - Nosocomial outbreak of tuberculosis in a renal transplant unit: application a new technique for restriction fragment length polymorphism analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. **J Infect Dis**, 168:1219-24, 1993.
- JONES, B.E.; RYU, R.; YANG, Z.; CAVE, M.D.; POGODA, J.M.; OTAYA, M.; BARNES, P.F. - Chest radiographic findings in patients with tuberculosis with recent or remote infection. **Am J Respir Crit Care Med**, 156:1270-3, 1997.
- JONES, B.E.; YOUNG, S.M.M.; ANTONISKIS, D.; DAVIDSON, P.T.; KRAMER, F.; BARNES, P.F. - Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts

- in patients with human immunodeficiency virus infection. **Am Rev Respir Dis**, **148**:1292-7, 1993.
- JONES, J.L.; HANSON, D.L.; DWORKIN, M.S.; DECOCK, K.M. – HIV-associated tuberculosis in the era of highly active antiretroviral therapy. The adult/adolescent spectrum of HIV disease group. **Int J Tuberc Lung Dis**, **4**(11): 1026-31, 2000.
- KALLENIOUS, G.; KOIVULA, T.; GHEBREMICHAEL, S.; HOFFNER, S.E.; NORBERG, R.; SVENSSON, E.; DIAS, F.; MARKLUND, B.I.; SVENSON, S.B. - Evolution and clonal traits of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Guinea-Bissau. **J Clin Microbiol**, **37**(12):3872-8, 1999.
- KENYON, T.A.; RIDZON, R.; LUSKIN-HAWK, R.; SCHULTZ, C.; PAUL, W.S.; VALWAY, S.E.; ONORATO, I.M.; CASTRO, K. - A nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis. **Ann Intern Med**, **127**(1):32-6, 1997.
- KLAUSNER, J.D.; RYDER, R.W.; BAENDE, E. - *Mycobacterium tuberculosis* in household contacts of human immunodeficiency virus type 1-seropositive patients with active pulmonary tuberculosis in Kinshasa, Zaire. **J Infect Dis**, **168**:106-11, 1993.
- KREMER, K.; VAN SOOLINGEN, D.; FRETHINGHAM, R.; HAAS, W.H.; HERMANS, P.W.; MARTIN, C.; PALITTAPONGARNPIM, P.; PLIKAYTIS, B.B.; RILEY, L.W.; YAKRUS, M.A.; MUSSER, J.M.; VAN EMBDEN, J.D. – Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. **J Clin Microbiol**, **37**(8):2607-18, 1999.
- KRITSKI, A.L.; SILVA, J.R.L.; CONDE, M.B. – Tuberculosis and HIV: renewed challenge. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, **93**(3): 417-21, 1998.
- LEE, M.P.; CHAN, J.W.; NG, K.K.; LI, P.C. - Clinical manifestations of tuberculosis in HIV-infected patients. **Respirology**, **5**(4):423-6, 2000.
- LEMAITRE, N.; SOUGAKOFF, W.; TRUFFOT-PERNOT, C.; CAMBAU, E.; DERENE, J.P.; BRICAIRE, F.; GROSSET, J.; JARLIER, V. – Use of DNA fingerprinting for primary surveillance of nosocomial tuberculosis in a large urban hospital: detection of outbreaks in homeless people and migrant workers. **Int J Tuberc Lung Dis**, **2**(5): 390-6, 1998.

- LOCKMAN, S.; SHEPPARD, J.D.; BRADEN, C.R.; MWASEKAGA, M.J.; WOODLEY, C.L.; KENYON, T.A.; BINKIN, N.J.; STEINMAN, M.; MONTSHO, F.; KESUPILE-REED, M.; HIRSCHFELDT, C.; NOTHA, M.; MOETI, T.; TAPPERO, J.W. - Molecular and Conventional Epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in Botswana: a Population-Based Prospective Study of 301 Pulmonary Tuberculosis Patients. **J Clin Microbiol**, 39(3):1042-7, 2001.
- LOURENCO, M.C.; GRINSZTEJN, B.; FANDINHO-MONTES, F.C.; DA SILVA, M.G.; SAAD, M.H.; FONSECA, L.S. - Genotypic patterns of multiple isolates of *M. tuberculosis* from tuberculous HIV patients. **Trop Med Int Health**, 5(7):488-94, 2000.
- LUTWICK, S.M.; ABTER, E.I.M.; CHAPNICK, E.K.; MOUSSA, Z.; LUTWICK, L.I. - Tuberculosis in patients infected with human immunodeficiency virus: A problem-solving approach. **Am J Infect Control**, 20(3):156-8, 1992.
- MACHADO, A.M.O.; PIGNATARI, A.C.C.; LOPES, A.C.; VIEIRA, C.M.C.; SILVA, C.O.S.; HADAD, D.J.; LEWI, D.S.; MEDEIROS, E.A.S.; SANTOS, G.M.; HENRIQUES, I.M.S.; OSIRO, K.; REIS, L.S.; VIANNA, P.C.; SUCCI, R.C.M.; RIBEIRO, S.A.; WEY, S.B.; UDJVARI, S.; RAMOS, V.M. - Casuísticas do Hospital São Paulo. In: **Consenso em TB pulmonar bacilífera** - Hospital São Paulo/Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, HSP/UNIFESP, 1998, p 10-1. (offset publication, 1998).
- MAGNANI, J.; MATHEMA, B.; BERGER, J.; BROWN, S.; DAVID, M.; GLATT, A.; PUJOL, F.; SEGAL-MAURER, S.; RILEY, L.W.; KREISWIRTH, B.N.; SEPKOWITZ, K.A.; TBNETWORK - Molecular epidemiology of tuberculosis among eight hospitals in New York City, 1996-1997. **Int J Infect Dis**, 5(3): 126-32, 2001.
- MARCH, F.; COLL, P.; GUERRERO, R.A.; BUSQUETS, E.; CAYLA, J.A.; PRATS, G. - Predictors of tuberculosis transmission in prisons: an analysis using conventional and molecular methods. **AIDS**, 14(5):525-35, 2000.
- MCCONKEY, S.J.; WILLIAMS, M.; WEISS, D.; ADAMS, H.; CAVE, M.D.; YANG, Z.; LINDNER, T.; BAILEY, T.C. - Prospective use of molecular typing of *Mycobacterium tuberculosis* by use of restriction fragment-length polymorphism in a public tuberculosis-control program. **Clin Infect Dis**, 34(5):612-19, 2002.

