

PUBLICAÇÃO OFICIAL DO NÚCLEO HOSPITALAR DE EPIDEMIOLOGIA DO  
HOSPITAL SANTA CRUZ E PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM PROMOÇÃO  
DA SAÚDE - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA E FARMÁCIA DA UNISC

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção

ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014

EDIÇÃO ESPECIAL



VII MEETING OF THE  
**SLAMTB**  
14 A 17 SETEMBRO 2014  
CANELA | RS BRASIL

SOCIEDAD LATINOAMERICANA  
DE TUBERCULOSIS  
Y OTRAS MICOBACTERIOSIS

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## Editor:

- Marcelo CARNEIRO, MD, MSc  
• Universidade de Santa Cruz do Sul,  
Santa Cruz do Sul, RS, Brasil
- Andréia Rosane Moura VALIM, PhD  
• Universidade de Santa Cruz do Sul,  
Santa Cruz do Sul, RS, Brasil
- Lia Gonçalves POSSUELO, PhD  
• Universidade de Santa Cruz do Sul,  
Santa Cruz do Sul, RS, Brasil
- Eliane Carlosso KRUMMENAUER, RN  
Hospital Santa Cruz,  
Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

## Editores Associados:

- Claudia Maria Maio CARRILHO, MD, MSc  
• Universidade Estadual de Londrina,  
Londrina, PR, Brasil
- Fábio Lopes PEDRO, MD, MSc  
• Universidade Federal de Santa Maria,  
Santa Maria, RS, Brasil
- Luis Fernando WAIB, MD, MSc  
• Pontifícia Universidade Católica de Campinas,  
Campinas, SP, Brasil

## Assessoria Editorial:

Janete Aparecida Alves Machado, NT

## Revisão de Inglês:

Sonia Maria Strong

## Secretaria

Sabine Jackish

## Editor de Layout:

Álvaro Ivan Heming  
aih.alvaro@hotmail.com

## Elaboração, veiculação e informações:

Núcleo de Epidemiologia do Hospital Santa Cruz  
Rua Fernando Abott, 174 - 2º andar  
Bairro Centro - Santa Cruz do Sul  
Rio Grande do Sul  
CEP 96810-150  
TELEFONE/FAX: 051 3713.7484 / 3713.7449  
E-MAIL: nhe\_hsc@unisc.br

**Veiculação:** Virtual

## Conselho Editorial:

- Alberto Novaes Ramos JUNIOR, PhD  
Universidade Federal do Ceará, UFCFortaleza, CE- Brasil
- Alexandre Vargas SCHWARZBOLD, MD, MSc  
Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil
- Andréia Lúcia Gonçalves da SILVA, Ft, MSc  
Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil
- Andreza Francisco MARTINS, PhD  
Centro Universitário Metodista, Porto Alegre, RS, Brasil
- Daniel Gomas de Alvareng, MSc  
Universidade Vale do Rio Doce, UNIVALE - Governador Valadares, MG -Brasil
- David Jamil HADAD, MD  
Núcleo de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo  
NDI/ UFES, ES, Brasil
- Diego Rodrigues FALCI, MD, MSc  
Grupo Hospitalar Conceição, Porto Alegre, RS, Brasil
- Dulciane PAIVA, PhD  
Universidade de Santa Cruz do Sul, UNISC - Santa Cruz do Sul, RS - Brasil
- Flavia Julyana Piña TRENCH, MD, MSc  
Hospital Costa Ministro Cavalcanti, Foz do Iguaçu, PR, Brasil
- Gisela UNIS, MD  
Hospital Sanatório Partenon - HSP, RS, Brasil
- Guilherme Armond  
Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG - Belo Horizonte, MG - Brasil
- Heloisa Helena Karnas Hoefel, Dr  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS - Brasil
- Karen Mattos, MSc  
Centro Universitário Franciscano, UNIFRA - Santa Maria, RS - Brasil
- Lessandra MICHELIM, MD, PhD  
Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil
- Luciano DURO, Dr  
Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil
- Ludmila BAETHGEN, PhD  
Hospital Dom Vicente Scherer, Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS -Brasil
- Marcos Toshiyuki TANITA, MD  
Hospital Universitário de Londrina, Londrina, PR, Brasil
- Márcia PERUGINI, PhD  
Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil
- Nádia Mora KUPLICH, RN, MSc  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
- Pedro Almeida, MD  
Fundação Universidade do Rio Grande - FURG, RS, Brasil
- Rodrigo Pereira DUQUIA, PhD  
Universidade Federal de Pelotas, UFPel -Pelotas, RS- Brasil
- Suzanne BRADLEY, MD  
University of Chigaco, Ann Arbor, Michigan, United States of America
- Thiago NASCIMENTO, MSc  
Universidade Federal do Espírito Santo, UFES - Vitória, ES- Brasil
- Valéria SARACENI, PhD  
Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, RJ - Brasil
- Valeriano CORBELINI, MD, PhD  
Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, RS- Brasil

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

R454 Revista de epidemiologia e controle de infecção [recurso eletrônico] / Núcleo Hospitalar de Epidemiologia do Hospital Santa Cruz, Programa de Pós Graduação em Promoção da Saúde. Vol. 4, n. 2 (2014) Abr/Jun. - Santa Cruz do Sul : EDUNISC, 2014.

Dados eletrônicos.

Modo de acesso: World Wide Web: <<http://www.unisc.br/edunisc>>

Trimestral

eISSN 2238-3360

Temas: 1. Epidemiologia - Periódicos. 2. Microbiologia - Periódicos.

3. Doenças transmissíveis - Periódicos.

I. Núcleo Hospitalar de Epidemiologia do Hospital Santa Cruz. II. Título.

CDD: 614.405

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 1 - 2014 - Jan/Mar

## **EDITORIAL**

06

## **EVENTO**

07

## **ORAL PRESENTATION**

EVOLUTION, GENETICS AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

08

NEW DRUGS

08

NEW VACCINES

09

HOST-PATHOGEN RELATIONSHIP

09

DIAGNOSIS

10

NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA

10

## **POSTER PRESENTATION**

EVOLUTION, MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND GENETICS

12

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

19

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 1 - 2014 - Jan/Mar

NEW DRUGS

26

DRUG RESISTANCE

30

NEW VACCINES

40

HOST-PATHOGEN RELATIONSHIP

43

DIAGNOSIS

48

OPERATIONAL RESEARCH

63

NEW CONSORTIA FOR INTERNATIONAL RELATIONS

79

LEPRA

79

NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA

80

VETERINARY IMPORTANCE MYCOBACTERIA

86

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## EDITORIAL



The identification of *Mycobacterium tuberculosis* as the etiological agent of tuberculosis, conducted by Robert Koch in 1882, enabled the development of important tools for controlling the disease, such as vaccines, antibiotics and diagnostic methods. Nevertheless, this old disease, which follows humanity since ancient times, still makes thousands of victims worldwide, killing more than one million people annually, especially in the poorest regions of the planet. In recent years, the knowledge about tuberculosis and *M. tuberculosis* increased significantly, giving rise to a new generation of preventive, diagnostic and therapeutic tools that can minimize the morbidity and mortality caused by tuberculosis.

The VII SLAMTB MEETING, along with IV NATIONAL TB NETWORK WORKSHOP, from 14-17 September 2014 in the city of Canela-RS, organized a program, which will address various issues related to tuberculosis and other mycobacterial infections, ranging

from basic research to translational research. Both events have over 300 registrants from 17 countries and 20 Brazilian states, 200 abstracts submitted and 86 speakers, of which 31 from abroad.

Holding an event of this magnitude is only possible when it involves a partnership that goes from those involved with the organization to the sponsors and supporters of the event. However, the importance of the event is given by the participation of speakers and participants that traveling from distant places bring to the academic setting the most update and promising findings on tuberculosis and other mycobacterial infections. Thus, we thank all those who made this event possible and who brightened it with their presence.

We are sure that we will come out stronger from this event, not only for the knowledge gained, but also by the partnerships established.

**Dr. Pedro Eduardo Almeida da Silva**  
President of VII MEETING SLAMTB

**Dr. Andrea von Groll**  
President of Organization Commission

EVENTO

# VII MEETING OF THE SLAMTB & IV National Workshop of Brazilian Tuberculosis Research Network

REALIZAÇÃO:



Rede Brasileira de Pesquisa em Tuberculose

COMISSÃO CIENTÍFICA:

- **Dra. Andrea Von Groll**  
Universidade Federal do Rio Grande FURG - Brasil
- **Dr. Antonio Ruffino Netto**  
FMRP-USP - Brasil
- **Dr. Afranio Kritski**  
FM-UFRJ - Brasil
- **Dr. Angel Adrian Cataldi**  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA - Argentina
- **Dr. Érica Chimara**  
Instituto Adolfo Lutz - Brasil
- **Dr. Hector Ricardo Morbidoni**  
Universidad Nacional de Rosario - UNR - Argentina
- **Dr. Jose Roberto Lapa e Silva**  
FM-UFRJ - Brasil
- **Dr. Juan Carlos Palomino**  
Ghent University - Bélgica
- **Dra. Lia Gonçalves Possuelo**  
Universidade de Santa Cruz do Sul - Brasil
- **Dra. Maria Jesus Garcia**  
Universidad Autónoma de Madrid - UAM - Espanha
- **Dra. Martha Isabel Murcia Aranguren**  
Universidad Nacional de Colômbia - Colômbia
- **Dra. Martha Maria Oliveira**  
Rede TB - Brasil
- **Dra. Nora Morcillo**  
Dr. Cetrángolo Hospital - Argentina
- **Dra. Patricia Del Portillo**  
CORPOGEN - Colômbia
- **Dr. Pedro Eduardo Almeida da Silva**  
Universidade Federal do Rio Grande FURG - Brasil
- **Profa. Dra Sylvia Cardoso Leão**  
Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Brasil
- **Prof. Dr. Wellman Ribón**  
Universidad Industrial de Santander - UIS - Colômbia

**Revisores convidados:**

- **Dra. Elis Regina Dalla Costa**  
FEPPs - Brasil
- **Iris Estrada**  
Garcia Escuela Nacional de Ciencias Biológicas ENCB-IPN - Mexico
- **Jorge Gonzalez-y-Merchand**  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas ENCB-IPN - Mexico
- **Maria Alice Silva Telles**  
Instituto Adolfo Lutz - Brasil
- **Maria Cristina Vidal Pessolani**  
Fundação Oswaldo Cruz - Brasil
- **Maria Isabel Romano**  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA - Argentina
- **Prof. Dra Roxana Cardozo**  
Unversidade Federal de Pelotas - Brasil

## ORAL PRESENTATION

### ABSTRACTS

## EVOLUTION, GENETICS AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

POSTER Nº: 206

### THE GENOMICS OF THE EXPERIMENTAL PULMONARY TUBERCULOSIS

Camilo Molina<sup>1</sup>, Rogelio Hernandez<sup>1</sup>, Clara Espitia<sup>2</sup>, Fernando Lopez<sup>3</sup>, Jesus Mrtinez<sup>4</sup>, Adrian Ochoa<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran (INCMNSZ);

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM (IIB-UNAM); <sup>3</sup>Instituto de Fisiología Celular de la UNAM (IFC-UNAM); <sup>4</sup>Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas del INSP (CISEI-INSP); <sup>5</sup>Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

**Background and Objectives:** The molecular analysis of DNA, RNA and proteins derived from specimens of diagnosis tissue has revolutionized many areas of medicine, changing the way we diagnose and treat a great number of pathologies. In order to obtain transcriptional patterns, previous techniques required whole tissue homogenates which include a large and diverse cell population, lowering the study's specificity, or the use of cell cultures which do not express the tissue's complete dynamics. In order to avoid such difficulties, novel techniques like laser capture microdissection (LCM) allow for the uptake of specific cell types in whole tissue samples. Tuberculosis remains a world public health threat, with more than 1.1 million deaths a year and one third of the world population infected. Previous models have stated the importance of macrophages (MQ) in the control of the disease after a person becomes infected. In the present study we aim to perform the sequencing of the transcriptome from only MQ obtained with LCM. **Methods:** Cells came from male Balb/c mice infected with stock strain H37Rv and sacrificed on days 1, 21 and 60 post-infection which represent the early, protective and late phase of infection. Using RNA obtained from MQ through LCM, we performed qPCR. **Results & Conclusion:** demonstrate the activation of MQ on the early phase of the infection (Day 21) is given by the classical pathway (increased TNF- $\alpha$ , IL-12, iNOs) while the activation of MQ in the late phase of infection (Day 60) is given by the alternative pathway (increased Arg 1, TGF- $\beta$ , CCL5, CCR2, CCR1). **Keywords:** Tuberculosis, macrophage, activation, transcriptome.

POSTER Nº: 226

### RISK FACTORS ASSOCIATED WITH RECENT TRANSMISSION TUBERCULOSIS CAUSED BY DIFFERENT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IS6110-RFLP LINEAGES IN BRAZIL

Renata Lyrio Peres Nóbrega<sup>1,2</sup>, Solange Alves Vinhas<sup>1</sup>, Fabíola Karla Correa Ribeiro<sup>1</sup>, Moisés Palaci<sup>1</sup>, Thiago Nascimento do Prado<sup>1,2</sup>, Eliana Zandonade<sup>2</sup>, Philip Noel Suffys<sup>3</sup>, Jonhatan E. Golub<sup>4</sup>, Lee W. Riley<sup>5</sup>, Ethel Leonor Noia Maciel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo-UFES, Brasil; <sup>2</sup>Núcleo de Doenças infecciosas - NDI/UFES, Brasil. <sup>3</sup>Universidade Federal do Espírito Santo-UFES, Laboratório de Epidemiologia - Lab-Epi/UFES, Brasil; <sup>4</sup>Núcleo de Doenças infecciosas - NDI, Brasil. <sup>5</sup>Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, Rio de Janeiro, Laboratório de Biologia Molecular e Aplicada a Micobactérias, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>6</sup>School of Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA. <sup>7</sup>Division of Infectious Disease and Vaccinology, School of Public Health, University of California, Berkeley, CA, USA. E-mail: rlpnobrega@gmail.com

**Background:** Tuberculosis (TB) transmission is associated with patient-related risk factors. However, DNA fingerprinting analysis has provided anecdotal evidence suggesting a role for bacteriological factors in TB transmission. **Objectives:** To determine risk factors associated with tuberculosis resulting from recent transmission of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) of different RFLP lineages in Brazil. **Methods:** Case control study of new TB cases identified in the metropolitan area of Vitoria, Brazil between 2000 and 2010. TB patients infected with strains with an identical IS6110-RFLP patterns comprised of 10 or more isolates per cluster ("big cluster") were considered cases; those with an identical pattern comprised of 9 or fewer isolates per cluster ("small clusters") or with unique patterns were considered controls. Demographic, clinical, and epidemiologic data was analyzed. **Results:** Our results showed that among 980 Mtb isolates, there were seven big clusters circulating in the metropolitan area of Vitoria, Brazil. Among those, ES14 family strains accounted for 46% of the "big cluster". The RD<sub>Rio</sub> genotype is 100% present in all big clusters. Our hierarchical multivariate model showed that patients belonging to LAM family and the RD<sub>Rio</sub> genotype were more likely to be in "big clusters" (adjusted OR = 2.55, 95% CI 1.31 - 4.95; p= 0.005; adjusted OR= 3.03, 95% CI 1.75 - 5.23; p= 0.001; respectively) than those in the 2 control groups. **Conclusions:** These results suggests that differences in strain genotype can contribute to the extent of cluster growth and TB transmission: some Mtb strains are more successful in causing increased transmission and large clusters than others. **Keywords:** Tuberculosis, DNA fingerprinting, risk factors, *Mycobacterium tuberculosis*

### ABSTRACTS

## NEW DRUGS

POSTER Nº: 182

### In silico DESIGN OF ANALOGUE PEPTIDES DERIVED OF LL37 WITH IMPROVED

## ORAL PRESENTATION

### ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY *in vitro*

Sandra M. Chingaté<sup>1</sup>, Janneth Gonzalez<sup>2</sup>, Luz Mary Salazar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Colombia; <sup>2</sup>Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

E-mail: smchingatel@unal.edu.co

**Background:** Tuberculosis has become a major public health problem due to the emergence of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains; therefore, the development of new antituberculosis compounds is necessary. In this work, the potential use of peptides derived of the LL37 antimicrobial peptide, as possible compounds with enhanced antimycobacterial activity were assessed. **Methods:** Using the server (<http://www.imtech.res.in/raghava/antibp/index.html>) and database (APD, <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>), derived amino acid sequences of LL37 that displayed the best antibacterial score, cationic and helical structure that improve their interaction with the mycobacterial membrane were obtained. The same analysis was used to modify the primary structure of the selected amino acid sequences in order to increase their antimycobacterial features. The peptide synthesis by the Fmoc technique, characterized by MALDI-TOF and their activity was determined on *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 cells using resazurin. In addition, were assessed the hemolytic activity, their ability to interfere the basal ATPase activity of *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 plasma membrane and cytotoxic activity on murine macrophages J774. **Results:** The experimental strategy allowed to find the 15 amino acid sequence derived of LL37 with the best antibacterial characteristics and helical structure (LL37-A). The replacement of some amino acids of the LL37-A enabled to find a new sequence (LL37-B) with helical structure, improved positive charge and augmented antibacterial value. The LL37-B showed a lower MIC 600µg/mL, hemolytic activity 1,10 % and inhibition of the basal ATPase activity of *M. smegmatis* plasma membrane 50,6%, and not toxicity over murine macrophages. **Conclusion:** The structural modification of peptides using bioinformatics analysis is useful tool for the design of antimicrobial peptides with improved antimycobacterial activity. **Keywords:** LL37, antibacterial peptides, tuberculosis

## ABSTRACTS NEW VACCINES

POSTER N°: 8

### A NEW RECOMBINANT BCG VACCINE INDUCES SPECIFIC TH17 AND TH1 EFFECTOR CELLS WITH HIGHER PROTECTIVE EFFICACY AGAINST TUBERCULOSIS

Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>, Adeliane C. da Costa<sup>1</sup>, Abadio O.C. Junior<sup>1</sup>, Fabio M. Oliveira<sup>2</sup>, Sarah V. Nogueira<sup>2</sup>, Joseane D. Rosa<sup>2</sup>, Danilo P. Resende<sup>2</sup>, Andre Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Brazil.

E-mail: apkipnis@gmail.com

**Rationale and Objectives:** Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) that is a major public health problem. The vaccine used in TB prevention is the *Mycobacterium bovis* - BCG that presents a variable efficacy in protecting against pulmonary TB. Thus, the development of new vaccines with superior BCG protection efficacy has been the target of several studies. **Methods:** Here we constructed a new recombinant BCG vaccine expressing a fusion protein composed of immune epitopes from Ag85C, MPT51 and HspX (CMX) and evaluated its immunogenicity and protection in a murine model of infection. **Results:** The stability of the vaccine *in vivo* was maintained up to 20 days post vaccination. rBCG-CMX is highly phagocytized by peritoneal macrophages and induces NO production. After mouse vaccination, this vaccine induced specific immune response to the fusion protein in cells from lungs and spleens. Vaccinated mice presented higher amounts of Th1, Th17, and polyfunctional specific Th cells. The vaccine reduced almost half a log of the lung bacterial load when compared to BCG vaccinated animals. **Conclusion:** This study shows a new promising vaccine for tuberculosis posing a candidate for clinical trials. **Keywords:** fusion protein, recombinant BCG, vaccine, protection.

## ABSTRACTS

### HOST-PATHOGEN RELATIONSHIP

POSTER N°: 240

### CHARACTERIZATION OF Rv2577 AND Rv2617c GENES AS VIRULENCE FACTORS OF *Mycobacterium tuberculosis*

Marina A. Forrellad<sup>1</sup>, Federico C. Blanco<sup>1</sup>, Elizabeth A. García<sup>1</sup>, Laura I. Klepp<sup>1</sup>, María de la P. Santangelo<sup>1</sup>, Fabiana Bigi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Argentina. E-mail: forrellad.marina@inta.gob.ar

**Background and objective:** *Mycobacterium tuberculosis* is the causative agent of Tuberculosis. Once in the host, the bacterium can be eliminated, to cause an acute infection or to produce a prolonged chronic infection. The final outcome depends on the bacterium's virulence factors and the host immune system. Our group has studied a large number of mycobacteria virulence factors among them has been demonstrated that the Rv2577 gene is up-regulated in a *M. bovis* hypervirulent strain and

## ORAL PRESENTATION

also that *Erp* protein interacts with the Rv2617c. The aim of the present study is to determine whether the Rv2577 and Rv2617c genes encoding virulence factors in *M. tuberculosis* and to approximate their biological function. **Methods:** For this purpose, the wild type (wt), the Rv2577 and Rv2617c mutants and complemented strains were used to infect J774 murine macrophages in which the survival and intracellular traffic were studied. **Results:** Interestingly, the CFUs were increased in the mutants shared to the wt in the first hours post infection (hpi) whereas a reduction in CFUs counting was observed in the mutants at 96hpi. Furthermore, confocal microscopy studies showed that both mutants co-localized with LAMP2 protein, a marker of late phagosomes. Also, an *in silico* studies showed that Rv2577 has sequence similarity with purple acid phosphatases suggesting a phosphatase activity which may be involved in the modulation of host signal proteins or to provide inorganic phosphate to the bacterium. **Conclusion:** Together these results indicate that mutants shown an attenuated phenotype suggesting that both Rv2577 and Rv2617c proteins are virulence factors important in TB pathogenesis.

**Keywords:** *M. tuberculosis*, virulence, proteins.

## ABSTRACTS DIAGNOSIS

POSTER Nº: 64

### FIRST APPROACH TO THE IDENTIFICATION OF CLINICALLY RELEVANT NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA (NTM) FROM SOLID MEDIA BY MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION SPECTROMETRY (MALDI-TOF MS) PROTEIN ANALYSIS

**María Belén Orlandoni<sup>1</sup>, Roxana Paul<sup>1</sup>, Johana Monteserin<sup>1,2</sup>, Griselda Lafuente<sup>1</sup>, Viviana Ritacco<sup>1,2</sup>, Beatriz López<sup>1</sup>**  
1INEI-ANLIS Dr. C. Malbrán, Velez Sarsfield 563, CABA; 2CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: borlandoni@anlis.gov.ar

**Background:** NTM comprise a large group of environmental organisms, many of which are opportunistic human pathogens. NTM identification continues posing a challenge to diagnostic laboratories. Recently, the widespread implementation of MALDI-TOF MS in different health care settings has enabled to reduce turnaround time and cost of bacterial identification. **Objective:** To evaluate MALDI-TOF MS protein analysis for identification of clinically relevant NTM species. **Methods:** We included 57 clinical isolates of 13 NTM species (47 from patients with proven mycobacterioses). We used concordant results of pheno-

typic tests and PRA-hsp65 as gold standard for species identification. We applied the manufacturer protocol (Biotyper system, Bruker Daltonics) for protein extraction from Löwenstein-Jensen slants and spotted duplicate samples onto a steel target. Each spot was measured using 240 laser shots. Spectra were analyzed against the Bruker database v1, which is still deficient regarding both number of NTM species represented and number of spectra per NTM species. According to the manufacturers, optimal identification to the species-level is achieved with scores  $\geq 1.7$  while scores  $< 1.7$  are considered unreliable. **Results:** MALDI-TOF MS identified 50/58 (86%) isolates to the species level with different degrees of confidence: 42/50 (86%) yielded scores  $> 1.7$  and 8/50 (14%) scores  $< 1.7$ . Four of the eight identification failures occurred for species represented by only one spectrum in the Bruker database. **Conclusions:** MALDI-TOF MS shows promise as a powerful tool to identify clinically relevant NTM. We are currently optimizing the extraction protocol and building a customized NTM database to maximize the accuracy of the method.

**Keywords:** MALDI, nontuberculous mycobacteria, mass spectrometry.

## ABSTRACTS

### NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA

POSTER Nº: 210

### CHARACTERIZATION OF 17 STRAINS BELONGING TO THE MYCOBACTERIUM SIMIAE COMPLEX AND DESCRIPTION OF "MYCOBACTERIUM PARAENSE SP. NOV"

**Ana Costa<sup>1</sup>, Tarcisio Fedrizzi<sup>2</sup>, Maria Lopes<sup>1</sup>, Monica Pecorari<sup>3</sup>, Wana da Costa<sup>1</sup>, Elisabetta Giacobazzi<sup>2</sup>, Jeann Bahia<sup>1</sup>, Veronica De Sanctis<sup>2</sup>, Karla Lima<sup>1</sup>, Roberto Bertorelli<sup>2</sup>, Antonella Grottola<sup>3</sup>, Anna Fabio<sup>3</sup>, Alessandro Mariottini<sup>4</sup>, Pamela Ferretti<sup>2</sup>, Francesca Di Leva<sup>2</sup>, Giulia Serpini<sup>3</sup>, Sara Tagliazucchi<sup>3</sup>, Fabio Rumpianesi<sup>3</sup>, Olivier Jousson<sup>2</sup>, Nicola Segata<sup>2</sup>, Enrico Tortoli<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Evandro Chagas Institute, Brazil; <sup>2</sup>University of Trento, Italy; <sup>3</sup>Mondena University Hospital, Italy; <sup>4</sup>Careggi University Hospital, Italy; <sup>5</sup>San Raffaele Scientific Institute, Italy.

E-mail: anacosta@iec.pa.gov.br

**Justification and Objective:** The mycobacteria related to *Mycobacterium simiae* constitute at present the largest group, or complex, within the genus *Mycobacterium*. It actually includes 17 officially recognized species. Seventeen strains sharing phenotypic and genotypic characteristics consistent with this complex were isolated, in many cases repeatedly (39 isolations in total) from 16 patients with pulmonary symptoms. Most of such mycobacteria were found during the re-identification, by means of DNA sequencing, of clinical isolates which, with PCR Restriction

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## ORAL PRESENTATION

tion Analysis (PRA), had either been previously identified as *Mycobacterium asiaticum* or had presented unknown PRA-patterns. **Methods:** Fourteen mycobacterial strains isolated from pulmonary samples of independent patients in the state of Pará (Brazil), and three strains isolated in Italy, were characterized using a polyphasic approach, including whole genome sequencing. **Results:** The genetic sequences of these strains showed a high degree of similarity, with the *Mycobacterium interjectum* being the most closely related species. For 14 of them evidence emerged supporting their inclusion in a previously unreported *Mycobacterium* species. The new species is characterized by slow growth, unpigmented or pale yellow scotochromogenic colonies, and HPLC mycolic acid profile different from other known mycobacteria. In different genetic regions high sequence microheterogeneity was detected. **Conclusion:** The polyphasic characterization of such strains leads us to uphold the assignment of 14 of them to a novel species for which the name *Mycobacterium paraense* is proposed. The type strain is IEC26. **Keywords:** Pulmonary Disease, *Mycobacterium simiae* complex, "*Mycobacterium paraense*"

## POSTER PRESENTATION

### ABSTRACTS **EVOLUTION, MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND GENETICS**

POSTER Nº: 46

#### **GUANOSINE MONOPHOSPHATE SYNTHASE IS AN ESSENTIAL ENZYME IN *Mycobacterium tuberculosis***

Anne Drumond Villela<sup>1,2</sup>, Valnês Rodrigues-Junior<sup>1,2</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2,3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Brazil; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brazil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Brazil.  
E-mail: anne.drumond@acad.pucrs.br

**Background and Objectives:** Guanosine monophosphate (GMP) synthase from *Mycobacterium tuberculosis*, encoded by *guaA* gene, is a key enzyme in both purine de novo synthesis and salvage pathway of guanine nucleotides. The goals of this work are to knockout *guaA* gene from *M. tuberculosis*, to evaluate its essentiality, and to validate GMP synthase as a molecular target for drug development against tuberculosis. **Methods:** DNA fragment including *guaA* gene and flanking regions was amplified from *M. tuberculosis* H37Rv genomic DNA. Target gene was disrupted by the insertion of a kanamycin cassette and cloned into pPR27xylE. The pPR27xylE vector contains the counterselective *sacB* gene, the reporter gene *xylE*, and a mycobacterial thermo-sensitive origin of replication, which enabled a two-step selection of transformants in *M. tuberculosis* H37Rv strain. The first step was done on plates containing kanamycin at 32°C, while the second was carried out on plates containing kanamycin, sucrose, and guanine at 39°C. Colonies were screened by PCR. The *guaA* gene from *Mycobacterium smegmatis* was amplified and cloned into pNIP40 vector, which was used for complementation. **Results:** White colonies obtained at 39°C were screened by PCR and none of them were knockout for *guaA* gene. The complementation with *guaA* gene from *M. smegmatis* enabled the homologous recombination event, confirming *guaA* essentiality under the employed experimental conditions. **Conclusion:** These experiments showed that *guaA* is essential and validated this gene as a molecular target for drug design. GMP synthase inhibitors might prove to be useful for future development of a new drug to treat human tuberculosis. **Keywords:** Gene knockout techniques, *Mycobacterium tuberculosis*, Essential genes.

POSTER Nº: 77

#### **STRAIN CLASSIFICATION OF *Mycobacterium tuberculosis* isolates IN BRAZIL BASED ON GENOTYPES OBTAINED BY SPOLIGOTYPING, Mycobacterial INTERSPERSED REPETITIVE UNIT TYPING AND THE PRESENCE OF LARGE SEQUENCE AND SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM**

Sidra E. G. Vasconcellos<sup>1,8</sup>, Chyntia Carolina Acosta<sup>2</sup>, Lia Lima Gomes<sup>1</sup>, Emilyn Costa Conceição<sup>3</sup>, Karla Valéria Lima<sup>3</sup>, Marcelo Ivens de Araujo<sup>1</sup>, Maria de Lourdes Leite<sup>4</sup>, Flávio Tannure<sup>4</sup>, Paulo Cesar de Souza Caldas<sup>5</sup>, Harrison M. Gomes<sup>1</sup>, Adalberto Rezende Santos<sup>1</sup>, Michel K. Gomgnimbou<sup>7</sup>, Christophe Sola<sup>7</sup>, David Couvin<sup>6</sup>, Nalin Rastogi<sup>6</sup>, Neio Boechat<sup>8,9</sup>, Philip Noel Suffys<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil. <sup>2</sup>Laboratory of Cellular Microbiology, Oswaldo Cruz Institute. <sup>3</sup>Instituto Evandro Chagas, Pará, Brazil. <sup>4</sup>Hospital Municipal Rafael de Paula Souza, Rio de Janeiro, Brazil. <sup>5</sup>Centro de Referência Professor Hélio Fraga, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. <sup>6</sup>Institut Pasteur de Guadeloupe, Guadeloupe. <sup>7</sup>CNRS-Université Paris- Sud, Orsay, France. <sup>8</sup>University Hospital Clementino Fraga Filho Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. <sup>9</sup>Faculty of Medicine, University Hospital Clementino Fraga Filho, Rio de Janeiro.  
E-mail: vasconcellossidra@gmail.com

**Background and Objectives:** Rio de Janeiro is endemic for tuberculosis (TB) and presents the second largest prevalence of the disease in Brazil. Here, we present the bacterial population structure of 218 isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, derived from 186 patients that were diagnosed between January 2008 and December 2009. **Methods:** Genotypes were generated by means of spoligotyping, 24 MIRU-VNTR typing and presence of *fbpC*<sup>103</sup>, *RD*<sup>Rio</sup> and *RD174*. **Results:** The results confirmed earlier data that predominant genotypes in Rio de Janeiro are those of the Euro American Lineages (99%). However, we observed differences between the classification by spoligotyping when comparing to that of 24 MIRU-VNTR typing, being respectively 43.6% vs. 62.4% of LAM, 34.9% vs. 9.6% of T and 18.3 % vs. 21.5% of Haarlem. Among isolates classified as LAM by MIRU typing, 28.0% did not present the characteristic spoligotype profile with absence of spacers 21 to 24 and 32 to 36 and we designated these conveniently as "LAM-like", 79.3% of these presenting the LAM-specific SNP *fbpC*<sup>103</sup>. The frequency of *RD*<sup>Rio</sup> and *RD174* in the LAM strains, as defined both by spoligotyping and 24 MIRU-VNTR loci, were respectively 11% and 15.4% demonstrating that *RD174* is not always a marker for LAM/*RD*<sup>Rio</sup> strains. **Conclusion:** We conclude that, although spoligotyping alone is a tool for classification of strains of the Euro-American lineage, when combined with MIRU-VNTRs, SNPs and *RD* typing, it leads to a much better understanding of the bacterial population structure and phylogenetic relationships among strains of *M. tuberculosis* in regions with high incidence of TB. **Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, spoligotyping, MIRU-VNTR, genetic diversity, Rio de Janeiro, *RD*<sup>Rio</sup>.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 130

### FREQUENCIA DE GENÓTIPOS/LINHAGENS DE CEPAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS NO PERÍODO DE 2000 A 2005 NO INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INI.

**Maria Cristina S. Lourenço<sup>1</sup>, Harrison M. Gomes<sup>2</sup>, Leonardo Bruno P. F. Barreto<sup>1</sup>, Rosa Maria C. Ferreira<sup>1</sup>, Alessandra Sabóia<sup>1</sup>, Valéria C. Rolla<sup>4</sup>, Afrânio L. Kristki<sup>3</sup>, Philip N. Suffys<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Bacteriologia e Bioensaios, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. <sup>3</sup>Programa Acadêmico da Tuberculose da Faculdade de Medicina da U.F.R.J., Rio de Janeiro, Brasil. <sup>4</sup>Laboratório Clínico de Micobacterioses, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: lourenco@ipecc.fiocruz.br

**Justificativa e objetivos:** Os métodos de genotipagem revolucionaram a epidemiologia da Tuberculose (TB). Evidências recentes sugerem que algumas linhagens podem estar associadas a distintas apresentações clínicas da TB. O objetivo do estudo foi descrever as linhagens de *Mycobacterium tuberculosis*. **Método:** Foram processadas pelo "Spoligotyping" 577 cepas de 386 pacientes com TB atendidos no INI. Consideramos todas as cepas do mesmo paciente sempre que isoladas em sítios diferentes. As cepas classificadas como Família LAM (Latin-American and Mediterranean), foram submetidas a PCR para detecção da deleção RD<sup>Rio</sup>. **Resultados:** A linhagem mais freqüente foi a Família LAM (50%), dentre estas 40% possuíam a deleção RD<sup>Rio</sup>. Em seguida a Família T (17,0%) seguida das Famílias Haarlem (15,0%), X (3%), Beijing (2%), EAI (East-African Indian) com 1%, tipos novos "NEW" 3%, "Orphan" com 2% e 5% de perfis desconhecidos. Foi observado entre as cepas uma resistência total de 13% e entre estas 3% de MDR. Os perfis de resistência a fármacos de primeira linha foram observados em sua maioria nas Famílias LAM, Haarlem, T e X, 54%, 12%, 16% e 10%, respectivamente. Todas as cepas da Família Beijing foram sensíveis aos fármacos. Entre 25 estirpes isoladas de hemocultura pertencentes às linhagens LAM9, Haarlem3 e T1, apenas uma era MDR (Haarlem3). **Conclusão:** As famílias mais frequentes foram a LAM, T, Haarlem e X, genótipos já associados a região. **Keywords:** Epidemiologia Molecular, Polimorfismo Genético, *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 133

### THE ROLE OF HLA CLASS II GENES IN THE TUBERCULIN SKIN TEST RESPONSE IN A NATIVE AMERICAN POPULATION FROM PARAGUAY

**Juliana Dal-Ri Lindenau<sup>1</sup>, Luciano Santos Pinto Guimarães<sup>2</sup>, Ana**

**Magdalena Hurtado<sup>3</sup>, Kim Hill<sup>3</sup>, Luiza Tamie Tsuneto<sup>5</sup>, Francisco Mauro Salzano<sup>1</sup>, Maria Luiza Petzl-Erler<sup>4</sup>, Mara Helena Hutz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; <sup>2</sup>Unidade de Epidemiologia e Estatística, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil; <sup>3</sup>School of Human Evolution & Social Change, Arizona State University, Tempe, AZ, USA; <sup>4</sup>Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brazil; <sup>5</sup>Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brazil. E-mail: julianadalri@yahoo.com.br

**Background and Objectives:** HLA molecules are one of the major components of the immune system therefore it is not surprising that polymorphisms in these molecules are associated with various immune-mediated diseases. Evidence for association with tuberculosis (TB) is more consistent for class II than for class I genes. An effective T cells response determines whether the infection resolves or develops into clinically evident disease and direct recognition of infected cells by class II MHC-restricted CD4+ T cells is required for control of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). TB is important among indigenous peoples in South America, not only because of its historical role in regional depopulation, but because it is still widespread. These groups have TB prevalence higher than those of the general populations of their countries with a greater risk of acquiring and dying from TB than non-Indians. PPD or tuberculin skin test determines if the individual is Mtb sensitized, through vaccination or infection. The aim of this study was to investigate the association between HLA class II alleles and PPD response in the Aché, a Native American population from Paraguay. **Methods:** The association among the outcome and genotypes was evaluated using prevalence ratios (PR), estimated by Poisson regression with robust variance. **Results:** Higher PPD reactivity prevalence was associated with DQA1\*03 and DRB1\*04:11 homozygous genotypes (PR=1.709; CI: 1.079-2.707; p=0.022). **Conclusion:** The HLA genotype of any individual shapes the T cell repertoire during negative and positive selection in the thymus and drives the antigen-specific effector and regulatory responses in the periphery. **Keywords:** Tuberculosis, human leukocyte antigen, Amerindians.

POSTER Nº: 136

### ANÁLISE GENOTÍPICA DE *Mycobacterium tuberculosis* ISOLADOS DE PACIENTES PRIVADOS DE LIBERDADE EM RIO GRANDE-RS

**João Luís Rheingantz Scaini<sup>1</sup>, Jeane Zanini da Rocha<sup>1</sup>, Andrea von Groll<sup>1</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brasil. E-mail: jlrscaini@yahoo.com.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) no sistema prisional, com prevalência e incidência cerca de 50 vezes superiores

## POSTER PRESENTATION

à comunidade geral, é um dos grandes obstáculos no controle da doença. A genotipagem do *Mycobacterium tuberculosis* em uma instituição prisional permite o melhor conhecimento da dinâmica da transmissão do bacilo. A Penitenciária Estadual do Rio Grande (PERG) possui a população prisional de, aproximadamente, 1000 detentos, apresenta prevalência de 14% de TB. Neste trabalho foi realizada a análise genotípica dos *M. tuberculosis* isolados de 11 pacientes da PERG entre maio de 2010 e maio de 2011. **Métodos:** A genotipagem foi realizada pelo método *Mycobacterium Interspersed Repetitive Units – Variable Number of Tandem Repeats (MIRU- VNTR)* utilizando 12 loci. A construção do dendograma foi feita no website <http://www.miru-vntrplus.org/> pelo *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA)*. **Resultados:** Dos 11 isolados estudados, cinco (45,45%) formaram um cluster por apresentar perfil genético idêntico, e seis isolados tiveram perfis genéticos diferentes. **Conclusão:** Foi observada uma baixa variedade genética entre os isolados dos pacientes do presídio, o que contrasta com a alta diversidade clonal encontrada na população livre desta cidade. A presença de um clone dominante indica a provável transmissão dentro da instituição prisional e alerta para medidas mais eficazes em seu controle. **Descritores:** Genótipo, prisões, transmissão de doença infecciosa, tuberculose.

POSTER Nº: 147

### **AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO DIRETAMENTE OBSERVADO (DOT) COM E SEM PROFILAXIA NA TRANSMISSÃO DA TUBERCULOSE EM CENTROS MÉDICOS DE SAÚDE DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO, UTILIZANDO TÉCNICAS DE TIPAGEM MOLECULAR EM CEPAS DE *M. tuberculosis***

**Eloise Brasil de Moraes<sup>1,2</sup>, Amanda Juliane Finardi<sup>1,2</sup>, Ana Grazia Mar-sico<sup>3</sup>, Lia Lima Gomes<sup>4</sup>, Harrison Magdinier Gomes<sup>4</sup>, Letícia Slompo<sup>1,2</sup>, Philip Noel Suffys<sup>4</sup>, Ida Maria Foschiani Dias Baptista<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Botucatu; <sup>2</sup>Instituto Lauro de Souza Lima; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro; <sup>4</sup>FIOCRUZ/ RJ.

E-mail: ifoschiani@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Visando áreas de alta endemicidade para tuberculose (TB) na cidade do Rio de Janeiro, o presente estudo objetiva avaliar a influência da terapia diretamente observada ("Directly Observed Therapy short-course" ou DOTS) e DOTS plus (com profilaxia de contatos domiciliares com TB latente ou com HIV) na transmissão recente da TB em comunidades do Rio de Janeiro. **Método:** Foram avaliados 353 isolados de *M. tuberculosis* pela análise de RFLP-IS6110, Spoligotyping e MIRU-VNTR. **Resultados:** As taxas de "clusters" para os

três métodos foram 20%, 29% e 72% para RFLP, MIRU-VNTR e spoligotyping respectivamente. Os clusters formados por RFLP-IS6110 foram considerados por MIRU-VNTR. Dos 101 isolados pertencentes a algum "cluster", 51,5% eram provenientes do grupo DOT e 48,5% do grupo DOT-A. Quando avaliamos agrupamentos de genótipos separadamente no DOT e DOT-A ou verificamos a taxa de "clusters" existentes, também não verificamos diferenças entre os dois esquemas. Os fatores de risco foram avaliados pela associação da formação de "clusters" dos isolados com transmissão recente entre os pacientes por meio dos métodos MIRU-VNTR e spoligotyping combinados. O único fator de risco relacionado com transmissão recente foi com isolado resistente ou multidroga resistente. **Conclusão:** Apesar dos números de implantação do DOTS no município serem favoráveis ao Programa de Controle da Tuberculose, e assumindo que existem pacientes com isolados de *M. tuberculosis* com genótipos idênticos pertencentes a cadeia de transmissão, nossos dados sugerem que no grupo DOT-A a transmissão recente tem acontecido com frequência parecida com o grupo DOT. **Descritores:** Tuberculose, Epidemiologia Molecular, *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 179

### **ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DO *Mycobacterium tuberculosis* NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

**Eloise Brasil de Moraes<sup>1,2</sup>, Amanda Juliane Finardi<sup>1,2</sup>, Heloisa da Silveira Paro Pedro<sup>3</sup>, Susilene M. Tonelli Nardi<sup>3</sup>, Ricardo L. D. Machado<sup>4</sup>, Lilian Castiglioni<sup>5</sup>, Phillip N. Suffys<sup>6</sup>, Harisson M. Gomes<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Botucatu; <sup>2</sup>Instituto Lauro de Souza Lima; <sup>3</sup>Instituto Adolfo Lutz; <sup>4</sup>Instituto Evandro Chagas; <sup>5</sup>Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto; <sup>6</sup>FIOCRUZ/ RJ.

E-mail: ifoschiani@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Há cada vez mais evidências de que, a variação das cepas de *M. tuberculosis* desempenham um papel importante no resultado da infecção por tuberculose e doença. Deste modo, existe uma necessidade de melhor compreender a diversidade global do *M. tuberculosis* e determinar se e como esta diversidade tem relevância para o controle global da TB. **Método:** Um total de 122 amostras de *M. tuberculosis* foram avaliadas por MIRU-VNTR e por Spoligotyping. O poder discriminatório foi determinado por Simpson's Discriminatory Index. **Resultados:** Das 122 amostras analisadas por MIRU-VNTR, 6 loci foram altamente polimórficos (0 a 9 alelos), nenhum marcador foi invariável. Quando observado o poder discriminatório dos diferentes MIRU-VNTR, uma alta diversidade alélica foi observada para os loci 23 que apresentou 8 (1 a 8 repetições), 40 apresentou 8 (1 a 8 repetições) e 39 apresentou 10 (0 a 9 repetições) alelos diferentes respectivamente. Os MIRUs menos variáveis foram

## POSTER PRESENTATION

10 que apresentou 6 (1 a 5 repetições), 4 apresentou 6 (0 a 5 repetições) 31 apresentou 6 (0 a 5 repetições), 16 apresentou 5 (0 a 4 repetições), 27 apresentou 5 (1 a 5 repetições), e 2 apresentou 4 (0 a 3 repetições) alelos respectivamente. Na análise de Spoligotyping até o momento obtivemos resultado para 58 amostras, sendo 18 da sublinhagem LAM. **Conclusão:** A diversidade genética observada foi suficiente para discriminar os isolados de *M. tuberculosis* nessa população. Os resultados de spoligotyping até o momento corroboram com os encontrados em todo o Brasil. **Descritores:** Tuberculose; *Mycobacterium tuberculosis*; MIRU-VNTR.

POSTER Nº: 185

### AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE À TUBERCULOSE RELACIONADA COM O POLIMORFISMO DELEÇÃO/INSERÇÃO -196 A -174 DO RECEPTOR CELULAR HUMANO TOLL-LIKE 2

Gabriel Tassi Mousquer<sup>1,2</sup>, Mariana Milano<sup>1,3</sup>, Gisela Unis<sup>4</sup>, Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>1</sup>, Elis Regina Dalla Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FEPPS - CDCT, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; <sup>4</sup>Hospital Sanatório Partenon, Brasil.

E-mail: marianamilano@hotmail.com

**Justificativa e objetivos:** os receptores celulares toll-like 2 (TLR2) são responsáveis por reconhecer padrões moleculares patógeno-associado e assim ativar resposta imunológica adequada contra microrganismos específicos como aqueles causadores da tuberculose (TB). Estudos envolvendo polimorfismos genéticos no receptor TLR2 identificaram um polimorfismo de deleção de 22 nucleotídeos (-196 a -174del) o qual altera significativamente a função do promotor deste gene e, portanto, interfere em sua expressão. O objetivo deste trabalho foi avaliar se os genótipos definidos por esse polimorfismo estão relacionados com suscetibilidade à TB pulmonar. **Métodos:** consiste em um estudo caso-controle prospectivo constituído de 200 pacientes com TB pulmonar e 200 indivíduos saudáveis. Até o momento foram avaliados 50 pacientes com TB pulmonar e 50 indivíduos saudáveis. O DNA foi extraído a partir de amostras de sangue total. Para o estudo, foi utilizada a técnica de PCR alelo-específico utilizando os seguintes oligonucleotídeos iniciadores: Forward: 5'cacggaggcagcgagaaa e Reverse: 5'ctgggccgtgcaaagaag. O produto amplificado foi observado através da exposição à luz ultravioleta após eletroforese com gel de agarose 4%. A visualização de uma banda de 286 pb foi considerada homozigoto selvagem, uma banda de 264 pb foi considerada como homozigoto variante, e o heterozigoto caracterizado por duas bandas de 286 pb e 264 pb. **Resultados:** nas populações avaliadas o

alelo para deleção apresentou frequências de 17% (pacientes com TB) e 21% (indivíduos saudáveis), já no alelo para inserção os valores foram de 85% e 75% respectivamente. **Conclusão:** não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p=0,5$ ) entre a frequência alélica ou genotípica nos grupos estudados. **Descritores:** tuberculose; imunologia; suscetibilidade a doenças.

POSTER Nº: 215

### ANÁLISE DO POLIMORFISMO -174G>C (RS1800795) QUANTO A SUSCETIBILIDADE A TUBERCULOSE, UM ESTUDO CASO-CONTROLE

Augusto Ferreira Weber<sup>1</sup>, Maribel Josimara Bresciani<sup>1</sup>, Carolina Marques Corrêa<sup>1</sup>, Thaís Evelyn Karnopp<sup>1</sup>, Lisiane Lisboa Carvalho<sup>2</sup>, Andréia Rosane de Moura Valim<sup>2</sup>, Andréa Lúcia Gonçalves da Silva<sup>3</sup>, Lia Gonçalves Possuelo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós Graduação Interdisciplinar em Promoção da Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. <sup>3</sup>Departamento de Educação Física e Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

E-mail: augustoweber.biologia@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é uma doença, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, de grande importância pelo seu impacto na saúde pública. Com o objetivo de analisar a suscetibilidade a TB, busca-se compreender e identificar polimorfismos relacionados a propensão ao desenvolvimento da doença. Entre os polimorfismos (SNP) estudados e relacionados com suscetibilidade à TB, o SNP -174G>C (rs1800795) no gene IL-6, tem sido relacionado como um promotor da infecção. **Métodos:** Estudo caso-controle realizado em Porto Alegre (RS) e no município de Santa Cruz do Sul (RS), incluindo 37 pacientes com tuberculose (casos) e 18 indivíduos saudáveis (controles). Foram coletadas amostras de sangue periférico e realizada a extração do DNA conforme descrito por MILLER e colaboradores (1988), posteriormente realizou-se a genotipagem do polimorfismo rs1800795 através da técnica de reação em cadeia polimerase em tempo real (qPCR). A análise descritiva dos resultados foram realizadas em SPSS 20.0. **Resultados:** 54,5% dos indivíduos apresentavam o genótipo de risco, GG, destes 73,3% eram casos e 26,7% de controle ( $p=0,50$ ). **Conclusão:** No presente estudo verificou-se uma frequência maior do genótipo GG entre os casos, entretanto não foi observada diferença significativa. O genótipo GG está relacionado com maior suscetibilidade à TB, entretanto se faz necessário aumentar o tamanho amostral para confirmar estes achados. **Descritores:** IL-6, Suscetibilidade, Tuberculose. **Apoio:** Decit/SCTIE/MS, por intermédio do CNPq, o apoio da FAPERGS e da SES/RS, Hospital Santa Cruz, Projeto de Pesquisa Dano, Reparação e Suscetibilidade em Doenças Pulmonares e Laboratório de Genética e Biotecnologia da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 216

### AVALIAÇÃO NO DANO DO DNA ATRAVÉS DO TESTE DE MICRÔNÚCLEO EM PORTADORES DE TUBERCULOSE, NO MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL

Maribel Josimara Bresciani<sup>1</sup>, Thaís Evelyn Karnopp<sup>1</sup>, Augusto Ferreira Weber<sup>1</sup>, Carolina Marques Corrêa<sup>1</sup>, Lisiane Lisboa Carvalho<sup>2</sup>, Andréia Rosane de Moura Valim<sup>2</sup>, Andréa Lúcia Gonçalves da Silva<sup>3</sup>, Lia Gonçalves Possuelo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil; <sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Promoção da Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Educação Física e Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

E-mail: maribeljbresciani@mx2.unisc.br

**Justificativa e Objetivos:** Segundo a OMS a tuberculose (TB) é um grave problema de saúde pública sendo a terceira causa de óbito por doenças infecciosas. O Teste de Micronúcleos (TMn) a partir de células da cavidade oral é um método em crescente aceitação. O potencial individual de susceptibilidade para o rápido declínio da função pulmonar em portadores de TB pode ser atribuído às variações genéticas que podem inferir na reparação do DNA. Neste sentido objetivou-se avaliar danos permanentes ao DNA, pelo TMn com análise de citoma de células bucais. **Métodos:** Estudo caso-controle incluiu 22 pacientes com TB, atendidos no ambulatório de TB do município de Santa Cruz do Sul e 22 controles com função pulmonar preservada, emparelhados por gênero e IMC. O TMn foi realizado conforme descrito por Thomas e colaboradores (2009) as análises descritivas realizadas utilizando-se SPSS 20.0. **Resultados:** Quando comparados casos e controles, observou-se frequências superiores de células binucleadas-BI ( $p=0,000$ ), células com cromatina condensada-CC ( $p=0,000$ ), cariorréticas-KR ( $p=0,000$ ), picnóticas-PY ( $p=0,000$ ) e cariolíticas-KL ( $p=0,001$ ) entre os casos. A apoptose funciona como um mecanismo de vigilância, para eliminar as células bucais com alterações genéticas. Já a elevada proporção de células binucleadas pode ser um indicativo de uma maior taxa de aneuploidia, que, por sua vez, está associado com um aumento do risco de câncer e doenças neurodegenerativas. **Conclusão:** Em nosso estudo o progresso da doença na TB, caracteriza-se por uma maior frequência de anomalias celulares indicativo de defeito citocínese (BI) e são encaminhados para apoptose (CC, KR, PY e KL). **Descritores:** Micronúcleos, Tuberculose, Dano DNA.

**Apoio:** Decit/SCTIE/MS, por intermédio do CNPq, o apoio da FAPERGS e da SES/RS, Hospital Santa Cruz, Projeto de Pesquisa Dano, Reparação e Susceptibilidade em Doenças Pulmonares e Laboratório de Genética e Biotecnologia da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC.

POSTER Nº: 221

### *Mycobacterium tuberculosis* EAI FAMILY ISOLATE IN THE STATE OF PARÁ, BRAZIL

Emilyn Costa Conceição<sup>1</sup>, Maria Luíza Lopes<sup>2</sup>, Ismari Perini Furlaneto<sup>3</sup>, Maísa Silva de Sousa<sup>3</sup>, Ricardo José de Paula Souza e Guimarães<sup>2</sup>, Harrison Magdinier Gomes<sup>4</sup>, Philip Noel Suffys<sup>4</sup>, Rafael Silva Duarte<sup>1</sup>, Ana Roberta Fusco da Costa<sup>2</sup>, Karla Valéria Batista Lima<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Evandro Chagas, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal do Pará, Brasil; <sup>4</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Brasil; <sup>5</sup>Universidade do Estado do Pará, Brasil. E-mail: emilyncosta@gmail.com

**Background and Objectives:** Spoligotyping is a useful genotyping technique to classify *Mycobacterium tuberculosis* into families by Shared International Type (SIT). Among these families, East African Indian (EAI) is the oldest. It is phylogenetically specific to Southeast Asia, India and East Africa. According to SITVITWEB, in South America it was found only in French Guiana, Brazil and Suriname, with 35, 18, 3 and 3 strains respectively. This study's aim was to describe the spoligotypes of the EAI family from Pará, Brazil. **Methods:** *M. tuberculosis* isolates were obtained from clinical specimens collected between 1998 and 2010 at the Evandro Chagas Institute in Pará. Spoligotyping was performed as previously described. **Results:** Among the 980 samples, 77 (7.8%) were EAI, classified into the following SITs: 48 (24; 31.2%), 129 (22; 28.6%), 924 (18; 23.4%), 763 (5; 6.5%), 11 (3; 3.9%), and 947 (2; 2.6%). The three SITs 934, 2864, 702 were each found independently of each other in single (1.3%) samples. The subfamilies were EAI1-SOM, EAI5, EAI3-IND, and EAI6-BGD1. **Conclusion:** In the present study, three newly introduced SITs were found for the first time in South America; these were 763, 947 and 934. SIT 2864 was found for the first time in Brazil. There were only 22 documented cases of SIT 129 and 16 cases of SIT 924 in the world. In Pará alone, 28 more cases of 129 and 12 more cases of 924 were found. French Guiana and Suriname are near Pará, suggesting the need to further investigate transnational transmission of EAI. **Keywords:** Tuberculosis, Spoligotyping, East African Indian.

POSTER Nº: 224

### Epidemiologia molecular de tuberculosis asociado a VIH en Colombia

Claudia Castro<sup>1</sup>, Angie Zabaleta<sup>1</sup>, Claudia Llerena<sup>1</sup>, Gloria Puerto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.

E-mail: ccastro@ins.gov.co

**Introducción y objetivos:** La tipificación molecular es una herramienta útil para la prevención y el conocimiento de la transmisión de la tuberculosis. Una tercera parte del incremento en los casos de tuberculosis se atribuye a la propagación del VIH. En Colombia para el año 2012 se presentaron 1397 casos TB/VIH,

## POSTER PRESENTATION

11.8% del total de casos a los que se les realizó prueba voluntaria. **Objetivo:** genotipificar los casos de pacientes con infección VIH-TB durante el año 2012. **Métodos:** 64 cultivos de pacientes con infección TB-VIH fueron remitidos por los Laboratorios de Salud Pública al Instituto Nacional de Salud, en un periodo de once meses, los cuales fueron sometidos a pruebas fenotípicas, de susceptibilidad y genotipificación mediante spoligotyping y MIRU-VNTR. **Resultados:** No se presentó ningún caso de multidrogorresistencia. El 3% mostró monorresistencia a rifampicina y el 4.7% resistencia simultánea a estreptomycin e isoniazida. Las familias de *M. tuberculosis* LAM9, H1 y T1 se encontraron con una frecuencia del 28, 14 y 11% respectivamente. Los códigos SIT más frecuentes fueron el 42(LAM9), 53(T1) y 62(H1). El 30% de los aislamientos correspondieron a patrones huérfanos. No se observó ningún agrupamiento entre los aislamientos analizados mediante spoligotyping y MIRU-VNTR. **Conclusiones:** Durante el monitoreo de los pacientes TB/VIH en este estudio no se halló evidencia de transmisión. Estos aislamientos corresponden al 6% (64/1000) de los pacientes con coinfección VIH-TB en Colombia con cultivo positivo, por lo tanto, no podemos excluir la posibilidad de transmisión activa en los demás casos. Los aislamientos encontrados correspondieron a las familias genéticas con mayor prevalencia en el país. **Descriptores:** *Mycobacterium tuberculosis*, coinfección, epidemiología molecular.

POSTER Nº: 233

### EXPRESSION OF LTAK63 IN RECOMBINANT BCG (BACILLUS CALMETTE-GUÉRIN) MODULATES THE IMMUNE RESPONSE AND CONFERS SUPERIOR PROTECTION AGAINST *Mycobacterium tuberculosis*

Ivan P. Nascimento<sup>1</sup>, Dúnia Rodriguez<sup>1</sup>, Celio L. Silva<sup>2</sup>, Nathalie Winter<sup>3</sup>, Brigitte Gicquel<sup>4</sup>, Mariagrazia Pizza<sup>5</sup>, Rino Rappuoli<sup>5</sup>, Luciana C.C. Leite<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil; <sup>2</sup>Farmacore Biotecnologia Ltda, Campus da USP – Ribeirão Preto, SP, Brazil; <sup>3</sup>Infectologie Animal et Santé Publique, INRA, France; <sup>4</sup>Unité de Génétique Mycobactérienne, Institut Pasteur, Paris, France; <sup>5</sup>Novartis Vaccines, Siena, Italy. E-mail: luciana.leite@butantan.gov.br

**Objectives:** In order to improve immunization against tuberculosis, we have taken advantage of the modulating properties of the toxin derivative – *Escherichia coli* heat labile enterotoxin derivative, LTK63 or LTAK63, upon expression in BCG. **Methods:** We have constructed rBCG strains expressing LTK63 or LTAK63, the later at different expression levels and analyzed the induction of the respective immune response and protection against challenge. **Results:** Mice immunized with rBCG-LTK63 displayed a protection of 1.0 log CFU of *M. tuberculosis* reduction in the lungs as compared to BCG, but was not stable. Two strains of

rBCG-LTAK63 were obtained, under control of different promoters,  $P_{blat}$  and  $P_{AN}$  displaying high and low expression levels, rBCG-LTAK63<sub>hi</sub> and rBCG-LTAK63<sub>lo</sub>, respectively. Mice immunized with either rBCG-LTAK63 strain, displayed an increased Th1 profile as compared to BCG, determined by increased levels of IFN- $\gamma$  and/or TNF- $\alpha$ , and higher production of double positive T CD4+ IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ /IL-2 in splenocytes. However, rBCG-LTAK63<sub>lo</sub> induced higher production of INF- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-10 and IL-17 in the lungs. BALB/c mice immunized with these rBCG strains and challenged with *Mtb* showed that rBCG-LTAK63<sub>hi</sub> displayed protection comparable to BCG and rBCG-LTAK63<sub>lo</sub> induced a 3.0 log reduction in CFU as compared to BCG. **Conclusion:** These results indicate that protection against *M. tuberculosis* may require the induction of a stronger Th1 immune response specifically in the lungs, which will then restrict the infection. **Keywords:** Tuberculosis vaccine, recombinant BCG, heat labile toxin derivatives.

POSTER Nº: 243

### CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E EPIDEMIOLÓGICA DE ISOLADOS DE *Mycobacterium Tuberculosis* DE PACIENTES COM TUBERCULOSE PULMONAR COINFECTADOS COM HIV, NO ESTADO DA BAHIA

Cristiane Santos Nascimento<sup>1,2</sup>, Ana Paula Torres<sup>1</sup>, Iza Cristina Pina<sup>1</sup>, Laís Pereira dos Santos<sup>1</sup>, Theolis Barbosa Bessa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário Estácio da Bahia; <sup>2</sup>Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia, Brasil. Email: E-mail: crisna3@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A caracterização genética e epidemiológica de isolados de *Mycobacterium tuberculosis* através de técnicas moleculares tais como, MIRU-VNTR (número variável de repetições em tandem) revolucionou a compreensão da epidemiologia da tuberculose permitindo a comparação entre linhagens de *Mycobacterium tuberculosis* de diferentes áreas geográficas e rastreamento da movimentação de linhagens individuais. A co-infecção tuberculose-vírus da imunodeficiência humana (TB-HIV) é um grave problema de saúde pública e uma das atuais prioridades entre as ações de pesquisa e combate à tuberculose. Este projeto tem como objetivo caracterizar os perfis genéticos dos isolados de *Mycobacterium tuberculosis* de pacientes com tuberculose pulmonar co-infetados com o vírus HIV no estado da Bahia. **Métodos:** Foram realizadas coletas das amostras de escarro para a realização da cultura e testes de identificação da espécie *M. tuberculosis*. Os isolados foram submetidos à extração do DNA e a técnica de genotipagem MIRU-VNTR foi padronizada utilizando multiplex PCR de 24 loci genômicos. As análises de genotipagem das cepas

## POSTER PRESENTATION

do complexo *M. tuberculosis* foram realizadas com o auxílio do programa Bionumerics. Resultados: Foram recrutados pacientes com a coinfeção TB/HIV com a predominância do sexo masculino, atendidos nos serviços de saúde do município de Salvador. Nas análises dos resultados de genotipagem por meio de MIRU-VNTR foi possível gerar dendrogramas pelo programa Bionumerics. Conclusão: Os resultados obtidos neste projeto serão de grande relevância para o aperfeiçoamento das estratégias de prevenção e controle desta importante infecção, bem como entendimento da epidemiologia da doença. Descritores: *Mycobacterium tuberculosis*; co-infecção TB-HIV; Epidemiologia Molecular; Tuberculose; genotipagem.

POSTER Nº: 247

### INSIGHTS INTO THE POPULATION STRUCTURE OF *Mycobacterium Tuberculosis* USING SPOLIGOTYPING AND RD<sup>RIO</sup> IN A SOUTHEASTERN BRAZILIAN PRISON UNIT

Fé Dagmar Huber<sup>1</sup>, Alexandra Sánchez<sup>2</sup>, Harrison Magdini Gomes<sup>3</sup>, Sidra Vasconcelos<sup>3</sup>, Véronique Massari<sup>4,5</sup>, Angela Barreto<sup>6</sup>, Vanderci Cesconi<sup>8</sup>, Sílvia Maria de Almeida Machado<sup>1</sup>, Michel K. Gomgnimbou<sup>7,8,9</sup>, Christophe Sola<sup>7,8</sup>, Bernard Larouze<sup>4,5,10</sup>, Philip Noel Suffys<sup>3</sup>, Maria Helena Féres Saad<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Cellular Microbiology, Oswaldo Cruz Institute (IOC), Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>2</sup>Tuberculosis Control Program and Coordination Management in Prison Health, State Department of Corrections, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>3</sup>Laboratory of Molecular Biology Applied to Mycobacteria, IOC, Fiocruz; <sup>4</sup>INSERM, UMR\_S 1136, Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health, Department of Social Epidemiology, France; <sup>5</sup>Sorbonne Universités, Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health, Department of Social Epidemiology, France; <sup>6</sup>CRPHF/ENSP, Fiocruz, Rio de Janeiro; <sup>7</sup>Univ Paris-Sud, Orsay, France; <sup>8</sup>Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina-Faso; <sup>9</sup>Department of Epidemiology and Quantitative Methods, ENSP/Fiocruz, Rio de Janeiro. E-mail: saad@ioc.fiocruz.br

**Background and Objectives:** Tuberculosis (TB) is still a serious public health problem, continuing to be an important threat for confined populations. **Methods:** We used spoligotyping to estimate the genotypic clades of *M. tuberculosis* isolates from inmates in two blocks in a southeastern Brazilian prison unit, with TB incidence rate of 8185/100.000. The Latin American Mediterranean (LAM) specific molecular markers, RD<sup>RIO</sup> large sequence polymorphism and the SNP on the Rv3062 [ligB<sup>2212</sup>], were used to characterize spoligotype signatures from prison isolates. **Results:** Typing of RD<sup>RIO</sup> and ligB increase LAM clade from 66.7% (n=72/108) to 69.4% (n=75). The LAM2 SIT17 (n=23) and SIT179 (n=12) signatures comprised one third of all isolates, followed by Haarlem (11.5%, n=12), T (8.7%, n=9) and X (5.7%, n=6) clades. Strains with unknown signatures represented 5.5% (n=6), and four (3.7%) did not match any lineage. We observed RD<sup>RIO</sup>

among 64 (59.2%) isolates, and 54 (50%) were of the LAM clade. In particular, the LAM2/RD<sup>RIO</sup> sub-lineage was significantly associated with clustering (p=0.02) and its frequency was higher (32%) when compared to that of the previous general TB cases in RJ (4.29%). Overall cluster frequency defined by spoligotyping/IS6110-RFLP was 62%. The two evolutionary markers helped to evaluate some LAM signature misconceptions and demonstrate that LAM2/RD<sup>RIO</sup> was found with high frequency, hitherto being unnoticed. **Conclusion:** All these data, allied to high clustering, imply that public health measures to minimize the escalation of TB in prison is essential, and both spoligotyping as well as RD<sup>RIO</sup> would be useful tools to monitor the effects of the measures with respect to *M. tuberculosis* lineage variation. **Keywords:** *M. tuberculosis*; prison; spoligotyping; tuberculosis; Rv3062 (LigB), Large-sequence polymorphisms.

POSTER Nº: 248

### POPULATION STRUCTURE OF *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) BASED ON SPOLIGOTYPING FROM TB PATIENTS MAINLY REPRESENTED BY IMMIGRANTS

Anna Cristina Calçada Carvalho<sup>1</sup>, Federico Bernoni<sup>2</sup>, Alberto Matteelli<sup>2</sup>, Tathiane Maia da Silva<sup>3</sup>, Gabriele Pinsi<sup>4</sup>, Francesco Castelli<sup>2</sup>, Adolfo Carlos Barreto Santos<sup>3</sup>, Maria Helena Feres Saad<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Innovations in Therapies, Education and Bioproducts (LITEB), Oswaldo Cruz Institute (IOC), Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>2</sup>Clinic of Infectious and Tropical Diseases – Università degli Studi di Brescia - Spedali Civili di Brescia, Italy; <sup>3</sup>Laboratory of Cellular Microbiology, Oswaldo Cruz Institute (IOC), Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>4</sup>U.O. Microbiology and Virology, Spedali Civili di Brescia, Brescia, Italy. E-mail: slamtb.comitecienfifico@slamtb.org

**Objective:** to identify the prevalent spoligopatterns of MTB among TB patients diagnosed in Brescia, Italy. **Methods:** MTB strains isolated from liquid medium between 2007 and 2013 were included. Drug sensitivity test to first-line drugs was performed. DNA was extracted and genotyped by spacer oligonucleotide typing (spoligotyping). **Results:** spoligotyping was performed on 402 MTB strains. 76% (305) of patients were foreign-born; among them 47% (143) were from Indian subcontinent, 23% (70) from Sub-Saharan Africa, 15% (46) from Eastern Europe and 15% (46) from other geographic regions. LAM (25%) and T (22%) families were the most prevalent clades, followed by CAS (17%) and H (14%); 10% were classified as orphans and 11% were unidentified signature. Beijing family was detected in 12 patients (3%). Among Italians, prevalent families were LAM (30%) and T (25%) and Beijing family was found in 2 patients. 15% of strains (56/361) showed resistance to at least one drug, 3% were MDR (one of Beijing family). LAM and H clades were inversely associated with being foreign born (OR= 0.57; 95% CI

## POSTER PRESENTATION

0.33 – 0.97 and OR= 0.37; 95% CI 0.20 – 0.68; respectively). CAS and EAI clades were almost exclusively found among immigrants (1 case in Italians), mainly from Indian sub-continent (90%). **Conclusion:** MTB infection among immigrants was probably acquired in the country of origin, without evidence of recent transmission to Italians. However, it is well known that population migration plays a critical role in the spread of disease. This first insight in the structure population of MTB in Brescia is a basis for further monitoring of MTB lineage variation in the community. **Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, spoligotyping, tuberculosis.

## ABSTRACTS

### PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

POSTER Nº: 15

#### SIDERÓFORO EM *Mycobacterium massiliense*, EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE DISPONIBILIDADE DE FERRO

Viviane Lopes Rocha<sup>1</sup>, Beatriz Cristina O. Fonseca<sup>1</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás

E-mail: brasil.viviane\_iptsp@hotmail.com

**Justificativa e objetivos:** *Mycobacterium massiliense* (Mma) tem sido descrito como causador de vários surtos nosocomiais relacionados à laparoscopias e artroscopias. Vários casos já foram reportados no Brasil. Em Goiânia, Belém e Rio de Janeiro existem relatos de surtos com inúmeros casos de infecções causadas por Mma. Estas infecções são de difícil tratamento, devido principalmente à alta capacidade de Mma em formar biofilme e à sua resistência à vários antimicrobianos. Assim, maiores estudos acerca do metabolismo desta micobactéria são necessários. Devido à importância do íon ferro para o metabolismo de um microrganismo, estes sintetizam sideróforos para competir com o hospedeiro pelo ferro. Um dos genes envolvidos na síntese das micobactinas (sideróforos já descritos em micobactérias) é o *mbtB*. Este estudo propôs avaliar se o gene *mbtB* está presente em Mma e se o mesmo é expresso em condições *in vitro* e *in vivo*. **Métodos:** RNA total foi obtido de culturas crescidas em diferentes concentrações de ferro. Após síntese do cDNA, realizou-se PCR em tempo real (qPCR) onde o alvo da amplificação foi o gene semelhante ao *mbtB* (*smbtB*) de Mma. Camundongos foram suprimidos ou suplementados do íon ferro e a expressão de *smbtB* foi avaliada por qPCR nas diferentes condições. **Resultados:** *In vitro*, a expressão de *smbtB* apresentou-se diretamente relacionada com a disponibilidade de ferro. *In vivo*, a expressão de *smbtB* apresentou-se maior no grupo que

foi submetido à quelação. **Conclusão:** O gene *mbtB* de Mma é induzido pela disponibilidade do ferro de forma diferente *in vivo* e *in vitro*. **Descritores:** micobactéria, sideróforo, micobactina.

POSTER Nº: 43

#### PRODUÇÃO DE BLIS POR MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO

Karen Machado Gomes<sup>1</sup>, Marlei Gomes da Silva<sup>1</sup>, Maria do Carmo de Freire Bastos<sup>1</sup>, Rafael Silva Duarte<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: karenmgomes@yahoo.com.br

**Justificativa e Objetivo:** Micobactérias oportunistas ou ambientais são saprófitas e apresentam características que otimizam a aquisição de nutrientes, visto que a hidrofobicidade da parede dificulta captação. A produção de bacteriocinas por micobactérias ambientais pode favorecer a sobrevivência através da sua ação como compostos anticompetidores. O objetivo deste trabalho é verificar a produção desses peptídeos por cepas de micobactérias. **Métodos:** A produção de substância antimicrobiana (SAM) foi verificada através do teste de difusão em ágar utilizando 18 estirpes de referência de micobactéria. A sensibilidade ao NaOH e peptidases foi verificada, assim como a titulação do sobrenadante bruto e após precipitação com sulfato de amônio e a verificação do espectro de ação. **Resultados:** Todas as estirpes inibiram o crescimento de *Corynebacterium fimi*, com halos reais entre 7,3 e 21 mm de diâmetro, e *Mycobacterium diernhoferi*, de 9 a 21,7 mm diâmetro. As SAM apresentaram redução para pelo menos uma das peptidases testadas e manutenção da inibição após tratamento com NaOH, confirmando constituírem substâncias inibitórias tipo bacteriocina (BLIS). Foi possível a detecção no sobrenadante de cultura com títulos de até 320 UA/ml e de 2560 UA/ml após precipitação. As BLIS produzidas pelas micobactérias parecem apresentar espectro de ação restrito, inibindo micobactérias ambientais. Entretanto, algumas inibiram o crescimento *M. peregrinum*, importante patógeno oportunista. **Conclusão:** A detecção da produção de SAM por micobactérias e sua caracterização são de grande importância para estudo das propriedades biológicas e fisiológicas desse grupo. Além disso, pode-se destacar também o possível potencial biotecnológico dessas substâncias. **Descritores:** Micobactéria, Peptídeos, Bacteriocina.

POSTER Nº: 62

#### THE MYCOBACTERIAL DNA-BINDING PROTEIN 2 (MDP2) FROM *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv IS AN INTRINSICALLY DISORDERED PROTEIN

Bruno L. Abbadi<sup>1,2</sup>, Zilpa A. Sánchez Quitian<sup>1,2</sup>, Paula Eichler<sup>1</sup>, Paulo C. Patta<sup>1,2</sup>, Luiz A. Basso<sup>1,2</sup>, Diógenes S. Santos<sup>1,2</sup>, Cristiano V. Bizarro<sup>1,2</sup>

## POSTER PRESENTATION

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF); <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil.  
E-mail: bruno.abbadi@acad.pucrs.br

**Background and Objectives:** The mycobacterial DNA-binding protein 2 (MDP2) of *Mycobacterium tuberculosis* is a small basic protein known to bind to DNA in a non-specific manner and to anchor the nucleoid to the plasma membrane, promoting its unpacking. Although previously published works have started to elucidate its properties, the function performed by MDP2 inside the cell and its tridimensional structure remains elusive. Here we describe the characterization of the MDP2 from *M. tuberculosis* (H37Rv) as an intrinsically disordered protein (IDP), a class of proteins that lacks ordered structures under physiological conditions. **Methods:** Motivated by a prior intrinsic disorder prediction *in silico*, we have used a complementary set of techniques to characterize MDP2 as an IDP and to assess its conformation, such as heat and chemical stability, gel filtration chromatography, glutaraldehyde crosslinking, limited proteolysis and electrophoretic mobility. **Results:** Our results suggest that the MDP2 is structurally disordered, since it was predicted to be an IDP, having 86 % of its structure disordered; resisted to denaturation induced by boiling temperature and to the chemical trichloroacetic acid; migrated anomalously on SDS-PAGE, appearing to be 1.4-fold higher its calculated molecular weight; and was highly sensitive to proteolysis performed by proteinase K. Gel-filtration and glutaraldehyde crosslinking experiments showed that the protein has a tendency of self-aggregation, forming large clusters of protein in solution. **Conclusion:** Altogether our results point out that the MDP2 from *M. tuberculosis* is capable of self-association in solution and that it lacks an ordered structure, being considered therefore an IDP. **Keywords:** intrinsically disordered protein; *Mycobacterium tuberculosis*; protein conformation.

POSTER Nº: 70

### STUDY OF THE BINDING BETWEEN THE TRANSCRIPTIONAL REGULATOR MCE3R AND THE PROMOTER REGION OF OPERONS INCLUDED IN ITS REGULON

Laura Klepp<sup>1</sup>, María de la Paz Santangelo<sup>1</sup>, Fabiana Bigi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA-INIA, N. Repetto and Los Reseros 1686 Hurlingham, Argentina.  
E-mail: klepp.laura@inta.gob.ar

**Background and Objectives:** The *mce* operons constitute four homologous regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. Although the function of the *Mce* protein family has not been clearly established, its members are believed to be mem-

brane lipid transporters. Based on microarray and qRT-PCR studies, in a previous work we found that the regulator of the *mce3* locus, *Mce3R*, negatively regulates the expression of the *Rv1933c–Rv1935c* and *Rv1936–Rv1941* transcriptional units (Santangelo et al. 2009). These operons are adjacent to one another and divergently transcribed. Here we proposed to determine if this regulation is achieved by the direct union of *Mce3R* to the *Rv1933c–Rv1935c* and *Rv1936–Rv1941* promoter region (*PechA*). **Methods:** We performed gel shift assays to study the binding between *Mce3R* and *PechA* labelled with  $\alpha^{32}P$ . Controls with specific and nonspecific competitors were included. **Results:** Although the shift was observed in presence of the protein when *PechA* was used as probe and not when a non-related DNA probe was employed, in the competition controls we obtained the same results independently of the specificity of the competitor DNA. **Conclusion:** The obtained results indicate that some co-factor or protein (present *in vivo* but not *in vitro*) is needed in order to stabilize the binding between *Mce3R* and *PechA* and regulate the operons transcription. Another possibility is that *Mce3R* regulates these transcriptional units through a second regulator. This hypothesis is supported by the fact that the transcriptional regulator *Rv1931c* is included in the *Mce3R* regulon (Santangelo et al. 2009). **Keywords:** *mce*, *Mce3R*, tuberculosis.

POSTER Nº: 73

### STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THE ENZYME DIHYDRONEOPTERIN ALDOLASE FROM MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H37RV

Virgínia Carla de Almeida Falcão<sup>1,2</sup>, Valnês da Silva Rodrigues-Junior<sup>1,3</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1,3</sup>, Luiza Galina<sup>1</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2,3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,2</sup>, Cristiano Valim Bizarro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS); <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular - PUCRS; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde - PUCRS, Porto Alegre, Brazil.  
E-mail: virginiacarla.bio@gmail.com

**Background and Objectives:** *Mycobacterium tuberculosis* folB-encoded dihydroneopterin aldolase (MtDHNA) catalyzes the conversion of 7,8-dihydroneopterin to 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropterin and glycoaldehyde in the folate biosynthetic pathway. This enzyme is an attractive target for the development of anti-TB agents because it is both essential for *M. tuberculosis* survival and absent in humans. Based on sequence homology to DHNA orthologs from *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, it has been suggested that residues K99 and Y54 from MtDHNA perform an important role in catalysis and/or substrate-binding. In this work we investigate the role of residues K99 and Y54 on MtDHNA catalytic activity and on gene essentiality by combining site-directed mutagenesis, kinetic analysis and

## POSTER PRESENTATION

gene knockout experiments. **Methods and Results:** The *folB* gene was amplified from *M. tuberculosis* H37Rv genomic DNA, cloned into the pCR-Blunt® vector and subcloned into pET23a(+) expression vector. Site-directed mutagenesis was performed to generate the K99A and Y54F mutants from a template construct containing the *folB* gene. The sequences from the wild-type *folB* gene and mutants were confirmed by DNA sequencing and the mutated recombinant plasmid were transformed into *E. coli* BL21(DE3) cells for expression experiments. Three chromatography steps were employed to obtain homogeneous recombinant MtDHNA without tags. In addition, the construction of a knockout strain for *folB* gene is underway. **Conclusion:** Kinetic studies will provide important information to understand the mechanisms of catalysis and may be useful for the development of inhibitors for MtDHNA. **Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, active site, site-directed mutagenesis.

POSTER Nº: 109

### MODE OF ACTION OF RECOMBINANT HYPOXANTHINE-GUANINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE FROM *Mycobacterium tuberculosis*

Paulo C Patta<sup>1,2,3</sup>, Leonardo K B Marinelli<sup>1,2</sup>, Bruno L Abbad<sup>1,2,3</sup>, Diógenes S Santos<sup>1,2,3</sup>, Luiz A Basso<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose – INCT-TB; Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional - CPBMF; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.  
E-mail: paulo.patta@hotmail.com

**Background and Objectives:** The hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) catalyzes the Mg<sup>2+</sup>-dependent transfer of the 5'-phosphoribosyl group from  $\alpha$ -D-ribofuranose 1'-pyrophosphate 5'-phosphate (PRPP) to a guanine or hypoxanthine to form the corresponding nucleotides, guanosine 5'-monophosphate (GMP) or inosine 5'-monophosphate (IMP). It is an enzyme found in almost all organisms and is involved in the purine salvage pathway. The present work describes the mode of action of HGPRT through kinetics and thermodynamics analyses. **Methods:** The oligomeric state of homogenous *Mycobacterium tuberculosis* HGPRT (MtHGPRT) was determined by size exclusion liquid chromatography. The kinetic characterization was achieved through determination of the true steady-state kinetics parameters for substrates and determination of the activation energy. The thermodynamic parameters of binding for substrates and products were obtained by isothermal titration calorimetry (ITC). The pH-profile was determined by the influence of a range pH (5.5 – 10) in the enzyme activity. **Results:** Homogenous MtHGPRT is a dimer in solution. The values for the true Michaelis constant shown a low  $K_m$  (Michaelis constant) for hypoxanthine and guanine and a high  $K_m$  for PRPP.

The specificity constant ( $K_{cat}/K_m$ ) appears to be 1.7 fold greater for Hypoxanthine reaction. The activation energy ( $E_a$ ) experiments presented a similar  $\Delta G_{\#}$  for both reactions. ITC experiments shown the binding of the substrate PRPP, and products IMP and GMP to the free enzyme, while substrates Hypoxanthine and Guanine and product PPI did not bind in the free enzyme. **Conclusion:** This work provides insightful data regarding the mode of action of MtHGPRT and the purine salvage pathway from *Mycobacterium tuberculosis*.