- MCDERMOTT, J.L.; GLASSROTH, J. – Natural history and epidemiology. **DM**, 43(3):131-55, 1997.
- METCHOCK, B.G.; NOLTE, F.S.; WALLACE JR, R.J. *Micobacterium* In: MURRAY PR, BARON EJ, PFALLER MA, TENOVER FC, YOLKEN RH. **Manual of Clinical Microbiology**, 7th edition, Washington, DC, American Society for Microbiology Press, 1999, p. 399-437.
- MODILEVSKY, T.; SATTLER, F.R.; BARNES, P.F. - Mycobacterial disease in patients with human immunodeficiency virus infection. **Arch Intern Med**, 149(10):2201-5, 1989.
- MOREIRA-DE-OLIVEIRA, M.S.; OLIVEIRA, H.B.; SILVEIRA, W.D. – Molecular characterization of *M. tuberculosis* isolates, obtained from inmates in different correction institutions of Campinas – S.P. Brazil and the transmission in these institutions. In: World Conference on Lung Health, 30th, 1999, Madrid.
- MORENO, S.; MIRALLES, P.; DIAZ, M.D.; BARAIA, J.; PADILLA, B.; BERENGUER, J.; ALBERDI, J.C. - Isoniazid preventive therapy in human immunodeficiency virus-infected persons: long-term effect on development of tuberculosis and survival. **Arch Intern Med**, 157: 1729, 1997.
- MORO, M.L.; GORI, A.; ERRANTE, I.; INFUSO, A.; FRANZETTI, F.; SODANO, L.; IEMOLI, E.; ITALIAN MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS OUTBREAK STUDY GROUP - An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis involving HIV-infected patients of two hospitals in Milan, Italy. Italian Multidrug-Resistant Tuberculosis Outbreak Study Group. **AIDS**, 12(9):1095-102, 1998
- NARAIN, J.P.; RAVIGLIONE, M.C.; KOCHI, A. - HIV-associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. **Tuber Lung Dis**, 73:311-21, 1992.
- NARDELL, E.; MCINNIS, B.; THOMAS, B.; WEIDHAAS, S. - Exogenous reinfection with tuberculosis in a shelter for the homeless. **N Engl J Med**, 315(25):1570-5, 1986.
- NIVIN B.; NICHOLAS P.; GAYER M.; FRIEDEN T.R.; FUJIWARA P.I. – A continuing outbreak of multidrug-resistant tuberculosis with transmission in a hospital nursery. **Clin Infec Dis**, 26:303-7, 1998.

- PAPE, J.W.; JEAN, S.S.; HO, J.L.; HAFNER, A.; JOHNSON, W.D. - Effect of isoniazid prophylaxis on incidence of active tuberculosis and progression of HIV infection. **Lancet**, **342**: 268, 1993.
- PEARSON, M.L.; JEREB, J.A.; FRIEDEN, T.R.; CRAWFORD, J.T.; DAVIS, B.J.; DOOLEY, S.W.; JARVIS, W.R. - Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. A risk to patients and health care workers. **Ann Intern Med**, **117**(3):191-6, 1992.
- PERLMAN, D.C.; EL-SADR, W.M.; NELSON, E.T.; MATTS, J.P.; TELZAK, E.E.; SALOMON, N.; CHIRGWIN, K.; HAFNER R. - Variation of chest radiographic patterns in pulmonary tuberculosis by degree of human immunodeficiency virus - related immunosuppression. **Clin Infect Dis**, **25**(2):242-6, 1997.
- PITCHENIK, A.E.; RUBINSON, H.A. - The radiographic appearance of tuberculosis in patients with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and pre-AIDS. **Am Rev Respir Dis**, **131**(3):393-6, 1985.
- PITCHENIK, A.E. - Tuberculosis control and the AIDS epidemic in developing countries. **Ann Int Med**, **113**(2): 89-91, 1990.
- PIYAWORAWONG. S.; YANAI. H.; NEDSUWAN, S.; AKARASEWI, P.; MOOLPHATE, S.; SAWANPANYALERT, P. - Tuberculosis preventive therapy as part of a care package for people living with HIV in a district of Thailand. **AIDS**, **15**(13):1739-41, 2001.
- PLIKAYTIS, B.D.; PLIKAYTIS, B.B.; SHINNICK, T.M. - Computer-assisted pattern recognition model for identification of slowly growing mycobacteria including *Mycobacterium tuberculosis*. **J Gen Microbiol**, **138**: 2265-73, 1992.
- PLIKAYTIS, B.B.; CRAWFORD, J.T.; WOODLEY, C.L.; BUTLER, W.R.; EISENACH, K.D.; CAVE, M.D.; SHINNICK, T.M. - Rapid, amplification-based fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*. **J Gen Microbiol**, **139**:1537-42, 1993.
- POZNIAK, A.L.; MACLEOD, G.A.; NDLOVU, D.; ROSS, E.; MAHARI, M.; WEINBER, G.J. Clinical and chest radiographic features of tuberculosis associated with human immunodeficiency virus in Zimbabwe. **Am J Respir Crit Care Med**, **152**:1558-61, 1995.