**Keywords:** HPRT, thermodynamics, kinetics.

POSTER Nº: 134

### IMMUNE-ENDOCRINE PARAMETERS IN PATIENTS WITH PLEURAL (PLTB) AND PULMONARY TUBERCULOSIS (PTB)

Luciano D'Attilio<sup>1,2</sup>, Ariana Díaz<sup>1</sup>, Bettina Bongiovanni<sup>1</sup>, Natalia Santucci<sup>1,2</sup>, Griselda Dídoli<sup>1,2</sup>, Cristina Bogué<sup>3</sup>, Marcela Marchesini<sup>2</sup>, Oscar Bottasso<sup>1,2</sup>, María Luisa Bay<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario-CONICET; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina; <sup>3</sup>Hospital Provincial Intendente Carrasco, Rosario, Argentina.  
E-mail: lucianodada@yahoo.com.ar

**Background and Objectives:** Pleural tuberculosis (PLTB) constitutes a natural model for assessing the protective immune response at the site of infection, and its relationship with the endocrine response. **Methods:** To ascertain whether patients with PLTB and PTB display a similar profile of immune and endocrine responses, plasma (P) levels of immunological mediators (IFN $\gamma$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , CRP and TGF $\beta$  –ELISAs-) and hormones (Cortisol, DHEA, DHEAS, GH -ELISA-) of patients with TBP were compared to those of PLTB in whom samples from pleural fluids (F) were also available. **Results:** Plasma concentrations of all immunological mediators were significantly increased in both patient groups respect healthy controls (HCo), with IL-6, IFN $\gamma$  and CRP values being even higher PLTB cases. In PLTB patients, F cytokine levels were higher than P counterparts, except for TGF $\beta$  that showed an opposite pattern. Compared to HCo, both types of TB patients showed a similar profile, consisting of markedly increased amounts of cortisol ( $p < 0.05$ ) and GH ( $p < 0.002$ ) together with decreased levels of DHEA ( $p < 0.02$ ) and DHEAS ( $p < 0.05$ ). Concerning PLTB cases, adrenal steroids were diminished in F respect the P compartment, while GH was increased in F ( $p < 0.03$ ). **Conclusion:** The higher plasma concentrations of proinflammatory cytokines along with reduced levels of TGF $\beta$  of patients with PLTB may be a peripheral mirror of the pleural reaction where an effective cellular immune response is being developed to successfully cope with the mycobacterial infection. **Keywords:** Pleural Tuberculosis, Pulmonary Tuberculosis, immune-endocrine interactions.

## POSTER PRESENTATION

POSTER N°: 135

### T CD4+ CD25+ FOXP3+ REGULATORY CELLS AND ITS RELATIONSHIP WITH IMMUNE-ENDOCRINE MEDIATORS DURING PULMONARY TUBERCULOSIS TREATMENT

Ariana Díaz<sup>\*1</sup>, Natalia Santucci<sup>\*1,2</sup>, Bettina Bongiovanni<sup>1</sup>, Luciano D'Attilio<sup>1,2</sup>, Griselda Didoli<sup>1,2</sup>, Susana Lioi<sup>3</sup>, Claudia Massoni<sup>3</sup>, Stella Radcliffe<sup>3</sup>, Walter Gardeñez<sup>4</sup>, Oscar Bottasso<sup>1,2</sup>, María Luisa Bay<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario-CONICET; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina;

<sup>3</sup>Laboratorio Central Hospital del Centenario, Rosario, Argentina. <sup>4</sup>Servicio de Neumonología Hospital del Centenario, Rosario, Argentina.

E-mail: arianadiaz@yahoo.com.ar

**Background and Objectives:** Tuberculosis (TB) is a major health problem that requires an appropriate cell immune response (IR) to be controlled, with an exacerbated IR being involved in tissue damage. Since regulatory T cells (Tregs) are relevant in the regulation of the IR, we analyzed Tregs variations throughout the course of TB treatment and its relationship with changes in immune-endocrine mediators dealing with disease immunopathology. **Methods:** The cohort was initially composed of 41 adult patients, 20 of the completing treatment and follow-up, with neither HIV co-infection nor multidrug resistant TB. Patients were bled at diagnosis (T0) and at 2 (T2), 4 (T4), 6 (T6) and 9 months following treatment initiation. Twenty four age- and sex-matched healthy controls (HCo) as well as 14 household contacts (HHC, according to a model of latent infection), were also included. Plasma cytokines were assessed by ELISA; Cortisol and Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) by electrochemiluminescence and Tregs frequency by flow cytometry. **Results:** Tregs from TB patients were increased at T0 (vs. HCo  $p < 0.05$ ), showing even higher values at T2 (vs. T0  $p < 0.01$ ) and T4 (vs. T0  $p < 0.001$ ). HHCs showed no differences respect the remaining groups. While IL-6, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  and Cortisol were augmented, DHEA-S levels were diminished at T0 respect to HCo. Tregs correlated with IFN- $\gamma$  ( $R = 0.8679$ ,  $p < 0.05$ ) and DHEA-S ( $R = -0.51$ ,  $p < 0.04$ ) at T2 as well as with IFN- $\gamma$  ( $R = -0.795$ ,  $p < 0.05$ ) and Cortisol ( $R = -0.504$ ,  $p < 0.05$ ) at T4. **Conclusion:** Results suggest a down-modulatory role of Tregs on the proinflammatory response and accompanying immunological damage, during TB treatment. **Keywords:** Pulmonary Tuberculosis, immune-endocrine interactions, regulatory T cells.

POSTER N°: 150

### CLONACIÓN, SOBREENPRESIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD IÓNICA DE LA PROTEÍNA Pma1 DE *Mycobacterium smegmatis*

Carlos Mario Ayala Torres<sup>1</sup>, Lorena Novoa Aponte<sup>1</sup>, Carlos Yesid Soto Ospina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

E-mail: cmayalat@unal.edu.co

**Justificación y Objetivos:** A pesar de que la Tuberculosis (TB) se consideró erradicada en el siglo XX, hoy en día es la principal causa de enfermedad y muerte alrededor del mundo ocasionada por un agente bacteriano. La capacidad para infectar y sobrevivir puede ser debida a transportadores de membrana como las ATPasas tipo P, ya que estas enzimas además de transportar cationes metálicos, generan los gradientes electroquímicos necesarios para el transporte de otro tipo de solutos y protegen a la célula de sustancias tóxicas (Palmgren and Nissen, 2011, Chan et al., 2010). En el presente trabajo se determinó el efecto de la sobreexpresión de la proteína Pma1 de *M. smegmatis*, homóloga de CtpF en *M. tuberculosis* (Pulido et al., 2014, Novoa et al., 2012), y posible transportador Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa de la membrana plasmática de *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. **Métodos:** Amplificación, clonación y sobreexpresión del gen pma1 en *M. smegmatis* mc2155 empleando el vector lanzadera pMV26, y secuenciación del recombinante de expresión obtenido. Mediante ensayos de actividad ATPasa empleando el método Fiske & Subbarow modificado, se determinó la especificidad iónica de Pma1 utilizando iones alcalinos/alcalinotérreos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>) para estimular vesículas de membrana plasmática. También se realizó un ensayo de concentración mínima inhibitoria sobre células de *M. smegmatis*, variando la concentración de cada metal en el medio de cultivo. Además, mediante un análisis in silico se determinó la posible topología y especificidad iónica de Pma1. **Resultados:** Se encontró que la proteína Pma1 de *M. smegmatis* es capaz de transportar tanto Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> como Ca<sup>2+</sup>. También se evidenció que la sobreexpresión de Pma1 hace mas resistente a la micobacteria frente a concentraciones elevadas de cada uno de los metales estudiados. **Conclusión:** Pma1 es una ATPasa tipo P afin por metales alcalinos/alcalinotérreos, la cual exhibe 10 segmentos transmembranales dispuestos en una topología tipo II, además presenta el motivo PEGE el cual participa en la especificidad iónica por Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>. **Palabras Claves:** *Mycobacterium smegmatis* mc2155, ATPasas tipo P, membrana plasmática.

POSTER N°: 165

### CtpF: UNA ATPasa TIPO P CLAVE EN LA HOMEOSTASIS IÓNICA DE *Mycobacterium tuberculosis*

Lorena Novoa Aponte<sup>1</sup>, Carlos Mario Ayala<sup>1</sup>, Carlos Yesid Soto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

E-mail: inovoa@unal.edu.co

**Antecedentes y Objetivos:** Actualmente, la identificación de

## POSTER PRESENTATION

nuevas dianas terapéuticas y el desarrollo de vacunas es una prioridad en la lucha contra la tuberculosis. En este sentido, las ATPasas tipo P podrían considerarse interesantes dianas terapéuticas ya que: (i) son transportadores esenciales involucrados en la homeostasis de cationes metálicos; (ii) se localizan en la membrana plasmática; y (iii) son sobreexpresadas durante momentos clave del proceso infectivo de *Mycobacterium tuberculosis*. Particularmente, la expresión del gen *ctpF* es altamente estimulada durante la TB activa y latente, y cuando el bacilo enfrenta condiciones de estrés como el tratamiento con compuestos antimicrobianos. **Métodos:** En el presente trabajo, el gen *ctpF* de *M. tuberculosis* fue sobreexpresado en *M. smegmatis*, con el ánimo de evaluar el posible papel de CtpF en la resistencia micobacteriana a antituberculosos comunes y a concentraciones tóxicas de cationes metálicos. La especificidad iónica de CtpF también fue evaluada en vesículas de membrana plasmática de *M. smegmatis* enriquecidas con CtpF. **Resultados:** El estudio *in silico* demostró que CtpF es un posible transportador de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$  o  $\text{K}^{+}$ , ubicado en la membrana plasmática de *M. tuberculosis*. Acorde a ello, los ensayos *in vitro* indicaron que CtpF es una ATPasa tipo P estimulada por cationes de metales alcalinos/alcalinotérreos, capaz de conferir resistencia a sustancias tóxicas. **Conclusión:** Se espera que el estudio en desarrollo (construcción de un mutante de *M. tuberculosis* defectivo en *ctpF*) permita establecer la influencia de este transportador en la virulencia del bacilo tuberculoso, como un modelo para el diseño de nuevas vacunas atenuadas anti-TB. **Descriptor:** *Mycobacterium tuberculosis*, enzimas ATPasas tipo P, dianas terapéuticas, homeostasis iónica.

POSTER N°: 169

## UNDERSTANDING THE PHYSIOLOGICAL ROLE OF MabR IN MYCOLIC ACID BIOSYNTHESIS

Yi Ting Tsai<sup>1</sup>, Valentina Salzman<sup>1</sup>, Gabriela Gago<sup>1</sup>, Hugo Gramajo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario. IBR-CONICET, Rosario-Argentina. E-mail: gramajo@ibr-conicet.gov.ar

**Background and objectives:** *Mycobacteria* have two fatty acid synthases (FAS-I and FAS-II) that work in a concerted manner for the biosynthesis of mycolic acids. Our research group has identified MabR as a new transcriptional regulator that controls the expression of *fasII* operon genes, which encode for the enzymes of the FAS-II system, by binding specifically to the *fasII* promoter region. Our aim is to unequivocally decipher the physiological role of MabR, an important step towards understanding the complex regulatory network involved in maintaining lipid homeostasis in *mycobacteria*. **Methods:** Using a two-step homologous recombination strategy we constructed a *mabR* conditional mutant in *M. smegmatis*, where expression of *mabR*

is under the control of Pami. This strain was used to analyze the expression of *fasII* genes by real time PCR and also to study the role of MabR on lipid biosynthesis. **Results and discussion:** The characterization of a *mabR* conditional mutant in *M. smegmatis*, allowed us to demonstrate that this protein modulates the expression of *fasII* genes *in vivo*. We have also found that long chain acyl-CoAs and acyl-AcpM modulate the affinity of MabR for its DNA binding site, suggesting that these metabolites are sensed *in vivo* by MabR. **Conclusion:** The molecular mechanisms used by the two FAS systems to communicate with each other in order to control the balance of fatty acids biosynthesis with that of mycolic is still an open and challenging question. Our studies on the regulation of the *fasII* operon has opened now a new area of research and raises several important questions that need to be answered around the mechanism used by these microorganisms to maintain lipid homeostasis. **Keywords:** MabR, mycolic acids, long chain acyl-CoAs.

POSTER N°: 170

## UNDERSTANDING FATTY ACID BIOSYNTHESIS REGULATION AT THE MOLECULAR LEVEL

Julia Lara<sup>1</sup>, Sonia Mondino<sup>1</sup>, Lautaro Diacovich<sup>1</sup>, Nicole Larrieux<sup>2</sup>, Alejandro Buschiazzo<sup>2</sup>, Gabriela Gago<sup>1</sup>, Hugo Gramajo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario. IBR-CONICET, Rosario-Argentina; <sup>2</sup>Institut Pasteur de Montevideo. IP Montevideo-Uruguay. E-mail: gramajo@ibr-conicet.gov.ar

**Background and objectives:** *Mycobacteria* have two fatty acid synthases which work in concert to synthesize fatty acids and mycolic acids. We identified two transcriptional regulators essential for *mycobacterial* viability: MabR, which controls the expression of *fasII* operon genes, and FasR, which specifically binds to *fas* promoter region and controls the *de novo* fatty acid biosynthesis. The main purpose of our studies is to understand at the molecular level how *mycobacteria* exert a fine control over the biosynthesis of their membranes. **Methods:** The characterization of the effector molecule that modulates the affinity of FasR for its target DNA was studied using EMSA, *lacZ* transcriptional fusions, SPR and *in vitro* transcription. In order to deeply understand the molecular bases of FasR activity, we performed experiments based on sitting drop vapor diffusion, to obtain the crystal structures of FasR, FasR-DNA and FasR-effector. **Results and discussion:** In this work, we show that long-chain acyl-CoAs are key effector molecules that coordinate the expression of the two FAS systems by binding to FasR. Furthermore, thin needles crystals of FasR were obtained in crystallization experiments in the presence of  $\text{C}_{20}$ -CoA. Currently, we are optimizing the crystallization conditions in order to obtain diffraction data. **Conclusion:** We present conclusive evidences that long-chain acyl-CoAs are key effector molecules that coordinate the ex-

## POSTER PRESENTATION

pression of the two FAS systems at the transcriptional level, by directly binding to FasR. A better understanding of this complex process of regulation of lipid homeostasis in mycobacteria, together with the structural characterization of this novel transcriptional regulator will greatly contribute to the development of new strategies to control this disease. **Keywords:** fatty acid synthase, mycolic acids, long chain acyl-CoAs.

POSTER Nº: 171

### PHOSPHORYLATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS FASR BY PKNB

Matias Cabruja<sup>1</sup>, Hugo Gramajo<sup>1</sup>, Gabriela Gago<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario. IBR-CONICET, Rosario-Argentina.

E-mail: gago@ibr-conicet.gov.ar

**Background and objectives:** Elucidation of mechanisms modulating fatty acid biosynthesis would shed light on the capacity of *M. tuberculosis* to adapt and survive within the infected host. Reversible protein phosphorylation is a key mechanism by which environmental signals are transmitted to cause changes in protein expression or activity in prokaryotes. Phosphorylation of proteins by Ser/Thr protein kinases (STPKs) has recently emerged as a major physiological mechanism of regulation in mycobacteria. FasR, is a key regulatory protein for maintaining lipid homeostasis in mycobacteria, as it modulates fatty acid availability by regulating the transcription of the *fas* gene. In this study, we investigated if phosphorylation of FasR might represent a strategy employed by *M. tuberculosis* to regulate fatty acid biosynthesis. **Methods:** In vitro phosphorylation experiments were performed using purified *M. tuberculosis* FasR, PknA and PknB. **Results and discussion:** We show that FasR is efficiently phosphorylated in vitro by several mycobacterial STPKs, particularly by PknB. The identification of the main phosphoacceptors using mass spectrometry analyses will allow us to investigate if phosphorylation of FasR by PknB modulates its biochemical activity. **Conclusion:** Fatty acids are used for the biosynthesis of essential lipids of mycobacteria membrane (phospholipids and mycolic acids) and also for triacylglycerol biosynthesis, the storage lipids that accumulates during the intracellular growth of *M. tuberculosis*. The involvement of STPKs in modulating FasR activity broaden the intricacies of mycobacterial signaling networks in order to adapt lipid composition to the changing environment. **Keywords:** fatty acid synthase, PknB, FasR.

POSTER Nº: 213

### CONSTRUCTION AND CHARACTERIZATION OF A KNOCKOUT *Mycobacterium tuberculosis* STRAIN FOR CDD GENE

Zilpa Adriana Sánchez-Quitian<sup>1,3</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1,2</sup>, Valnês

Rodrigues-Junior<sup>1,2</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2,3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Brazil; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brazil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Brazil.

E-mail: anne.drumond@acad.pucrs.br

**Background:** Cytidine deaminase, encoded by *cdd* gene, is a pyrimidine salvage pathway enzyme that recycles cytidine and 2'-deoxycytidine to uridine and 2'-deoxyuridine synthesis, respectively. **Objectives:** This work aims to construct and characterize a *Mycobacterium tuberculosis* knockout strain for *cdd* gene, to validate its biological importance in mycobacteria metabolism, persistence, and virulence. **Methods:** DNA fragment, including *cdd* gene and flanking regions, was amplified from *M. tuberculosis* H37Rv genomic DNA. Target gene was disrupted by the insertion of a kanamycin cassette and cloned into pPR27xylE. The pPR27xylE vector contains the counterselective *sacB* gene, the reporter gene *xylE*, and a mycobacterial thermosensitive origin of replication, which enabled a two-step selection of transformants in *M. tuberculosis* H37Rv strain. The first step was done on Middlebrook 7H10 plates containing kanamycin at 32°C, while the second was carried out on plates containing kanamycin and sucrose at 39°C. Colonies were screened by PCR. The *cdd* gene from *M. tuberculosis* was cloned into pNIP40 vector, which was used to obtain the complemented strain. **Results:** Colonies were screened by PCR and four clones had the kanamycin cassette inserted. The knockout strain was complemented with a copy of the *cdd* gene, which was used as an experimental control. **Conclusions:** The *cdd* gene is not essential under the employed experimental conditions. Different essentiality results might be obtained in media containing cytidine as sole carbon source. Macrophage and mice infection experiments are under way to analyze the biological importance of *cdd* gene in *M. tuberculosis* metabolism and the knockout strain attenuation. **Keywords:** Gene knockout techniques, *Mycobacterium tuberculosis*, Homologous recombination.

POSTER Nº: 214

### KNOCKOUT OF THE *hns* GENE FROM *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) BY ALLELIC EXCHANGE

Bruno L. Abbadi<sup>1,2</sup>, Anne D. Villela<sup>1,3</sup>, Zilpa A. Sánchez Quitian<sup>1,2</sup>, Luiz A. Basso<sup>1,2,3</sup>, Diógenes S. Santos<sup>1,2</sup>, Cristiano V. Bizarro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF); <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail: bruno.abbadi@acad.pucrs.br

**Background and Objectives:** Here we describe the use of

## POSTER PRESENTATION

site-directed mutagenesis via allelic exchange to perform the knockout of the *hns* gene from *M. tuberculosis*, responsible for encoding the mycobacterial DNA-binding protein 2 (MDP2). **Methods:** As a first step to exchange the *hns* gene for a null allele by homologous recombination (HR), we cloned its upstream and downstream flanking sequences (~1000 bp of each) disrupted by a kanamycin resistance gene in the pUC19 plasmid. This null allele was then transferred to another plasmid (pPR27:*xylE*), responsible for HR. Cells were transformed by electroporation and seeded in Middlebrook 7H10 medium containing 25 µg/mL of kanamycin. Grown colonies were tested for the presence of *xylE* gene (present into the plasmid) by dropping catechol over them. Two yellow colonies (*xylE*<sup>+</sup>) were picked to grow in Middlebrook 7H9 medium and then seeded in 7H10 medium, with antibiotic and sucrose 2%. Cells not submitted to HR were negatively selected by the presence of *sacB* gene into the plasmid, while *sacB*-cells, which lost the plasmid due to HR, were grown. Ten colonies were inoculated in 7H9 medium in order to extract genomic DNA and confirm the knockout by PCR. **Results:** Our results suggest that the *hns* gene is not essential for the survival of *M. tuberculosis*, by the employed experimental conditions, since its removal did not impact bacteria growth. **Conclusion:** We have obtained a knockout strain for the *hns* gene, which is a first step of a set of experiments that aim its functional characterization. **Keywords:** gene knockout techniques; genetic recombination; *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 222

### CLONING OF *deoD* GENE INTERRUPTED BY A SELECTABLE MARKER TO OBTAIN A KNOCKOUT STRAIN OF *Mycobacterium tuberculosis*

Pedro Ferrari Dalberto<sup>1,2</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1,3</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Brazil; <sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, PUCRS, Brazil;

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brazil. E-mail: dalberto@acad.pucrs.br

**Background:** The purine nucleoside phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* (MtPNP), encoded by *deoD* gene, plays an important role in the purine salvage pathway. **Objectives:** Construction of required plasmids for the knockout of *deoD* gene in *M. tuberculosis* and for its complementation. **Methods:** The *deoD* gene and flanking regions were amplified from *M. tuberculosis* H37Rv genomic DNA. The gene was interrupted by the insertion of a kanamycin cassette and cloned into the pPR27:*xylE* vector. The pPR27:*xylE* vector contains the reporter *xylE* gene, a counterselectable marker (*sacB*), and a mycobacterial origin of replication that enable the detection and selection

of rare homologous recombination events in mycobacteria. The *deoD* gene was amplified and cloned into pNIP40 vector, which has the integrative region (*attP*) of mycobacteriophage Ms6 which allows the integration into the mycobacterial chromosome. The pNIP40::*deoD* construction will provide an extra copy of the gene which will be used as an experiment control. **Results:** For the clone screening, pPR27:*xylE* construction was digested with the restriction enzyme *SpeI* and analyzed on 1% agarose gel. Two fragments of DNA corresponding to the pPR27:*xylE* and insert were observed. The screening for the pNIP40 construction was performed with the restriction enzyme *XbaI*, and two fragments of DNA corresponding to the vector pNIP40 and *deoD* fragment plus flanking regions were observed. **Conclusion:** The pPR27:*xylE*::*k1*::*Can*::*k2* and pNIP40::*deoD* constructs were successfully obtained. They will be used for the knockout of *deoD* gene in *M. tuberculosis* H37Rv that will allow the evaluation of the essentiality of the gene. **Keywords:** Gene knockout techniques, *Mycobacterium tuberculosis*, Homologous recombination.

POSTER Nº: 236

### CHARACTERIZATION OF CTPA, A P-TYPE ATPASE INVOLVED IN THE TRANSPORT OF HEAVY METALS ACROSS THE PLASMA MEMBRANE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Andrés Felipe León-Torres<sup>1</sup>, Lorena Novoa-Aponte<sup>1</sup>, Carlos Yesid Soto-Ospina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

E-mail: afeont@unal.edu.co.

**Background and Objectives:** P-type ATPases play an essential role in the biological processes of cells such as nutrients uptake, metal detoxification, cell volume regulation, and sometimes are considered as virulence factors (Palmgren, 2011; Kuhlbrandt, 2004). Previous studies have reported that *Mycobacterium tuberculosis* CtpA, a P<sub>1B</sub>-type ATPase or heavy metal transporter (Novoa-Aponte, 2012), is associated with host cell infection; specifically, the transcription of the *ctpA* gene is stimulated during the human cell infection (Kumar, 2011) suggesting that CtpA could have a key role in the progress of tuberculous infection. Up to date, the genetically and biochemically characteristics of CtpA are completely unknown. In this work, *M. tuberculosis* CtpA was heterologously expressed in *M. smegmatis* cells to determine the possible ion specificity in the mycobacterial plasma membrane and the optimum enzymatic parameters of this protein. In addition, the probable implication of CtpA in the tolerance of mycobacterial cells to toxic concentrations of heavy metal ions was assessed. **Results:** Cation toxicity assays showed that *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 cells heterologously expressing the *M. tuberculosis* *ctpA* gene product displayed a resistance to toxic copper levels. On the other hand, the ATPase activity of plasma membrane vesicles from *M.*

## POSTER PRESENTATION

*smegmatis* cells expressing CtpA was stimulated by Cu<sup>+</sup>. **Conclusion:** These results suggest that CtpA could be involved in the copper detoxification of mycobacterial cells. **Descritores:** *Mycobacterium tuberculosis*, P<sub>1B</sub>-type ATPase, heavy metal, metal detoxification.

## ABSTRACTS NEW DRUGS

POSTER Nº: 26

### FLUOROMYCOBACTERIOPHAGES FOR RAPID SCREENING OF ANTITUBERCULAR DRUGS

Estefanía Urdániz<sup>1</sup>, Liliana Rondón<sup>1</sup>, Marcelo Martí<sup>2</sup>, Graham Hatfull<sup>2</sup>, Mariana Piuri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IQUIBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Department of Biological Sciences and Pittsburgh Bacteriophage Institute, University of Pittsburgh, Pittsburgh, USA.  
E-mail: eurdaniz@gmail.com

**Background and Objectives:** The development of mycobacteriophages containing a fluorescent reporter gene was described as a simple means of revealing the metabolic state of *M. tuberculosis* cells, and therefore their response to antibiotics. Nowadays, there is a need for new and efficient antitubercular therapeutics that shorten the time of treatment and frequency of administration, less toxic and that require less surveillance of the patient. Our aim is to develop a simple and rapid whole-cell high-throughput screening method for anti-TB drugs using a new generation of Fluoromycobacteriophages. **Methodos:** We developed a mCherrybomb $\phi$  with higher sensitivity and a shorter time to detection of signal compared to the first generation of Fluoromycobacteriophages. Using a fluorimeter, DST (drug susceptibility testing) of *M. tuberculosis* can be done from pure culture in a convenient multiwell format in 6 or 30 hs (if pre-incubation with the drug is needed). Infection is done in the presence of increasing concentrations of drugs and appearance of fluorescence is monitored as a function of time. The concentration that completely inhibits fluorescence is reported as the minimal inhibitory concentration (MIC) for that drug. **Results:** We found a good correlation between the values obtained with this technique and the proportion method use as gold standard for TB. **Conclusion:** We had optimized the conditions to detect infection with Fluoromycobacteriophages using a fluorimeter in a multiwell format. The implementation of this standardized methodology will contribute to the development of a rapid, easy and high sensitive screening of drugs. **Keywords:** Therapeutics, screening, mycobacteriophages

POSTER Nº: 33

### PROSPECÇÃO DE PEPTÍDEOS DERIVADOS DAS PEÇONHAS DE ANIMAIS DA REGIÃO CENTRO OESTE COM ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA

Rogério Coutinho das Neves<sup>1</sup>, Elisabeth Nogueira Ferroni Schwartz<sup>1</sup>, Márcia Renata Mortaria<sup>2</sup>, Jaqueline Coimbra Gonçalves<sup>2</sup>, Jacqueline Souza Amaral Melo<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil; Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Brasil. <sup>2</sup>Universidade de Brasília, Brasil; <sup>3</sup>Instituto de Biologia, Brasil.  
E-mail: rogeriocdasneves@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Surtos causados por micobactérias atípicas são consideradas emergentes no Brasil e têm sido associados a procedimentos invasivos, como a laparoscopia, artroscopia ou cirurgia estética, e uma série de surtos hospitalares ocorreu em alguns estados brasileiros, e em Goiás. O tratamento de micobacterioses envolve drogas altamente tóxicas que apresentam efeito esterilizante relativo. Portanto, a busca de novas drogas ou moléculas biológicas tem sido alvo de vários estudos. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi prospectar biomoléculas da fauna do cerrado e do pantanal para a atividade micobactericida *in vitro* contra *Mycobacterium massiliense* (GO06). **Métodos:** Os peptídeos derivados de veneno de vespa e de escorpião foram avaliados por microdiluição em caldo, para determinação da concentração inibitória mínima. Aqueles com atividade micobactericida, foram analisados por microscopia eletrônica quando ao possível dano causado à parede. A toxicidade e a ação do peptídeo AVA foi avaliado em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c infectados. **Resultados:** Os peptídeos que apresentaram atividade micobactericida foram: Agelaia-MP, Polybia-MPII e AVA, derivados de veneno de vespa e os peptídeos de escorpião, AMP 1, 2, 4, 6 e 8. O peptídeo AVA manteve sua atividade microbicida e não apresentou citotoxicidade. Os peptídeos alteram a parede celular micobacteriana formando poros, que foi caracterizado por microscopia eletrônica. **Conclusão:** Foram identificados três peptídeos da peçonha de vespa e cinco do veneno de escorpião com atividade micobactericida demonstrando a potencialidade farmacológica das biomoléculas. **Descritores:** *Mycobacterium massiliense*, peptídeo, biomoléculas

POSTER Nº: 44

### MEFLOQUINE TREATMENT REDUCES BACTERIAL LOADS FROM LUNGS AND SPLEENS IN A MURINE MODEL OF TUBERCULOSIS INFECTION

Valnês Rodrigues-Junior<sup>1,2</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1,2</sup>, Raoni Gonçalves<sup>3</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2,4</sup>, Marcus V. N. de Souza<sup>3</sup>, Maria Martha Campos<sup>1,2,5</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, PUCRS, Brazil; <sup>2</sup>Programa de

## POSTER PRESENTATION

Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brazil; <sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Rio de Janeiro, Brazil; <sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Brazil; <sup>5</sup>Instituto de Toxicologia e Farmacologia, PUCRS, Porto Alegre, Brazil. E-mail: valnes.rodrigues@acad.pucrs.br

**Background:** Mefloquine is an antimicrobial agent widely used for the prophylaxis of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria and has been suggested as an alternative drug for the future repositioning to treat tuberculosis. It has been previously demonstrated the *in vivo* activity of mefloquine against *Mycobacterium avium* complex, *Leishmania amazonensis* and *Echinococcus multilocularis*. **Objectives:** The objective of this work was investigating the *in vivo* activity of mefloquine in a murine model of tuberculosis infection. **Methods:** Swiss male mice were infected with *M. tuberculosis* H37Rv, and mefloquine (40 mg/kg) was orally administered during 28 days. To assess lung and spleen CFU counts and splenomegaly, mice were euthanized five days after the last dose of drug. The spleens and the left lung were removed under aseptic conditions. Additionally, the spleens had their weight measured aseptically. The number of viable organisms was determined by plating serial dilutions of homogenates and incubating for 4 weeks, prior to the counting of viable *M. tuberculosis* cells. **Results:** After four weeks of treatment of *M. tuberculosis*-infected mice, mefloquine significantly diminished the CFU in both spleens (1.23 log<sub>10</sub> CFU of reduction;  $P < 0.01$ ) and lungs (1.78 log<sub>10</sub> CFU of reduction;  $P < 0.001$ ), compared to the untreated group. Mefloquine treatment did not significantly reduce *M. tuberculosis*-induced splenomegaly. **Conclusion:** Mefloquine might well represent a good alternative as a repurposing drug for future development of antimycobacterial agents. **Keywords:** tuberculosis, drug discovery, mefloquine

POSTER Nº: 58

### PIPERAZINE DERIVATIVES: SYNTHESIS, INHIBITION OF THE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS 2-TRANS-ENOYL-ACP (COA) REDUCTASE AND SAR STUDIES

Mariane Rotta<sup>1</sup>, Kenia Pissinate<sup>1</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1</sup>, Pablo Machado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: mariane\_rotta@yahoo.com.br.

**Background and Objective:** The *Mycobacterium tuberculosis* NADH-dependent 2-trans-enoyl-acyl carrier protein reductase (MtnhA) catalyzes the final enzymatic step in the fatty acid synthesis pathway. MtnhA has been described a validated target for antituberculosis drug discovery. The objectives of this work are to synthesize a series of piperazine derivatives, to screen

them as MtnhA inhibitors, and to evaluate its antimycobacterial activity. **Methods:** The desired compounds were synthesized and their structures were confirmed by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, infrared, and mass spectroscopy. The MtnhA was expressed and purified as previously described. Spectrophotometric assay was used to evaluate the relative potency of piperazines. Colorimetric assay was used to determine minimal inhibitory concentration (MIC). **Results:** A structure-activity relationship (SAR) evaluation indicated the importance of the chemical environment surrounding the carbonyl group for inhibition. Additionally, we suggested that modulation of the hydrogen bond acceptor may be a critical step in the optimization of MtnhA inhibitors. In addition, the mode of inhibition and inhibitory dissociation constants were determined for the nine most active compounds. Double-reciprocal plots at different compounds concentrations displayed a pattern of parallel lines suggesting that selected compounds acts as an uncompetitive inhibitors towards NADH substrate. Furthermore, our findings suggested that these compounds interact with MtnhA at the acyl-CoA substrate binding site. Finally, two 9H-fluoren-9-yl-piperazine-containing compounds exhibited moderate antimycobacterial activity against the *M. tuberculosis* H37Rv strain. **Conclusions:** Our results may provide important details for the design of novel structures to interact with a clinically validated tuberculosis target, thereby promoting the discovery of novel antituberculosis agents. **Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis, piperazines. POSTER Nº: 81

### Thiazolyl-1H-benzo[d]imidazoles: synthesis and inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* inosine monophosphate dehydrogenase

Diana Carolina Rostirolla<sup>1,2</sup>, Kenia Pissinate<sup>1</sup>, Laura de Miranda Pinheiro<sup>1</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2</sup>, Pablo Machado<sup>1,3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil. E-mail: k.pissinate@gmail.com

**Background and Objectives:** Tuberculosis (TB) remains among the leading causes of death from infectious diseases. The emergence of multidrug and extensively-resistant TB have provided a very alarming challenge to global health led us to focus on the research for development of new anti-mycobacterial agents. Within context, inosine 5'-monophosphate dehydrogenase (MtiMPDH), a key enzyme in guanine nucleotide biosynthesis, has been described as essential for optimal *in vitro* growth of

## POSTER PRESENTATION

*Mycobacterium tuberculosis H37Rv and a promising target for the development of alternative anti-mycobacterial drugs with possible selective toxicity. Our objective was to synthesize and evaluate in vitro a series of twelve thiazolyl-1H-benzo[d]imidazole derivatives as inhibitors of MtIMPDPH in an orthologue-based design approach. Results: The data obtained show that a benzo[d]imidazole compound was described to inhibit the enzyme at low micromolar range ( $K_{iMP} = 0.55 \pm 0.02$  mM) putting this compound between the most potent in vitro MtIMPDPH inhibitors hitherto developed. In addition, the steady state kinetic measurements showed an uncompetitive and non-competitive with respect to the substrates IMP and NAD<sup>+</sup>, respectively inhibition profile. Conclusion: The results described here may be useful for the design and development of new alternative therapies for tuberculosis targeting the MtIMPDPH. Keywords: benzo[d]imidazole, inosine 5'-monophosphate dehydrogenase, anti-mycobacterial, tuberculosis.*

POSTER Nº: 84

### ESTUDO DE CHALCONAS SUBSTITUÍDAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIMICOBACTERIANA

Thatiana Ventura<sup>1</sup>, Sanderson Calixto<sup>1</sup>, Rodrigo de Souza<sup>2</sup>, Ivana Leal<sup>4</sup>, Elena Lasunskaja<sup>1</sup>, Michelle Muzitano<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>LBR, CBB, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ; <sup>2</sup>Instituto de Química, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ; <sup>3</sup>LAPRON, UFRJ/ Campus Macaé, IMMT, RJ; <sup>4</sup>Faculdade de Farmácia, UFRJ/Campus Fundão, RJ.  
E-mail: thativentura@yahoo.com.br

**Introdução e objetivo:** A severidade da tuberculose está associada à inflamação exacerbada, necessitando de terapia adicional direcionada a mesma. Os fármacos utilizados na terapêutica possuem efeitos adversos e exigem longo período de tratamento. Objetivamos avaliar o potencial de 43 chalconas substituídas quanto à atividade anti-inflamatória e antimicobacteriana. **Métodos:** A modulação da atividade anti-inflamatória foi avaliada pela inibição da produção de óxido nítrico (Método de Griess) e da citocina TNF- $\alpha$  (bioensaio celular e ELISA sandwich) e citotoxicidade (método do LDH e MTT), após 24h de incubação dos macrófagos RAW 264.7 estimulados por LPS [1 $\mu$ g/mL] e tratamento pelas chalconas [100, 20, 4 e 0.8  $\mu$ g/mL]. A atividade antimicobacteriana foi avaliada in vitro (método de MTT), incubando, por 7 dias, cada amostra com suspensões de *Mycobacterium bovis* BCG e *M. tuberculosis* H37Rv (1  $\times$  10<sup>6</sup> CFU/poço). **Resultados:** Das 43 chalconas substituídas testadas, 9 amostras, a 20 e 4 $\mu$ g/mL e 3 amostras a 100, 20 e 4 $\mu$ g/mL exibiram atividade inibitória quanto a produção de NO sem interferência da toxicidade. As mais ativas apresentaram IC<sub>50</sub> 0.53 $\pm$ 0.17 e 0.30 $\pm$ 0.02. Cinco amostras exibiram de moderada a alta capacidade (75- 100%) de inibir a produção de TNF- $\alpha$ . A inibição do crescimento micobacteriano para *M. bovis* BCG foi observada para 10 amostras

sendo 3 mais ativas (IC<sub>50</sub> 3.60 $\pm$ 1.45, 3.66 $\pm$  1.55 e 3.85 $\pm$ 1.15). Destas, seis chalconas também foram capazes de inibir o crescimento da cepa virulenta H37Rv (85-100%). **Conclusão:** Estes resultados mostram o potencial promissor destas chalconas para o tratamento anti-inflamatório e antimicobacteriano, e no desenvolvimento de novas terapias para o tratamento da imunopatia da tuberculose. **Descritores:** Chalconas, tuberculose, inflamação

POSTER Nº: 85

### ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTIMICOBACTERIANA DE EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES VEGETAIS

Sanderson Calixto<sup>1</sup>, Thatiana Ventura<sup>1</sup>, Fabrício Almeida<sup>1</sup>, Denise Guimarães<sup>2</sup>, Michelle Muzitano<sup>1,2</sup>, Elena Lassounskaja<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LBR, CBB, UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. <sup>2</sup>LAPRON, UFRJ/ Campus Macaé, IMMT, RJ, Brasil.  
E-mail: sandersoncalixto@yahoo.com.br

**Introdução e objetivo:** O processo inflamatório está envolvido na patogênese de diversas doenças, incluindo a tuberculose. O tratamento desta patologia ainda possui limitações. O objetivo deste trabalho foi buscar extratos de fungos endofíticos, isolados das espécies vegetais: *Tocoyena bullata* e *Humiria balsamifera*, capazes de modular a resposta inflamatória de macrófagos através da inibição da produção NO e TNF- $\alpha$  e avaliar a capacidade antimicobacteriana. **Métodos:** Macrófagos RAW 264.7 foram estimulados por LPS [1 $\mu$ g/mL] e incubados com 16 amostras dos extratos dos fungos endofíticos [0.4, 2, 10, 50  $\mu$ g/mL]. A produção de NO e TNF- $\alpha$  foi avaliada através do método de Griess e bioensaio L929. A citotoxicidade dos extratos contra macrófagos foi controlada pelo ensaio de LDH. Para atividade antimicobacteriana, suspensões de *Mycobacterium bovis* BCG (1 $\times$ 10<sup>6</sup> CFU/poço) foram incubadas com as amostras [0,01, 0,1 e 1  $\mu$ g/mL] por 7 dias e quantificado pelo teste MTT. **Resultados:** Entre os extratos de cepas fúngicas isoladas da *T. bullata*, o extrato da cepa do 1, 2 e 3 (TB1, TB2 e TB3) exibiram atividade inibitória quanto a produção de NO apresentando IC<sub>50</sub> 30,1 $\pm$ 1,74; 142,6 $\pm$ 2,28 e 148,2 $\pm$ 1,45, respectivamente. Com relação aos extratos de cepas fúngicas isoladas da *H. balsamifera*, o extrato da cepa 6 (HB6) exibiu uma melhor atividade inibitória quanto a produção de NO apresentando IC<sub>50</sub> 214,1 $\pm$ 1,23. Não apresentaram interferência da toxicidade. Todos os extratos fúngicos foram ativos na inibição do crescimento de BCG, quando utilizados nas maiores concentrações testadas. **Conclusão:** Concluiu-se que esses extratos de cepas fúngicas são promissores para o tratamento anti-inflamatório e antimicobacteriano. **Descritores:** Fungos endofíticos, *Mycobacterium bovis* BCG, Inflamação.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 187

### ANALYSIS OF RECEPTOR-LIGAND INTERACTIONS IN A MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION OF THE AcrB EFFLUX PUMP

Núbia S. Prates<sup>1</sup>, Timóteo M. Rico<sup>1</sup>, Jorge Henrique C. Gomes<sup>1</sup>, Lande Vieira Jr.<sup>1</sup>, Adriano V. Werhli<sup>1</sup>, Nilo Zanatta<sup>2</sup>, Andrea Von Groll<sup>1</sup>, Pedro E. Almeida da Silva<sup>1</sup>, Karina S. Machado<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Rio Grande, Brazil; <sup>2</sup>Federal University of Santa Maria, Brazil. E-mail: timoteomr@gmail.com

**Background:** One of the most important steps in rational drug design is the receptor-ligand interaction evaluation at an atomic level achieved through molecular docking simulations. Molecular dynamics (MD) is a computational technique applied for the study of biological macromolecules flexibility. The combination of both techniques in a protocol is an approach to accelerate the drug design process. Considering a set of receptor conformations obtained from the MD and one ligand this work aims at evaluating the impact of receptor's flexibility, analysing the interaction between a protein-ligand complex over a range of docking simulations. **Materials and Methods:** We choose as target receptor the AcrB protein and as ligand a tetrahydropyridine called NLM02. The AcrB is involved with the multi-drug resistant in gram-negatives bacteria, and its model has been used for the efflux pump studies in other microorganisms, such as *Mycobacterium tuberculosis*. A 50ns MD simulation was performed using GROMACS package, where 1,000 different conformations of the AcrB were selected in intervals of 50 and 50ps. Molecular docking was performed using the AutoDockVina. The protein-ligand contact's analyses were obtained using the LigPlot software. **Results:** The molecular docking of the 1,000 conformations from MD obtained an average of free energy binding (FEB) of -7,74 +/- 0,73Kcal/mol (minimum -9,9Kcal/mol - maximum -5,9Kcal/mol). The contacts AcrB-NLM02 for only one structure involved 10 different receptor amino-acids, while considering the 1,000 docking results, 213 different amino-acids of receptor established non-bonded contact with NLM02. **Conclusion:** Analysis revealed that the AcrB flexibility should be considered in molecular docking simulations since the variability of the results may influence the search for the new inhibitors candidates for this target. **Keywords:** Computational biology, molecular dynamics simulation, drug design

POSTER Nº: 197

### ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA DE PRODUTOS NATURAIS OBTIDO DE ESPÉCIES VEGETAIS OCORRENTES NA

### RESTINGA DE JURUBATIBA

Marlon Heggdorne de Araújo<sup>1</sup>, Thatiana Lopes Biá Ventura<sup>2</sup>, Ivana Correa Ramos Leal<sup>1</sup>, Denise Oliveira Guimarães<sup>1</sup>, Elena Lassounskaia<sup>2</sup>, Michelle Frazão Muzitano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense, Brasil.

E-mail: marlon.heggdorne@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose continua sendo um grave problema em diferentes partes do mundo, com altas taxas de incidência tanto de cepas sensíveis quanto resistentes aos medicamentos. Existe uma necessidade urgente por novas substâncias bioativas. Neste contexto, os produtos naturais fazem parte de uma importante estratégia para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento da tuberculose. O objetivo deste trabalho foi avaliar, in vitro, dez espécies vegetais coletadas na Restinga de Jurubatiba, RJ, Brasil, quanto ao potencial antimicobacteriano frente às cepas de *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium tuberculosis*, e verificar o efeito citotóxico em macrófagos. **Métodos:** Triagens in vitro com *M. bovis* BCG e *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (1x10<sup>6</sup> CFU/poço) foram realizada para avaliar a inibição do crescimento micobacteriano em microplaca, após sete e cinco dias de incubação, respectivamente para cada cepa, o ensaio foi revelado com MTT (Gomes-Florez et al., J. Clin. Microbiol. 1995). **Resultados:** As espécies vegetais demonstraram possuir constituintes químicos com potentes propriedades antimicobacterianas. As frações em hexano das espécies *Passiflora mucronata* e *Stachytarpheta schottiana* e em diclorometano da *Kielmeyera membranacea* apresentaram IC<sub>50</sub> de 1,56±1,43, 1,52±1,30 γe 0,95±1,08 μg/mL, respectivamente, contra *M. bovis* BCG, sendo a fração em diclorometano da *K. membranacea* a mais ativa contra *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (IC<sub>50</sub> 4,38±1,19 μg/mL). As amostras não apresentaram efeito citotóxico significativo para os macrófagos (P>0,05). **Conclusão:** Os resultados obtidos são promissores e podem contribuir para o desenvolvimento de novas terapias anti-tuberculose. **Descritores:** Tuberculose, produtos naturais, tratamento.

POSTER Nº: 208

### ACTIVITY OF PJM29, A MEFLOQUINE-OXAZOLIDINE DERIVATIVE, IN MACROPHAGES AND MICE INFECTED WITH MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Valnês Rodrigues-Junior<sup>1,2</sup>, Anne Drumond Villela<sup>1,2</sup>, Raoni Gonçalves<sup>3</sup>, Luiz Augusto Basso<sup>1,2,4</sup>, Maria Martha Campos<sup>1,2,5</sup>, Marcus V. N. de Souza<sup>3</sup>, Diógenes Santiago Santos<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, PUCRS, Brazil; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brazil; <sup>3</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Rio de Janeiro, Brazil;

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Brazil;

<sup>5</sup>Instituto de Toxicologia e Farmacologia, PUCRS, Porto Alegre, Brazil.

E-mail: valnes.rodriques@acad.pucrs.br

## POSTER PRESENTATION

**Background:** It has been previously demonstrated the *in vitro* activity for two new anti-tuberculosis candidates, named PJIM29 and PJIM18, against both *M. tuberculosis* H37Rv and a MDR-TB strain. **Objectives:** The activities of these compounds were assessed by using an *in vitro* macrophage model and an *in vivo* murine model of tuberculosis infection. **Methods:** The macrophage murine cell line RAW 264.7 was used for the infection procedures with the virulent *M. tuberculosis* H37Rv strain. Infected cells were treated with the test compounds for five days. For the *in vivo* experiment, Swiss male mice were infected with *M. tuberculosis* H37Rv, and PJIM29 or PJIM18 (40 mg/kg) were orally administered during 28 days. Enumeration of viable colony-forming units (CFU) was performed in both spleens and lungs from the animals, as well for the treated macrophages. **Results:** Macrophages from the infected and untreated control group displayed a 3.96 log<sub>10</sub>CFU of *M. tuberculosis*. PJIM29 (10 µg/ml)-treated group showed a decrease of 0.85 log<sub>10</sub> (P<0.05) in the CFU counts compared to the untreated control. After 28 days of treatment of infected mice, PJIM29 significantly reduced *M. tuberculosis*-induced splenomegaly, and also significantly diminished the CFU in both spleens (0.86 log<sub>10</sub> CFU of reduction; P<0.05) and lungs (0.95 log<sub>10</sub> CFU of reduction; P<0.05), compared to the untreated group. Unfortunately, the test compound PJIM18 did not significantly modified the CFU counts in both *in vitro* and *in vivo* experiments, compared to the untreated group. **Conclusion:** PJIM29 might well represent a good candidate for developing new antimycobacterial agents. **Keywords:** mice, drug discovery, infection.

a administração de altas doses de isoniazida para pacientes infectados com cepas resistentes a este fármaco. Altos níveis de resistência à isoniazida estão relacionados com mutações no gene *katG* e baixos níveis, a mutações no *inhA*. Este trabalho objetivou padronizar o TS em doses superiores a 0,1µg/mL e correlacionar os níveis de resistência com mutações nos genes *katG* e *inhA*. **Métodos:** Sessenta e uma cepas de *Mtb* resistentes a 0,1µg/mL de isoniazida foram testadas nas concentrações de 0,2, 0,4 e 0,6µg/mL no sistema BACTEC MGIT 960. O sequenciamento dirigiu-se ao códon 315 do *katG* e às posições -15 e -16 do *inhA*. **Resultados:** Das 61 cepas analisadas, 52 (85,3%) foram resistentes às três concentrações. Destas, 37 (60,7%) apresentaram mutações somente no códon 315 do gene *katG*, seis (9,8%) no *katG* e no *inhA*, e nove (14,8%) na posição -15 do *inhA*. As nove cepas restantes também apresentaram mutação na posição -15 do *inhA*, sendo que oito (13,1%) foram resistentes somente a 0,2µg/mL e uma (1,6%) foi sensível apenas à concentração de 0,6µg/mL. **Conclusão:** A administração de altas doses poderia ser eficaz no tratamento de pacientes infectados com cepas de *Mtb* que apresentam resistência a até 0,2µg/mL de isoniazida, evitando a substituição deste fármaco por outros menos toleráveis.

**Descritores:** tuberculose, resistência, isoniazida, sequenciamento.

POSTER Nº: 11

## PERFIL DE RESISTÊNCIA DO *Mycobacterium tuberculosis* EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE

Heloisa S. Paro Pedro<sup>1</sup>, Susilene M. Tonelli Nardi<sup>2</sup>, Maria Izabel F. Pereira<sup>2</sup>, Rosângela S. Oliveira<sup>3</sup>, Amanda J. Finardi<sup>4</sup>, Eloise Moraes<sup>4</sup>, Pilhip N. Suffys<sup>5</sup>, Harisson M. Gomes<sup>5</sup>, Nilza G. Souza<sup>6</sup>, Ida M. Foschiani D. Baptista<sup>4</sup>, Ricardo L. D. Machado<sup>7</sup>, Lilian Castiglioni<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz (IAL-SJRP); Universidade Julio De Mesquita Filho (UNESP/IBILCE); <sup>2</sup>IAL-SJRP; <sup>3</sup>IAL-SP; <sup>4</sup>Instituto Lauro De Souza Lima (ILSL); <sup>5</sup>Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ); <sup>6</sup>Grupo De Vigilância Epidemiológica (Gve 29- SJRP-SP); <sup>7</sup>Instituto Evandro Chagas; UNESP/IBILCE; <sup>8</sup>Faculdade de Medicina de SJRP (FAMERP;UNESP/IBILCE).  
E-mail: hspedro@ial.sp.gov.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) resistente aos medicamentos é um problema crescente e global. Objetivou-se descrever os aspectos sócio-demográficos, clínico-epidemiológicos e bacteriológicos da infecção por *Mycobacterium tuberculosis* (MT) e relacionar com a distribuição de resistência aos fármacos antituberculose. **Métodos:** As culturas de MT e os testes de sensibilidade foram realizados pelo método Bactec MGIT 960. Os dados utilizados foram extraídos do site TBWEB e registros do Instituto Adolfo Lutz. **Resultados:** Foram analisadas 348 culturas de MT de pacientes com TB, sendo o sexo masculino

## ABSTRACTS

### DRUG RESISTANCE

POSTER Nº: 4

## CORRELAÇÃO ENTRE O NÍVEL DE RESISTÊNCIA À ISONIAZIDA E MUTAÇÕES NOS GENES *katG* e *inhA* EM CEPAS DE *Mycobacterium tuberculosis*

Ana Beatriz Contarelli Mezei<sup>1</sup>, Juliana Máira Watanabe Pinhata<sup>1</sup>, Juliana Failde Gallo<sup>1</sup>, Rosângela Siqueira de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz, Brasil.  
E-mail: rosangela.bio.pqc@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O teste de sensibilidade (TS) do *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) aos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose é recomendado pelo Ministério da Saúde. A isoniazida é um fármaco muito importante e sua concentração no TS é de 0,1µg/mL. Alguns pesquisadores propõem

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

o mais freqüente [295 (84,7%)], com média de idade de 38,8 anos (dp 13,6). Sessenta e quatro pacientes (18,4%) tiveram TB no passado e 64(18,4%) eram HIV positivos. Trezentos e trinta e cinco (98,2%) amostras clínicas foram de origem pulmonar e 244 (70,1%) casos foram para elucidação diagnóstica. A baciloscopia foi positiva em 221 (63,5%) pacientes. Os presídios foram as unidades que mais tiveram isolados de MT [117(33,6%)], seguidas dos níveis de saúde primário [98(28,2%)] e terciário [84(24,1%)]. Dos 348 casos, 23 apresentaram monoresistência, 6 multiresistência e 2 poliresistência, dos quais, 15 pacientes apresentaram baciloscopia positiva. A maioria dos pacientes com TB resistente era do sexo masculino (26/31), com idade entre 15-45 anos (23/31) e as cepas foram resistentes no momento do diagnóstico (24/31). Houve diferença estatística significativa nas análises da resistência aos fármacos com pessoas privadas de liberdade, com HIV positivo e com tratamentos anteriores ( $p < 0,05$ ). **Conclusão:** O monitoramento da TB deve ser reforçado para conter a disseminação dos casos resistentes. **Descritores:** Tuberculose; Diagnóstico, Resistência Microbiana a Medicamentos. **Fomento:** FAPERP de São José do Rio Preto-SP.

POSTER Nº: 34

## AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIA AS TUBERCULOSTÁTICOS: ANÁLISE RETROSPECTIVA EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA TERCIÁRIO.

Cinara Silva Feliciano<sup>1</sup>, Margarida Maria Passeri do Nascimento<sup>1</sup>, Renata Helena Cândido Pocente<sup>1</sup>, Sandra Mara Nunes Moroti<sup>1</sup>, Lucas José Bazzo Menon<sup>1</sup>, Livia Maria Pala Anselmo<sup>1</sup>, Fernando Bellissimo-Rodrigues<sup>1</sup>, Valdes Roberto Bollela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. E-mail: cinara.feliciano@gmail.com

**Justificativa e objetivos:** A resistência do *Mycobacterium tuberculosis* aos tuberculostáticos de primeira linha vem crescendo e representa atualmente um grande desafio no controle da doença. Há poucos dados nacionais e internacionais sobre epidemiologia da resistência bacilar. Este trabalho avaliou possíveis fatores de risco associados ao desenvolvimento de resistência aos principais tuberculostáticos de primeira linha (rifampicina e isoniazida). **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal, com realização do teste de sensibilidade molecular rápido Genotype MTBDRplus (Hain Lifescience, GmbH, Germany) e obtenção de dados por revisão de prontuários médicos de 170 pacientes com diagnóstico de tuberculose entre 2012 e 2013 conduzidos em um hospital de referência terciário. A avaliação da associação de possíveis fatores de risco com a resistência bacilar foi realizada pelo teste exato de Fisher bicaudal. **Resultados:** Dos 170 casos

avaliados, 15 (8,8%) apresentaram algum perfil de resistência (monoresistência à rifampicina, isoniazida ou multidrogarresistência). Os principais fatores de risco encontrados foram falência terapêutica prévia, retratamento, cor parda ou negra. Não foi encontrada associação positiva com infecção pelo HIV. **Conclusão:** Este trabalho reforça a necessidade de conhecermos o perfil epidemiológico da resistência bacilar para identificar os grupos de maior risco de resistência e, com isso, guiar a indicação de testes de sensibilidade rápidos à rifampicina e isoniazida precocemente, com potencial impacto no diagnóstico rápido e interrupção da cadeia de transmissão. Deve-se considerar a realização deste teste como técnica complementar ao geneXpert® MTB/RIF, que está em fase de implantação no Brasil, na presença de fatores de risco para tuberculose multirresistente. **Descritores:** tuberculose, resistência, fatores de risco.

POSTER Nº: 37

## EFLUXO COMO MECANISMO ENVOLVIDO NA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Mycobacterium tuberculosis*

Tatiane Coelho<sup>1</sup>, Diana Machado<sup>2</sup>, Raquel Maschmann<sup>1</sup>, Andrea von Groll<sup>3</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>1,4</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>3</sup>, Miguel Viveiros<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; <sup>2</sup>Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa, Portugal; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brasil; <sup>4</sup>Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Brasil.

E-mail: tati.coelho85@gmail.com

**Justificativa e objetivos:** *Mycobacterium tuberculosis* resistente aos fármacos ocorre frequentemente devido a mutações espontâneas em genes alvo ou regiões regulatórias. Porém, o efluxo pode contribuir para a resistência e o estabelecimento dessas mutações. O objetivo foi avaliar a contribuição de inibidores de bombas de efluxo (EPIs) em potencializar a atividade de fármacos utilizados no tratamento da tuberculose. **Métodos:** Foram analisadas 21 cepas MDR, 3 XDR, 3 Pré-XDR e a cepa sensível de referência H<sub>37</sub>Rv. Foi realizado um screening dos EPIs (VERA, TZ e CPZ) em presença de isoniazida, rifampicina, ofloxacina e amicacina no BACTEC MGIT 320/Software BD EpiCenter™, a fim de detectar sinais de inibição de efluxo pela análise de taxas de crescimento. Cinco cepas, que demonstraram maior efeito inibitório, foram selecionadas para avaliar a interação dos EPIs com os fármacos e com o substrato de bomba (EtBr), através do ensaio bidimensional de checkerboard. A inibição do efluxo de EtBr foi confirmada pelo método fluorimétrico semi automatizado em Rotor-Gene™ 3000. Foram determinadas concentrações ideais dos EPIs que potencializam a atividade da inibição do efluxo e concentrações subinibitórias dos antibióticos para realizar testes de sinergismo e sensibilidade no BACTEC

## POSTER PRESENTATION

*MGIT 960/TB eXiST. A sobreexpressão de genes de bombas em presença das concentrações subinibitórias dos antibióticos foi demonstrada por qRT-PCR. Resultados: Os resultados demonstraram que os EPIs diminuem significativamente a concentração mínima inibitória dos antibióticos em ordem decrescente de potência - VERA>TZ>CPZ - para todas as cepas MDR testadas. Conclusão: o efluxo tem um importante papel no desenvolvimento da resistência aos fármacos em cepas MDR. Descritores: Mycobacterium tuberculosis, resistência, efluxo.*

POSTER Nº: 42

### MÉTODO DO NITRATO REDUTASE PARA O DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA TUBERCULOSE RESISTENTE

Maria Luíza Lopes<sup>1,2</sup>, Emilyn Costa Conceição<sup>1,2</sup>, Ana Roberta Fusco da Costa<sup>1</sup>, Karla Valéria Batista Lima<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Evandro Chagas, Brasil; <sup>2</sup>Universidade do Estado do Pará, Brasil.  
E-mail: marialopes@iec.pa.gov.com

**Justificativa e Objetivo:** O aumento da resistência antimicrobiana vem se configurando como um obstáculo mundial para o controle da tuberculose (TB). Nesse contexto, torna-se importante realizar o diagnóstico precoce de resistência para instituição de um tratamento efetivo, resultando na interrupção da cadeia de transmissão de bacilos resistentes. Neste trabalho foi realizada a avaliação do método de nitrato redutase (MNR), como teste alternativo para o rápido diagnóstico de resistência. **Metodos:** A sensibilidade às drogas foi avaliada pelo método das proporções (MP), descrito por Canetti e colaboradores apud Brasil (2008). O MNR seguiu o protocolo descrito por Angeby et al. (2002). A cepa foi semeada a partir de uma suspensão correspondente ao tubo no 1 da escala de MacFarland nos meios J-L acrescido com nitrato de sódio, mais as drogas R 40µg/mL e H 0,2 µg/mL e da diluição 10-1 em três tubos contendo L-J com nitrato. A leitura do teste foi realizada no 7o, 10o e/ou 14o dia após a incubação (37oC). **Resultados:** O MNR foi aplicado em 274 isolados clínicos de *M. tuberculosis*, apresentando uma concordância de 99,1% com o MP. A sensibilidade e especificidade da técnica para isoniazida e rifampicina foram 100 e 96%, e 99 e 100%, respectivamente. Cinquenta e seis por cento (154) dos resultados foram obtidos com leitura em 7 dias e 90% (246) em até 10 dias. **Conclusão:** O MNR permitiu antecipar os resultados do teste de sensibilidade, apresentando-se promissor para uso na rotina dos laboratórios de menor demanda. **Descritores:** tuberculose resistente, método do nitrato redutase, método das proporções.

POSTER Nº: 59

### Tuberculose Extensivamente Resistente no Estado de São Paulo: número de casos nos

### anos de 2006, 2011, 2012 e 2013

Juliana Failde Gallo<sup>1</sup>, Sonia Maria Costa<sup>1</sup>, Vera Lúcia Carvalho<sup>1</sup>, Maria Aparecida Esteves Dias<sup>1</sup>, Lucilaine Ferrazoli<sup>1</sup>, Rosângela Siqueira de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz, Centro de Bacteriologia, Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Brasil.

E-mail: julianafailde@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose extensivamente resistente (TBXDR) foi descrita em 2006 e é um problema de saúde pública mundial de extrema importância. Além de apresentar resistência a Isoniazida e Rifampicina, que caracteriza a Tuberculose multirresistente (TBMDR), também apresenta resistência a todos os tipos de Fluoroquinolonas e pelo menos a um dos três medicamentos injetáveis de 2ª linha, Capreomicina, Kanamicina e Amicacina. Este estudo tem como objetivo verificar a existência de TBXDR no Estado de São Paulo em 2006, e avaliar se houve aumento nos anos de 2011, 2012 e 2013. **Métodos:** Foram selecionados 485 isolados de *Mycobacterium tuberculosis* (MT) de casos TBMDR, encaminhados ao Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses do Instituto Adolfo Lutz para a caracterização do perfil de resistência aos fármacos de 1ª linha, e posteriormente, de 2ª linha. O método realizado foi BACTEC 960™ e os dados dos casos de TBMDR foram obtidos a partir do sistema de notificação do Estado de São Paulo, denominado TB-WEB. **Resultados:** As análises dos resultados preliminares dos perfis de resistências dos isolados de MT dos anos de 2006, 2011, 2012 e 2013, indicaram 95, 156, 134 e 100 casos de TBMDR, respectivamente. Dentre os casos de TBMDR, foram observados 4 (4,21%), 10 (6,41%), 16(11,9%) e 16 (16,0%) casos de TBXDR, respectivamente. **Conclusão:** Concluímos que em 2006, ano da descrição da TBXDR, já existia essa forma de resistência no Estado de São Paulo e que a porcentagem dos casos de TBXDR entre os casos de TBMDR vem aumentando nos últimos anos. **Descritores:** Tuberculose, Tuberculose multirresistente, Tuberculose extensivamente resistente.

POSTER Nº: 86

### PERFIL DE RESISTÊNCIA EM AMOSTRAS DE Mycobacterium tuberculosis ISOLADAS NO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DE SERGIPE

Regivaldo Melo Rocha<sup>1</sup>, César Matos Ribeiro da Silva<sup>2</sup>, Alisson José Santos Arruda<sup>1</sup>, Elza Maria Santos Mecenas<sup>1</sup>, Rachel Diniz de Araújo<sup>1</sup>, Livia Maria do Amorim Costa Gaspar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundação de Saúde Parreiras Horta/LACEN, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Tiradentes, Brasil.  
E-mail: regivaldo.rocha@fsph.se.gov.br

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2011), a incidência de TB vem diminuindo desde 2002 em 1,3% ao ano. O tratamento é realizado por poliquimioterapia com ações diferentes. A interrupção, abandono, uso indiscriminado e irregular dos fármacos, são fatores de resistências. Evidenciar o número de casos

## POSTER PRESENTATION

com multirresistência e identificar a situação atual do Estado de Sergipe. Para isso foi realizado um estudo transversal a partir da coleta de dados no LACEN/SE, entre Janeiro de 2010 à Dezembro de 2013. Foram analisados 142 boletins com resultados dos TSA. Observando os valores de sensibilidade e resistência, por ano, é possível perceber que o número de resistência cresceu no decorrer dos três anos, passando de 24 em 2011, para 31 em 2012 e 33 em 2013. Já o valor de sensibilidade oscilou, caindo em 2012 e subindo novamente em 2013. A Rifampicina (RMP) apresentou um aumento obtendo 32,95% (n=29) enquanto que a Isoniazida (INH) manteve-se estável entre 2011 e 2013, obtendo o mesmo percentual de 32,95% (n=29), seguidos por Estreptomicina (SM) com 18,18% (n=16) e Etambutol (EMB) com 15,92% (n=14). Os dados de TB-MDR vemos que o número de casos de multirresistente não obteve um aumento significativo; os valores de pacientes que não apresentaram a forma multirresistente foi bem maior. O *M. tuberculosis* adquire resistência aos fármacos por mutação. Sergipe apresentou um caso TB-XDR em 2012. Com isso foi possível mostrar que no estado de Sergipe a incidência da forma multirresistente da *Mycobacterium tuberculosis* é baixa se comparada com outros estados brasileiros. **Descritores:** Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, resistência, TSA.

POSTER Nº: 102

### ATENÇÃO BÁSICA NO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE: POTENCIALIDADES E DESAFIOS

Jaqueline Garcia de Almeida Ballesterio<sup>1</sup>, Rafaella Grecco<sup>1</sup>, Ana Carolina Scarpel Moncaio<sup>1</sup>, Altair Seabra de Farias<sup>2</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1</sup>, Roxana Isabel Cardozo Gonzáles<sup>2</sup>, Valdes Roberto Bollela<sup>3</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil;

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Brasil; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Brasil.

E-mail: jaqueline.almeida@usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose multirresistente (TBMR) necessita da articulação dos diferentes níveis de atenção como o centro de Referência (CR) e Atenção Básica (AB), que ocupa importante papel no acompanhamento do Tratamento Diretamente Observado (TDO). Objetivou-se analisar como o doente de TBMR vivencia o TDO. **Métodos:** Estudo analítico, qualitativo, realizado no interior de São Paulo, com oito doentes em tratamento. Os dados foram gerados entre março e maio de 2012. Utilizou-se de entrevistas semi-estruturadas, organizados com o software Atlas. Ti 7.0 e o corpo analítico foi por meio da Análise de Discurso. **Resultados:** As sequências discursivas foram organizadas em dois eixos centrais: 1) Acompanhamento do tratamento e 2) Coordenação da Assistência. O primeiro revela que o TDO é realizado de acordo com a estrutura e redes

de serviços de cada município, por vezes sem estar centrado nas reais necessidades dos doentes; flexibilização de condutas (corresponsabilização do doente/familiar) versus "engessamento" (posturas paternalistas); relação da família com os profissionais, que varia dependendo da resolutividade destes últimos. O segundo discute a estrutura intramunicipal para a operacionalização do tratamento; interlocução com o CR na troca de informações quanto à necessidade de transporte e descontinuidade do cuidado, refletida na não utilização de precauções de isolamento no trajeto do doente ao CR. **Conclusões:** A articulação da assistência ao doente de TBMR precisa de importantes avanços em prol de uma linha de cuidado que integre as ações desenvolvidas pelo CR e a AB visando uma rede de atenção coordenada e eficaz no controle da doença. **Descritores:** Tuberculose Resistente a Múltiplos Medicamentos, Integração de Sistemas, Pessoal de Saúde.

POSTER Nº: 110

### EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE LA TUBERCULOSIS EN AISLAMIENTOS FÁRMACO RESISTENTES EN COLOMBIA

Claudia Castro<sup>1</sup>, Angie Zabaleta<sup>2</sup>, Claudia Llerena<sup>1</sup>, Gloria Puerto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.

E-mail: gpuerto@ins.gov.com

**Introducción y objetivos:** La tuberculosis es problema de salud a nivel mundial. En Colombia se reportan alrededor de 12.000 casos nuevos por año de los cuales cerca de 110 son multidrogoresistentes. Las herramientas moleculares brindan una visión sobre la transmisión de la enfermedad para la toma de acciones de control. **Objetivo,** conocer la diversidad genética de *Mycobacterium tuberculosis* en aislamientos fármacorresistentes. **Métodos:** Sesenta y seis cultivos de pacientes con algún tipo de resistencia a los medicamentos, detectada por el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud durante 11 meses del año 2012, fueron genotipificados mediante spoligotyping y MIRU-VNTR de 24 loci. **Resultados:** La mayor parte de la resistencia estuvo dada por casos monoresistentes a etambutol (32/66), isoniazida (14/66), estreptomicina (11/66) y rifampicina (1/66). Se presentaron 14 casos de multidrogoresistencia y tres casos con polirresistencia. No se encontró ningún aislamiento extremadamente resistente. Las familias de *M. tuberculosis* LAM9, T1 y H1 se encontraron con frecuencias del 18, 7,6 y 6% respectivamente, así como un aislamiento de la familia Beijing y un aislamiento de *M. bovis*. El 38% de los aislamientos correspondieron a patrones huérfanos. Los códigos SIT más frecuentes fueron el 42 (LAM9), 62 (H1) y 53 (T1). No se observó ningún agrupamiento entre los aislamientos analizados. **Conclusiones:** La distribución de familias genéticas en los aislamientos farmacoresistentes es similar a la de la po-

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



blación Colombiana. No se encontró ninguna asociación entre los patrones de resistencia y los genotipos hallados, así como de transmisión activa. Se reporta un caso de tuberculosis por *M. bovis* en Colombia. **Descriptor:** epidemiología molecular, *Mycobacterium tuberculosis*, MDR.

POSTER Nº: 113

## CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DO *Mycobacterium tuberculosis* EXTENSIVAMENTE RESISTENTE EM LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA DE MINAS GERAIS, BRASIL

Alan Douglas Gonçalves<sup>1</sup>, Cláudio José Augusto<sup>1</sup>, Glaydson Andrade Rodrigues<sup>1</sup>, Isabela Neves Almeida<sup>1</sup>, Lida Jouca de Assis Figueredo<sup>2</sup>, Carla Coimbra de Figueiredo<sup>2</sup>, Ana Lethicia Figueiredo<sup>2</sup>, Jamilly dos Reis Figueiredo<sup>2</sup>, Wânia da Silva Carvalho<sup>2</sup>, Silvana Spíndola de Miranda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fundação Ezequiel Dias (FUNED) Belo Horizonte/MG; <sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>3</sup>Coordenadora do Grupo de Pesquisa em Micobacterioses - CNPq/Faculdade de Medicina/UFGM/REDE-TB. E-mail: isabelanalmeida@gmail.com

**Justificativa e Objetivo:** A Concentração Inibitória Mínima (MIC) é importante para avaliar com maior precisão a sensibilidade aos fármacos por utilizar várias concentrações e por ter maior correlação com a clínica. Pois, quando detectado baixos níveis de resistência ao fármaco testado esse pode ainda ser utilizado. Assim, esse trabalho objetivou identificar o MIC do *Mycobacterium tuberculosis* de cepas extensivamente resistente (XDR-TB). **Método:** Foi realizado no Laboratório de Referência em Saúde Pública do Estado de Minas Gerais o MIC de duas cepas de XDR-TB por meio do método automatizado BACTEC MGIT® 960 com os seguintes fármacos: Isoniazida (H); Rifampicina (R); Estreptomicina (S); Etambutol (E); Levofloxacina (L); Amicacina (A); Rifabutin (Rf); Cicloserina (Cs). **Resultados:** Os MICs da primeira cepa XDR-TB foram: 2,0µl/mL (ponte de corte > 0,25µl/mL) para H; 8,0µl/mL (ponte de corte >1,0µl/mL) para R; 16,0µl/mL (ponte de corte >2,0µl/mL) para S; 16,0µl/mL (ponte de corte >4,0µl/mL) para E; 8,0µl/mL (ponte de corte > 2,0µl/mL) para L; >32,0µl/mL (ponte de corte >1,0µl/mL) para A; 4,0µl/mL (ponte de corte > 0,5µl/mL) para Rf; 8,0µl/mL (ponte de corte >32µl/mL) para Cs. Os MIC da segunda cepa XDR-TB foram: 2,0µl/mL para H; >64,0µl/mL para R; 16,0µl/mL para S; 16,0µl/mL para E; 2,0µl/mL para L; >32,0µl/mL para A; 4,0µl/mL para Rf; 8,0µl/mL para Cs. **Conclusão:** Foi possível avaliar os MICs dos fármacos de primeira e segunda linha e as poucas possibilidades de utilização de medicamentos a ser empregado nesses casos de XDR-TB. **Descritores:** *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculose extensivamente resistente, Concentração Inibitória Mínima.

POSTER Nº: 115

## RESISTÊNCIA AOS TUBERCULOSTÁTICOS E LINHAGENS CIRCULANTES DE *M. tuberculosis* NO MUNICÍPIO FRONTEIRIÇO DE MATO GROSSO DO SUL (BRASIL) COM BOLÍVIA

Marli Marques<sup>1</sup>, Eunice Atsuko Totumi Cunha<sup>2</sup>, Adolfo Barreto<sup>3</sup>, Leila Lempke<sup>2</sup>, Juliana Zarate<sup>4</sup>, Fabio Antonio Gonçalves<sup>4</sup>, Fabrício Yukio Totumi Munhoz<sup>1</sup>, Sonia Maria Oliveira de Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande (MS), Brasil; <sup>2</sup>Laboratório Central de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul, Campo Grande (MS), Brasil; <sup>3</sup>Laboratório da Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara (SP) Brasil; <sup>4</sup>Laboratório Municipal de Corumbá (MS), Brasil. E-mail: marli.marques2008@gmail.com

**Justificativa e objetivo:** Conhecer níveis de resistência aos tuberculostáticos e linhagens circulantes de *M. tuberculosis* no município de Corumbá-MS (Brasil). **Métodos:** Implantação da semeadura para cultura universal pelo método de swab em meio de Ogawa-Kudoh no laboratório municipal de Corumbá em 2007. Os espécimes semeados foram encaminhados ao LACEN/MS para demais procedimentos. Os testes de sensibilidade (TSD) foram analisados pelo MGIT-960 para R,I,S,E. Avaliou-se o desempenho municipal entre 2007-2010 quanto a cobertura e resistência (padrão e perfil) confrontando os registros com dados do SINAN/TB/SES. Para a identificação do perfil genético de 30 cepas usou-se o método Spoligotyping. **Resultados:** Foram semeadas 4.487 amostras, das quais 390 positivas para *M. tuberculosis*. A cultura avaliada entre casos notificados perfaz 177/301 (69,4%) enquanto o TSD abrangeu 128/301 (42,5%). A prevalência geral de resistência foi 23,4%, com resistência primária (RP) 21/105 (20,0%) e MDR (1,9%) e resistência adquirida (RA) 9/23 (39,1%) e MDR (13,0%). A distribuição da variabilidade genética das 30 cepas foram 10 LAM-9, 4 LAM-5, 3 LAM-3, 3 H-1, 2 H-3, 4 T-1, 1 Orphan, 3 sem perfil, apontando predomínio da família LAM (56,7%). **Discussão e Conclusão:** A cultura universal não cobriu 30% dos casos de TBP por problemas logísticos. A investigação da resistência ficou aquém do recomendado. Tanto a RP quanto a RA revelaram-se eludidas com níveis de MDR inaceitáveis, aumentando o risco de insucessos com esquema básico. A investigação de RP permitiu ajustes precoces aos esquemas terapêuticos. A MDR adquirida impõe medidas urgentes visando maior adesão e controle da endemia, que apresentou importante diversidade genética. **Descritores:** *Mycobacterium tuberculosis*; Técnica de Genotipagem; Epidemiologia Descritiva.

POSTER Nº: 119

## PREVALÊNCIA DE TUBERCULOSE MULTIDROGA RESISTENTE (TBMDR) NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO (ES), BRASIL

## POSTER PRESENTATION

Geisa Fregona<sup>1,2</sup>, Lorraine Cosme<sup>1</sup>, Valdério Dettoni<sup>1,2</sup>, José Luiz Bus-sular<sup>3</sup>, Thiago Nascimento Prado<sup>3</sup>, Claudia Maria Marques Moreira<sup>1</sup>, Ethel Maciel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>2</sup>Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes, Brasil; <sup>3</sup>Prefeitura Municipal de Vila Velha, Brasil.  
E-mail: gffregona@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O aumento dos casos de TBMDR, especialmente, nos países em desenvolvimento têm sido um grande desafio para as autoridades sanitárias. Estimar a carga da TBMDR, tanto a nível local quanto a nível nacional é um passo inicial importante para combater este problema de saúde pública. Com isso propomos mensurar a frequência de realização dos testes de sensibilidade às drogas (TSA) e estimar a prevalência da TBMDR no ES. **Métodos:** Analisamos, retrospectivamente, os dados laboratoriais locais através do software TB Notes e dos sistemas nacionais de informação do Brasil sobre tuberculose (SINAN e SITETB) de janeiro de 2002 a dezembro de 2012. **Resultados:** Durante este período o ES notificou 14.017 novos casos de tuberculose. Oitenta e sete (0,62%) foram resistentes a pelo menos isoniazida e rifampicina simultaneamente, e portanto definidos como TBMDR. A taxa de solicitação de TSA para drogas de primeira linha foi de 12% (1.734/14.017). Os critérios para a solicitação dos TSAs seguiram as recomendações do manual do MS para o controle a Tuberculose no Brasil. **Conclusão:** A prevalência de TBMDR no ES é menor do que a encontrada no país de acordo com o inquérito de resistência às drogas realizado em 1997, que foi de 6,3%. A realização de TSA para todos os casos positivos de tuberculose ainda não é uma rotina, atualmente aplica-se apenas para os casos de retratamento, falência de regime de tratamento de drogas de primeira linha e contatos conhecidos de TBMDR, o que reduz a chance de diagnóstico precoce da doença. **Descritores:** Tuberculose; tuberculose resistente a múltiplos medicamentos; vigilância epidemiológica.

POSTER N°: 125

### TUBERCULOSE RESISTENTE NOTIFICADA DE 2000 A 2012 EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA NO CONTEXTO DO ESTADO DE SÃO PAULO-BRASIL

Valdes Roberto Bollela<sup>1</sup>, Fernanda Guioti Puga, Maria Janete Moya<sup>2</sup>, Mauro Andrea<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Brasil; <sup>2</sup>Hospital das Clínicas da FMRP-USP, Brasil.  
E-mail: vbollela@fmrp.usp.br

**Justificativa e Objetivos:** Nas últimas décadas o Brasil observou queda na incidência e mortalidade por tuberculose (TB) e aumento nas notificações de TB multirresistente (TBMR). Nosso objetivo foi analisar e discutir os casos de TB resistente de um

serviço de referência, no contexto dos casos de resistência notificados no estado de São Paulo. **Métodos:** Estudo retrospectivo dos casos de TBMR do Estado de São Paulo entre 2000 e 2012, caracterizando os pacientes atendidos em um centro de referência para regiões nordeste/noroeste (NE/NO) do estado. **Resultados:** Foram 1.097 notificações de TBMR com média de idade de 38,3 anos (min:10;max:77 anos), e 70,4% eram do sexo masculino. A maioria dos casos (595; 54,2%) foram notificados em serviços ambulatoriais da capital paulista. A referência das regiões nordeste e noroeste do interior paulista notificou 39 casos de TBMR, 2 tuberculose extensivamente resistente (TBXDR) e quatro polirresistência. Foram analisados desfechos dos 1.097 casos notificados e foi possível observar redução na mortalidade (de 30% para 8%) e aumento nos tratamentos completos+cura (53% para 68%) se compararmos os 266 casos notificados nos primeiros 4 anos (2000-2003) com os 469 notificados nos últimos 4 anos analisados (2009-2012). O mesmo resultado foi observado para óbitos e cura no serviço de referência do NE/NO paulista. **Conclusões:** Na última década, as notificações de casos de TBMR do estado de São Paulo teve aumento de 80%, enquanto a mortalidade por TMR reduziu em três vezes, na medida em que as taxas de cura alcançaram 68% dos casos notificados, nos últimos 4 anos. **Descritores:** Tuberculose; Tuberculose Resistente a Múltiplos Medicamentos; Notificação de Doenças.

POSTER N°: 154

### CARACTERIZAÇÃO DOS DOENTES DE TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE EM INTERNAÇÃO DE LONGA DURAÇÃO EM UMA INSTITUIÇÃO DO INTERIOR DE SÃO PAULO

Rafaella Grecco<sup>1</sup>, Jaqueline Garcia de Almeida Ballesteros<sup>1</sup>, Laís Mara Caetano da Silva<sup>1</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1</sup>, Luciana de Sousa Oliveira<sup>1</sup>, Ana Carolina Scarpel Moncaio<sup>1</sup>, Altair Seabra de Farias<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil.  
E-mail: rafaella.grecco@usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose Multirresistente (TBMR) e a Tuberculose Extensivamente Resistente (TBXDR) são formas de adoecimento que exigem cuidados diferenciados aos doentes por tuberculose (TB). Embora seja preconizado o tratamento ambulatorial, em casos específicos há necessidade de hospitalização. O período de internação pode ser longo e repercutir negativamente sobre os doentes. Assim, teve-se por objetivo identificar o perfil dos doentes que necessitam de internação de longa duração. **Método:** Estudo descritivo, realizado em hospital especializado no interior de São Paulo. A amostra foi composta de 8 doentes internados há mais de 6 meses. Os dados foram coletados dos prontuários médicos com roteiro estruturado, entre abril e junho de 2014. **Resultados:** Predominou-se o

## POSTER PRESENTATION

sexo masculino (6), com idade economicamente ativa (24 a 44 anos), solteiros (6), desempregados (6). Quanto a história prévia de adoecimento por TB: 7 apresentaram mais 1 acometimento por TB, e 5 já haviam sido hospitalizados anteriormente. Na internação atual: 7 apresentaram multirresistência adquirida e 1 primária; sendo 3 com TBXDR; a duração média de internação foi de 22,6 meses (maior 45 meses). Comorbidades mais frequentes: etilismo, tabagismo e uso de drogas ilícitas. Principais motivos de internação: complicações do tratamento atual, não adesão e questões sociais. **Conclusão:** os doentes multirresistentes com necessidade de internação na instituição são adultos jovens, com histórico de outros acometimentos por TB, sem apoio de companheiros afetivos, com dificuldades sociais e que chegam a condições clínicas bem graves. Conhecer seu perfil é de extrema importância para traçar estratégias para manutenção do tratamento ambulatorialmente. **Descritores:** Tuberculose resistente a múltiplos medicamentos, Hospitalização, Papel do Doente, Institucionalização.