- QUIGLEY, M.A.; MWINGA, A.; HOSP, M.; LISSE, I.; FUCHS, D.; PORTER, J.D.H.; GODFREY-FAUSSETT, P. - Long-term effect of preventive therapy for tuberculosis in a cohort of HIV-infected Zambian adults. **AIDS**, 26;15(2):215-22, 2001.
- RADHAKRISHNAN, I.; K M.Y.; KUMAR, R.A.; MUNDAYOOR, S. - Implications of low frequency of IS6110 in fingerprinting field isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Kerala, India. **J Clin Microbiol**, 39(4):1683, 2001.
- RESENDE, M.R. - **Prevalência de infecção tuberculosa em profissionais do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas**. Campinas, 1996. [Tese - mestrado - Universidade Estadual de Campinas].
- RESENDE, M.R.; SINKOC, V.M.; PAPAORDANOU, P.M.O. - Infection control parameters in the management of infectious tuberculosis at a Brazilian hospital. **Infect Control Hosp Epidemiol**, 21:163, 2000.
- RESENDE, M.R.; SINKOC, V.M.; BROGNONI, O.E.P.; CAMPOS, E.O.M.; GARCIA, M.T.; BARBOSA, S.M.; FIGUEIREDO, R.M.; PAPAORDANOU, P.M.O. - Ten years of tuberculosis surveillance at an university hospital. In: III Congresso Pan-Americano, VII Congresso brasileiro de controle de infecções e Epidemiologia hospitalar, 2000, Belo Horizonte.
- RITACCO, V.; DI LONARDO, M.; RENIERO, A.; AMBROGGI, M.; BARRERA, L.; DAMBROSI A.; LOPEZ B.; ISOLA N.; DE KANTOR, I.N. - Nosocomial spread of human immunodeficiency virus-related multidrug-resistant tuberculosis in Buenos Aires. **J Infect Dis**, 176(3):637-42, 1997.
- SACKS, L.V.; PENDLE, S.; ORLOVIC, D.; BLUMBERG, L.; CONSTANTINOU, C. - A comparison of outbreak- and nonoutbreak-related multidrug-resistant tuberculosis among human immunodeficiency virus-infected patients in a South African hospital. **Clin Infect Dis**, 29(1):96-101, 1999.
- SAMPER, S.; IGLESIAS, M.J.; RABANAQUE, M.J.; LEZCANO, M.A.; VITORIA, L.A.; RUBIO, M.C.; GOMEZ-LUS, R.; GOMEZ, L.I.; OTAL, I.; MARTIN, C. - The molecular epidemiology of tuberculosis in Zaragoza, Spain: a retrospective epidemiological study in 1993. **Int J Tuberc Lung Dis**, 2(4):281-7, 1998.
- SANTORO-LOPES, G.; PINHO, A.M.F.; HARRISON, L.H.; SCHECHTER, M. - Reduced risk of tuberculosis among Brazilian patients with advanced human

- immunodeficiency virus infection treated with highly active antiretroviral therapy. **Clin Infect Dis**, **34**:543-6, 2002.
- SELWYN, P.A.; HARTEL, D.; LEWIS, V.A.; SCHOENBAUM, E.E.; VERMUND, S.; KLEIN, R.; WALKER, A.T.; FRIEDLAND, G.H. - A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. **N Engl J Med**, **320**(9): 545-50, 1989.
- SEPKOWITZ, K.A.; FRIEDMAN, C.R.; HAFNER, A.; KWOK, D.; MANOACH, S.; FLORIS, M.; MARTINEZ, D.; SATHIANATHAN, K.; BROWN, E.; BERGER, J.J.; SEGAL-MAURER, S.; KREISWIRTH, B.; RILEY, L.W.; STOECKLE, M.Y. - Tuberculosis among urban health care workers: a study using restriction fragment length polymorphism typing. **Clin Infect Dis**, **21**(5):1098-101, 1995.
- SHAFFER, R.W.; SMALL, P.M.; LARKIN, C.; SINGH, S.P.; KELLY, P.; SIERRA, M.F.; SCHOOLNIK, G.; CHIRGWIN, K.D. - Temporal trends and transmission patterns during the emergence of multidrug-resistant tuberculosis in New York City: a molecular epidemiologic assessment. **J Infect Dis** **171**(1):170-176, 1995a.
- SHAFFER, R.W.; SINGH, S.P.; LARKIN, C.; SMALL, P.M. - Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in an immunocompetent patient. **Tuber Lung Dis**, **76**(6):575-7, 1995b.
- SMALL, P.M.; HOPEWELL, P.C.; SINGH, S.P.; PAZ, A.; PARSONNET, J.; RUSTON, D.C.; SCHECTER, G.F.; DALEY, C.L.; SCHOOLNIK, G.K. - The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. **N Engl J Med**, **330**(24):1703-9, 1994.
- SMALL, P.M. & MOSS, A. - Molecular epidemiology and the new tuberculosis. **Infect Agents Dis**, **2**(3):132-8, 1993.
- SNIDER Jr, D.E. & DOOLEY, S.W. - Nosocomial Tuberculosis in the AIDS era with an emphasis on multidrug-resistant disease. **Heart Lung**, **22**:365-9, 1993.
- SOLA, C.; HORGAN, L.; MAISETTI, J.; DEVALLOIS, A.; GOH, K.S.; RASTOGI, N. - Spoligotyping followed by double-repetitive-element PCR as rapid alternative to IS6110 fingerprinting for epidemiological studies of tuberculosis. **J Clin Microbiol**, **36**(4):1122-4, 1998.

- SUDRE, P.; PFYFFER, G.E.; BODMER, T.; PROD'HOM, G.; FURRER, H.; BASSETTI, S.; BERNASCONI, E.; MATTER, L.; TELENTI, A.; STRASSLE, A.; JACQUES, J.P.; WEBER, R. - Molecular epidemiology of tuberculosis among HIV-infected persons in Switzerland: a countrywide 9-year cohort study. Swiss HIV Cohort Study. **Infection**, 27(6):323-30, 1999.
- SUFFYS, P.N.; IVENS-DE-ARAUJO, M.E.; ROSSETTI, M.L.; ZAHA, A.; BARROSO, E.W.; BARRETO, A.M.W.; CAMPOS, E.; VAN SOOLINGEN, D.; KREMER, K.; HEERSMA, H.; DEGRAVE, W.M. - Usefulness of IS6110-restriction fragment length polymorphism typing of Brazilian strains of *Mycobacterium tuberculosis* and comparison with an international fingerprint database. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 151:343-51, 2000.
- SUFFYS, P.N.; IVENS-DE-ARAUJO, M.E.; DEGRAVE, W.M. - The changing of the epidemiology of tuberculosis due to molecular strain typing - a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 92(3): 297-316, 1997.
- TABET, S.R.; GOLDBAUM, G.M.; HOOTON, T.M.; EISENACH, K.D.; CAVE, M.D.; NOLAN, C.M. - Restriction fragment length polymorphism analysis detecting a community-based tuberculosis outbreak among persons infected with human immunodeficiency virus. **J Infect Dis**, 169(1):189-92, 1994.
- THIERRY, D.; CAVE, M.D.; EISENACH, K.D. - IS 6110, an IS-like element of *M. tuberculosis* complex. **Nucleic Acids Res**, 18: 188, 1990.
- TUDÓ, G.; GONZALEZ, J.; GATELL, J.M.; CAYLA, J.A.; MARTINEZ, E.; GARCIA, A.; NAVARRO, M.; SORIANO, E.; DE ANTA, M.T.J. - Detection of unsuspected cases of nosocomial transmission of tuberculosis by use a molecular typing method. **Clin Infect Dis**, 33:453-9, 2001.
- UNAIDS - JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS - AIDS epidemic update December, 2001. Disponível em: <<http://www.unaids.org/publications/documents/epidemiology>>. Acesso em: 30/07/2002.
- VAN DEUTEKOM, H.; GERRITSEN, J.J.; VAN SOOLINGEN, D.; VAN AMEIJDEN, E.J.; VAN EMBDEN, J.D.; COUTINHO, R.A. - A molecular epidemiological approach to studying the transmission of tuberculosis in Amsterdam. **Clin Infect Dis**, 25(5):1071-7, 1997.

- VAN EMBDEN, J.D.A.; CAVE, M.; CRAWFORD, J.T.; DALE, J.W.; EISENACH, K.D.; GICQUEL, B. - Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardised methodology. **J Clin Microbiol**, 31:406-9, 1993.
- VAN RIE, A.; WARREN, R.; RICHARDSON, M.; VICTOR, T.C.; GIE, R.P.; ENARSON, D.A.; BEYERS, N.; VAN HELDEN, P.D. - Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment. **N Engl J Med**, 341(16):1174-9, 1999.
- VAN SOOLINGEN, D. & HERMANS, P.W.M. - Epidemiology of tuberculosis by DNA fingerprinting. **Eur Respir J**, 20: 649s-56s, 1995.
- VAN SOOLINGEN, D.; BORGDORFF, M.W.; DE HAAS, P.E.; SEBEK, M.M.; VEEN, J.; DESSENS, M.; KREMER, K.; VAN EMBDEN, J.D. - Molecular epidemiology of tuberculosis in the Netherlands: a nationwide study from 1993 through 1997. **J Infect Dis**, 180(3):726-36, 1999.
- VYNNYCKY, E.; NAGELKERKE, N.; BORGDORFF, M.W.; VAN SOOLINGEN, D.; VAN EMBDEN, J.D.; FINE, P.E. - The effect of age and study duration on the relationship between 'clustering' of DNA fingerprint patterns and the proportion of tuberculosis disease attributable to recent transmission. **Epidemiol Infect**, 126(1):43-62, 2001.
- WHALEN, C.C.; JOHNSON, J.L.; OKWERA, A.; HOM, D.L.; HUEBNER, R.; MUGYENYI, P.; MUGERWA, R.D.; ELLNER, J.J. - A trial of three regimens to prevent tuberculosis in Ugandan adults infected with the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**, 337: 801,1997.
- WILKINSON, D. Drugs for preventing tuberculosis in HIV infected persons. **Cochrane Database Syst Ver**, 4:CD000171, 2000.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **HIV related TB**. In: Tuberculosis and HIV – A Clinical Manual, Geneve, WHO, 1996, p 29-32. (WHO offset publication, 200)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **What is DOTS? A Guide to Understanding the WHO-recommended**. Geneve, WHO, 1999, 39p. (WHO offset publication, 270)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION – **Strategic framework to decrease the burden of TB/HIV**. Geneve, WHO, 2002, 47p. (WHO offset publication, 296)