POSTER Nº: 156

### CONDIÇÕES DE PRODUÇÃO DO CUIDADO AOS DOENTES DE TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE EM INTERNAÇÃO DE LONGA DURAÇÃO EM UMA INSTITUIÇÃO DO INTERIOR DE SÃO PAULO

Rafaella Grecco<sup>1</sup>, Jaqueline Garcia de Almeida Ballester<sup>1</sup>, Ana Carolina Scarpel Moncaio<sup>1</sup>, Altair Seabra de Farias<sup>1</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1</sup>, Mônica Cristina Ribeiro Alexandre Dauria de Lima<sup>1</sup>, Catiucia de Andrade Surniche<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil. E-mail: rafaella.grecco@usp.br

**Justificativa e Objetivos:** Alguns doentes por Tuberculose Multirresistente (TBMR) necessitam de tratamento em regime de internação, muitas vezes compreendendo a um período de hospitalização de 24 meses. Nesse sentido, conhecer como a instituição hospitalar se organiza para prestar assistência especializada, bem como se dão as relações nesse espaço, faz-se importante. Logo, este foi o objetivo desta investigação. **Métodos:** Estudo analítico, qualitativo, realizado em um hospital especializado no interior de São Paulo. Os dados foram gerados entre março e junho de 2014. Utilizou-se observação participante e o material empírico produzido foi tratado pela Análise de Discurso. **Resultados:** Emergiram em três eixos centrais: 1) A instituição e suas regras; 2) O isolamento e 3) As estratégias de fuga. O primeiro revela a ocorrência da regulamentação de conduta, com controle de rotinas como banho e alimentação, estabelecimento de número de visitas e possibilidade de alta licença anualmente. O segundo discute o impacto do isolamento físico nos doentes, que separados em quartos individuais, têm poucos mo-

mentos de convívio social e afetivo. Já o terceiro, é marcado pela ocorrência de mecanismos de fuga como: uso de álcool e drogas - seja evadindo-se do hospital ou levando as substâncias à instituição, ocorrência de relações amorosas com envolvimento sexual entre os doentes ou mesmo no abandono do tratamento e alta hospitalar a pedido. **Conclusões:** A assistência hospitalar especializada à TBMR apresenta inúmeros desafios, principalmente sociais e afetivos, configurando-se como penosa aos doentes, que por vezes não conseguem enquadrar-se as regras e utilizam mecanismos de fuga dessa realidade. **Descritores:** Tuberculose Resistente a Múltiplos Medicamentos. Integração de Sistemas. Pessoal de Saúde.

POSTER Nº: 157

### TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE E EXTENSIVAMENTE RESISTENTE EM ÁREA DE ELEVADA INCIDÊNCIA. MUNICÍPIO DE SANTOS (SP), BRASIL. 2011-2012

Andrea Gobetti Coelho Bombonatte<sup>1</sup>, Liliana Aparecida Zamarioli<sup>1</sup>, Ana Carolina Chiou Nascimento<sup>1</sup>, Rosângela Oliveira<sup>2</sup>, Lucilaine Fera-zoli<sup>2</sup>, Eliseu Alves Waldman<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Micobactérias - Núcleo de Ciências Biomédicas - Instituto Adolfo Lutz - Centro Laboratório Regional de Santos, São Paulo, Brasil;

<sup>2</sup>Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses - Instituto Adolfo Lutz - Laboratório Central, São Paulo, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: gobetti@ial.sp.gov.br

**Justificativa e Objetivos:** A incidência de tuberculose (TB) em Santos (SP) é de 73/100.000 habitantes-ano. Taxas de cura e abandono de tratamento entre casos novos são, respectivamente, 79% e 10%. Indicadores sugerem elevado risco para TB multirresistente (TBMR). O objetivo do estudo é descrever o perfil de sensibilidade às drogas entre pacientes com TB pulmonar (TBP) e analisar os resistentes a ao menos uma droga, segundo características individuais, da evolução do tratamento e do serviço. **Métodos:** Estudo descritivo, de base populacional, pacientes maiores de 15 anos, notificados à vigilância; residentes no município, 2011 e 2012. As definições de casos de TBMR e TBXR (extensivamente resistente) são as preconizadas pelo Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT). **Resultados:** Dos 570 casos de TBP notificados, 263 foram submetidos ao teste de sensibilidade. Desses 28 mostraram-se resistentes a ao menos uma droga. A resistência à INH foi encontrada 78,6% (22/28). Entre os casos novos 6,8% (14/205) resistentes a ao menos a uma droga, dentre estes 14,3% (2/14) eram TBMR e 7,1% (1/14) TBXR. Entre os pacientes com tratamento prévio, 24,1% (14/58) resistentes a ao menos a uma droga, destes 21,4% (3/14) eram TBMR e 21,4% (3/14) TBXDR. Os desfechos foram mais desfavoráveis entre os resistentes a ao menos uma droga, sendo cura, abandono e falência de, respectivamente, 57,7%,

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

14,4% e 19,2%. **Conclusão:** Apontam alta taxa de TBMR e TBXR, possivelmente subestimada, e elevada proporção de resistência primária. Importante destacar que as taxas de resistência primária constituem um indicador sensível de avaliação do desempenho do PNCT. **Descritores:** Tuberculose pulmonar, multi-droga resistente, resistência as drogas.

POSTER Nº: 158

### PERFIL DE SENSIBILIDADE DO *Mycobacterium tuberculosis* EM ISOLADOS CLÍNICOS DE PACIENTES VIVENDO COM HIV/AIDS

Clarice Brinck Brum<sup>1</sup>, Fernanda de Souza Abilleira<sup>1</sup>, Ana Bárbara Scholante Silva<sup>1</sup>, Daniela Fernandes Ramos<sup>1</sup>, Júlia Vianna<sup>1</sup>, Andrea von Groll<sup>1</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.

E-mail: claricebbrum@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A rápida detecção do *Mycobacterium tuberculosis* resistente aos antimicrobianos (ATM) principalmente entre pacientes co-infetados tuberculose (TB)/HIV, é um importante avanço para o controle da TB. Métodos fenotípicos e genotípicos têm contribuído para diminuir o tempo de detecção e ampliar o conhecimento epidemiológico acerca de bacilos resistentes em determinadas populações de risco. O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de sensibilidade do *M. tuberculosis* frente à Isoniazida (INH) e Rifampicina (RMP) em isolados de pacientes vivendo com HIV/AIDS atendidos no período de dezembro de 2011 a dezembro de 2013, no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande. **Métodos:** O perfil de sensibilidade a INH e RMP de 57 isolados clínicos de *M. tuberculosis*, foi determinado através do método fenotípico Resazurin Microtiter Assay (REMA). Entre os que apresentaram resistência a um ou ambos ATM, foi realizado o método genotípico GenoType MTBDRplus™ afim de detectar as principais bases moleculares de resistência. **Resultados:** O REMA identificou 9 monoresistentes, sendo 7 a INH, 2 para RMP e 1 multidroga resistente (MDR). Pelo método genotípico foi detectado 5 monoresistentes, sendo 3 a INH, 2 a RMP e 1 MDR, as outras 4 foram sensíveis. Entre as mutações as mais frequentes foram em katG S315T e ausência de katG-WT, e para RMP em rpoB D516V, H526Y e ausência de rpoB-WT7. **Conclusão:** Através deste estudo pode-se concluir que há um número elevado de isolados resistentes na população e que o método genotípico, possibilita um diagnóstico preciso em um tempo reduzido, além da realização do teste diretamente da amostra clínica. **Descritores:** Tuberculose, resistência, *M. tuberculosis*, REMA, GenoType MTBDRplus™

**Apoio financeiro:** Este projeto foi financiado pelo MCTI/CNPq/MS-SCTIE - Decit N° 40/2012 - Pesquisa em Doenças Negligenciadas e FAPERGS/MS/CNPq/SESRS processo n°: 1193-2551/13-6.

POSTER Nº: 168

### ORGANIZAÇÃO DOS SISTEMAS DE SAÚDE PARA ASSISTÊNCIA À TUBERCULOSE MULTIRRESISTENTE: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA

Jaqueline Garcia de Almeida Ballesteros<sup>1</sup>, Rafaella Grecco<sup>1</sup>, Ana Carolina Scarpel Moncaio<sup>1</sup>, Altair Seabra de Farias<sup>1</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1</sup>, Mônica Cristina Ribeiro Alexandre d'Auria de Lima<sup>1</sup>, Catiucia de Andrade Surniche<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil. E-mail: jaqueline.almeida@usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose multirresistente (TBMR) é uma doença complexa e para seu controle necessita-se de mecanismos que garantam o tratamento adequado. Nesse sentido, é preciso que os serviços de saúde (SS) se estruturam de maneira a possibilitar uma assistência resolutive. Logo, objetivou-se analisar a produção científica acerca da organização dos SS para a melhoria da assistência ao doente de TBMR no que tange ao tratamento. **Métodos:** Revisão integrativa da literatura, utilizando as bases de dados LILACS, PubMed, CINAHL, SCOPUS e Web of Science. A busca foi realizada entre novembro e dezembro de 2013. **Resultados:** Dos 372 estudos identificados, 13 foram incluídos, tendo como principais cenários Peru (5) e África do Sul (3). Foram categorizados em três grupos: 1) Organização da assistência à TBMR: com oito estudos, sendo que em quatro foram abordadas formas diferenciadas de incorporação de outros sujeitos no processo de trabalho (apoioadores da comunidade) e quatro em que foram descritas peculiaridades locais na implementação do DOTS-plus; 2) Ferramentas de comunicação para melhora da assistência ao doente de TBMR: resultaram duas investigações que testaram novos softwares para melhora do fluxo de informações entre os profissionais envolvidos na assistência ao doente; e, 3) Assistência ao doente de TBMR: três estudos que abordaram a criação de um grupo de apoio psicossocial aos doentes e o papel do enfermeiro na atenção à TBMR. **Conclusões:** Nota-se que organização dos serviços é um ponto que vem sendo revisto na assistência ao doente, incorporando e avaliando novas estratégias para adequação aos diversos cenários. **Descritores:** Tuberculose Resistente a Múltiplos Medicamentos, Administração em Saúde Pública, Serviços de Saúde.

POSTER Nº: 193

### EVALUATING MUTATIONS IN MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS, IN PARÁ, BRAZIL

Karla Valéria Batista Lima<sup>1,2</sup>, Rafaela Bessa Guimarães<sup>1,2</sup>, Maria Luíza Lopes<sup>1,3</sup>, Ismari Perini Furlaneto<sup>2</sup>, Ana Roberta Fusco da Costa<sup>1</sup>, Blenda Gonçalves Cabral<sup>2</sup>, Joseline Barbosa Aboim<sup>1,4</sup>, Alex Brito Souza<sup>1</sup>, Samir Mansour Moraes Casseb<sup>1</sup>, Luana Nepomuceno Gondin Costa Lima<sup>1</sup>, Emilyn Costa Conceição<sup>3</sup>

## POSTER PRESENTATION

<sup>1</sup>Instituto Evandro Chagas, Brasil; <sup>2</sup>Universidade do Estado do Pará, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal do Pará, Brasil. E-mail: karlalima@iec.pa.gov.br

**Background and Objectives:** In the *Mycobacterium tuberculosis* Complex (CMTB), drug resistance is a result of spontaneous mutations. Resistance to anti-tuberculosis drugs (TB) is a major public health problem that threatens progress made in TB care and control worldwide. The objective of the present study was to describe genetic mutations related to TB-multidrug resistance (MDR). **Methods:** The 75 MDR isolates were obtained between 2008 and 2010, in Pará, Brazil. The primers katG1F/katG375R and katGF2/R2 were used to sequence the katG gene; inhARegF/R were used for the inhA gene; and MF/R were used for the rpoB gene. **Results:** Among the samples, 68 featured mutation in katG gene and seven were in the 315 codon (five of S315Asn and two of S315Ile). In the initial region of the same gene four other mutations were found in four samples (codons 6, 38, 38 and 91). These correspond to Gly → Glu; Trp → Gly; Trp → Trp → Gly and Gly, respectively. Among those, only the last two showed silent mutations. For the inhA gene, there were 26 samples with the C15T mutation and seven with the G24T mutation. The rpoB gene presented the S531Asp (TCG → TTG) mutation in 44 samples and in the S531T (TCG → TGG) mutation in 15 samples. **Conclusion:** The highest mutation frequency was found in katG gene, which confers resistance to Isoniazid. The rpoB gene mutation was found in 60 (80%) samples, suggesting that the Rifampicin resistance in the other 15 samples belongs to mutations in other regions. **Descriptors:** Tuberculosis, Multidrug resistance, Sequencing.

POSTER N°: 198

### PERFORMANCE OF GENOTYPE MTBDRsl IN A TUBERCULOSIS REFERENCE LABORATORY, BRAZIL

Angela Pires Brandão<sup>1,2</sup>, Rosângela Siqueira de Oliveira<sup>1</sup>, Erica Chimento<sup>1</sup>, Vera Simonsen<sup>1</sup>, Vera Maria Nader Galesi<sup>3</sup>, Helio Hehl Caiiafa Filho<sup>1</sup>, Lucilaine Ferrazoli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz; <sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz; <sup>3</sup>Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, Brazil. E-mail: lferrazoli@ial.sp.gov.br

**Background and Objectives:** Drug resistance is the most important threat to tuberculosis control. New methods to determine drug resistance have been developed, including Genotype MTBDRsl test (Hain LifeScience) which detects wild types and mutations in genes responsible for resistance to fluoroquinolones (*gyrA*), aminoglycosides/cyclic peptides (*rrs*) and ethambutol (*embB*), thus identifying extensively drug-resistant (XDR) *M. tuberculosis* complex (MTC) strains. We evaluated the accuracy of Genotype TBMDRsl applied to MTC isolates. **Methods:** The

assay was evaluated on 200 clinical multi-resistant isolates received during 2012-2013 at the Adolfo Lutz Institute to where mycobacterial isolates from the State of Sao Paulo, Brazil are sent for drug susceptibility testing. Susceptibilities to ofloxacin (OFX), capreomycin (CPM), amikacin (AMK), kanamycin (KM), and ethambutol (EB) by the BACTEC MGIT 960 system were used as reference. **Results:** The sensitivities of GenoType MTBDRsl to OFX, CPM, AMK, KM, and EB were 98%, 87.5%, 100%, 100%, and 41.2%, respectively. The specificities were 94.7%, 97.3%, 97.8%, 97.8%, and 86.4% respectively. Mutations detected were as follows: among 50 OFX<sup>r</sup> isolates, 13(26%) MUT1(A90V), 13(26%) MUT3C(D94G), 5(10%) MUT2(S91P), 5(10%) MUT3B(D94N-D94Y), 3(6%) MUT1-MUT3C, 3(6%) MUT3D(D94H), 3(6%) in WT1(C88S/A88T), one (2%) in MUT2-MUT3C, and one in WT3(92-97); in 16(100%) CPM-AMK-KM<sup>r</sup> strains, MUT1(A1401G); in 53 EBR isolates, 21(39.6%) MUT1B(M306V), 13(24.5%) MUT1A(M306I), and 17(32.1%) WT1 deficits (covering codon 306), and two (3.8%) MUT1A-MUT1B. Discrepant results will be confirmed upon retesting. **Conclusion:** Although less accurate for EB, GenoType MTBDRsl showed good accuracy with Brazilian isolates and can speed up the detection of second-line drug resistance and XDR MTC isolates. **Descriptors:** *Mycobacterium tuberculosis*, Extensively Drug-Resistant Tuberculosis, Molecular Probe Techniques. **Funding:** The study was supported by FAPESP/PPSUS process no. 2012/51756-5. BioMérieux kindly provided the Genotype TBMDRsl kits.

POSTER N°: 227

### ASSOCIAÇÃO ENTRE A MUTAÇÃO rpoB S531W E A FAMÍLIA LAM EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Mycobacterium tuberculosis* MULTIRRESISTENTES DO ESTADO DE SANTA CATARINA/BRASIL

Rodrigo I. Prim<sup>1</sup>, Marcos A. Schörner<sup>1</sup>, Simone G. Senna<sup>1</sup>, Christiane L. Nogueira<sup>1</sup>, Jaqueline G. de Oliveira<sup>2</sup>, Anna C. C. Figueiredo<sup>2</sup>, Darcita B. Rovaris<sup>3</sup>, Maria L. Bazzo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Sorologia e Micobactérias; <sup>2</sup>Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz Minas; <sup>3</sup>Laboratório Central de Saúde Pública/SC. E-mail: m.l.bazzo@ufsc.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* e que atinge cerca de 12 milhões de pessoas. A resistência às drogas é uma ameaça global e um dos maiores problemas associados com a TB, especialmente a TB multirresistente (TB-MDR). O objetivo do presente estudo é caracterizar os isolados clínicos de TB-MDR do estado de Santa Catarina (SC)/Brasil. **Métodos:** Cinquenta e três isolados clínicos de TB-MDR, obtidos no LACEN/SC entre os anos de 2008 e 2012, foram submetidos

## POSTER PRESENTATION

ao sequenciamento parcial do gene *rpoB* e spoligotyping. Nove isolados foram submetidos também ao MIRU-12. **Resultados:** A mutação *rpoB* S531L foi a mais prevalente (58,5%), seguida pela mutação *rpoB* S531W (20,8%). Outras mutações foram encontradas nos códons 526 (11,3%), 516 (3,8%), 505 (1,9%), 512 (1,9%) e 572 (1,9%). Apenas dois isolados não estavam mutados no gene *rpoB*. Houve associação entre a família LAM e a mutação S531W ( $p=0,001$ , teste de Fischer), principalmente porque 10 entre os 11 isolados que continham essa mutação pertenciam à linhagem LAM9 e em todos os sete isolados do SIT2263 (LAM9) foi encontrada essa mutação. O MIRU foi aplicado em nove isolados entre os 11 isolados com a mutação S531W e, quatro apresentaram perfil idêntico de spoligotyping e MIRU e apenas um não tinha similaridade com os demais (SIT106). **Conclusão:** Os resultados do presente estudo são importantes para a sugestão de métodos moleculares para a detecção da TB-MDR em SC e alertam para a melhoria do controle da TB no estado. **Descritores:** Tuberculose, genes MDR, tipagem molecular.

POSTER Nº: 229

## AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA EM CEPAS DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA DE TUBERCULOSE EM MINAS GERAIS

Valéria Martins Soares<sup>1</sup>, Isabela Neves de Almeida<sup>2</sup>, Lida Jouca de Assis Figueredo<sup>2</sup>, Carla Coimbra de Figueiredo<sup>2</sup>, Ana Lethicia Figueiredo<sup>2</sup>, Jamilly dos Reis Figueiredo<sup>2</sup>, Wânia da Silva Carvalho<sup>2</sup>, Silvana Spindola de Miranda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hospital Júlia Kubitschek/Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais; <sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>3</sup>Coordenadora do Grupo de Pesquisa em Micobacterioses/CNPq/Faculdade de Medicina/UFMG/REDE-TB. E-mail: isabelanalmeida@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose permanece como um dos principais problemas de saúde pública no mundo. A situação se agrava pela emergência de cepas de micobactérias resistentes aos principais medicamentos em uso. **Métodos:** Foram selecionadas 267 cepas de *M. tuberculosis* isoladas de amostras respiratórias de pacientes atendidos no Hospital Júlia Kubitschek de 2008 a 2014. O teste de sensibilidade aos fármacos: Rifampicina (R), Isoniazida (H), Estreptomomicina (S), Pirazinamida (Z) e Etambutol (E) foi realizado pelos métodos das proporções em meio Lowenstein-Jensen ou pelo MGIT. **Resultados:** O perfil de sensibilidade encontrado foi: 19,5 % das cepas MDR (R+H) (52/267); 1,4% resistentes a R e outros fármacos que não H (4/267); 26,2% resistentes a H sozinha ou a outros fármacos, exceto R (70/267); 12,7% resistentes a S sozinha ou a outros fármacos (34/267); 5,2% resistentes a E sozinha ou a outros fármacos (14/267); 4,5 resistentes a Z e outros fármacos (12/267). Em 48% (25/52) são MDR e com resistência a outros fármacos. **Conclusão:** A alta taxa de resistência encontrada é esperada de

um Hospital de Referência. Esse dado é importante, pois, será implantado no HJK o teste molecular rápido para diagnóstico do *M. tuberculosis* e sua resistência à R (GeneXpert MTB/RIF – Cepheid). Conhecer somente a resistência da cepa a Rifampicina é insuficiente, uma vez que outras cepas resistentes podem ser identificadas em Hospitais de Referência Terciária. Portanto, os testes de sensibilidade aos outros fármacos são importantes, mesmo com a implantação de novas metodologias moleculares. **Descritores:** *Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculose, Tuberculose Multidroga Resistente.

POSTER Nº: 249

## DETECÇÃO DE MUTAÇÕES NOS GENES *katG*, *rpoB* e *inhA* POR HIBRIDIZAÇÃO REVERSA EM DNA DE *Mycobacterium tuberculosis* DIRETAMENTE EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM TUBERCULOSE MUNICÍPIO DE CANOAS/RS

Cristiana Alves Martins<sup>1</sup>, Sergio Luiz Montego Ferreira Junior<sup>2</sup>, Graziella Lima Belo<sup>1</sup>, Natali Linck<sup>1</sup>, Márcia Susana Nunes Silva<sup>1,2</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Luterana do Brasil; <sup>2</sup>FEEPS. E-mail: cris\_martins2005@yahoo.com.br.

**Justificativa e objetivo:** O desenvolvimento de novas técnicas de detecção de mutações causadas por *Mycobacterium tuberculosis* vem impulsionando a pesquisa e o acompanhamento da doença. O tratamento da TB consiste em uma associação de fármacos, principalmente rifampicina (RMP) e isoniazida (INH) por um período de no mínimo seis meses. O aumento de cepas resistentes a esses fármacos é preocupante, uma vez que são poucos os fármacos disponíveis. A detecção e diagnóstico da resistência aos fármacos disponíveis é realizada através de métodos microbiológicos que são laboriosos e demorados, sendo comum ter que aguardar até mais de quatro semanas para obtenção do resultado. **Objetivo:** Analisar a presença de mutações em regiões de DNA de *M. tuberculosis* envolvidas com essa resistência através de hibridização com sondas para os genes *katG*, *rpoB* e *inhA*. **Método:** As sondas eram fixadas em membrana de náilon para hibridizar com o produto de um PCR multiplex realizado com primers específicos. A hibridização era detectada através de um sistema enzimático que formava um precipitado de cor púrpura. Os DNAs testados foram extraídos diretamente de escarro de pacientes diagnosticados com TB no município de Canoas e os resultados comparados com o teste de microbiológico. **Resultados:** Até o momento, a análise dos DNAs por essa metodologia identificou corretamente o perfil de susceptibilidade das cepas. **Conclusão:** Os resultados ainda preliminares, mas promissores, indicam a possibilidade de utilizar esta metodo-

## POSTER PRESENTATION

logia como uma alternativa para a identificação rápida de resistência aos antimicrobianos utilizado no tratamento da TB. **Descritores:** Tuberculose, resistência, mutação.

### ABSTRACTS NEW VACCINES

POSTER Nº: 17

#### IL-17 É IMPORTANTE NA GERAÇÃO DE RESPOSTA TH1 ESPECÍFICA PARA A VACINA MC2-CMX

Monalisa Martins Trentini<sup>1</sup>, Fábio Muniz de Oliveira<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup> e Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil.  
E-mail: monalisatrentini@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A vacinação com *M. smegmatis* recombinante (*mc*<sup>2</sup>-CMX) mostrou resultados promissores na proteção contra infecção por *M. tuberculosis* (*Mtb*) em camundongos, porém induziu a formação de abscesso no local da imunização. Assim, o objetivo desse estudo é avaliar se a ativação e migração de neutrófilos para a formação do abscesso seria necessária para a proteção induzida pela vacina contra o *Mtb*. **Métodos:** Camundongos C57BL/6, IL-22KO e IL-17KO foram imunizados com *mc*<sup>2</sup> e *mc*<sup>2</sup>-CMX. Quinze dias após a última imunização, as lesões foram coletadas e coradas com HE, e as células do baço foram avaliadas por citometria de fluxo. Após trinta dias da última imunização, os camundongos foram desafiados com *Mtb* (via endovenosa, 106UFC/mL). **Resultados:** Camundongos C57BL/6 vacinados com *mc*<sup>2</sup> e *mc*<sup>2</sup>-CMX apresentaram lesões semelhantes, com neutrofilia periférica, necrose central e poucos macrófagos, já os camundongos IL-22KO e IL-17KO apresentaram lesões reduzidas, com pouca migração de neutrófilos, principalmente na lesão induzida no IL-17KO. A resposta específica TCD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> para CMX foi induzida em camundongos IL-22KO e C57BL/6, entretanto, na vacinação de camundongos IL-17KO não houve esta indução. A vacinação de camundongos IL-22KO induziu a redução da carga bacilar no pulmão de maneira similar aos camundongos C57BL/6. **Conclusão:** A vacina *mc*<sup>2</sup>-CMX induz a formação de abscesso no local da imunização em todos os camundongos avaliados. A migração de neutrófilos provavelmente influencia diretamente na indução de resposta Th1 específica (produção de IFN- $\gamma$ ). **Descritores:** *mc*<sup>2</sup>-CMX, Vacina, Tuberculose.

POSTER Nº: 19

#### AVALIAÇÃO DA INDUÇÃO DE CÉLULAS DE MEMÓRIA APÓS IMUNIZAÇÃO DE CAMUNDONGOS COM UMA VACINA BCG RECOMBINANTE EXPRESSANDO OS EPÍTOPOS IMUNODOMINANTES DOS ANTÍGENOS Ag85C, MPT51 E HspX DE *Mycobacterium tuberculosis*

Sarah Veloso Nogueira<sup>1</sup>, Adeliene Castro da Costa<sup>1</sup>, Abadio de Oliveira da Costa Júnior<sup>1</sup>, Danilo Pires de Resende<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil.  
E-mail: shvnogueira@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) continua a ser um problema global de saúde pública causando milhões de novos casos a cada ano. A BCG, única vacina em uso, reduz a incidência de TB em crianças mas não reduz a TB pulmonar em adultos. Como o propósito da vacinação é promover a memória imunológica, buscou-se através deste estudo avaliar a indução de células de memória efetora por uma BCG recombinante. **Métodos:** Os camundongos BALB/c foram divididos em três grupos: PBS, BCG, e rBCG-CMX. 100  $\mu$ L das vacinas (10<sup>6</sup> CFU/animal) foram administrados via subcutânea. O grupo PBS recebeu 100 $\mu$ L de PBS com 0,05% de Tween 80 e as imunizações foram conduzidas em dose única. A indução de células TCD4<sup>+</sup> efectoras e de memória foi avaliada nas células do baço, por meio de citometria de fluxo 30 dias após imunização, utilizando-se os marcadores CD44, CD62L e CCR7. **Resultados:** Nos modelos de memória imunológica, alta expressão de CD62L e CCR7 representam as células de memória central e baixa expressão representa células de memória efetora. Todas estas populações foram aumentadas no baço dos camundongos vacinados. **Conclusão:** Os resultados preliminares da imunização com a rBCG-CMX permitem concluir que essa vacina tem o potencial de elicitar uma resposta imune de memória similar ou ainda superior à de BCG. **Descritores:** Tuberculose, vacina, memória, rBCG-CMX.

POSTER Nº: 20

#### ESTRATÉGIA DE BOOSTER VACINAL COM PROTEÍNA DE FUSÃO CMX PROMOVE PROTEÇÃO SUPERIOR A INDUZIDA POR BCG

Adeliene Castro da Costa<sup>1</sup>, Fábio Muniz de Oliveira<sup>1</sup>, Abadio de Oliveira Costa-Junior<sup>1</sup>, Danilo Pires de Resende<sup>1</sup>, Sarah Veloso Nogueira<sup>1</sup>, Bruno de Paula Oliveira Santos<sup>1</sup>, Rafaela Alves de Castro<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil.  
E-mail: adeliene.castrodacosta@mail.com

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

**Justificativa e Objetivos:** *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) é um problema global de saúde pública. A única vacina utilizada para prevenção da tuberculose (TB) é a Bacille Calmette-Guérin (BCG), a qual apresenta eficácia variável na proteção de TB pulmonar em adultos. Para solucionar este problema, novas vacinas efetivas estão sendo almejadas. Nosso grupo desenvolveu uma vacina rBCG expressando a proteína de fusão CMX (Ag85C\_MPT51\_HspX), a qual confere proteção superior a BCG. Neste estudo avaliamos a capacidade da proteína CMX melhorar a proteção destas vacinas ao serem utilizadas como booster em camundongos previamente vacinados com BCG ou rBCG. **Métodos:** Os grupos de camundongos BALB/c e C57BL/c foram divididos em cinco: PBS, BCG, BCG + booster, rBCG-CMX e rBCG-CMX + booster. 100 µL das vacinas (10<sup>6</sup> CFU/animal) foram administrados via subcutânea. O grupo PBS recebeu 100µL de PBS com 0,05% de tween 80. As imunizações foram conduzidas em dose única, aplicando-se o booster com CMX, 30 dias após imunização. Aos 90 dias de imunização, os animais foram desafiados com 100 µL de suspensão de H37Rv (10<sup>5</sup> CFU/animal) por via intravenosa. **Resultados:** A proteção induzida pela rBCG-CMX é superior a BCG nos dois modelos. O booster com a proteína CMX melhorou a proteção da BCG no modelo BALB/c. No camundongo C57BL/6, o booster melhorou somente a proteção da vacina rBCG-CMX. **Conclusão:** A estratégia prime-booster combinando BCG ou rBCG com um desafio utilizando proteína de fusão CMX confere proteção superior àquela induzida pela BCG ou rBCG sozinhas. **Descritores:** Tuberculose, rBCG, Booster.

POSTER Nº: 27

## INCORPORAÇÃO DO GENE ESAT-6 À PROTEÍNA DE FUSÃO RECOMBINANTE CMX DE *Mycobacterium tuberculosis*

Renato Beilner Machado<sup>1</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil.

E-mail: renatobeilner\_hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Tuberculose é um grave problema de saúde mundial que mata cerca de 1,3 milhões de pessoas todo ano. Desenvolver uma vacina que proteja efetivamente, com memória duradoura assim como desenvolver novos testes de diagnósticos sensíveis, específicos e rápidos são necessários para contera epidemia da tuberculose. Diante disto, nosso grupo desenvolveu uma proteína de fusão contendo epítomos imuno-dominantes das proteínas Ag85C, MPT51 e HspX, denominada CMX, que demonstrou efetividade na proteção contra o Mtb, induzindo uma resposta tipo Th1, capaz de diminuir carga bacilar in vivo e discriminar indivíduos com tuberculose pulmonar dos controles saudáveis através da dosagem de IgM. O objetivo deste trabalho foi construir uma nova proteína de fusão incor-

porando a proteína ESAT-6 à proteína de fusão CMX e expressá-la em *Escherichia coli*. **Métodos:** A proteína ESAT-6 foi fusionada à proteína CMX através de clonagem heteróloga utilizando plasmídeo pET23a e a expressão foi feita em *Escherichia coli* BL21 (PlysS). **Resultados:** A clonagem no plasmídeo pET23a em *Escherichia coli* XLI-Blue foi confirmada por eletroforese através de digestões com enzimas de restrição específicas. A expressão da proteína foi feita em *Escherichia coli* e a purificação feita através de coluna de afinidade de níquel. A expressão e quantificação da proteína recombinante foram visualizadas através de gel de poliacrilamida SDS. Através da técnica de western blotting verificamos que anticorpos policlonais contra CMX foram capazes de reconhecer a nova proteína. **Conclusão:** A proteína ESAT-6 foi fusionada à proteína CMX e esta fusão não comprometeu o reconhecimento dos anticorpos policlonais à proteína de fusão CMX. **Descritores:** Tuberculose, clonagem, *Escherichia coli*.

POSTER Nº: 30

## PROSPECTING NEW ADJUVANTS PLANT-DERIVED TO USE IN SUBUNIT VACCINES FOR TUBERCULOSIS

Duane Alves da Silva<sup>1</sup>, André França Corrêa<sup>2</sup>, Monalisa Martins Trentini<sup>1</sup>, Osmar Nascimento Silva<sup>3</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>, Jaime Martins Santana<sup>2</sup>, Otávio Luiz Franco<sup>3</sup>, Nikolai Petrovsky<sup>4</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil; <sup>2</sup>Universidade de Brasília, Brasil;

<sup>3</sup>Universidade Católica de Brasília, Brasil; <sup>4</sup>Universidade de Flinders, Austrália.

E-mail: duanne.vet@gmail.com

**Rationale and Objective:** Tuberculosis (TB) is an infectious disease widespread around the world considered a global health emergency. BCG, the unique vaccine against TB, has been used for over 60 years but its protective capacity is questionable. Protein subunit vaccines composed by potential immunogenic antigens of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) have shown promising results when combined with nontoxic, harmless and stable adjuvants. Subunit vaccines associating a recombinant metalloprotease (rDAP) from Mtb and two plant-derived adjuvants (Cn-AMP1 and ADVAX2) were used in the mouse model in order to assess the immunogenicity capacity of these new formulations. **Methods:** Specific pathogen-free female BALB/c mice were immunized three times with 15 days of interval, subcutaneously with 20 µg/mL of each respective formulation and the BCG groups received 10<sup>6</sup> UFC of BCG Moreau. Animals were divided into groups of 6: BCG alone, BCG+DAPC (rDAP-Cn-AMP1), DAPC (rDAP-Cn-AMP1), Cn-AMP1, DAPVAX (rDAP-ADVAX2), ADVAX2. IgG1 and IgG2a levels were monitored during the immunizations. Sixty days after the last immunization mice were infected with Mtb and 30 days later the cellular immune response was assessed by flow cytometry. **Conclusion:** DAPC and DAPVAX groups showed higher specific antibodies levels during the immunizations. Interestingly the Cn-AMP1 group presented

## POSTER PRESENTATION

more activated macrophages in the lungs, which can be related with the histopathological lesions found in this organ. Both adjuvants induced tissue injury similar to lesions caused by the enhanced of TNF- $\alpha$ . It is possible that these molecules are using the TLR pathway to interact with the cells. **Keywords:** peptides, protease, BCG, *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 38

### RECOMBINANT BCG (rBCG-CMX) INFECTION INDUCES ANTI-INFLAMMATORY PROFILE IN LUNG MACROPHAGES

**Bruno de Paula Oliveira Santos, Danilo Pires Resende, Adeliene Castro da Costa, Sarah Veloso Nogueira, Abadio de Oliveira da Costa-Júnior, Rafaela Alves de Castro, André Kipnis, Ana Paula Junqueira-Kipnis**

Universidade Federal de Goiás, Brasil; Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Brasil.

E-mail: bposantos@live.com.

**Background and Objectives:** Tuberculosis (TB) is a contagious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). BCG, the only vaccine used in TB's control, protects children, but do not protect adults against pulmonary TB. We wanted to verify if the recombinant BCG vaccine expressing the fusion protein CMX (rBCG-CMX) was able to modulate the innate immune response. **Methods:** The experiments were realized in vivo and in vitro. In vivo, BALB/c mice were intranasal infected with BCG and rBCG-CMX. Alveolar macrophages were obtained by bronchoalveolar lavage 1, 4 and 7 days after infection. In vitro, alveolar macrophages and lung cells homogenates were obtained and infected with BCG and rBCG-CMX. Nitrite and urea were measured in the cultures at 2, 4, 6, 24, 48, 96 and 120 hours after infection. **Results:** The intranasal infection showed a trend of more nitrite production in BCG ( $97,12 \pm 67,16 \mu\text{M}$ ) vaccinated mice when compared to rBCG-CMX vaccinated mice ( $29,01 \pm 25,13 \mu\text{M}$ ). No difference in urea production between BCG and rBCG-CMX ( $0,59 \pm 0,52$ ;  $0,85 \pm 0,42$  mM, respectively) vaccinated animals were observed. When lung cells were infected in vitro, cultures stimulated with BCG presented higher production of nitrite in relation to rBCG-CMX ( $192,44 \pm 34,89$ ;  $32,94 \pm 11,60 \mu\text{M}$ ). Regarding the urea production, lung cells infected with rBCG-CMX produced higher levels of urea than BCG infected cells ( $4,92 \pm 0,49$ ;  $0,0 \pm 0,36$  mM). However, alveolar macrophages did not produce significant levels of nitrite, but produced urea in similar levels of lung-infected cells. **Conclusion:** rBCG-CMX seems to modulate in vitro infected lung cells to an M2 phenotype. **Keywords:** Tuberculosis, BCG, BCG-CMX.

POSTER Nº: 39

### A VACINA BCG INDUZ MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS, NEUTRÓFILOS E CÉLULAS

### NK E NA AUSÊNCIA DE IL-17 EXISTE EXCESSIVA ATIVAÇÃO DESTAS CÉLULAS

**Danilo Pires Resende<sup>1</sup>, Adeliene Castro da Costa, Sarah Veloso Nogueira, Abadio de Oliveira da Costa-Júnior, Bruno de Paula Oliveira Santos, Rafaela Alves de Castro, André Kipnis, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Brasil. E-mail: danilo.resende2@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** BCG (*Bacille Calmette-Guérin*) é a única vacina autorizada para a prevenção da tuberculose (TB) humana. A produção precoce de IL-17 e IL-22, como a induzida pela BCG, é importante para formação de células de memória protetoras na TB. Neste contexto, avaliamos o papel destas citocinas no recrutamento e ativação das células da imunidade inata induzida pela vacina BCG. **Métodos:** Foram utilizados camundongos C57BL/6, IL22<sup>-/-</sup> e IL17<sup>-/-</sup>. Células do lavado peritoneal foram avaliadas por citospin e citometria 24 horas, 2º, 3º, 5º e 7º dias após infecção com BCG, via intraperitoneal ( $1 \times 10^6$ /mL). **Resultados:** O recrutamento de macrófagos (F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>) para o peritônio foi semelhante em todos os animais avaliados, porém nos camundongos IL17<sup>-/-</sup> estas células expressavam mais moléculas de MHCII. Os neutrófilos (Gr1<sup>+</sup>) foram inicialmente mais recrutados nos camundongos IL17<sup>-/-</sup> e IL22<sup>-/-</sup> em relação ao C57BL/6 ( $50,9 \pm 5,4$ ;  $31,7 \pm 1,7$ ), porém após 5 dias estas células apresentavam-se mais ativadas (Gr1<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>) no camundongo IL17<sup>-/-</sup>. Quanto as células NK (Nk1.1<sup>+</sup>), dois dias após a inoculação, houve recrutamento nos C57BL/6 enquanto que poucas células NK migraram para o peritônio nos camundongos IL22<sup>-/-</sup> e IL17<sup>-/-</sup>. Novamente essas células encontravam-se mais ativadas nos IL17<sup>-/-</sup> que nos outros animais (Nk1.1<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>). **Conclusão:** A vacinação intraperitoneal com BCG recruta macrófagos, neutrófilos e células NK para o peritônio. Na ausência de IL17 estas células são mais ativadas do que nos outros camundongos, indicando um perfil de ativação superior. **Descritores:** Tuberculose, BCG, resposta imune inata.

POSTER Nº: 61

### PERFIL DE CÉLULAS B DE MEMÓRIA (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgG1<sup>+</sup>) APÓS VACINAÇÃO COM BCG E BCG RECOMBINANTE

**Abadio Oliveira Costa-Júnior<sup>1</sup>, Adeliene C. da Costa, Rafaela A. de Castro, Sarah V. Nogueira, Danilo P. Resende, Bruno de Paula O. Santos, André Kipnis, Ana Paula Junqueira-Kipnis**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás - IPTSP, Brasil. E-mail: costajr.biom@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A resposta de células B e produção de anticorpos na tuberculose, apesar de pouco estudadas, tem ganhado ênfase devido a evidências recentes demonstrando sua importância na resposta imune ao *M. tuberculosis*. Dentre estas evidências podemos ressaltar a existência de células B de

## POSTER PRESENTATION

memória específicas em indivíduos saudáveis vacinados com BCG. Neste contexto, objetivamos avaliar indução de células B e anticorpos específicos por vacina BCG recombinante expressando proteína de fusão (rBCG-CMX) comparando-a com a induzida pela BCG-Moreau. **Métodos:** Camundongos BALB/c foram imunizados com vacina rBCG-CMX, BCG e Salina. Células do baço foram avaliadas quanto à indução de células B de memória, 30 e 90 dias após vacinação. Soro foi obtido dos animais para avaliar produção de anticorpos específicos para proteínas recombinantes CMX, HspX e MPT-51. **Resultados:** A vacina BCG, 30 dias após a imunização, apresentou maior indução de Linfócitos B (CD19<sup>+</sup>) de memória (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>) com aumento significativo da subpopulação (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgG1<sup>+</sup>) em relação a rBCG-CMX. Na avaliação com 90 dias, houve uma mudança neste perfil, no qual a vacina rBCG-CMX apresentou maior número de Linfócitos (CD19<sup>+</sup>) de memória (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>) e na subpopulação (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgG1<sup>+</sup>) do que a vacina BCG. Não houve diferença significativa no número de Linfócitos (CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>) e nos níveis séricos de anticorpos específicos para os antígenos recombinantes CMX, HspX ou MPT-51. **Conclusão:** A vacina rBCG mostrou-se capaz de induzir células B CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>IgG1<sup>+</sup> e provavelmente estas populações podem estar envolvidas na apresentação de antígeno ou produção de citocinas, uma vez que não foram gerados plasmócitos secretores de anticorpos específicos. **Descritores:** Vacina recombinante, Linfócitos B, anticorpos.