- YANG, Z.H.; MTONI, I.; CHONDE, M.; MWASEKAGA, M.; FUURSTED, K.; ASKGARD, D.S.; BENNEDSEN, J.; DE HAAS, P.E.; VAN SOOLINGEN, D.; VAN EMBDEN, J.D.; ANDERSEN, Å. B. - DNA fingerprinting and phenotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-seronegative patients in Tanzania. **J Clin Microbiol**, **33**(5):1064-9, 1995.
- YUEN, L.K.; ROSS, B.C.; JACKSON, K.M.; DWYER, B. - Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from Vietnamese patients by Southern blot hybridization. **J Clin Microbiol**, **31**(6):1615-8, 1993.

ANEXOS

ANEXO 1

CRITÉRIOS DE NOTIFICAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DOS CASOS DE TUBERCULOSE NO HC-UNICAMP

Critérios de notificação

São notificados todos os casos que :

- iniciam o tratamento específico para tuberculose, independente do critério diagnóstico utilizado;
- apresentam pesquisa de BAAR positiva e/ou cultura positiva para *M. tuberculosis*, independente do início do tratamento.

São notificados todos os casos novos, os recidivados e aqueles que reingressam após abandono

Critérios de encerramento:

- alta
- abandono: suspensão do tratamento por tempo superior a um mês
- óbito
- mudança de diagnóstico: casos em que houve crescimento de outras micobactérias que não *tuberculosis* (MOTT) ou confirmação de outras patologias.

Rotina de notificação dos casos:

- vigilância ativa nas enfermarias, ambulatorios e Pronto Socorro;
- vigilância dos resultados microbiológicos positivos (pesquisa de BAAR e cultura de micobactérias)
- vigilância da retirada de medicamentos específicos.

Os casos são incluídos no banco de dados do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Sinan).

FONTE: Núcleo de Vigilância Epidemiológica do HC-Unicamp

ANEXO 2

DEFINIÇÃO NACIONAL DE CASO DE AIDS EM INDIVÍDUOS COM 13 ANOS DE IDADE OU MAIS, PARA FINS DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (BRASIL, 1998)

Quadro-resumo dos critérios de definição de caso de AIDS em indivíduos com 13 anos de idade ou mais, para fins de vigilância epidemiológica

1 - CDC Modificado
Evidência laboratorial da infecção pelo <i>HIV</i>
+
Diagnóstico de determinadas doenças indicativas de AIDS ou evidência laboratorial de imunodeficiência*
2 - Rio de Janeiro/Caracas
Evidência laboratorial de infecção pelo <i>HIV</i>
+
Somatório de pelo menos 10 pontos, de acordo com uma escala de sinais, sintomas ou doenças
3 - Critério Excepcional CDC
Ausência de evidência laboratorial da infecção pelo <i>HIV</i>
+
Diagnóstico definitivo de determinadas doenças indicativas de imunodeficiência
4 - Critério Excepcional Óbito
Menção de AIDS em algum campo da Declaração de Óbito
+
Investigação epidemiológica inconclusiva
5 - Critério Excepcional ARC + Óbito
Paciente em acompanhamento, apresentando ARC
+
Óbito de causa não-externa

*Evidência laboratorial de imunodeficiência como definidora de Caso de AIDS em indivíduos com 13 anos de idade ou mais: quantificação de linfócitos T CD₄⁺/CD₈⁺ abaixo de 350 células/mm³ foi incluída em 01/01/1998 pela Coordenação de DST/AIDS/Ministério da Saúde.

Notas explicativas:

* *ARC: AIDS related complex*, ou complexo relacionado a AIDS.

* Causas externas de óbito: homicídio, suicídio e acidente.

* Evidência Laboratorial da Infecção pelo HIV, para fins de Vigilância

Epidemiológica

Em pessoas com 13 anos ou mais, que **não preenchem** nenhum dos critérios de definição de caso de AIDS para esta faixa etária:

dois **testes de triagem** reagentes (com antígenos ou princípios metodológicos diferentes) + um **teste confirmatório** reagente; ou um **teste confirmatório** reagente.

Em pessoas com 13 anos ou mais, que **preenchem** algum dos critérios de definição de caso de AIDS para esta faixa etária:

dois **testes de triagem** reagentes (com antígenos ou princípios metodológicos diferentes); ou um **teste confirmatório** reagente.

Observação: são **testes de triagem**: *ELISA* (várias gerações, com diversos antígenos), *EIA*, *MEIA*, quimioluminiscência, teste rápido e teste simples. São **testes confirmatórios**: imunofluorescência, *Western Blot*, teste de amplificação de ácidos nucleicos, como por exemplo, o *PCR*.