POSTER Nº: 94

### MYCOBACTERIA STRAINS EXPRESSING EGFP REPORTER PROTEIN

Ana Carolina Peiter<sup>1</sup>, Caroline Rizzi<sup>1</sup>, Karen Silva Leal<sup>1</sup>, Júlia Labonde<sup>1</sup>, Sibe Borsuk<sup>1</sup>, Odir Antônio Dellagostin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Pelotas, Brazil.

E-mail: ccrizzi@yahoo.com.br

**Background and Objectives:** *Mycobacterium bovis* BCG is used worldwide as a vaccine with an outstanding safety record and has features that make it a promising vector for production of recombinant multivalent vaccines. Moreover, genetic modifications can enhance the adjuvant and immunogenic properties of BCG. The behavior of these bacteria into mammal cells can be studied in vitro employing GFP as reporter protein, which can help understand and evaluate the immune response induced by improved BCG strains. In addition, vectors employing GFP as reporter are capable of monitoring in vivo recombinant antigen expression. Here we describe the production of *M. smegmatis* and BCG strains expressing GFP employing stable mycobacteria expression system with auxotrophic complementation as a selectable marker. **Methods:** Synthetic oligonucleotide primers were designed based on the pRSET/EmGFP plasmid sequence.

These primers were used for *egfp* gene amplification, which was cloned into pUS977 mycobacterial expression vector. From the recombinant vector pUS977, one amplicon containing the cloned fragment plus the PAN promoter (*M. paratuberculosis*) was obtained by PCR and sub cloned into the pUP410 mycobacterial expression vector. *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> and BCG Pasteur electrocompetent cells were transformed with pUP410 recombinant vector and grown in selective medium. The recombinant cells were excited at 488 nm wavelength and the 509 nm emission peak was measured. **Results:** The construction of recombinant mycobacterial vector able to express reporter gene. **Conclusions:** Intracellular localization and in vitro expression of recombinant mycobacteria were able to be assessed, allowing selection of the best vaccine candidates for in vivo challenge. **Keywords:** recombinant BCG, report gene, *gfp*.

## ABSTRACTS

### HOST-PATHOGEN RELATIONSHIP

POSTER Nº: 55

### PLASMA LEVEL OF TH2 CYTOKINES IN INDIGENOUS POPULATION WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Juliana Ronchi Corrêa<sup>1</sup>, Julio Henrique Rosa Croda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University Federal of Mato Grosso do Sul, Brazil, <sup>2</sup>University Federal of Grande Dourados, Brazil. E-mail: julianaronchicorrea@hotmail.com

**Background and Objectives:** The control of *Mycobacterium tuberculosis* by the host depends on cell-mediated immunity. Different ethnic groups propose that the polarization of humoral response could explain the high incidence of the tuberculosis pulmonary in population indigenous. Plasma levels of cytokines were measured for evaluation of response and modulation of the possible mechanisms involved in the elucidation and development of tuberculosis. **Methods:** Blood sample was collected with heparin tubes and plasma was separated by centrifugation from 19 indigenous and 19 non-indigenous patients and 19 healthy controls of each group. Analysis were done using Milliplex MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel and xMAP technology. Nonparametric Mann-Whitney U tests were performed to check for the significance of the observed differences. **Results:** Plasma levels of IL-4 and IL-5 in the indigenous population was higher ( $p < 0.02$  and  $p < 0.03$  respectively), however TNF- $\alpha$  was less ( $p < 0.03$ ). Relations between IFN- $\gamma$  and IL-4 suggest modulation of Th2 response ( $p < 0.02$ ). The low levels of IL-10 in indigenous controls could be involved in development of infection ( $p < 0.01$ ). **Conclusion:** Higher levels IL-4 and IL-10 suggest to modification of granuloma formation and

## POSTER PRESENTATION

activation of M2 macrophage indicating loss of important Th1 effector functions that could promote intracellular persistence of *M. tuberculosis*. **Keywords:** tuberculosis, indigenous, cytokines.

POSTER Nº: 75

### IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF NOVEL ADHESINS IN *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Mariana Viale<sup>1</sup>, Andrea Gioffre<sup>1</sup>, Gabriela Echeverría Valencia<sup>1</sup>, Pablo Romasanta<sup>2</sup>, Marisa Fernandez<sup>2</sup>, Emilio Malchiodi<sup>2</sup>, María Isabel Romano<sup>1</sup>, María de la Paz Santangelo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Institute, National Institute for Agricultural Technology, Hurlingham, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

**Background and Objectives:** The binding and ingestion of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) by host cells is Fibronectin (FN) dependent. In several species of mycobacteria, a specific family of proteins allows the attachment and internalization of these bacteria by epithelial cells through interaction with FN. Thus, the identification of adhesion molecules is essential to understand the pathogenesis of MAP. This could be useful to propose new preventive strategies against Paratuberculosis. The aim of this study was to identify and characterize FN binding-cell wall proteins of MAP. **Methods:** We searched for conserved adhesins within a large panel of surface immunogenic proteins of MAP and investigated a possible interaction with FN. For this purpose, a cell wall protein fraction was obtained and resolved by 2D-electrophoresis. The immunoreactive spots were identified by MALDI-TOF MS and a homology search was performed. The following proteins were selected as candidates: EF-Tu (*Mycoplasma pneumoniae*, 65% identity), GlnA1 (*Mycobacterium tuberculosis*, 90%) and GAPDH (*Candida albicans*, 52%). **Results:** We demonstrated the FN-binding capability of EF-Tu and GlnA1 using a Ligand Blot Assay and also confirmed the interaction with FN in a dose-dependent manner by ELISA. The dissociation constant was determined by Surface Plasmon Resonance, and displayed values within the  $\mu$ M range. *In vitro* cell culture assays showed the inhibition of the interaction when we previously incubated with the adhesins. **Conclusion:** This data support the hypothesis that these proteins could be involved in the interaction of MAP with epithelial cells through FN binding. **Keywords:** paratuberculosis, fibronectin, adhesion.

POSTER Nº: 92

### IDENTIFICATION OF POTENTIAL BIOMARKERS OF PROTECTION IN BOVINE TUBERCULOSIS

Federico Carlos Blanco<sup>1</sup>, Marcelo Soria<sup>2</sup>, Maria Veronica Bianco<sup>1</sup>, Elizabeth Garcia<sup>1</sup>, Laura Klepp<sup>1</sup>, Fabiana Bigi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INTA CNIA Instituto de Biotecnología, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Agronomía UBA, Argentina. Blanco. E-mail: federico@inta.gob.ar

**Background and objectives:** The purpose of the present study was to identify genes with differential expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from vaccinated protected and unprotected cattle against challenge with a pathogenic strain of *M. bovis*. **Methods:** In a bovine vaccine trial we evaluated the protection conferred by two different vaccine candidates. Vaccinated cattle were divided into three groups according to their pathology score, vaccinated/protected (n=4), vaccinated/unprotected (n=4) and vaccinated with intermediate pathology score (n=2). Total ARN was obtained from PBMC samples stimulated with purified protein derivative of *M. bovis* (PPDB) at 60 days post vaccination. Using Affymetrix GeneChip® Bovine Genome Array we analyzed the transcriptomic profile of the ARN samples searching for differential gene expression among groups. **Results:** In a preliminary analysis of the data we observed 55 genes differentially expressed (p < 0.05) between vaccinated/protected and vaccinated/unprotected groups. The two samples of cattle with intermediate scores showed a slightly different transcriptomic profile from the other two groups, this observation is consistent with the pathology score classification criteria. **Conclusions:** Microarrays technology represents a powerful screening tool that allows fast identification of potential biomarkers for further evaluation in more extensive studies and in field conditions. **Keywords:** Bovine Tuberculosis, Biomarker, Vaccine.

POSTER Nº: 128

### EVALUATION OF DIFFERENTIAL IMMUNE RESPONSE ACTIVATION AND BIOMARKERS EXPRESSION IN LATENT AND ACTIVE TB

Fabiana A. Zambuzi<sup>1</sup>, Milena Sobral Espíndola<sup>1</sup>, Luana Silva Soares<sup>1</sup>, Leonardo Judson Galvão de Lima<sup>1</sup>, Maira da Costa Cacemiro<sup>2</sup>, Thaís da Silva Araújo<sup>2</sup>, Caroline Fontanari<sup>2</sup>, Fabiani Gai Frantz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP-USP, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP-USP, Brazil. E-mail: fabi\_zambuzi@hotmail.com

**Background and objectives:** Tuberculosis is a serious public health, social and economic problem for Brazil and worldwide. It is estimated that about one third of the world population is infected with the bacillus, and 95% of those infected individuals show the latent form. Finding a hallmark between what makes the *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) induces in the host an active disease or its latent form has been the subject of different research groups. Thus, the objective of this study is to correlate changes in the immune response developed by monocytes from patients at different stages of pulmonary tuberculosis with clinical aspects of each stage. **Methods:** The study included 14 patients with active disease, 6 individuals with latent tuber-

## POSTER PRESENTATION

culosis and 9 uninfected controls. From the peripheral blood, plasma was used for cytokine and CD163s quantification, as well as monocytes were purified to evaluation of the immune activation. **Results:** Our data shows that patients with active tuberculosis have increased serum levels of CD163s as well as higher number of correlations between plasma cytokines, indicating higher leukocytes activation in patients with active disease compared to those with latent infection. We also observed that, *in vitro*, monocytes from active disease patients showed higher cytokine production when stimulated with heat-killed *Mtb* than those from latent patients. **Conclusion:** CD163s may act as a biomarker of active disease, in combination with a set of cytokines, being used as an indicative of disease progression. **Keywords:** monocytes, immunology, tuberculosis, biomarker.

POSTER Nº: 159

### EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN RATONES EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON AISLAMIENTOS LOCALES DE *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Maria Alejandra Colombatti Olivieri<sup>1</sup>, Roberto Damian Moyano<sup>1</sup>, Valeria Montenegro<sup>1</sup>, M. Laura Mon<sup>1</sup>, Mariana Viale<sup>1</sup>, Federico Blanco<sup>1</sup>, María de la Paz Santangelo<sup>1</sup>, Fernando Delgado<sup>2</sup>, Maria Isabel Romano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Pato biología, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina. E-mail: romano.mariaisabel@inta.gob.ar

**Introducción y objetivo:** La *Paratuberculosis* causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), es una enfermedad crónica de los rumiantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta inmune de ratones tras la infección experimental con 4 aislamientos locales de *Map* (6611, A162, 1543/481 y 1347/498). **Materiales y métodos:** Se prepararon los inóculos a una concentración de  $5 \times 10^7$  bact/ratón que se administraron por vía intraperitoneal a ratones hembra BALB/c de 5-6 semanas de edad. A los 63 días post-infección se sacrificaron y se procedió a la extracción de sangre y del bazo. Con el suero se realizó ELISA para detección de IgG y del bazo se realizó cultivo de  $1 \times 10^6$  mononucleares/well estimulados 72hs con PP-Daviar. Del sobrenadante del cultivo se cuantificaron las citoquinas (IL-2, IL-4, IL-6, IFNg, TNFa, IL-17 e IL-10) con el kit comercial BD™ CBA Mouse Th1/Th2/Th17. **Resultados:** Se observó mayor producción de IgG con predominio IgG2a en los ratones infectados con el aislamiento 1347/498 y 6611, y bajos niveles para el A162 (las diferencias son significativas). En relación a las citoquinas para todos los aislamientos se vieron producción de IL-6, TNFa, IL-17 e IL-10 (estas dos últimas en baja cantidad) pero solo diferencias significativas para TNFa e IL-17. El IFNg se produjo en baja cantidad y el aislamiento 1543/481 es el es el

único que no indujo su producción. **Conclusión:** los aislamientos tienden más hacia una respuesta Th1 y Th17 (principalmente 6611), hubo baja respuesta para 1543/481. **Descriptor:** *Paratuberculosis*, citoquinas, inmunoglobulina G.

POSTER Nº: 190

### INFECÇÃO POR CEPAS HIPERVIRULENTAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* INDUZ MAIOR ACÚMULO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO LOCAL DE INFECÇÃO

Fabrizio Moreira Almeida<sup>1</sup>, Dener Madeiro de Souza<sup>3</sup>, Simone Crespo Morais Ribeiro<sup>1</sup>, Eduardo Pinheiro Amaral<sup>2</sup>, Elisângela Costa da Silva<sup>1</sup>, Juliana Azevedo da Silva<sup>1</sup>, Irina Kerkis<sup>3</sup>, Elena Lassounskaia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia do Reconhecer, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes/RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil. <sup>3</sup>Laboratório de Genética, Instituto Butantan, São Paulo/SP, Brasil.

Email: bioverdan@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A severidade da tuberculose está relacionada a inflamação exacerbada. Sabe-se que as células-tronco mesenquimais (CTM) são capazes de migrar para o local da infecção e contribuir para a inibição da inflamação excessiva, desta forma auxiliando na reparação tecidual. Neste trabalho, nós analisamos a imunolocalização das CTM no pulmão, baço e fígado de camundongos C57BL/6 infectados intratraquealmente com 100 bacilos de cepas *M. tuberculosis* de diferentes graus de virulência (cepa laboratorial H37Rv de relativa baixa virulência e uma cepa de isolado clínico M299 de alta virulência). **Métodos:** Os tecidos foram examinados 28 dias após a infecção através de imunohistoquímica e citometria de fluxo, utilizando anticorpos contra marcadores de CTM de murinos (Thy1/CD90, Sca1, CD271, CD44 e vimentina) e marcadores de células não relacionadas (CD45 e CD31). Nos testes de imunohistoquímica, a hematoxilina-eosina foi utilizada para contra coloração para visualizar a histopatologia. **Resultados:** As células imunopositivas para marcadores de MSC foram localizadas ao redor dos granulomas pulmonares e folículos do baço na polpa vermelha, porém não foram observadas nas áreas de alveolite e necrose pulmonar. **Conclusão:** Nós sugerimos que a migração das MSC aos locais afetados pelas micobactérias, que foi maior na infecção pela cepa hipervirulenta, contribui para a inibição da inflamação na fase aguda de infecção promovendo a sobrevivência dos camundongos e início da fase crônica da doença. **Descriptor:** Tuberculose, Células-tronco mesenquimais e Patogenia.

**Apoio financeiro:** CNPq, FAPERJ.

## POSTER PRESENTATION

POSTER N°: 195

### EXPRESSÃO DE METALOPROTEINASES DE MATRIZ (MMPs) PELAS CÉLULAS PULMONARES DE CAMUNDONGOS INFECTADOS COM CEPAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DE DIFERENTES GRAUS DE VIRULÊNCIA

Andreza Linhares Rezende<sup>1</sup>, Simone Crespo Morais<sup>1</sup>, Fabrício Moreira Almeida<sup>1</sup>, Eduardo Pinheiro Amaral<sup>2</sup>, Andrea C.V. Arnoldt<sup>1</sup>, Elena Lassounskaia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia do Reconhecer, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes/RJ, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil. E-mail: dezalinhaires@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa que na maioria dos pacientes afeta os pulmões. Durante a TB pulmonar, o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) induz produção de metaloproteínases de matriz, MMPs, pelos macrófagos e células epiteliais do pulmão. A atividade enzimática de MMPs promove degradação da matriz extracelular, contribuindo para a patologia. Verificamos se a maior virulência de cepas de Mtb de isolados clínicos está associada com a capacidade de induzir maior expressão de MMPs e sua imunolocalização nas lesões patológicas pulmonares. **Métodos:** Camundongos C57BL/6 foram infectados intratraquealmente com isolados clínicos de Mtb de diferentes graus de virulência, os pulmões foram examinados 28 dias após a infecção. A produção de MMP-9 e MMP-2 por células pulmonares cultivadas ex vivo foi quantificada através de zimografias dos sobrenadantes das culturas. A imunolocalização de MMPs no pulmão foi avaliada através de imunohistoquímica, IHC. **Resultados:** A atividade de MMPs nos sobrenadantes das culturas de células pulmonares foi alta, mas não correlacionou com o grau de virulência da cepa. As imunohistoquímicas demonstraram maior imunomarcagem de células alveolares (epiteliais, mesenquimais e macrófagos) ao redor dos granulomas e baixa expressão de MMPs nas células do granuloma (macrófagos epitelióides e linfócitos). **Conclusões:** Concluímos que as áreas de necrose, observadas somente nos pulmões dos camundongos infectados por cepas hipervirulentas, apresentaram forte marcação para MMP-9. As MMPs são produzidas pelas células de estroma pulmonar e monócitos/macrófagos inflamatórios, contribuindo para o crescimento dos granulomas. E a Liberação das MMPs pelas células necróticas nas áreas de inflamação exacerbada contribui para a necrose pulmonar. **Descritores:** *M. tuberculosis*, Metaloproteínases de matriz, Granuloma e Necrose.

**Apoio financeiro:** CNPq e FAPERJ.

POSTER N°: 199

### PAPEL DE FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS (MIF) EN LA PROGRESIÓN DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR EN UN MODELO MURINO

Berenice Faz-López<sup>1,2</sup>, Héctor Mayoral-Reyes<sup>1</sup>, Jorge Barrios-Payan, Dulce Mata-Espinoza, Brenda Marquina-Castillo, Miriam Rodríguez-Soza<sup>2</sup>, Rogelio Hernández-Pando<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Unidad de Patología Experimental, México D.F. <sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, UBIMED FES-Iztacala, Estado de México, México. E-mail: berefaz@comunidad.unam.mx

**Justificación.** Es de vital interés comprender los mecanismos implicados en el desarrollo de una respuesta inmune protectora frente a Mtb. La evidencia sugiere que MIF tiene un papel importante en la respuesta inmune durante la infección por Mtb, sin embargo estos datos pueden ampliarse utilizando un modelo murino de tuberculosis pulmonar progresiva. **Objetivos.** Determinar el papel de MIF en el desarrollo de Tb en un modelo murino de tuberculosis pulmonar progresiva, utilizando ratones BALB/c WT y BALB/c MIF<sup>-/-</sup>. Comparar la progresión y diseminación de la enfermedad entre ratones de las cepas BALB/c WT y BALB/c MIF<sup>-/-</sup>, considerando la carga bacilar y las características histopatológicas. **Metodología:** Se utilizaron ratones machos de la cepa BALB/c, wild type y MIF<sup>-/-</sup>, de 8 semanas de vida y se les administraron 2.5 x 10<sup>5</sup> bacilos de la cepa H37Rv, vía intratraqueal. Los ratones se anestesiaron y sacrificaron a diferentes tiempos post-infección. Se tomaron muestras de sangre y se extrajeron los pulmones del lado izquierdo para el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFCs). **Resultados.** Se observó mayor incremento en las UFCs de ratones MIF<sup>-/-</sup>, comparados con sus respectivos WT. **Conclusiones:** Debido a las diferencias en las UFCs hay mayor susceptibilidad a la infección en ratones MIF<sup>-/-</sup> principalmente al día 7 pos-infección que corresponde a la inmunidad innata y a partir del día 21 que corresponde a la adaptativa. **Descriptor:** MIF, Macrófagos, Tuberculosis pulmonar.

POSTER N°: 239

### APOPTOSIS INDUCING FACTOR (AIF) NUCLEAR TRANSLOCATION IS ESSENTIAL IN BOVINE MACROPHAGE APOPTOSIS INDUCTION BY *Mycobacterium bovis*

Alejandro Benítez-Guzmán<sup>1</sup>, Lourdes Arriaga-Pizano<sup>2</sup>, José Ángel Gutiérrez-Pabello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Tuberculosis Bovina. Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. <sup>2</sup>Unidad Médica de Investigación en Inmunoquímica, Hospital Siglo XXI IMSS. E-mail: jagp@unam.mx

## POSTER PRESENTATION

**Background and objective:** *Mycobacterium bovis*, the causative agent of bovine tuberculosis operates different virulence factors to survive inside of host cells. One of the possible outcomes in this scenario is cell death. Our research group reported for the first time bovine macrophage apoptosis induction associated to *Mycobacterium bovis* infection. Interestingly, the apoptotic process does not activate the caspase cascade. We further demonstrated the nuclear translocation of the Apoptosis Inducing Factor (AIF) by immunocytochemistry. However, the role of AIF associated to caspase independent apoptosis induce by *Mycobacterium bovis* is not well understood. **Methods:** In an attempt to gain some knowledge in this field, we infected bovine macrophages with *M. bovis* AN5 (MOI 10:1) during 16 hours and quantified AIF translocation to nuclei by immunoblotting. **Results:** *Mycobacterium bovis* infection increased AIF nuclear translocation 14 fold higher compared to uninfected cells. In addition, inhibition of mitochondrial permeability transition by Cyclosporine A treatment of *M. bovis*-infected macrophages decreased AIF nuclear translocation and DNA fragmentation. **Conclusion:** Our results suggest that AIF is essential in bovine macrophage apoptosis induction by *Mycobacterium bovis*. **Keywords:** AIF, Apoptosis, *Mycobacterium bovis*.

This work was supported by project PAPIIT IN-217512-2 and CONACYT CB-167488. A. Benítez-Guzmán received a postdoctoral fellowship from DGAPA, UNAM.

POSTER N°: 250

## PAPEL DE LA GLUTAMINÓLISIS Y SUPLEMENTACIÓN DE GLUTAMINA EN UN MODELO MURINO DE TUBERCULOSIS PULMONAR

Héctor Mayoral-Reyes<sup>1,2</sup>, Edgar Abarca-Rojano<sup>2</sup>, Sara Huerta-Yépez<sup>3</sup>, Guillermina Baay<sup>3</sup>, Jorge Barrios-Payán<sup>1</sup>, Dulce Mata-Espinosa, Brenda Marquina-Castillo, Teresa Hernández-Martínez, Rogelio Hernández-Pando<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; <sup>2</sup>Escuela Superior de Medicina; <sup>3</sup>Hospital Infantil de México.  
E-mail: hectormayoral@gmail.com

**Justificación.** La glutamina tiene un papel importante en el metabolismo de células del sistema inmune, en particular durante la respuesta inflamatoria, y es oxidada por la vía denominada glutaminólisis, pero su papel durante la tuberculosis ha sido poco estudiado, su estudio puede auxiliar en el desarrollo de estrategias terapéuticas. **Objetivo:** Determinar el papel de la glutaminólisis y suplementación de glutamina durante la tuberculosis pulmonar. **Metodología:** Se infectaron ratones por vía intratraqueal con 250,000 bacterias de la cepa H37Rv, se cuantificó la expresión de las enzimas glutaminasa (GLS), glutamato deshidrogenasa (GLUD) y glutamina sintetasa (GS) por inmunohistoquímica, en los días 1, 3, 7, 14, 21, 28, 60 y 120 postinfección. Por otro lado, se suplementó glutamina durante

la fase progresiva de la infección, se sacrificaron 30 y 60 días después de la suplementación y se cuantificó la carga bacilar. **Resultados:** La glutaminólisis incrementó a partir del día 14, encontrando mayor expresión de GLUD al día 28 y GLS al día 60. La carga bacilar fue menor en el grupo suplementado con glutamina comparado con el grupo sin suplementación al día 30. **Conclusión:** La glutaminólisis aumenta durante la respuesta protectora, aunque durante la fase progresiva persiste la oxidación parcial de la glutamina. La suplementación de glutamina permite restaurar la respuesta inflamatoria, provocando una reducción de la carga bacilar, de manera transitoria.

**Descriptores:** Inmunometabolismo, Glutaminólisis, Tuberculosis.

POSTER N°: 252

## METABOLIC PROFILE OF *Mycobacterium smegmatis* REVEALED THAT MCE4 PROTEINS ARE RELEVANT FOR THE LIPID HOMEOSTASIS

María de la Paz Santangelo<sup>1</sup>, Adam Heuberger<sup>2</sup>, Laura Klepp<sup>1</sup>, Federico Blanco<sup>1</sup>, Marina Forrellad<sup>1</sup>, Pablo Niquel<sup>1</sup>, Mary Jackson<sup>2</sup>, Fabiana Bigi<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA e INTA, Argentina; <sup>2</sup>Mycobacteria Research Laboratories, Department of Microbiology, Immunology & Pathology, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523-1682, USA.

**Objectives:** The Mce proteins are a group of secreted or cell wall proteins encoded in large operons with identical structure in all *Mycobacterium* species examined. Although the function of the Mce protein family has not been clearly established, it has been hypothesized that they are membrane transporters of lipid. In order to get some insights in this question, we analyzed the impact of the deletion of the Mce proteins in the metabolism of *Mycobacterium smegmatis*. **Methods:** Metabolic profile of two mutants lacking the *mce4* or the six *mce* operons of *M. smegmatis* was performed GC-MS. qRT-PCR and lipid analysis by TLC were used to validate GC-MS results. **Results:** Metabolomic data were overviewed with a Principal Component Analysis. PC1 separated WT from the mutants, explaining 77,28% of the variation due to de biotype, while the media (PC2) only explained 7,89% of the variation. These results indicate that the deletion of the *mce4* operon, the first one deleted in the series, resulted in a unique metabolite profile differing from the WT. We then evaluated transcript variation using qRT-PCR of the main enzymes involved in the metabolic pathways where we found differences. Finally, we performed total lipid analysis by TLC. We found an accumulation of TAG in the mutant strains compared to the WT. **Conclusions:** The lack of the *mce4* operon in *M. smegmatis* is consistent with an accumulation of the storage lipid TAG in response to stress in vitro, concurrent with decreased fatty acid incorporation into phospholipids and loss of acid-fastness. **Keywords:** tuberculosis, mce, virulence, lipids.

## POSTER PRESENTATION

### ABSTRACTS **DIAGNOSIS**

POSTER Nº: 05

#### **EVALUATION OF THE SPEED-OLIGO<sup>®</sup> MYCOBACTERIA ASSAY FOR THE IDENTIFICATION OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA**

Ivy Bastos Ramis<sup>1,2</sup>, Margo Cnockaert<sup>2</sup>, Anne Simon<sup>3</sup>, Juan Carlos Palomino<sup>2</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>1,4</sup>, Peter Vandamme<sup>2</sup>, Emmanuel Andre<sup>3</sup>, Anandi Martin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Brazil; <sup>2</sup>Ghent University, Belgium; <sup>3</sup>Université Catholique de Louvain, Belgium; <sup>4</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brazil.  
E-mail: ivynha\_@hotmail.com

**Background and objective:** Nontuberculous mycobacteria (NTM) causing clinical disease have become increasingly common and more diverse. Rapid and accurate identification of mycobacterial species is, therefore, critical to guide timely and appropriate therapeutic and public health management. The Speed-Oligo<sup>®</sup> Mycobacteria (Vircell S.L., Santa Fe, Granada, Spain) is an oligochromatographic method that was made available recently as commercial test for the differentiation of mycobacterial species. This study aimed to evaluate the performance of the Speed-Oligo<sup>®</sup> Mycobacteria assay for the identification of the NTM. **Methods:** We examined a total of 63 strains (10 type strains, 19 reference strains and 34 clinical strains) previously identified by routine conventional methods. Speed-Oligo Mycobacteria<sup>®</sup> assay was performed according to the manufacturer's instructions. Discrepant results between Speed-Oligo<sup>®</sup> Mycobacteria and the routine identification methods were re-assessed by the Speed-Oligo<sup>®</sup> and resolved by GenoType<sup>®</sup> Mycobacterium CM assay and by sequencing. **Results:** We found 95.2% (60/63) of concordance in the identification of the NTM between the Speed-Oligo<sup>®</sup> and the routine identification methods. Only two strains were erroneously identified by Speed-Oligo<sup>®</sup> and one was not identified by this assay because did not react with any species-specific probes. In these three strains, the sequencing of the genes *hsp65*, *16S rRNA*, and *rpoB* and the GenoType<sup>®</sup> Mycobacterium CM assay agreed with the results found by routine conventional tests. **Conclusion:** The Speed-Oligo<sup>®</sup> Mycobacteria assay can be considered a valid tool for the rapid and easy identification of most frequent species of mycobacteria. **Keywords:** Molecular diagnostic techniques, Mycobacterium, nontuberculous mycobacteria.

POSTER Nº: 07

#### **AVALIAÇÃO DOS TEMPOS PARA DIAGNÓSTICO E INÍCIO DO TRATAMENTO DE TUBERCULOSE PULMONAR NO**

#### **MUNICÍPIO DE CANOAS, RS**

Daniele Susana Volkart Sidegum<sup>1</sup>, Lurdes Fernandes das Neves<sup>2</sup>, Luciene Cardoso Scherer<sup>2</sup>, Roxana Isabel Cardozo-Gonzales<sup>2</sup>, Jenifer Harter<sup>2</sup>, Lilian Moura de Lima<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Luterana do Brasil, Brasil.  
E-mail: danielesidegum@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Canoas é considerada um dos municípios prioritários para o controle da Tuberculose (TB) no Rio Grande do Sul, apresentou em 2012, 262 casos da doença. A principal estratégia para o diagnóstico de novos casos de TB pulmonar é a baciloscopia direta do escarro. Diante da magnitude da TB como problema de saúde pública e da importância do diagnóstico precoce da doença como uma das condições para o seu controle, objetivou-se neste estudo avaliar os tempos entre a identificação do Sintomático Respiratório e a obtenção do diagnóstico e o início do tratamento para TB. Também foram investigados fatores (sexo, idade e status HIV) associados aos tempos. **Métodos:** Estudo descritivo, quantitativo, que avaliou os dados dos pacientes atendidos no Serviço de Tisiologia de Canoas (RS), em 2012 com TB pulmonar e resultado positivo na baciloscopia direta do escarro. Foram selecionados os dados dos casos com idade maior de 18 anos. **Resultados:** As médias para o tempo em dias, entre a identificação e a obtenção do diagnóstico e do diagnóstico até o início do tratamento, além do tempo total desde a identificação até o início do tratamento, foram respectivamente 4,48, 3,59, 8,03. As variáveis sexo, idade e status HIV, não se associaram aos tempos avaliados. **Conclusão:** Os tempos até o diagnóstico e até o início do tratamento para TB foram considerados longos na amostra estudada. Urge a necessidade de avaliar e aprimorar os prontos de estrangulamento no sistema local de saúde na atenção a TB para redução desses tempos. **Descritores:** Tuberculose/diagnostic, tuberculose/terapia, diagnóstico tardio.

POSTER Nº: 10

#### **PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DAS PESSOAS EM SITUAÇÃO DE RUA COM TUBERCULOSE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Karllian Kerlen Simonelli Soares<sup>1</sup>, Fernanda Mattos de Sousa<sup>1</sup>, Carolina M. Martins Sales<sup>1</sup>, Eduardo Frizzera Meira<sup>1</sup>, Ethel Leonor Noia Maciel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.  
E-mail: Enf.karllian@mail.com.

**Introdução:** A tuberculose, doença prevenível e curável, ainda é um problema de saúde pública. Um dos grupos de risco para infecção pelo Mycobacterium tuberculosis são as pessoas em situação de rua, devido características que os tornam mais susceptíveis a este agravo. **Objetivos:** Diante disso, avaliou-se a literatura por meio de revisão sistemática, a fim de traçar o perfil epidemiológico das pessoas em situação de rua, como também

## POSTER PRESENTATION

avaliar os fatores de risco que envolve este grupo. **Métodos:** é um estudo de revisão sistemática, cuja pergunta e a estratégia de busca foi definida utilizando a estratégia PICO. Como gerenciador de referências, utilizou-se o Endnote X4/Web. O programa Excel versão 2010, foi utilizado para extração e análise dos dados. **Resultados e Discussão:** os artigos foram avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Ao final das avaliações, 23 artigos foram incluídos no estudo. O total da amostra foi de 18832 indivíduos, sendo a maioria pessoas do sexo masculino (82%), com média de idade de 45 anos e de raça negra (36%). Além disso, 21% da amostra apresentou infecção concomitante com o HIV. A principal comorbidade observada nessa população foi o diabetes mellitus (5%). Outro item em evidência foi a história de encarceramento e história prévia de TB. **Conclusão:** Este estudo viabilizou a caracterização do perfil epidemiológica das pessoas em situação de rua portadores da infecção ativa pelo Mtb. Além disso, identificou que este grupo apresenta outros fatores capazes de ampliar o risco de desenvolvimento da doença. **Descritores:** Tuberculose, sem-teto, perfil de saúde

POSTER Nº: 29

### OBTENÇÃO DE PROTEÍNA CODIFICADA PELO GENE *rv3429* DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS E SUA IMUNOREATIVIDADE NA TUBERCULOSE PULMONAR

Ana Carla Mulinari<sup>1</sup>, Isabela Gama Sardela<sup>1</sup>, Maria Helena Féres Saad<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: mulinaricarla@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose continua um grave problema de saúde pública. O diagnóstico precoce é a chave para o controle da doença, junto com o tratamento efetivo. Os testes imunoenzimáticos têm se mostrado uma ferramenta promissora de diagnóstico, devido a heterogeneidade da resposta imune do hospedeiro aos diferentes antígenos micobacterianos, comprometendo a acurácia dos testes baseados na resposta imune. Portanto, a chance para se obter um teste com suficiente sensibilidade e especificidade útil na prática clínica, reside na obtenção de diferentes moléculas com alta especificidade e que sejam reconhecidas por diferentes grupos de pacientes. Membros da família PE/PPE são largamente estudados e apresentam alta imunogenicidade, mostrando ter importante papel na patogênese, virulência e evasão do bacilo durante a infecção. O objetivo deste trabalho foi obter a molécula recombinante Rv3429 que codifica a proteína PPE59, expressar, purificar e avaliar seu potencial imunológico em pacientes com tuberculose pulmonar e controles. **Métodos:** O clone obtido foi expressado em meio LB (Luria Bertani) e induzido com IPTG (isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside) 1mM, lisada em con-

dições desnaturantes e eluída em tampão de ureia, dialisada e a dosagem foi feita pelo método de Bradford. **Resultados:** Para este estudo a concentração PPE59 foi determinada em 0,5ug/ml para avaliação da imunoreatividade em amostragem piloto contendo 53 soros de pacientes com tuberculose pulmonar e 72 soros de controles com outras pneumopatias. O teste de ELISA "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" foi realizado com diluição dos soros nas concentrações de 1:50 e 1:100, IgA foi utilizada na diluição de 1:2500 e a densidade óptica foi medida a 450nm. A molécula recombinante mostrou-se imunorreativa, apresentando especificidade de 95,8% e sensibilidade de 52,8%. **Conclusão:** Esses resultados evidenciam que este antígeno é promissor para a compor com outros antígenos um teste imunoenzimático para a TB pulmonar. **Descritores:** Mycobacterium tuberculosis, imunodiagnóstico, tuberculose.

POSTER Nº: 32

### FLUROMYCOBACTERIOPHAGES A PROMISING TOOL FOR DIAGNOSIS AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING OF *Mycobacterium tuberculosis*

Rondón L<sup>1</sup>, Urdániz E<sup>1</sup>, Latini C<sup>2</sup>, Matteo M<sup>2</sup>, Poggi S<sup>2</sup>, Piuri M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IQUIBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina;

<sup>2</sup>Lab. Bacteriología de la TBC Dr. Abel Cetrangolo – Instituto de Tisiopneumología Dr. Raúl Vaccarezza, Hospital Muñiz, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: lrondon@qb.fcen.uba.ar

**Background and Objectives:** The emergence of resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* (TB) has become a serious public health problem worldwide complicating treatment and control of the disease. Traditional methods for drug-susceptibility testing (DST) are slow, laborious and costly, so there is a need for new diagnostic methods that combines sensitivity, specificity, low cost and speed. Our goal is to evaluate the performance of fluoromycobacteriophages directly in sputum samples. **Methods:** We first tested the performance of the new mCherrybombΦ in tuberculosis negative sputum samples spiked with *M. tuberculosis* mc<sup>2</sup>6230. Samples were processed and after infection, cells were fixed with 4% PFA detected using a fluorescence microscope. Different parameters were evaluated in order to determine the optimal conditions for infection (pH, liquefaction and decontamination protocols, time of infection). Then, TB positive clinical samples were tested to evaluate the ability to discriminate between sensitive and rifampicin resistant strains. **Results:** We have developed a second generation fluoromycobacteriophage with higher sensitivity and a shorter time to detection of signal. This new reporter phage can detect *M. tuberculosis* and discriminate between rifampicin resistant and sensitive strains directly in sputum samples, and results can be obtained in just 24-48 hours from sputum collection. **Conclusions:** Close to our

## POSTER PRESENTATION

goal, a two day assay to use directly in sputum samples was developed. Our current research will result in the development of a simple, rapid and inexpensive method that will determine the presence and pattern of drug resistance of Mycobacterium tuberculosis directly in sputum samples in a short time, facilitating therapy and preventing the spread of drug-resistant strains in low resource settings. **Keywords:** Bacteriophage, diagnosis, drug resistance.

POSTER Nº: 35

### DESEMPENHO DO TESTE MOLECULAR RÁPIDO PARA AVALIAR SENSIBILIDADE DE M. TUBERCULOSIS ISOLADOS DE PACIENTES DE HOSPITAL DE REFERÊNCIA TERCIÁRIA NO ESTADO DE SÃO PAULO-BRASIL

Cinara Silva Feliciano<sup>1</sup>, Margarida Maria Passeri do Nascimento<sup>1</sup>, Renata Helena Cândido Poçente<sup>1</sup>, Sandra Mara Nunes Moroti<sup>1</sup>, Lucas José Bazzo Menon<sup>1</sup>, Livia Maria Pala Anselmo<sup>1</sup>, Valdes Roberto Bollela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.  
E-mail: cinara.feliciano@gmail.com

**Justificativa e objetivos:** Considerando que a resistência aos tuberculostáticos é uma ameaça ao controle da doença, e que esta condição ainda é pouco diagnosticada, avaliou-se o perfil de sensibilidade de casos de tuberculose de um hospital de referência terciário, além de traçar o perfil de resistência e avaliar o perfil genotípico das cepas que demonstraram algum perfil de resistência à rifampicina e/ou isoniazida. **Métodos:** Realizou-se o teste de sensibilidade rápido Genotype MTBDR-plus (Hain Lifescience, GmbH, Germany) de todos os 170 casos de tuberculose do serviço entre 2012 e 2013. Foram avaliados histórico de tratamento prévio e resultados de testes de sensibilidade realizados no laboratório central de referência, quando disponíveis. **Resultados:** Dos 170 pacientes, 5,9% eram multirresistentes, 1,2% apresentaram monorresistência à rifampicina e 1,7% monorresistência à isoniazida. A frequência de resistência primária a um ou ambos tuberculostáticos foi de 20% e a adquirida de 80%. 75% das amostras resistentes à rifampicina apresentaram o mesmo perfil genotípico de resistência (mutação S531L). Com relação à isoniazida, 50% exibiram perfil de resistência em alto nível devido à mutação S315T1 e 50% resistência de baixo nível devido à mutação C15T. Houve uma forte concordância entre a sensibilidade para rifampicina e isoniazida detectada por este teste e os resultados do laboratório central de referência. **Conclusão:** Torna-se urgente traçar um perfil epidemiológico da resistência no país, o que seria possível com a descentralização de testes rápidos, em consonância com recomendações internacionais. Os altos índices de resistência

primária, superiores aos nacionais, indicam circulação de cepas resistentes. **Descritores:** tuberculose, perfil de sensibilidade, resistência.