I. Critério CDC modificado

Será considerado Caso de AIDS, para fins de vigilância epidemiológica, todo indivíduo com 13 anos de idade ou mais que apresentar evidência laboratorial de infecção pelo *HIV*, independentemente da presença de outras causas de imunodeficiência, no qual seja diagnosticada pelo menos uma doença indicativa de AIDS, a saber:

1. Doenças indicativas de AIDS para as quais é requerido o diagnóstico definitivo:

1.1. candidíase da traquéia, brônquios ou pulmão; **1.2. citomegalovirose** em local que não o olho, e além do fígado, baço ou linfonodos; **1.3. criptococose** extrapulmonar; **1.4. criptosporidíase** com diarreia persistente, por um período superior a 1 mês; **1.5. herpes simples** dos brônquios, pulmão ou do trato gastro-intestinal; **1.6. histoplasmose** disseminada (em órgãos outros que não o pulmão ou linfonodos cervicais ou hilares, ou em um desses órgãos associado a qualquer outra localização); **1.7. isosporíase** com diarreia persistente, por um período superior a 1 mês; **1.8. leucoencefalopatia multifocal progressiva**; **1.9. linfoma primário do cérebro**, em qualquer idade; **1.10. outro linfoma não-Hodgkin** de células B (fenótipo imunológico desconhecido); **1.11. micobacteriose** (não tuberculose); **1.12. qualquer micobacteriose** disseminada que não seja tuberculose (em órgãos outros que não o pulmão, pele ou linfonodos cervicais ou hilares, ou em um desses órgãos associado a qualquer outra localização); **1.13. septicemia** recorrente por *salmonella* (não tifóide); **1.14. Carcinoma cervical** invasivo.

2. Doenças indicativas de AIDS para as quais também é aceito o diagnóstico presuntivo:

2.1. **candidíase** do esôfago; 2.2. **herpes simples** muco-cutâneo, por um período superior a 1 mês; 2.3. **pneumonia** por *Pneumocystis carinii*; 2.4. **retinite** por citomegalovírus; 2.5. **toxoplasmose** cerebral

II. Critério Rio de Janeiro/Caracas

Será considerado Caso de AIDS, para fins de vigilância epidemiológica, todo indivíduo com 13 anos de idade ou mais que apresentar evidência laboratorial de infecção pelo *HIV* e pelo menos um somatório de 10 pontos, de acordo com a seguinte escala de sinais, sintomas ou doenças:

SINAIS / SINTOMAS / DOENÇAS	PONTOS
sarcoma de Kaposi	10
tuberculose disseminada/extrapulmonar/pulmonar não cavitária	10
candidíase oral ou leucoplasia pilosa	5
tuberculose pulmonar cavitária ou não especificada	5
herpes zoster em indivíduo com até 60 anos de idade	5
disfunção do sistema nervoso central	5
diarréia por um período igual ou superior a 1 mês	2
febre igual ou superior a 38° C, por um período igual ou superior a 1 mês	2
caquexia ou perda de peso corporal superior a 10%	2
astenia por um período igual ou superior a 1 mês	2
dermatite persistente	2
anemia e/ou linfopenia e/ou trombocitopenia	2
tosse persistente ou qualquer pneumonia (exceto tuberculose)	2
linfadenopatia maior ou igual a 1 cm, maior ou igual a 2 sítios extra- ingüinais, por um período igual ou superior a 1 mês	2

III. Critério excepcional CDC

Será considerado caso de AIDS todo indivíduo com 13 anos de idade ou mais, com teste laboratorial para o *HIV* não realizado ou de resultado desconhecido e que, **eliminadas outras causas de imunodeficiência**, apresentar pelo menos uma das seguintes doenças indicativas de AIDS diagnosticada definitivamente: **candidíase** do esôfago, traquéia, brônquios ou pulmão; **citomegalovirose** em local que não o olho ou além do fígado, baço ou linfonodo; **criptosporidíase** com diarréia persistente, por um período superior a 1 mês; **herpes simples** muco-cutâneo dos brônquios, pulmão ou trato gastro-intestinal, por um período superior a 1 mês; **leucoencefalopatia multifocal progressiva**; **linfoma primário do cérebro** em paciente com idade inferior a 60 anos; **micobacteriose** disseminada por *Mycobacterium avium complex* ou *M. Kansasil* (em órgãos outros que não o pulmão, pele ou linfonodos cervicais ou hilares, ou em um desses órgãos associado

a qualquer outra localização); **pneumonia** por *Pneumocystis carinii*; **sarcoma de Kaposi** em paciente com idade inferior a 60 anos, **toxoplasmose cerebral**

Notas explicativas:

* As seguintes causas de imunodeficiência devem ser excluídas:

- Corticoterapia sistêmica em altas doses ou de longo termo, ou outra terapia imunossupressiva/citotóxica iniciada pelo menos 3 meses antes do diagnóstico da doença indicativa.
- Pelo menos uma das seguintes doenças diagnosticadas em até 3 meses após o diagnóstico da doença indicativa: - linfoma Hodgkin, linfoma não-Hodgkin (outro que não o linfoma primário do cérebro); leucemia linfocítica; mieloma múltiplo; qualquer outro câncer do tecido linforreticular ou histiocítico; e - linfadenopatia angioimunoblástica.
- Síndrome de imunodeficiência genética (congenita), ou uma síndrome de imunodeficiência que não seja pelo *HIV*, como a que envolve hipogamaglobulinemia.

IV. Critério excepcional óbito

Será considerado caso de AIDS todo indivíduo com 13 anos de idade ou mais, em cuja Declaração de Óbito constar AIDS em algum dos seus campos de preenchimento e que, após investigação epidemiológica, não puder ser enquadrado em qualquer dos demais critérios de Definição de Caso de AIDS vigentes.