POSTER Nº: 36

### DESAFIOS DO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PERICÁRDICA: QUAL O PAPEL DOS TESTES MOLECULARES?

Lucas José Bazzo Menon<sup>1</sup>, Cinara Silva Feliciano<sup>1</sup>, Margarida Maria Passeri do Nascimento<sup>1</sup>, Renata Helena Cândido Poçente<sup>1</sup>, Sandra Mara Nunes Moroti<sup>1</sup>, Valdes Roberto Bollela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.  
E-mail: lucasbiomedico@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** As técnicas moleculares tem grande potencial no diagnóstico da tuberculose extrapulmonar, especialmente em situações críticas como a tuberculose pericárdica. Este trabalho avaliou os resultados de uma reação em cadeia da polimerase (PCR) e seu impacto na tomada de decisão em pacientes com derrame pericárdico. **Métodos:** Pacientes com derrame pericárdico submetidos à pericardiocentese tiveram uma amostra do líquido pericárdico testadas por uma PCR que amplifica um fragmento de 123pb da região IS6110 do Mycobacterium tuberculosis. Os resultados da PCR foram confrontados com uma definição de caso de TB pericárdica que incluiu os resultados da análise microbiológica do líquido, biópsia pericárdica e a presença de tuberculose em outros sítios. **Resultados:** Vinte e dois pacientes tiveram amostras analisadas. Em 7 (31%) de 22 amostras a PCR foi positiva. Em três delas houve concordância com a microbiologia. Das quatro amostras com PCR positiva e microbiologia negativa, uma era de paciente com tuberculose intestinal confirmada por histopatológico. Dos outros três, dois tinham neoplasia e rapidamente evoluíram para o óbito, e um diagnosticou pericardite por Candida glabrata. A sensibilidade da PCR foi de 83% e a especificidade de 100%, com a possibilidade de ter havido três resultados falso-positivos. Em quatro dos sete casos a PCR foi decisiva para o início rápido tratamento. **Conclusão:** Considerando o desafio diagnóstico da tuberculose pericárdica, a PCR demonstrou boa especificidade e sensibilidade maior que métodos microbiológicos, apesar de resultados falso-positivos que requerem correlação com a clínica. A PCR deve ser considerada na tomada de decisão terapêutica. **Descritores:** Diagnóstico molecular, tratamento, tuberculose pericárdica

POSTER Nº: 63

### FIELD VALIDATION OF MULTIPLEX ALLELE-SPECIFIC PCR (MAS-PCR) FOR RAPID DETECTION OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS (MDR-TB) IN ARGENTINA

## POSTER PRESENTATION

Roxana Paul<sup>1</sup>, Nestor Masciotra<sup>1</sup>, Griselda Lafuente<sup>1</sup>, David Avendaño<sup>1</sup>, Johana Monteserin<sup>1,2</sup>, María Belén Orlandoni<sup>2</sup>, Viviana Ritacco<sup>1,2</sup>, Beatriz López<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INEI-ANLIS Dr. C. Malbrán, Velez Sarsfield 563; <sup>2</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina. E-mail: rpaul@anlis.gov.ar

**Background:** In order to arrest MDR-TB transmission, there is a growing need to expedite MDR-TB detection and early initiation of appropriate treatment. WHO has recently approved commercial molecular methods for rapid detection of MDR-TB, i.e. with *Mycobacterium tuberculosis* isolate resistant to rifampicin (RIF) and isoniazid (INH). In house molecular methods show promise as low-cost alternatives where commercial kits cannot be afforded. **Objective:** To explore usefulness of MAS-PCR for MDR-TB detection in patients at risk of drug resistance. **Methods:** We developed two MAS-PCR assays, one with primers designed to capture mutations at *rpoB* sites 516, 526 and 531; and the other to detect mutations in *katG* 315 and *inhA*P-15. First, we assessed both assays on 60 well-characterized WHO strains with sequencing data on resistance-conferring mutations. Then, we evaluated their performance in the routine workflow on 745 consecutive isolates from patients at risk of drug-resistant TB using MGIT960 as DST gold standard. **Results:** MAS-PCR showed 100% (60/60) concordance with gene sequence in the well-characterized WHO strain set. Compared with MGIT960 in the routine workflow, MAS-PCR correctly identified 121/126 (96.0%) RIF-resistant, 157/197 (79.7%) INH-resistant, 501/502 (99.2%) RIF-susceptible, and 502/502 (100%) INH-susceptible isolates. MAS-PCR identified 95/112 (84.8%) MDR-TB isolates. Mutations at *rpoB* sites 531, 526 and 516 were found in 76%, 8% and 12% of RIF-resistant isolates. Mutation in *katG*315 and *inhA*P-15 were found in 46.7% and 33.0% of INH-resistant isolates. **Conclusions:** MAS-PCR is accurate for rapid MDR-TB detection in routine diagnostic practice. Where no mutation is detected phenotypic DST must be performed. **Keywords:** PCR multiplex, multidrug resistance, *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 66

## IDENTIFICAÇÃO DO COMPLEXO *Mycobacterium tuberculosis* POR PCR EM TEMPO REAL EM CULTURAS DE MICOBACTERIAS

Juliana Failde Gallo<sup>1</sup>, Juliana Maira Watanabe Pinhata<sup>1</sup>, Cláudio Tavares Sacchi<sup>2</sup>, Rosângela Siqueira de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz, Centro de Bacteriologia, Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Adolfo Lutz, Centro de Inunologia, Laboratório de Meningites Bacterianas, Brasil. E-mail: rosangela.bio.pqc@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Para a identificação das espécies de micobactérias pelo método fenotípico, são necessários pelo menos 15 dias para obtenção de resultados. Métodos molecu-

lares, como a técnica de PCR em tempo real (RT-PCR), foram desenvolvidos com o objetivo de identificar o Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) com diminuição no tempo. O objetivo deste estudo foi avaliar a técnica de RT-PCR para a identificação do CMT, utilizando como alvo, o gene *mpt64*. **Métodos:** No período de 6/05/2011 a 31/07/2012, foram testados por RT-PCR, 1520 isolados de micobactérias e os resultados foram comparados aos métodos fenotípicos. Todos os isolados foram recebidos no Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. **Resultados:** Dos 1520 isolados, 1439 (94,67%) tiveram os resultados concordantes em ambos os métodos e nove (0,59%) discordantes. Dezesete (1,11%) tiveram resultados inconclusivos no RT-PCR. Destes, dois foram identificados como CMT e sete como Micobactéria não Tuberculose pelo método fenotípico. Em 55 (3,61%) não foi possível realizar a comparação com o método fenotípico em razão de contaminações e não crescimento nos testes, mas na técnica de RT-PCR foi possível identificar 33 (60%) como CMT. Entre os 1520 isolados avaliados, 12 foram identificadas como culturas mistas no fenotípico e pelo RT-PCR foi possível identificar 11 destas como CMT. **Conclusão:** A técnica de RT-PCR é capaz de identificar, além das culturas de CMT, parte dos isolados contaminados ou que não apresentaram crescimento nos testes, e as culturas mistas, com a vantagem de redução de tempo de 15 para um dia. **Descritores:** Real time PCR, Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, *mpt64*.

POSTER Nº: 69

## DIFFERENTIAL EXPRESSION OF IMMUNOGENIC PROTEINS ON *Mycobacterium tuberculosis* CLINICAL ISOLATES FROM BUENOS AIRES, ARGENTINA

Laura Klepp<sup>1†</sup>, Pablo Schierloh<sup>2</sup>, Camila Vazquez<sup>3</sup>, Roxana Valeria Rocha<sup>1</sup>, Federico Blanco<sup>1</sup>, Marina García<sup>2</sup>, Beatriz López<sup>3</sup>, Viviana Ritacco<sup>3</sup>, María del Carmen Sasiain<sup>2</sup>, Fabiana Bigi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, N. Repetto and Los Reseros 1686 Hurlingham, Argentina. <sup>2</sup>IMEX-CONICET, Academia Nacional de Medicina. Pacheco de Melo 3081. CABA, Argentina. <sup>3</sup>Reference Laboratory for Mycobacteria, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Carlos G. Malbrán". Av. Vélez Sarsfield 563. CABA, Argentina. E-mail: klepp.laura@inta.gov.ar

**Background and Objectives:** Molecular epidemiology has revealed that *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), formerly regarded as highly conserved specie, displays a considerable degree of genetic variability that can influence the outcome of the disease as well as the innate and adaptive immune response. Recent studies have demonstrated that *Mtb* families found worldwide today differ in pathology, transmissibility, virulence and development of immune response. **Methods:** By proteomic approaches we search for proteins that were differentially expressed between a

## POSTER PRESENTATION

local clinical isolate from Latin-American-Mediterranean (LAM) and from Haarlem (H) lineages. In order to analyze the immunogenic ability of differentially expressed proteins, we cloned and produced recombinant fusion proteins and tested specific antibody responses in TB patients sera by ELISA and FACS. **Results:** We identified seven differentially expressed proteins that were confirmed at transcriptional level. Four of these proteins were successfully cloned: Rv2241, Rv0009, Rv0407 and Rv2624c. We found that these proteins induced humoral immune responses in patients with drug-sensitive and drug-resistant tuberculosis with substantial cross-reactivity among the four proteins. Moreover, such reactivity was also correlated with anti-Mtb-cell surface IgM, but not with anti-ManLAM, anti-PPD or anti-Mtb-surface IgG antibodies. **Conclusion:** By combining classical immunochemical assays with proteomics approaches we identified four previously undescribed Mtb antigens that were differentially expressed in clinical isolates that circulate currently in our population. **Keywords:** Tuberculosis, serology, proteomics, MDR-TB

POSTER Nº: 71

### TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO RÁPIDO PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE MICOBACTÉRIAS CULTIVADAS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA.

Margarida Maria Passeri do Nascimento<sup>1</sup>, Renata HC Pocente<sup>2</sup>, Fernanda Guioti Puga<sup>2</sup>, Sandra Mara Nunes Moroti<sup>2</sup>, Lívia Maria Pala Anselmo<sup>1</sup>, Valdes Roberto Bollela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Brasil; <sup>2</sup>Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Brasil.  
E-mail: mpasseri@fmrp.usp.br

**Justificativa e objetivos:** A necessidade identificação rápida das espécies do gênero *Mycobacterium* é um grande desafio para os laboratórios que realizam diagnóstico de tuberculose (TB) e doenças causadas por micobactérias não tuberculosas (MNT). O objetivo deste estudo foi avaliar o papel de um teste comercial rápido na diferenciação entre TB e MNT em um hospital de referência terciária. **Métodos:** Espécimes clínicos enviados ao laboratório foram cultivados no BACTEC-MGIT<sup>®</sup> 960, todas amostras positivas foram avaliadas por um teste imunocromatográfico que detecta o antígeno MPT64 (Alere). A identificação da espécie de MNT foi feita através de análise de restrição de fragmento do gene *hsp65*, e a confirmação de TB pelo teste de molecular GenoType<sup>®</sup> MTBDRplus. **Resultados:** Desde novembro de 2013 o teste rápido tem sido feito diretamente da suspensão de crescimento do tubo MGIT<sup>®</sup>, com leitura após 15 minutos. Em um período de 6 meses foram realizados 168 testes de amostras que cresceram em cultura, sendo identificados 99 espécies de bacilos do complexo *M. tuberculosis* e 69 MNT. O tempo médio para liberação do resultado tem sido de 17 dias (min:5; max:35 dias). Houve ótima correlação entre os resulta-

dos do teste rápido e os exames de referência utilizados até o momento. **Conclusão:** A combinação MGIT e teste imunocromatográfico reduziu sensivelmente o tempo de liberação do resultado para o clínico, com impacto na tomada de decisão sobre o manejo destes casos, especialmente em um serviço de referência com alta prevalência de pacientes imunossuprimidos, onde a possibilidade de doenças causadas por MNT é constante. **Descritores:** *Mycobacterium tuberculosis*, micobactérias não tuberculosas, diagnóstico

POSTER Nº: 91

### PROVA TUBERCULÍNICA: O CONTROLE DA TUBERCULOSE EM INDIVÍDUOS HIV POSITIVOS

Ariane Thaise Alves Monteiro<sup>1</sup>, Maria Helena Dantas de Menezes Guariente<sup>2</sup>, Arlete Alves Nunes Fragoso da Costa<sup>3</sup>, Danielle Talita dos Santos<sup>4</sup>, Elaine Alves<sup>5</sup>, Sílvia Paulino Ribeiro<sup>6</sup>, Elma Mathias Dessunti<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>3</sup>Autorquia do Serviço Municipal de Saúde de Londrina, Brasil; <sup>4</sup>Secretaria da Saúde do Estado do Paraná, Brasil; <sup>5</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>6</sup>Hospital Universitário Norte do Paraná, Brasil; <sup>7</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil.  
E-mail: silviapaulinoab@yahoo.com.br

**Justificativa:** A Prova tuberculínica (PT) realizada regularmente pelos indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) permite o diagnóstico precoce e o tratamento da infecção latente de tuberculose (ILT) e previne a progressão para tuberculose ativa. **Objetivo:** Analisar os resultados das Provas Tuberculínicas em indivíduos HIV positivos e a conduta frente aos mesmos num Centro de Referência para tuberculose e HIV/AIDS do município de Londrina-PR. **Método:** Estudo de coorte retrospectivo, cujos dados foram levantados do livro de registro de PT realizadas no ano de 2009. Os indivíduos HIV positivos foram acompanhados, por meio de seus prontuários e das Fichas do Sinan, até dezembro de 2012, para verificar a evolução dos mesmos. **Resultados:** Dos 220 pacientes que realizaram a PT, a maioria era do sexo masculino, entre 21 e 50 anos e 188 completaram o exame. Destes, nove (4,8%) foram reatores à PT; seis casos tiveram indicação de tratamento de ILTB e apenas um completou o esquema. Constatou-se que 33 (17,6%) pacientes apresentaram PT negativa e contagem de TCD4+ abaixo de 200 cél/mm<sup>3</sup>, entretanto, a maioria não realizou o exame após a reconstituição imune. Ainda, 20 pacientes apresentaram TB doença, sendo 10 casos anteriores a 2009, a maioria quando apresentavam contagem de TCD4+ abaixo de 350 cél/mm<sup>3</sup>. **Conclusão:** A realização periódica da PT deve ser rigorosa nos indivíduos portadores de HIV; a contagem de linfócitos TCD4+ no momento da realização da PT deve ser considerada, verificando a necessidade de repetição do exame após a reconstituição imune. **Descritores:** Prova tuberculínica, aids, tuberculose.

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 97

### AVALIAÇÃO DA TRAJETÓRIA DO PACIENTE COM TUBERCULOSE PULMONAR DE UM MUNICÍPIO PRIORITÁRIO DO RIO GRANDE DO SUL

Inajara Humburger<sup>1</sup>, Roxana Isabel Cardozo Gonzales<sup>2</sup>, Jenifer Harter<sup>2</sup>, Bruna Franke<sup>3</sup>, Caroline Busatto<sup>3</sup>, Lia Gonçalves Possuelo<sup>1</sup>, Suzane Krug<sup>1</sup>, Andreia Rosane de Moura Valim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – UNISC, Brasil;

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Enfermagem – UFPEL, Brasil;

<sup>3</sup>Bolsistas de Iniciação Científica PIBIC-CNPq – UNISC, Brasil.

E-mail: inajara@prodentmed.com.br

**Justificativa/objetivo:** O diagnóstico precoce e o início do tratamento da tuberculose (TB) são fundamentais para seu efetivo controle. O atraso no diagnóstico está ligado à procura tardia do paciente pelo serviço de saúde, pela falta de percepção de estar doente ou pela dificuldade de acesso às unidades de saúde. A Atenção Primária é considerada a porta de entrada do usuário no processo de detecção e controle da doença. O objetivo do estudo foi avaliar o primeiro serviço de saúde procurado pelo indivíduo com TB pulmonar e o número de consultas realizadas até o diagnóstico. **Métodos:** Estudo descritivo prospectivo incluindo casos novos de pacientes com TB pulmonar que iniciaram tratamento no ambulatório de referência em TB do município de Santa Cruz do Sul (RS). Os dados coletados foram analisados no SPSS 20.0 no que se refere à estatística descritiva. **Resultados:** De outubro de 2013 a maio de 2014 foram incluídos no estudo 38 pacientes. Um total de 63,2% eram homens, a média de idade foi 42,87±16,97. Em relação ao primeiro serviço de saúde procurado 42,1% relataram procurar o Pronto Atendimento, 39,5% a Atenção Primária (ESF e UBS) e 15,8% procuraram outros serviços. O número de consultas realizadas até o diagnóstico variou de 1 a 7, com média de 2,7±1,57. **Conclusão:** A maioria dos doentes procurou diretamente o Pronto Atendimento, levando a suposição que a Atenção Primária pode estar apresentando dificuldade em identificar os sinais e sintomas relatados pelos pacientes, retardando o diagnóstico precoce, que é essencial para o controle da TB. **Descritores:** Tuberculose pulmonar, atenção primária, pronto atendimento.

POSTER Nº: 100

### SINTOMÁTICOS RESPIRATÓRIOS EM MUNICÍPIO DE ELEVADA INCIDÊNCIA DE TUBERCULOSE

Betina Mendez Alcântara Gabardo<sup>1</sup>, Bruno Alcântara Gabardo<sup>2</sup>, Eliane Cesário Maluf<sup>2</sup>, Andrea Maciel de Oliveira Rossoni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa Estadual de Controle da Tuberculose, Secretaria Estadual da Saúde do Paraná, Brasil;

<sup>2</sup>Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Brasil.

E-mail: betinamalcantara@gmail.com

**Justificativa e objetivos:** A detecção precoce dos casos de tuberculose pela investigação dos sintomáticos respiratórios (SR), pessoa com tosse há três ou mais semanas é fundamental para a interrupção da transmissão e controle da doença. Estima-se como SR, 1% da população e destes, 4% de casos de tuberculose pulmonar bacilífera. O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência de SR e tuberculose pulmonar em Paranaguá, município portuário do Paraná. **Método:** Realizou-se estudo descritivo, tipo inquérito, de setembro a novembro/2010 pelo método de amostragem por conglomerados na comunidade e na população que buscou atendimento nas Unidades de Saúde (US). **Resultados:** Os inquéritos populacional e nas US foram efetuados com 1.020 e 757 pessoas, respectivamente. Na comunidade, 94 pessoas apresentaram tosse produtiva e 28 há três ou mais semanas (SR) e nas US, entre 67 tossidores, 10 relataram tosse desta duração. Os SR distribuíram-se nas diferentes faixas etárias, com predomínio da etnia branca, ensino fundamental incompleto, casados/união estável e empregados, semelhante à distribuição populacional do Censo IBGE 2012. O sexo masculino predominou no inquérito populacional, enquanto nas US, a maior parte era feminino. A renda salarial variou de sem rendimentos a cinco salários mínimos e de sem rendimentos a dois salários mínimos, respectivamente, na comunidade e nas US. **Conclusões:** A prevalência de SR na comunidade foi de 2,7% (IC 95%= 1,8% - 3,9%) e nas US foi de 1,3% (IC 95%= 0,6% - 2,4%). A prevalência de TB pulmonar entre os SR na comunidade foi inconclusiva e nas US foi de 10%. **Descritores:** Sinais e sintomas respiratórios, tuberculose pulmonar, prevalência.

POSTER Nº: 101

### DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM ESCORE DIAGNÓSTICO PARA TB EM CRIANÇAS INFECTADAS POR HIV

Geancarlo G. M. da Rocha<sup>1</sup>, João B. de O. e Souza Filho<sup>1</sup>, Solange Gonçalves David de Macedo<sup>2</sup>, Rafael Mello Galliez<sup>2</sup>, Afrânio Lineu Kritski<sup>2</sup>, Clemax Couto Sant'Anna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, Brasil;

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: geancarlo.rocha@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Escores para diagnósticos da TB em crianças têm sido usados como ferramenta de apoio à decisão clínica. A acurácia destes escores em crianças HIV positivas é pouco descrita na literatura. A proposta é construir um escore de elevada acurácia baseado em técnicas de Inteligência Computacional nesta população. **Métodos:** Prontuários de 131 crianças HIV positivas atendidas no Hospital Municipal Jesus foram utilizados. Um comitê de 3 especialistas definiu o padrão ouro. Variáveis descritivas foram selecionadas por regressões logísticas univariadas, seguida da crítica de especialistas. Diferentes modelos de Inteligência Computacional foram avaliados.

## POSTER PRESENTATION

A técnica de validação cruzada foi utilizada para a avaliação e seleção de parâmetros dos modelos, que se baseou na área sob a curva ROC (AUC). **Resultados:** Em 121 pacientes com diagnóstico conclusivo (64 TB e 57 não TB), foram utilizados modelos com 30 variáveis categóricas. Modelos baseados em Máquina de Vetor Suporte (SVM) se destacaram, tendo atingido um valor médio de AUC de  $0,893 \pm 0,087$ . Para uma sensibilidade de 90%, foi obtida, em média, uma especificidade de  $53,33\% \pm 33,52\%$ ; enquanto, para uma especificidade de 95%, teve-se uma sensibilidade média de  $76,43\% \pm 12,11\%$ . Os sistemas de pontuação da OMS, sem cultura para BK, Kenneth-Jones e do Ministério da Saúde apresentaram, respectivamente, áreas de 0,819, 0,698 e 0,689 e, aproximadamente, 47/44%, 36/20% e 23/22% de especificidade/sensibilidade. **Conclusão:** O uso de técnicas de Inteligência Computacional permite a obtenção de escores para o apoio ao diagnóstico de tuberculose infantil com desempenho expressivo e superior aos comumente utilizados, facilmente disponíveis a comunidade médica por meio de aplicativos específicos em smartphones e tablets. **Descritores:** Tuberculose, Diagnóstico, Análise Estatística.

POSTER Nº: 116

### DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO DA MENINGITE TUBERCULOSA: UTILIZAÇÃO DE UM ESCORE CLÍNICO E LABORATORIAL ALIADO À PCR

Lívia Maria Pala Anselmo, Margarida Passeri do Nascimento, Renata Helena Candido Pocente, Sandra Mara Nunes Moroti, Cinara Silva Feliciano, Valdes Roberto Bollela

Universidade de São Paulo Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Brasil.  
E-mail: liviaanselmo@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** O diagnóstico de meningite tuberculosa ainda é um desafio, desta forma foi elaborado e validado um escore para definição destes casos como provável ou possível. Este escore é uma ferramenta clínica que avalia os critérios: I-clínica (sinais e sintomas de tuberculose), II-neuroimagem característica, III-líquor e VI-exames laboratoriais que identifiquem a presença do *M. tuberculosis* em outros sítios. O diagnóstico por reação em cadeia da polimerase (PCR) para *M. tuberculosis* vem sendo incluído como um dos critérios a ser avaliado em pacientes com suspeita de meningite tuberculosa. O objetivo foi aplicar o score em pacientes que apresentaram PCR positivo no líquido para *M. tuberculosis*, avaliando-o juntamente com método molecular. **Métodos:** Foi aplicado o escore nos pacientes que apresentaram PCR positivo no líquido. Este tem uma pontuação máxima de 20 pontos se considerado neuroimagem compatível e 14 pontos se neuroimagem não característica, assim o diagnóstico pode ser classificado em provável e possível. **Resultados:** No ano de 2012, foi realizado a PCR no LCR de 115

pacientes, destes 104 foram negativos e 11 positivos para *M. tuberculosis*. Os 11 pacientes foram submetidos ao escore definidos da seguinte forma: 4 casos prováveis com pontuação  $\geq 12$  pontos (imagem avaliada); 7 casos possíveis com pontuações variando de 6-11 e 4 pacientes não tiveram imagem avaliada. **Conclusão:** A associação do escore com a PCR poderá agilizar o diagnóstico e, conseqüentemente, o início do tratamento adequado da meningite tuberculosa. **Descritores:** Score de meningite tuberculosa, PCR/líquor, *M. tuberculosis*.

POSTER Nº: 127

### TESTE TUBERCULÍNICO EM PACIENTES COM HIV/AIDS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Emília Aparecida Alves<sup>1</sup>, Diana Dias Barboza<sup>1</sup>, Hosana do Nascimento<sup>1</sup>, Vanessa Francisca da Cruz<sup>2</sup>, Lia Keiko Watanabe<sup>2</sup>, Luzana Mackevicius Bernardes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Católica de Santos, Brasil.  
E-mail: emillia\_alves@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Detectar precocemente a Infecção Latente da Tuberculose (ILT) nos indivíduos HIV+, reduz a progressão da doença. Como estratégia profilática, preconiza-se o uso do teste tuberculínico (TT), método norteador para a abordagem clínica e complementar para o diagnóstico, conduzindo na indicação medicamentosa preventiva do fármaco isoniazida, medida comprovadamente efetiva e segura, limitando de 60 a 90% o risco de adoecimento. Esse estudo tem como objetivo identificar a importância da realização do TT em pacientes com HIV/AIDS. **Método:** Revisão sistemática da literatura com busca de artigos na base de dados eletrônica BIREME, LILACS e SciELO. **Resultados:** Evidências científicas comprovam a eficácia da realização do TT e do tratamento preventivo da TB latente, no entanto há dificuldades na prática para a sua adesão. A problemática encontrada para a efetivação do TT nos Programas Contra Tuberculose e nos Programas de DST/AIDS, ocorre devido a não implementação de rotina no serviço, a falta de profissionais capacitados, ausência de leitores especialistas, inexistência de registros, esquecimento da solicitação anual para a realização do TT em pessoas com HIV/AIDS e o desconhecimento da indicação do tratamento para tuberculose latente. **Conclusão:** Os serviços de atendimento ao paciente com HIV/AIDS devem otimizar a realização do TT, dispendo deste no próprio serviço e instituindo medidas na inserção da sua adesão. É relevante o papel da equipe de saúde frente ao controle do acometimento da tuberculose, particularmente naqueles pacientes vulneráveis, devendo assim contribuir para aprimorar a qualidade da atenção à saúde. **Descritores:** Teste tuberculínico, AIDS, HIV, tuberculose.

POSTER Nº: 129

## POSTER PRESENTATION

### AVALIAÇÃO DE UM TESTE RÁPIDO PARA DETECÇÃO DA TUBERCULOSE E DA RESISTÊNCIA A RIFAMPICINA E ISONIAZIDA

Leonardo Bruno P. F. Barreto<sup>1</sup>, Teresa Cristina R. de Brito<sup>1</sup>, Alessandra Sabóia<sup>1</sup>, Rosa Maria C. Ferreira<sup>1</sup>, Maria Cristina S. Lourenço<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Bacteriologia e Bioensaios, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.  
E-mail: cristina.lourenco@ipecc.fiocruz.br

**Justificativa e Objetivo:** O diagnóstico laboratorial precoce para Tuberculose (TB) e a detecção da resistência a rifampicina (RMP) e isoniazida (INH) é crítico para assegurar o rápido tratamento, em particular em pacientes suspeitos de TB-MR e paciente infectados pelo HIV. A utilização de sondas imobilizadas em fitas de nitrocelulose, capazes de detectar simultaneamente o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) e mutações relacionadas à resistência RMP e INH diretamente do escarro podem fornecer os resultados em um dia. O objetivo foi avaliar o desempenho do teste GenoType MTBDRplus na rotina laboratorial de uma unidade referência para HIV. **Método:** Utilizamos o kit da HAIN Lifescience GmbH para detecção de Mtb e resistência a RMP e INH comparando-o com a cultura e painel S.I.R.E. do Bactec™ 960 BD. **Resultados:** Dentre 222 amostras processadas, excluindo culturas contaminadas (n=7) e de micobactérias atípicas (n=11), estimamos para a detecção de *Mycobacterium tuberculosis* 84,7%, 100% e 95,6% para sensibilidade, especificidade e acurácia respectivamente. Para detecção de resistência estimamos a sensibilidade, especificidade e acurácia para Rifampicina de 100%, 97,9% e 98% e para a Isoniazida de 100%, 97,8% e 98% quando comparado ao SIRE MGIT (n=50). **Conclusão:** O teste apresentou alta sensibilidade, especificidade e acurácia. O tempo para obtenção do resultado foi decisivo a despeito da necessidade de infraestrutura adequada e pessoal treinado. **Descritores:** Técnicas de sonda molecular, técnicas de diagnóstico molecular, *Mycobacterium tuberculosis*.

POSTER Nº: 142

### COMPARISON OF TWO MOLECULAR METHODOLOGIES FOR THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

Karen Barros Schmid<sup>1</sup>, Regina Bones Barcellos<sup>1</sup>, Tatiana Schäffer Gregianini<sup>2</sup>, Mirela Verza<sup>1</sup>, Daniela Maria de Paula Ramalho<sup>3</sup>, Martha Maria Oliveira<sup>3</sup>, Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT), Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Vigilância Laboratorial de Influenza e outros Vírus Respiratórios. IPB-LACEN/RS, Brasil. <sup>3</sup>Centro de Pesquisa em Tuberculose, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil. <sup>4</sup>Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Brasil.  
E-mail: karen.schmid@gmail.com.

**Justification and Objectives:** considering the limitations of

conventional TB diagnosis and the advancement of diagnostic technologies, our group developed an in house IS6110-TaqMan assay using TaqMan probes for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA. The aim of this study was to determine the accuracy of the IS6110-TaqMan assay and the Detect-TB compared to the gold standard (smear/culture and clinical outcome). **Methods:** a total of 216 clinical specimens of spontaneous sputum from patients suspected of having TB were analyzed. Detect-TB and the IS6110-TaqMan assay, a Custom TaqMan Gene Expression Assay, were performed according to the manufacturer's instructions. **Results:** all of the 216 analyzed samples had clinical outcome results, and 128 of these had also smear microscopy and culture results. The Detect-TB sensitivity and specificity compared with the smear microscopy and/or culture (n=128) were 86% and 68.2%, respectively. The Detect-TB sensitivity and specificity compared with the clinical outcome (n=216) were 87.3% and 65.8%, respectively. The IS6110-TaqMan assay sensitivity and specificity compared with the smear microscopy and/or culture (n=128) were 90.7% and 60.0%, respectively. The IS6110-TaqMan assay sensitivity and specificity compared with the clinical outcome (n=216) were 93.8% and 61.8%, respectively. The concordance among the tests were demonstrated by the Kappa index of 0.52 (P<0.0001) (n=216). **Conclusion:** IS6110-TaqMan assay and Detect-TB showed sensitivity and specificity consistent with other current molecular commercial kits available. IS6110-TaqMan assay should be evaluated with a larger number of samples to be validated and may eventually be implemented commercially. **Key-words:** tuberculosis, molecular diagnosis, real time PCR.

POSTER Nº: 143

### PERFORMANCE OF A MOLECULAR ASSAY TO DETECT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX DNA IN CLINICAL SPECIMENS: MULTICENTER STUDY

Karen Barros Schmid<sup>1</sup>, Regina Bones Barcellos<sup>1</sup>, Mirela Verza<sup>1</sup>, Rosa Dea Sperhake<sup>2</sup>, Márcia Susana Nunes Silva<sup>1</sup>, Claudia Wollheim<sup>3</sup>, Martha Gabriela Celle Rivero<sup>4</sup>, Afrânio Lineu Kritski<sup>5</sup>, Leonides Rezende Jr.<sup>6</sup>, Martha Maria Oliveira<sup>5</sup>, Elis Regina Dalla Costa<sup>1</sup>, Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT), Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, Brazil; <sup>2</sup>Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, Brazil; <sup>3</sup>Laboratório de Microbiologia Clínica, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, Brazil; <sup>4</sup>Laboratório Especial de Microbiologia Clínica, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil; <sup>5</sup>Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Centro de Pesquisa em Tuberculose do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Rio de Janeiro, Brazil; <sup>6</sup>Labtest, Belo Horizonte, Brazil; <sup>7</sup>Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, Brazil.  
E-mail: karen.schmid@gmail.com.

**Justification and Objectives:** the World Health Organization (WHO) encourages the development and use of new, more sen-

## POSTER PRESENTATION

sitive, simple and cost-effective diagnostic tools seeking the improvement of TB control and the quality of patient care. Thus, the current study describes the inter-laboratory validation of a new commercial molecular assay, Detect-TB (LabTest, Belo Horizonte, Brazil). **Methods:** a total of 154 expectorated sputum samples from patients with suspected pulmonary tuberculosis were submitted for routine smear and culture from two different sites in Brazil (Caxias do Sul and São Paulo) and used to evaluate the performance of a molecular assay for tuberculosis (TB) diagnosis – Detect-TB). **Results:** when compared to culture results, the overall sensitivity of Detect-TB ranged from 74.4% to 94.7%, and the specificity ranged from 76.7% to 97.8%. When compared to laboratory methods and clinical diagnostic criteria, the sensitivity of Detect TB ranged from 38.5% to 90%, and its specificity ranged from 78.2% to 97.8%. Considering the 112 samples evaluated from the Caxias do Sul site, the sensitivity and specificity were 94.7% and 97.8%, respectively. Considering the 42 samples evaluated from the São Paulo site, the sensitivity and specificity were 71.4% and 93.9%, respectively. **Conclusion:** the results suggest that the Detect-TB test can be applied routinely in laboratories across different regions. Additionally, Detect-TB provides the advantage of results based on spectrophotometry measurements that are unbiased by human interpretation and may reduce costs compared to current commercial kits. **Keywords:** tuberculosis, molecular diagnosis, Detect-TB.

POSTER Nº: 144

### COST-EFFECTIVENESS ANALYSIS OF CULTURE, SMEAR AND DETECT-TB FOR PULMONARY TUBERCULOSIS DIAGNOSIS IN AN INCARCERATED POPULATION FROM RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Regina Bones Barcellos<sup>1</sup>, Karen Barros Schmid<sup>1</sup>, Elis Regina Dalla Costa<sup>1</sup>, Luciene Scherer<sup>2</sup>, Daniele Kuhleis<sup>3</sup>, Ricardo Ewbank Steffen<sup>4</sup>, Maria Lucia Rosa Rossetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT), Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em saúde (FEPPS), Brazil; <sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Epidemiologia, UFRGS, Brazil; <sup>3</sup>Programa Nacional de Controle da Tuberculose, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brazil; <sup>4</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Brazil. E-mail: reginabarcellos@gmail.com.

**Justification and Objectives:** The prevalence of tuberculosis (TB) in prisons can be over 100 times higher than that of the civilian population. Despite sensitivity and time issues, microscopy and culture are the gold standard for active TB diagnosis. A molecular method of TB detection, like Detect-TB, within an incarcerated population could be a rapid alternative to improve TB diagnosis. This study aimed to evaluate in a Brazilian prison: the performance and accuracy of smear, culture and Detect-TB; performance of smear plus culture and smear plus Detect-TB,

according to different TB prevalence rates; and the cost-effectiveness of these procedures for pulmonary TB diagnosis. **Results:** A total of 294 sputum specimens from patients suspected of having TB were analyzed. The sensibility and specificity were 47% and 100% for smear; 93% and 100%, for culture; 74% and 95%, for Detect-TB; 96% and 100%, for smear plus culture; and 86% and 95%, for smear plus Detect-TB. The negative and positive predictive values for smear plus Detect-TB, according to different TB prevalence rates, ranged from 83 to 99% and 48 to 96%, respectively. **Conclusion:** In a cost-effectiveness analysis, smear was both less costly and less effective than the other strategies. Culture and smear plus culture were more effective but more costly. Smear plus Detect-TB was the most cost-effective method. Diagnostic methods should be sensitive, specific and cost-effective to increase TB case detection. Cost-effectiveness studies are essential to support decisions about the implementation of such techniques, including in prisons, that have great health care assessment problems. **Keywords:** tuberculosis, cost-effectiveness, prison, Detect-TB.

POSTER Nº: 145

### CO-INFECÇÃO PELO VÍRUS DA HEPATITE C EM PACIENTES COM TUBERCULOSE: UMA ABORDAGEM MOLECULAR

1Cintia Costi, 1Tarciana Grandi, 1Maria Laura Halon, 1, 2Márcia S. Nunes Silva, 1Cláudia M. Dornelles da Silva, 3Tatiana S. Gregianini, 4Lia Possuelo, 1, 2Maria Lucia R. Rossetti

<sup>1</sup>CDCT/FEPPS, Brazil; <sup>2</sup>Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Brazil; <sup>3</sup>Lacen-RS/FEPPS, Brazil; <sup>4</sup>Universidade de Santa Cruz, Brazil. E-mail: cintia-costi@fepps.rs.gov.br

**Justificativa e objetivos:** O Vírus da hepatite C (HCV) divide rotas de transmissão com outros agentes infecciosos, principalmente com o Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV), que por sua vez está associado à tuberculose (TB). Como os dados disponíveis sobre a co-infecção TB/HCV são escassos, esse trabalho teve como objetivo estudar a frequência dos marcadores sorológicos para HIV e HCV, do RNA do HCV e a identificação dos genótipos circulantes. **Métodos:** O estudo foi realizado em amostras pertencentes a um banco do CDCT, coletadas de pacientes em tratamento para TB no Ambulatório de Tisiologia do Hospital Sanatório Partenon, em Porto Alegre. Foram analisados 138 plasmas, previamente caracterizados por testes sorológicos, para a presença do RNA do HCV, utilizando RT-PCR em tempo real e a genotipagem dos isolados por sequenciamento de parte do genoma viral. **Resultados:** As frequências dos marcadores anti-HIV e anti-HCV foram de 24% (34/138) e 19,6% (27/138), respectivamente. A presença do RNA do HCV foi confirmada em 52% (14/27) das amostras anti-HCV positivas e em 3% (3/111) das anti-HCV negativas. Foi possível genotipar 16 amostras, 70% identificadas como genótipo 1 e 23%, como

## POSTER PRESENTATION

genótipo 3. **Conclusão:** Foi possível observar uma alta frequência dos marcadores anti-HCV e anti-HIV. A presença do RNA viral, que permite confirmar a infecção pelo HCV e identificar potenciais disseminadores da doença, foi confirmada em 10% das amostras. As frequências dos genótipos 1 e 3 são similares a outros estudos realizados no Brasil, porém diferentes do observado em estudos realizados no Rio Grande do Sul. **Descritores:** Vírus da hepatite C, genotipagem, tuberculose.

POSTER Nº: 151

### INTERVENÇÃO NO MANEJO PÓS-ALTA DA TUBERCULOSE HOSPITALAR ATRAVÉS DE ESTRATÉGIA EDUCATIVA E DE SUPERVISÃO À DISTÂNCIA EM REGIÃO DE ALTA PREVALÊNCIA DA DOENÇA: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO – ANÁLISE PRELIMINAR

Alice Mânica Müller<sup>1</sup>, Denise Rossato Silva<sup>2</sup>, Paulo de Tarso Roth Dalcin<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.  
E-mail: alicemm26@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Testar o impacto sobre a taxa de cura da tuberculose de uma intervenção baseada em educação e supervisão à distância no manejo pós-alta dos casos novos da doença diagnosticados em hospital. **Métodos:** O grupo intervenção foi submetido a uma entrevista educativa antes da alta hospitalar e teve seu tratamento supervisionado à distância através de contatos telefônicos regulares com o próprio paciente e contatos telefônicos com a UBS de referência para o tratamento. O grupo controle seguiu as orientações e manejo de acordo com a equipe assistencial do HCPA. **Resultados:** Na análise preliminar deste estudo, foram estudados 40 pacientes, 24 (60,0%) do sexo masculino, 27 (67,5%) de cor branca e idade média de 47,8 ± 15,7 anos. Um paciente incluído teve mudança de diagnóstico na evolução. Houve diferença significativa na análise dos desfechos cura, abandono e óbitos entre os 2 grupos ( $p=0,012$ ). Utilizando os resíduos padronizados ajustados, observa-se que não houve diferença para taxa de cura entre o grupo intervenção e o grupo controle, respectivamente, 11 pacientes (50,0%) vs 5 pacientes (27,8%). Não houve diferença significativa para óbitos entre o grupo intervenção e o grupo controle, respectivamente, 10 pacientes (45,5%) vs 4 pacientes (22,2%). Houve diferença significativa quanto à taxa de abandono, sendo 1 abandono (4,5%) no grupo intervenção e 8 abandonos (44,4%) no grupo controle. **Conclusão:** A análise preliminar deste ensaio clínico mostrou que a intervenção no manejo pós-alta da tuberculose hospitalar não obteve impacto significativo sobre a taxa de cura, mas diminuiu a taxa de abandono. **Descritores:** tuberculose, adesão, intervenção.

POSTER Nº: 163

### AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE UM MÉTODO AUTOMATIZADO DE COLORAÇÃO PARA DETECÇÃO DE MICOBACTÉRIAS EM CULTURA LÍQUIDA: RESULTADOS PRELIMINARES

Ana-Carolina Chiou Nascimento<sup>1</sup>, Andréa Gobetti Coelho Bombonate<sup>2</sup>, Liliana Aparecida Zamarioli<sup>2</sup>, Adriana Maria Ferreira de Souza<sup>2</sup>, Carminda de Oliveira Pinto<sup>2</sup>, Vitor Fernandes Viveiros Filho<sup>2</sup>, Karina Montorsi Ferreira<sup>2</sup>, Roberta Belluzzo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (SP), Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Micobactérias - Núcleo de Ciências Biomédicas - Instituto Adolfo Lutz - Centro Laboratório Regional de Santos (SP), Brasil; <sup>3</sup>Hemogram Indústria e Comércio de Produtos Hospitalares, São Paulo, Brasil.  
E-mail: carolchiou@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** No Brasil, o método direto de baciloscopia pela coloração Ziel-Neelsen (ZN) é padronizado para pesquisa de bacilo álcool ácido resistente (BAAR). Por ser trabalhoso e apresentar alguns problemas operacionais de biossegurança, numerosas modificações técnicas têm sido avaliadas e descritas na literatura. A empresa Hemogram<sup>®</sup> desenvolveu metodologia automatizada para coloração de ZN a frio, SLIDEINK BK, na pesquisa de BAAR. O objetivo foi avaliar a acurácia dos métodos de coloração ZN clássico (ZNC) e automatizado a frio (ZNA) realizado no equipamento SLIDEINK BK- Hemogram<sup>®</sup>, para detecção de BAAR em cepas de micobactérias isoladas de cultura líquida pelo sistema automatizado MGIT960-TB/Becton Dickinson (BD), tendo a identificação da espécie como método referência. **Métodos:** Em toda cultura sinalizada como positiva pelo sistema automatizado MGIT960-TB/BD foram confeccionados esfregaços em duplicata para posterior coloração de ZNC e ZNA e lidos cegamente por um único examinador, com o intuito de descartar o viés de seleção. **Resultados:** Foram realizados 200 esfregaços e corados pelo método ZNC e ZNA. Foram excluídas do estudo 08 (4,0%) esfregaços por apresentarem contaminação na cultura líquida. Efetuando-se cálculos estatísticos para determinação dos valores de concordância entre os métodos obteve-se: 95% de concordância bruta, 72% de concordância esperada e 82% de concordância ajustada ( $kappa$ ). O método ZNA apresentou uma sensibilidade de 94,5%, uma especificidade de 100%, valores preditivos positivo e negativo de 100% e 76%, respectivamente. **Conclusão:** A coloração de ZNA apresentou boa acurácia e demonstrou ser um método prático, além de permitir minimizar alguns problemas operacionais de biossegurança. **Descritores:** Micobactérias, diagnóstico, coloração tuberculose pulmonar.