V. Critério excepcional ARC + óbito

Será considerado caso de AIDS todo indivíduo com 13 anos de idade ou mais com evidência laboratorial de infecção pelo *HIV* e manifestação de alguns sintomas próprios do complexo relacionado à AIDS (ou *AIDS Related Complex, ARC*), e que for a óbito por causa não-externa. São sintomas de *ARC*:

- presença de candidíase oral e/ou testes cutâneos de hipersensibilidade tardia negativos; **ou**
- presença de 3 ou mais dos seguintes sinais/sintomas, com duração superior a 1 mês, sem causa identificada: linfadenopatia generalizada, diarreia, febre, astenia, sudorese noturna, perda de peso superior a 10%.

ANEXO 3

DEFINIÇÃO NACIONAL DE CASO DE AIDS, EM INDIVÍDUOS MENORES DE 13 ANOS, PARA FINS DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (BRASIL, 2000a)

Para efeito de vigilância epidemiológica serão considerados casos de AIDS:
Critério de confirmação por sinais

Toda criança menor de 13 anos de idade que apresente evidência laboratorial de infecção pelo HIV* e pelo menos 02 sinais maiores ou 1 sinal maior associado com 2 sinais menores, segundo o critério de classificação de sinais indicativos de AIDS na criança estabelecido pelo Ministério da Saúde (quadro I).

e/ou

CRITÉRIO CDC MODIFICADO

Toda criança menor de 13 anos de idade que apresente evidência laboratorial de infecção pelo HIV* e pelo menos 01 doença indicativa de AIDS (quadro II).

e/ou

CRITÉRIO CD4

Toda criança menor de 13 anos de idade, que apresente evidência laboratorial de infecção pelo HIV*, cuja contagem de linfócitos T + CD4 for menor do que o esperado para a idade, segundo o quadro III.

ou

CRITÉRIO EXCEPCIONAL HIV + ÓBITO

Toda criança menor de 13 anos de idade, que apresente evidência laboratorial de infecção pelo HIV* e sinais e/ou sintomas relacionados a AIDS, que evolua para óbito, por causas não externas, que não possa ser enquadrada em nenhum dos demais critérios de definição de caso de AIDS vigentes.

ou

CRITÉRIO EXCEPCIONAL ÓBITO

Toda criança menor de 13 anos de idade em cuja Declaração de Óbito constar **AIDS** em algum dos seus campos de preenchimento e que, após investigação epidemiológica, não possa ser enquadrada em nenhum dos demais critérios de definição de caso de AIDS vigentes.

ANEXO 4

FICHA UTILIZADA PARA COLETA DE DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS DOS PACIENTES ESTUDADOS

DADOS DEMOGRÁFICOS

Nome: _____
HC: _____ Sexo: ☐ M ☐ F Etnia: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____
Procedência: _____ Bairro: _____ Ocupação: _____
Moradia fixa: ☐ sim ☐ não

DADOS CLÍNICOS NO MOMENTO DIAGNÓSTICO TB

Tosse > 2 semanas: ☐ sim ☐ não
Classificação da TB: ☐ 1º tto ☐ recidiva ☐ Abandono Evolução tto anterior: ☐ Cura
Forma: ☐ P ☐ EP ☐ PEP Localização EP: _____
Rx de tórax: ☐ presença de cavidade ☐ ausência de cavidade ☐ normal
Data início tto: ____/____/____ Evolução tto: _____

DADOS DA INFECÇÃO PELO HIV

Categoria exp HIV: ☐ sexual hetero ☐ sexual homo ☐ sexual bissexual
☐ sanguínea transfusão ☐ sanguínea drogadição
Diagnóstico HIV: ☐ prévio ☐ concomitante data do ELISA: ____/____/____
Tempo diagnóstico de AIDS: _____ meses CD4+: _____

ANTECEDENTES DE CONTATO COM TB

☐ SIM ☐ NÃO

Nome do contato: _____ parentesco: _____ data: ____/____/____
Nome do contato: _____ parentesco: _____ data: ____/____/____

ANTECEDENTES DE INSTITUCIONALIZAÇÃO

☐ SIM ☐ NÃO

Casa Moradia HIV: ☐ sim ☐ não
Presídio: ☐ sim ☐ não
Sanatório TB: ☐ sim ☐ não
Abrigos: ☐ sim ☐ não
Outros: ☐ sim ☐ não

Instituição 1: _____ data I: ____/____/____ data F: ____/____/____
Instituição 2: _____ data I2: ____/____/____ data F2: ____/____/____
Instituição 3: _____ data I3: ____/____/____ data F3: ____/____/____

ATENDIMENTO NO HC-UNICAMP

Início HC: ____/____/____ local HC: _____

LEITO-DIA ☐ não ☐ sim		
Data inicial (semana)	data final	frequência semanal

INTERNAÇÕES ☐ não ☐ sim		Nº internações: _____	
1. MI 2. Pneumo 3. EGA 4. PS 5. Outras			
Data inicial	data final	Enfermarias	Leito

RETARDO NA INSTITUIÇÃO DAS PRECAUÇÕES: () sim () não () não se aplica

DADOS MICROBIOLÓGICOS

Espécime	Data da coleta	Nº	BAAR direto	BAAR tratado	Nº de cópias de IS 6110	Cluster
	____/____/____					
	____/____/____					
	____/____/____					
	____/____/____					

ANEXO 5**MUNICÍPIOS COMPONENTES DA DIREÇÃO REGIONAL DE SAÚDE XII DO ESTADO DE SÃO PAULO**

- Águas de Lindóia	- Louveira
- Americana	- Monte Alegre do Sul
- Amparo	- Monte Mor
- Artur Nogueira	- Morungaba
- Atibaia	- Nazaré Paulista
- Bom Jesus dos Perdões	- Nova Odessa
- Bragança Paulista	- Paulínia
- Cabreúva	- Pedra Bela
- Campo Limpo Paulista	- Pedreira
- Campinas	- Pinhalzinho
- Cosmópolis	- Piracaia
- Holambra	- Santo Antônio de Posse
- Hortolândia	- Santa Bárbara D'Oeste
- Indaiatuba	- Serra Negra
- Itupeva	- Socorro
- Itatiba	- Sumaré
- Jaguariúna	- Tuiuti
- Jarinu	- Valinhos
- Joanópolis	- Vargem
- Jundiaí	- Várzea Paulista
- Lindóia	- Vinhedo

Fonte: Direção Regional de Saúde XII

ANEXO 6

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas-S.P.
☎ 0__ 19 7888936
fax 0__ 19 7888925
✉ cep@head.fcm.unicamp.br

PARECER PROJETO Nº 199/2000

I - IDENTIFICAÇÃO

Título do projeto: **"EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DA TUBERCULOSE ENTRE
PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA EM
UM HOSPITAL TERCIÁRIO.."**

Pesquisador responsável: Prof. Dr. MARCELO DE CARVALHO RAMOS

II - OBJETIVOS

Determinar a frequência de transmissão do *Mycobacterium tuberculosis* entre pacientes infectados pelo HIV atendidos em diversas unidades em um hospital universitário brasileiro contribuindo para a avaliação e reestruturação das medidas de controle da doença no ambiente hospitalar no Brasil.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo retrospectivo de pacientes internados e/ou atendidos em qualquer unidade do HC-UNICAMP que sejam infectados pelo HIV e que tenham culturas positivas para *M. tuberculosis* obtidas em qualquer espécimen clínico. Serão coletados dados nos prontuários dos pacientes referentes a infecção pelo HIV, à tuberculose e variáveis relacionadas à transmissão da tuberculose.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

A participação na pesquisa não acarretará em nenhuma alteração de procedimento ou de conduta terapêutica. Os dados de identificação serão mantidos em sigilo. Existe comprometimento por parte dos pesquisadores em enviar resultados relevantes para os prontuários dos pacientes e contactá-los, caso os dados estudados possibilitem benefícios ou indiquem riscos para a saúde daqueles ainda vivos.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado os termos do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - DATA DA REUNIÃO

A ser homologada na VII Reunião Ordinária do CEP em 06 de agosto de 2000


Prof. Dra. Carmen Silvia Batuzzo
VICE-PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

ANEXO 7

QUIMIOPROFILAXIA PARA TUBERCULOSE EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV ATUALIZAÇÃO DAS RECOMENDAÇÕES PARA TRATAMENTO DA COINFEÇÃO HIV- TUBERCULOSE EM ADULTOS E ADOLESCENTES (BRASIL, 2000b)

INDICAÇÕES (1) (2) Indivíduo sem sinais ou sintomas sugestivos de tuberculose:

A. Com radiografia de tórax normal e: 1) reação ao PPD maior ou igual a 5 mm **(3)** ; 2) contactantes intra-domiciliares ou institucionais de tuberculose bacilífera, ou 3) PPD não reator ou com endureção entre 0-4 mm, com registro documental de ter sido reator ao teste tuberculínico e não submetido à tratamento ou quimioprofilaxia na ocasião.

B. Com radiografia de tórax anormal: presença de cicatriz radiológica de TB sem tratamento anterior (afastada possibilidade de TB ativa através de exames de escarro e radiografias anteriores), independentemente do resultado do teste tuberculínico (PPD).

ESQUEMA (4) Isoniazida , VO, 5-10 mg/kg/dia (dose máxima: 300mg/dia) por seis meses consecutivos.

(1) O teste tuberculínico (PPD) deve ser sempre realizado na avaliação inicial do paciente HIV+, independentemente do seu estado clínico ou laboratorial (contagem de células CD4+ e carga viral), devendo ser repetido anualmente nos indivíduos não reatores. Nos pacientes não reatores e em uso de terapia anti-retroviral, recomenda-se fazer o teste a cada seis meses no primeiro ano de tratamento, devido a possibilidade de restauração da resposta tuberculínica.

(2) A quimioprofilaxia com isoniazida (INH) reduz o risco de adoecimento a partir da reativação endógena do bacilo, mas não protege contra exposição exógena após a sua suspensão. Portanto, em situações de possível re-exposição ao bacilo da tuberculose, o paciente deverá ser reavaliado quanto a necessidade de prolongamento da quimioprofilaxia (caso esteja em uso de INH) ou de instauração de nova quimioprofilaxia (caso esta já tenha sido suspensa).

(3) Pacientes com imunodeficiência moderada/grave e reação ao PPD >10 mm, sugere-se investigar cuidadosamente tuberculose ativa (pulmonar ou extrapulmonar) antes de se iniciar quimioprofilaxia.

(4) Indivíduos HIV+ contactantes de pacientes bacilíferos com tuberculose INH-resistente **documentada** e que **não estão em uso de IP ou ITTRN incompatíveis com uso de RMP**, poderão fazer uso de quimioprofilaxia com esquema alternativo de Rifampicina (600 mg/dia) + Pirazinamida (2 g/dia) por dois meses, preferencialmente sob a supervisão de um especialista.

INH (H) = Isoniazida PZA (Z) = Pirazinamida ITRN = Inibidor da Transcriptase Reversa
Análogo de Nucleosídeo.