POSTER Nº: 166

### APERFEIÇOAMENTO E PADRONIZAÇÃO DO EXAME DE BACILOSCOPIA EM

## POSTER PRESENTATION

### MEMBRANA DE POLICARBONATO APÓS CONCENTRAÇÃO PELO SISTEMA BACFIL® PARA DETECÇÃO DE BACIOS ALCÓOL-ÁCIDO RESISTENTES EM AMOSTRAS DE ESCARRO E LAVADO BRONCOALVEOLAR

Pedro Sousa de Almeida Júnior<sup>1</sup>, Tatiana C6 Pelic6o<sup>1</sup>, Vald6rio do Valle Dettoni<sup>2</sup>, Reynaldo Dietze<sup>1</sup>, Mois6s Palaci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Esp6rito Santo, Brasil; <sup>2</sup>Hospital Universit6rio Casiano Ant6nio de Moraes.

E-mail: psousab@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O desenvolvimento de novas metodologias que aumentem a sensibilidade da baciloscopia 6 de grande import6ncia para o diagn6stico precoce da TB. Nos propomos a realizar modifica6es para o aprimoramento do sistema BacFil® de filtra6o com o intuito de eliminar os problemas relatados em vers6es anteriores. **M6todos:** O estudo foi realizado em duas fases. Na primeira fase, foram realizados ensaios para o aprimoramento da t6cnica de filtra6o utilizando o sistema BacFil®. Na segunda fase foi avaliado o desempenho da t6cnica padronizada em amostras de lavado broncoalveolar. **Resultados:** Verificou-se que a membrana branca pode ser utilizada no processo de filtra6o com colora6o por Auramina-O; O m6todo modificado obteve 98% de passagem das amostras pelo sistema; Utilizou-se fita dupla face para fixa6o da membrana na l6mina de microscopia; O limite de detec6o da t6cnica foi de 2 a 9 BAAR por mililitro de suspens6o bacteriana. O aumento da concentra6o de NaOCl para 10% auxilia na passagem de um maior volume de amostra pelo sistema, entretanto ocasiona na diminui6o da quantidade BAAR na membrana ap6s o per6odo necess6rio para todo o processo. Em amostras de lavado broncoalveolar a sensibilidade da t6cnica foi de 76%, significativamente maior do que a obtida na baciloscopia ap6s centrifuga6o ( $p = 0,001$ ). A especificidade foi de 95%. **Conclus6o:** A nova vers6o do sistema BacFil® de filtra6o (5.0) obteve 6timos resultados, suplantando os problemas operacionais relatados nas vers6es anteriores, al6m de ser uma t6cnica promissora pois demonstrou aumento significativo na sensibilidade da microscopia de amostras sabidamente paucibacilares. **Descritores:** Tuberculose, Mycobacterium tuberculosis, escarro, diagn6stico.

POSTER N6: 184

### ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS AS A TOOL IN MENINGEAL TUBERCULOSIS DIAGNOSIS IN COLOMBIA

Alvaro D. Orjuela-Ca6on<sup>1,2</sup>, Carlos Awad<sup>4</sup>, Jose Manoel de Seixas<sup>2</sup>, Anete Trajman<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Antonio Nari6o, Colombia; <sup>2</sup>COPPE/Poli - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>3</sup>McGill University, Canada; <sup>4</sup>Hospital Santa Clara, Colombia.

E-mail: dorjuela@ieee.org.

**Objectives:** Tuberculosis (TB) diagnosis may benefit from statistical modeling support, which may be developed from machine learning techniques. Applications of computational intelligence algorithms have been reported in pulmonary and pleural tuberculosis diagnosis. In this study, non-supervised trained artificial neural networks (ANNs) are used to assess intelligent information for supporting meningeal tuberculosis (MTB) diagnosis in Colombia. **Methods:** Information from seven variables was used to train Self Organizing Maps (SOM), which may map high-dimensional data onto two dimensions and still preserving the topology of the original data space. Data from patients with meningeal tuberculosis from Bogota, Colombia, are used to extract clusters on mapped data. Additionally, projecting information onto de trained map may reveal important features for diagnosis. For determining the size of the map, a preprocessing scheme is developed. **Results:** With trained SOM, it was possible to find nonlinear relationships between features such as age, gender and conditions reported in the first attendance. The map also allows data visualization in two dimensions. Due to the non-supervised learning characteristics, risk groups may be assigned to patients. **Conclusions:** ANNs are useful tools in MTB diagnosis support. Using non-supervised training allows identifying clusters of patients and corresponding risk groups. **Keywords:** Tuberculosis in Colombia, Diagnosis Support, Meningeal Tuberculosis, Artificial Neural Networks.

POSTER N6: 191

### OTIMIZA6O DA ROTINA DIAGN6STICA DA TUBERCULOSE NUM LABORAT6RIO DE GRANDE PORTE COM O USO DO ENSAIO IMUNOCROMAT6GRFICO

Thais S Romano Di Gioia, Cristina Garcia, Priscila Souza Zambrin, Luiza Hayashida, Patricia Yoshi Nishimura, Marina da Costa Rosa, Andr6a Alfieri, Luciano C6sar Scarpelli, Magali Lopez de Campos

Laborat6rio DASA.

E-mail: thais.gioia@dasa.com.br

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose (TB) permanece como um desafio de sa6de p6blica, visto que 6 doen6a infecciosa que mais causa 6bitos no mundo. Frente a este cen6rio, agilizar o diagn6stico da TB 6 fundamental para o controle da sua dissemina6o e seu tratamento. Portanto, diferenciar rapidamente a micobact6ria como pertencente ao Complexo Mycobacterium tuberculosis (CMTB) ou como Micobact6rias N6o Tuberculosas (MNT) 6 essencial. Este trabalho objetiva avaliar o desempenho do ensaio imunocromatogr6fico no diagn6stico da TB, comparando-o com o m6todo atualmente dispon6vel, que 6 o sequenciamento da regi6o PRA hsp65. **M6todos:** Foram selecionadas 21 culturas positivas para micobact6rias, isoladas de meio l6quido (MGIT®) ou s6lido (Lowenstein-Jensen), com colora6o

## POSTER PRESENTATION

de Ziehl-Neelsen positiva com bacilo álcool-ácido resistente, para a realização de sequenciamento da região PRA hsp65 e ensaio imunocromatográfico (Bioeasy®). **Resultados:** Das 21 micobactérias analisadas, 13 foram identificadas por sequenciamento da região PRA hsp65 como *Mycobacterium tuberculosis*, 4 *M. kansasii*, 2 *M. gordonae*, 1 *M. avium* e 1 *M. fortuitum*. O ensaio imunocromatográfico identificou as 13 cepas de *M. tuberculosis* como CMTB e foi negativo para CMTB para as demais cepas analisadas. **Conclusão:** Os resultados mostraram-se concordantes para a identificação do CMTB e MNT. O método imunocromatográfico possui sensibilidade e especificidade próximas de 99% na literatura, mostrando-se um método de grande acurácia e custo-efetivo. Desta forma, pode-se otimizar o diagnóstico da TB de forma segura, e com um método mais ágil e menos trabalhoso do que o sequenciamento da região PRA hsp65. **Descritores:** Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, nontuberculous mycobacteria.

POSTER Nº: 205

## PARÂMETROS CLÍNICOS E MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR PARA O DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSE RESISTENTE A RIFAMPICINA (RMP) E/OU ISONIAZIDA (INH) E SUA RELAÇÃO COM A ACURÁCIA DO MODS

Mônica Kramer de Noronha Andrade<sup>1</sup>, Martha de Oliveira<sup>2</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>3</sup>, Afrânio Lineu Kritski<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, REDETB, Brasil; <sup>2</sup>REDETB, Brasil; <sup>3</sup>Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: monicakra@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** É escassa a informação relativa à avaliação molecular de resultados discordantes de uma nova técnica para o diagnóstico de TB resistente e, portanto, teve-se neste estudo, este objetivo. **Métodos:** Analisou-se 318 amostras de escarro, pela técnica MODS e método de proporção (MP), referentes a 142 pacientes com suspeita de tuberculose pulmonar em risco de resistência. Verificou-se resultados discordantes em 99 amostras (31%) referentes a 43 pacientes (30,3%). Fez-se o sequenciamento seguido da detecção de mutações genéticas associadas com resistência à INH e RMP e a genotipagem (spoligotyping) em 69 amostras (38 pacientes). Em 23 pacientes, cada um teve 02 a 3 amostras analisadas. O padrão de referência foi o MP e o sequenciamento. **Resultados:** Com o sequenciamento, houve um incremento na especificidade do MODS para o diagnóstico de resistência a INH e a RMP, respectivamente, de 79,8% para 82,2% e 85,9% para 91,1%. Não houve alteração na sensibilidade para INH e RMP. A heteroresistência para RMP e/ou INH foi encontrada em 8 / 38 casos (34,7%) e todos tinham história de falência/recidiva. Quanto à superinfecção, em 11/38

casos (28,9%). À genotipagem, maior frequência para LAM 9 e T1 (16,9%), LAM2 (11,7%); Haarlem1 (10,4%) e, Haarlem 3 (9,1%). Dez casos de retratamento foram infectados com duas cepas diferentes. Não houve associação com o desfecho clínico e determinado genótipo das cepas. **Conclusão:** Estudos adicionais são necessários para a confirmação destes achados e para avaliar seu impacto sobre o manejo clínico de pacientes suspeitos de TB resistente. **Descritores:** Tuberculose, Resistência, MODS.

POSTER Nº: 217

## AVALIAÇÃO DE UM MÉTODO MOLECULAR PARA DETECÇÃO DE *Mycobacterium tuberculosis* NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PULMONAR

Graziele Lima Bello<sup>1</sup>, Natali Linck<sup>2</sup>, Daniel Scapin<sup>2</sup>, Maria Rita Nicola<sup>3</sup>, Thaízy Gonçalves<sup>1</sup>, Cristiana Martins<sup>4</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Biomedicina - Universidade Luterana do Brasil/ULBRA, Brasil; <sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular aplicado à saúde (PPGBio-saúde)/ULBRA, Brasil; <sup>3</sup>Biologia - ULBRA, Brasil; <sup>4</sup>Farmácia - ULBRA, Brasil. E-mail: grazilbello@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada uma das mais preocupantes doenças de notificação compulsória no Brasil. No Estado do Rio Grande do Sul a taxa de coinfeção TB/HIV é o dobro do resto do país e casos de multiresistência às principais drogas do tratamento já são comuns. O diagnóstico de rotina é o microbiológico, sendo constituído de baciloscopia e/ou cultura. Entretanto, a maioria dos locais utiliza apenas a baciloscopia que tem em torno de 50% de sensibilidade, fazendo com que exames complementares e a sintomatologia sejam necessários para o fechamento de cada caso. O objetivo deste estudo foi avaliar uma metodologia molecular na identificação de DNA de *M. tuberculosis* diretamente de amostras clínicas de escarro coletadas de pacientes atendidos no setor de tisiologia do município de Canoas (RS), sendo os resultados comparados com a cultura. O DNA foi amplificado por PCR, após a extração com sílica. A detecção de DNA amplificado foi realizada por reação colorimétrica em placas de ELISA sensibilizadas com sondas específicas do elemento de inserção IS 6110 do genoma. Foram analisadas 210 amostras. Do total, 28 amostras foram positivas em cultura, e 39 mostraram-se positivas no teste. Das 171 negativas, 156 negataram no método. Dessa forma, os resultados de sensibilidade e especificidade foram de, respectivamente, 72 e 91%. Portanto, desenvolver novas tecnologias aplicáveis de diagnóstico torna-se indispensável à saúde pública. **Descritores:** Tuberculose, detecção, saúde.

POSTER Nº: 219

## DETECÇÃO DA TUBERCULOSE PULMONAR

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

### UTILIZANDO A CULTURA NO MUNICÍPIO DE CANOAS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Natali Tejada Linck<sup>1</sup>, Grazielle Lima Bello<sup>1</sup>, Maria Rita Nicola<sup>1</sup>, Márcia Suzana Nunes da Silva<sup>1</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>2</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, RS; <sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.  
E-mail: natali\_linck@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Canoas possui a segunda taxa de incidência de TB no RS/Brasil. A rotina de diagnóstico é feita por baciloscopia (BK) cuja sensibilidade é variável. A cultura, apenas é realizada quando o paciente preenche os critérios definidos pelo Ministério da Saúde. O objetivo foi analisar o diagnóstico de TB utilizando a cultura e o BK para todos os casos suspeitos. **Métodos:** Amostras dos pacientes foram cultivadas após a realização de BK. O teste de susceptibilidade foi realizado nas culturas positivas. **Resultados:** Foram analisadas amostras (escarro) de 443 pacientes. Destes, 74 confirmaram o diagnóstico de TB pulmonar pelo BK e/ou cultura, 65 somente pela cultura e 39 pelo BK. Concomitante na cultura e no BK 30 casos. Eram do sexo masculino 70% e a faixa etária predominante estava entre 40-59 anos. Em relação aos exames, 96,3% tiveram resultado radiológico sugestivo de TB e 7,1% (4/56) possuíam co-infecção com HIV. Comparando o BK com a cultura, a sensibilidade e especificidade foram respectivamente 46% e 97,6%. A realização da cultura apenas para pacientes que tinham critérios aumentou o diagnóstico em 31,6% (6 casos além dos BK+). Com a introdução da cultura para todos os pacientes, o diagnóstico de TB aumentou em 53% (29 casos somados aos anteriores). O teste de susceptibilidade dos isolados detectou 10,6% de resistentes, 7,6% monorresistentes, 1,5% MDR. **Conclusão:** O diagnóstico de TB utilizando a cultura juntamente com o BK poderia detectar no mínimo o dobro de casos de TB. Estes uma vez tratados poderiam interromper a transmissão. **Descritores:** Tuberculose, cultura, diagnóstico.

POSTER Nº: 234

### DIAGNÓSTICO RÁPIDO DA TUBERCULOSE PLEURAL DIRETAMENTE DO FRASCO DE HEMOCULTURA POSITIVO

Thais S Romano Di Gioia<sup>1</sup>, Viviane Cruz R. Cardeal<sup>1</sup>, João Nobrega de Almeida Junior<sup>1</sup>, Roberta K. Barbosa de Sales<sup>1</sup>, Erica Chimara<sup>2</sup>, Rosângela S. de Oliveira<sup>2</sup>, Lucilaine Ferrazoli<sup>2</sup>, Flavia Rossi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. E-mail: thais.gioia@hc.fm.usp.br

**Justificativa e Objetivos:** O teste imunocromatográfico detecta o antígeno protéico MPB64 produzido por cepas do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) isoladas a partir de meio

sólido Lowenstein Jensen (LJ) ou meio líquido (MGIT<sup>®</sup>) de forma ágil e custo-efetivo, adiantando 15 dias quando comparado com testes fenotípicos tradicionais na diferenciação de CMTB de micobactérias não tuberculosas. Até a presente data, ainda não foi descrito seu uso diretamente de frasco de hemocultura positivo. O objetivo deste estudo é demonstrar o seu uso diretamente de um frasco positivo de hemocultura para micobactérias. **Métodos e Resultados:** Para a cultura para micobactérias, o líquido pleural foi inoculado em um frasco de hemocultura para micobactéria (*Myc*/F BD<sup>®</sup>) e incubado até positivar. Verificado presença de BAAR e semeado no meio LJ, onde cresceu micobactéria em 18 dias, e identificado por testes fenotípicos tradicionais (nitrito, niacina e LJ+PNB), sendo diagnosticado CMTB após 33 dias. Em paralelo, realizado diretamente do frasco positivo, o teste imunocromatográfico Ag MPB64 (Bioeasy<sup>®</sup>), com identificação de CMTB em 15 minutos. A cepa foi submetida ao teste de sensibilidade e apresentou-se sensível ao esquema SIRE. **Conclusão:** O uso teste imunocromatográfico é fácil manejo, rápida execução e permitiu definir o diagnóstico de tuberculose pleural 33 dias antes do método tradicional, ainda utilizado por muitos laboratórios. Embora seja necessário validar esta prática, abre-se uma possibilidade interessante de prática diagnóstica para a tuberculose extra-pulmonar. **Descritores:** Diagnóstico rápido, tuberculose pleural, hemocultura

POSTER Nº: 235

### ESTUDO DA FREQUENCIA DE MICOBACTÉRIAS DE 2013/2014 NUM LABORATÓRIO PÚBLICO DA CIDADE DE SÃO PAULO

Félix Pedro Dinis Pinto<sup>1</sup>, Bruna Cláudia Bastos da Rocha<sup>1</sup>, José Adilson Rodrigues Alves<sup>1</sup>, Viviane Cruz R. Cardeal<sup>1</sup>, Valéria Teixeira Alves Rosa<sup>1</sup>, Thais S Romano Di Gioia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo.  
E-mail: thais.gioia@hc.fm.usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose (TB) permanece como um desafio de saúde pública, de grande morbi-mortalidade. O Brasil ainda permanece dentro do grupo dos 22 países que são responsáveis por 80% da TB mundial. O objetivo deste estudo é descrever os resultados das culturas para micobactérias realizadas num laboratório que atende um Complexo Hospitalar Terciário da Cidade de São Paulo. **Métodos:** Os dados em análise são do ano de 2013 e dos primeiros 3 meses de 2014. Foram coletados a partir de um sistema de informação laboratorial, uma análise retrospectiva de resultados liberados pelo laboratório de microbiologia. **Resultados:** Realizaram-se 19.088 exames para culturas de micobactérias nos mais diversos materiais biológicos. Das culturas analisadas, 2,4% (n=459) foram positivas, das quais 82,79% (n=380) correspondiam ao Complexo *Mycobacte-*

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

*rium tuberculosis (CMTB) e 17,21% correspondiam à Micobactérias Não tuberculosas (MNT). Das amostras positivas 79,95% (n=367) eram do trato respiratório e 20,05% (n=92) extra-pulmonar. Conclusão:* O estudo mostra que dentre as culturas positivas para micobactéria 82,79% foram identificadas como CMTB e que das culturas positivas 79,95% são de origem pulmonar e 20,05% são de sítios extra-pulmonares. **Descritores:** Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, nontuberculous mycobacteria.

POSTER Nº: 237

### GZMA/GBP5/CD64: a three-gene signature to discriminate between tuberculosis and other pulmonary diseases

Lucas Laux da Costa<sup>1,2,3</sup>, Melaine Delcroix<sup>3</sup>, Elis Regina Dalla Costa<sup>1</sup>, Mariana Milano<sup>1,2</sup>, Steve Francis<sup>3</sup>, Gisela Unis<sup>4</sup>, Denise Rossato Silva<sup>5,6</sup>, Lee W. Riley<sup>3</sup> and Maria Lucia R. Rossetti<sup>1,2,7</sup>

<sup>1</sup> Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, Brazil; <sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM), Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil; <sup>3</sup> Division of Infectious Diseases, School of Public Health, University of California, Berkeley; <sup>4</sup> Hospital Sanatório Partonon (HSP), Porto Alegre, Brazil; <sup>5</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências Pneumológicas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil; <sup>6</sup> Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil; <sup>7</sup> Universidade Luterana do Brasil (ULBRA/RS), Porto Alegre, Brazil

**Background:** In this study, in an attempt to define a TB-specific biosignature for diagnostics, we evaluated gene expression in TB, pneumonia and asthma patients (OPD), as well as healthy donors with latent *M. tuberculosis* infection (LTBI) and healthy non-infected donors (NIDs). **Methods:** Gene expression level of B2M, CD64, FCGR1B, GZMA, GBP5 and LTF was assessed by real-time PCR in whole blood from 25 NIDs, 27 LTBI, 27 TB and 22 OPD donors. **Results.** Random forest analysis was applied to calculate the specificity and sensitivity of each gene combination of CD64, GZMA and GBP5 to discriminate between TB and OPD. The combination of the 3 genes gave the highest accuracy in identifying TB and OPD patients. This biosignature gave a specificity of 92.6% and a sensitivity of 95.5% for TB (reverse for OPD). **Conclusions.** Our study suggest that the creation of a diagnostic tool using the studied biosignature may be a way to help physician's to differentiate TB from OPD and support the possibility to start to work at protein levels, using this to create faster, cheaper and accurate tools to diagnosis TB and to follow WHO recommendations to reduce global burden of TB incidence worldwide. **Keywords:** Tuberculosis, biomarkers, gene expression.

POSTER Nº: 245

### PERCENTUAL DE POSITIVIDADE DE TUBERCULOSE EM PESSOAS PRIVADAS DE LIBERDADE: UM ESTUDO NO LACEN-PARÁ

Zelinda Santana<sup>1</sup>, Vera Fonseca<sup>1</sup>, Michele Brito<sup>1</sup>, Rafaela Bonfim<sup>1</sup>,

Luiza Patelo<sup>1</sup>, Luiza Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Central do Estado, Pará.  
E-mail: zelindahabib@yahoo.com.br

**Justificativa e Objetivos:** É consenso que a Tuberculose (TB) tem sido uma das doenças infectocontagiosa mais alarmante nos últimos anos. A ocorrência da TB em população privada de liberdade tornou-se um grave problema de saúde pública, estudos realizados em diversas regiões do mundo, concluem que a transmissão da TB na população prisional é maior do que à população geral e que a prevalência entre presidiários pode ser até 20 vezes maior que a média Nacional. Diante do exposto faz-se necessário avaliar a positividade nessa população. **Métodos:** O estudo objetivou conhecer a partir de exames laboratoriais em amostras de escarro, a positividade da TB na população privada de liberdade, encaminhada ao Laboratório de Central do Estado do Pará, (LACEN- PA), no período de 2010 a 2013. Foram utilizadas amostras de escarro de pacientes oriundos de Unidades Prisionais, encaminhadas ao LACEN-PA, sendo realizada a Baciloscopia pela técnica de Ziehl-Neelsen e a cultura pelo método de Petroff. **Resultados:** Foram analisadas um total de 426 amostras de Sintomático Respiratório, e encontrado os seguintes percentuais de positividade na baciloscopia e na cultura respectivamente: 2010:13,5% (17/126) e 21,4 % (03/14); 2011: 16,1 % (11/68) e 30% (09/30); 2012: 12,5% (10/152) e 10% (14/139); 2013: 10% (08/80) e 12% (09/76). **Conclusão:** Os resultados demonstram uma alta positividade entre a população privada da liberdade. A população encarcerada possui um alto risco para o contágio da TB, devido às características e necessidades específicas, mas o encarceramento se constitui uma oportunidade de diagnosticar e tratar não somente os doentes, mas os funcionários. **Descritores:** tuberculose, diagnóstico e positividade

POSTER Nº: 246

### A TRAJETÓRIA DAS PESSOAS NA DESCOBERTA DA TUBERCULOSE NO SISTEMA LOCAL DE SAÚDE EM PELOTAS, BRASIL

GONZÁLES, Roxana Isabel Cardozo, JUNG, Bianca Contreira<sup>1</sup>, HARTER,

Jenifer, Dagoberta Alves Viera, TOMBERG, Jessica GONÇALVES, Eduarda  
<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Brasil; Faculdade de Enfermagem, Brasil.  
E-mail: biajung@bol.com.br

**Justificativa e Objetivos:** Os indivíduos buscam por soluções para as suas necessidades em saúde de acordo com o conhecimento do processo saúde e doença. Duas ações são essenciais para a descoberta da Tuberculose (TB). Uma delas envolve a escolha do indivíduo pela busca de cuidados nos serviços de saúde, e a outra se relaciona aos cuidados ofertados por estes serviços. O objetivo do estudo foi identificar os motivos que levaram as pessoas a procurar o serviço de saúde. **Métodos:** Estudo quali-

## POSTER PRESENTATION

tativo descritivo com usuários do Programa de Controle de TB de Pelotas. **Resultados:** O emagrecimento foi o sintoma mais relatado pelos entrevistados, ou seja, o principal sintoma/motivo para a procura de um serviço de saúde, também, foram descritos outros sintomas como fraqueza, falta de apetite, desânimo, cansaço, tosse com sangue, dor no peito e nas costas, isso pode representar a intensidade dos sintomas e, provavelmente, motive os indivíduos a buscar os serviços de saúde, bem como envolve a (auto) percepção de saúde e doença, debilidades em ações efetivas no controle da TB (a busca ativa de casos) e nós críticos (recursos disponibilizados de atenção à saúde; distância geográfica) relacionados ao acesso e acessibilidade dos serviços. **Conclusão:** A trajetória na descoberta da TB é um processo que cada indivíduo desenvolverá de maneira singular e de acordo com as suas crenças, valores e atitudes, com a participação ou não da família e, ainda, as barreiras dos serviços de saúde são definidoras para o diagnóstico da doença. **Descritores:** Trajetória, tuberculose, sistema de saúde.

POSTER Nº: 251

### EVALUACIÓN BACTERIOLÓGICA Y PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS PULMONAR EN UN HOSPITAL PEDIÁTRICO MEXICANO. EXPERIENCIA DE 19 AÑOS

Virginia Lora Téllez<sup>1</sup>, María Lucía Pérez Ricardez<sup>1</sup>, Elizabeth Ruiz Gutiérrez<sup>1</sup>, Luis David Aquino Prieto<sup>1</sup>, Maricruz Gutiérrez Brito<sup>1</sup>, Margarita Gutiérrez Ahuactzin<sup>1</sup>, María Soleil Trejo Salauz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital para el Niño Poblano, México; <sup>2</sup>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

E-mail: virginialora@hotmail.com

**Introducción:** La incidencia de tuberculosis entre la población pediátrica depende de la exposición del hospedero al agente infeccioso y de la capacidad del sistema inmunológico del niño para contrarrestar la infección. **Material y métodos:** Se analizaron muestras de esputo, jugo gástrico y aspirado broncoalveolar procedentes de pacientes pediátricos con cuadro clínico crónico de vías respiratorias bajas durante el período febrero 1995-2014 mediante técnica de Petroff, baciloscopia y cultivo. **Resultados y Discusión:** En 84 de 1072 pacientes se estableció diagnóstico de tuberculosis pulmonar, demostrando incidencia de 7.8%. La distribución por sexo fue de 51.2% para hospederos femeninos y 48.8% para masculinos. Se observó tendencia en número de casos para el grupo de edad entre 5-15 años con 69% del total y de 31% para el grupo de edad 0-5 años. El tipo de muestra biológica que se analizó con mayor frecuencia para documentar el diagnóstico fue jugo gástrico con 61.9%, esputo 33.3% y aspirado broncoalveolar 4.8%. El 81% de las muestras analizadas se clasificaron dentro del parámetro de una (+) a menos, a través del estudio de baciloscopia. Se obtuvo cre-

cimiento de *Mycobacterium spp* en 94% de las muestras clínicas cultivadas con baciloscopia positiva. Finalmente, de los 84 casos diagnosticados como tuberculosis pulmonar, sólo 3 (3.6%) se diseminaron hacia otros sitios corporales como hígado y sistema nervioso central. **Conclusión:** Es importante evaluar la incidencia de tuberculosis pulmonar en la población pediátrica local, para el control, manejo y evolución clínica favorable. **Descritores:** tuberculosis, pediatría, baciloscopia.

POSTER Nº: 253

### PULMONARY TUBERCULOSIS IGA SERA RECOGNIZE MPT64, MT10.3, AND ITS GENEFRAGMENTS AS FUSION PROTEIN: CLONING, EXPRESSION AND PURIFICATION

Isabela Gama Sardella<sup>1</sup>, Ana Carla de Paulo Mulinari<sup>1</sup>, Leila de Souza Fonseca, Maria Helena Féres Saad<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: saad@ioc.fiocruz.br

**Background and objectives:** In this work, we described cloning and expression of proteic quimera in the Rv1980c (mpt64) and Rv3019c (mt10.3) genes, the successes and difficulties founds.

**Methods:** In this work, MT10.3 and the carboxyterminal region of MPT64 consisting in 15 residues between amino acids Gly-173 and Ala-187, the core epitope (CE15) were cloned, fused and expressed in *Escherichia coli* as inclusion body containing a histidine (His) tag. Expressed fused protein was identified by Western blot (WB) using anti-His antibody and purified by nitrilotriacetic acid affinity chromatography and denaturing condition. Confirmation of the expression and subsequent purification of the protein was made by SDS-PAGE and WB assays.

**Results:** We obtained a 13.3 kDa protein fusion (MT10.3(1M-40S):CE15(173G-187A):MT10.3(41S-96)). In tuberculous human sera, ELISA-IgA recognized the MT10.3(1M-40S):CE15(173G-187A):MT10.3(41S-96) fused protein, as well as the single antigens MPT64 and MT10.3 (58.3%, 16.7% and 41.7%, respectively) keeping the highest specificity (95.5%), hitherto being unnoticed.

**Conclusion:** The successfully MT10.3(1M-40S):CE15(173G-187A):MT10.3(41S-96) expressed fused protein might be a potential specific candidate to compose, with other antigens, an immunological test for pulmonary tuberculosis. **Keywords:** Mycobacterium tuberculosis, tuberculosis, MPT-64, MT10.3, fusion protein, cloning.

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

### ABSTRACTS OPERATIONAL RESEARCH

POSTER Nº: 14

#### INTEGRAÇÃO DOS PROGRAMAS DE CONTROLE DA TUBERCULOSE E DE HIV/AIDS: ESTRATÉGIA DE AÇÃO EM MUNICÍPIO PRIORITÁRIO PARA AS DUAS ENDEMIAS

Lis Aparecida de Souza Neves<sup>1</sup>, Fátima Regina de Almeida Lima Neves<sup>1</sup>, Maria Cristina Bellizzi Garcia<sup>1</sup>, Mônica de Arruda Rocha<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.  
E-mail: dvetb@saude.pmrp.com.br

**Justificativa e Objetivos:** Um dos grandes desafios da coinfeção HIV/TB, é que os pacientes são tratados em locais diferentes, dificultando a investigação, a adesão e o tratamento. Nosso objetivo é relatar a integração de ações entre os programas de tuberculose e HIV/aids em Ribeirão Preto, município prioritário para as duas doenças. **Métodos:** o diagnóstico de ambas as patologias pode ser realizado em todas as 45 UBS por busca ativa ou demanda espontânea e o paciente é encaminhado para os 4 ambulatórios de referência; estes ambulatórios são compostos por equipe multidisciplinar, que atendem os casos de HIV, aids e tuberculose, facilitando a adesão e o vínculo. Mensalmente, é realizada uma reunião com a equipe de todos os serviços, quando são passados informes técnicos, feito discussões temáticas em relação aos dois programas. Também são incluídas no Plano de Ações e Metas de DST/aids, propostas que visem redução da coinfeção e diagnóstico precoce da TB, reservando recursos financeiros para estas ações. **Resultados:** o trabalho conjunto propiciou a vinculação dos pacientes à mesma equipe de referência; isto facilita o acesso aos atendimentos, a garantia do fornecimento de medicamentos e o estímulo à adesão às terapias medicamentosas. Como resultados, o exame anti-HIV foi realizado em 94% dos pacientes com TB em 2013 e a realização do PPD em pacientes soropositivos aumentou cerca de 60% neste mesmo ano. **Conclusão:** a integração das equipes e a parceria entre os programas possibilitam fluxos de atendimento específicos e complementares, melhorando a qualidade da assistência prestada e conseqüentemente seus indicadores epidemiológicos. **Descritores:** tuberculose, HIV, aids.

POSTER Nº: 23

#### IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA PARA GESTÃO DE PACIENTES DE TUBERCULOSE

Nathalia Halax Orfão<sup>1</sup>, Nathalia Yukie Crepaldi<sup>1</sup>, Rita Aparecida Carvalho<sup>2</sup>, Miguel de Oliveira Alves<sup>2</sup>, Lis Aparecida Neves<sup>2</sup>, Michela Prestes Gomes<sup>1</sup>, Antonio Ruffino Netto<sup>1</sup>, Domingos Alves<sup>1</sup>, Tereza

Cristina Scatena Villa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, Brasil. E-mail: nathaliayc@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Sistema de Informação em Saúde é uma ferramenta importante, que facilita a formulação e avaliação de política e programas de saúde pública. Nesse sentido, este estudo tem como objetivo implantar um sistema de registro e controle de pacientes de tuberculose em Ribeirão Preto - SP. **Métodos:** Duas versões do sistema foram desenvolvidas (desktop e mobile), após reuniões prévias com membros da equipe local para construção das variáveis e relatórios pertinentes. Ambas versões permitem o cadastramento de identificação dos pacientes, tratamento, contatos, exames, internação e supervisão da ingesta medicamentosa, a qual a transferência de dados é possível através da sincronização. Houve treinamento de dois profissionais de enfermagem de como operacionalizar a ferramenta e o impacto do uso desta no processo de trabalho. Foi realizado suporte técnico, no serviço de saúde e nas visitas domiciliares para ajudar no entendimento do sistema ou coletar sugestões. **Resultados:** Ambas as versões foram implantadas, com aceitação dos profissionais, apesar de algumas dificuldades em relação à utilização do equipamento e aplicativo. Com o início do teste piloto, o registro de dados realizado em papéis, passou a ser feito durante as visitas domiciliares no sistema mobile, facilitando o processo de trabalho, visto que os relatórios passaram a ser gerados automaticamente pelo sistema, a partir do registro da supervisão diária, sem que o profissional necessitasse buscá-lo em outras fontes. **Conclusão:** Introduzir uma nova tecnologia no serviço de saúde geram desafios. Contudo, a aceitação e a colaboração dos profissionais foram essenciais no entendimento e manuseio do sistema. **Descritores:** Tuberculose, avaliação da tecnologia biomédica, avaliação de serviços de saúde.

POSTER Nº: 24

#### CONSTRUÇÃO E VALIDAÇÃO DE UM INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DO TRATAMENTO DIRETAMENTE OBSERVADO PARA A TUBERCULOSE (ATP-IIFOC-TB)

Lais Mara Caetano da Silva<sup>1</sup>, Catiucia de Andrade Surniche<sup>1</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1</sup>, Juliane de Almeida Crispim<sup>1</sup>, Jaqueline Garcia de Almeida Ballesterro<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil. E-mail: laismara@eerp.usp.br

**Justificativa e Objetivos:** Tendo em vista a importância da estratégia Directly Observed Treatment Short-Course (DOTS) e de um de seus componentes – o Tratamento Diretamente Observado (TDO), implantado no Brasil no final da década de 90 para o controle da tuberculose (TB). Objetivamos relatar a con-

## POSTER PRESENTATION

strução e validação de um instrumento de coleta de dados, que visa avaliar a transferência do TDO junto aos serviços de saúde, na perspectiva dos profissionais de nível médio e superior atuantes no controle da doença em quatro regiões do Brasil. **Métodos:** Trata-se de um estudo metodológico, realizado em três etapas: 1) Construção por meio de revisão da literatura junto à base de dados Pubmed e CINAHL; 2) Validação semântica; 3) Validação de constructo. **Resultados:** No processo de validação do instrumento participaram 125 profissionais. Na primeira etapa foi construído um instrumento preliminar composto por 49 itens, distribuídos entre as dimensões "informação, conhecimento e inovação"; A segunda permitiu modificar a terminologia utilizada, visando melhor compreensão deste, resultando em 46 itens; Na terceira etapa verificamos por meio da Análise Fatorial Exploratória que o instrumento tem a capacidade de captar a compreensão dos profissionais de saúde em relação à transferência do TDO através de 39 itens **Conclusão:** Este trabalho resulta em um instrumento validado e, portanto, capaz de avaliar a transferência do TDO para a TB, contribuindo na compreensão dos fatores que potencializam ou inibem a transferência dessa prática para os serviços de saúde, representando assim uma importante ferramenta para a gestão em saúde. **Descritores:** Tuberculose, terapia diretamente observada, pessoal de saúde.

POSTER Nº: 25

## GESTIÓN DE LA INFORMACIÓN DEL PROGRAMA DE TUBERCULOSIS EN LA CIUDAD DE ROSARIO, ARGENTINA. AÑO 2013-2014

Ernesto Careno<sup>1</sup>, Laura Balparda<sup>2</sup>, Fernanda Bonifazi<sup>2</sup>, Analía Chumipitaz<sup>2</sup>, Mónica Cuello<sup>3</sup>, Mariela Gerber<sup>2</sup>, Andrea Moro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa Provincial de Tuberculosis. Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe; <sup>2</sup>Sistema Municipal de Epidemiología. Secretaría de Salud Pública de la Municipalidad de Rosario; <sup>3</sup>Programa de Salud Respiratoria. Secretaría de Salud Pública de la Municipalidad de Rosario.

E-mail: ecareno0@rosario.gov.ar; sime@rosario.gov.ar

**Introducción y objetivos:** Evaluar y reestructurar el trabajo sobre el circuito de información en la planificación estratégica del Programa de Tuberculosis, en el marco de Sala de Situación de Salud. Diseñar un panel de control que habilite una evaluación periódica de los casos registrados y cumplimiento de tratamiento en las cohortes de pacientes; habilitar un procedimiento estandarizado de registro de información geoespacial de los casos. **Métodos:** Metodología de triangulación, a nivel cualitativo (equipos colegiados, identificación de problemas, planteo de soluciones por consenso, planificación estratégica) y a nivel cuantitativo (reingeniería del proceso, optimización del circuito de información, utilización de tecnologías informáticas y geoespaciales innovadoras). Construcción de paneles de control (con el programa SPSS) disponibles en la Red interna de Epidemiología;

y cartografía (con el programa gvSIG) visualizada en la Infraestructura de Datos Espaciales de Rosario. Esta información se actualiza trimestralmente y está disponible para los equipos de salud. **Resultados:** Se construyeron paneles de control general (total de casos por distrito, efector de salud, año y cohorte de ingreso; según condición de ingreso y egreso); panel de control de Farmacia (total de casos en tratamiento por distrito y efector de salud, según fase de tratamiento); cartografía (distribución territorial de casos según condición de ingreso, mapas de multirresistentes y de incidencia). **Conclusión:** La reestructuración implementada en el trabajo sobre el circuito de información ha permitido la optimización del proceso de seguimiento de casos y de la planificación de actividades en el Programa de Tuberculosis. **Descritores:** Mycobacterium tuberculosis, gestión de la información, cartografía.

POSTER Nº: 41

## REALIZAÇÃO DE BACILOSCOPIA NOS CASOS NOVOS DE TUBERCULOSE PULMONAR EM MACEIÓ-AL, DE 2009 A 2012

Beatriz Jatobá Pimentel<sup>1</sup>, Tatiana Almeida do Nascimento<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Controle da Tuberculose, Secretaria de Saúde de Maceió-AL, Brasil. E-mail: beatrizjp@gmail.com

**Justificativa e objetivos:** Para a confirmação dos casos no diagnóstico de tuberculose, são recomendados exames bacteriológicos. Em 2011, o município de Maceió reorganizou a rede laboratorial de baciloscopia com novo laboratório e funcionários. Assim, objetivamos avaliar se houve mudança no perfil de realização de baciloscopias nos casos de tuberculose notificados no período de 2009 a 2012 (dois anos antes e dois anos depois da reorganização). **Método:** A pesquisa foi realizada no banco de dados do SINAN, selecionando-se os casos novos de tuberculose pulmonar e observando-se a quantidade de não realização de baciloscopia. **Resultados:** No ano de 2009, 27,3% dos casos não realizaram a 1ª baciloscopia e 38,1% não realizaram a 2ª. Para 2010, 2011 e 2012 as porcentagens de não realização de 1ª baciloscopia foram respectivamente: 24,7%, 25,4% e 24,9%; e de 2ª baciloscopia foram: 36,4%, 43,5% e 36,2%. Estes dados mostram uma desvalorização da realização de 2ª baciloscopia e também que, mesmo com a presença de laboratório municipal reorganizado, não houve queda na não realização de baciloscopia no período após a implantação do mesmo. Isto pode refletir a não possibilidade de realização dos exames por alguns dos pacientes (por falta de recurso ou transporte, apesar de o município disponibilizar o material para a coleta e busca motorizada para envio das amostras ao laboratório); ou a não solicitação dos exames pelos médicos, já que alguns iniciam tratamentos com base clínico-epidemiológica em muitos casos. **Conclusão:** Nossa sugestão é de que a realização de exames

## POSTER PRESENTATION

bacteriológicos seja sempre enfatizada entre os profissionais de saúde para melhora deste indicador. **Descritores:** tuberculose, baciloscopia, SINAN.

POSTER Nº: 47

### ANÁLISE DOS INDICADORES LABORATORIAIS DE TUBERCULOSE NO LABORATÓRIO MUNICIPAL DE MACEIÓ-AL

Beatriz Jatobá Pimentel<sup>1</sup>, Tatiana Almeida do Nascimento<sup>1</sup>, José Erinaldo Rocha<sup>1</sup>, Juliana Vanessa Cavalcante Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Controle da Tuberculose, Secretaria de Saúde de Maceió-AL, Brasil. E-mail: beatrizjp@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O uso de indicadores laboratoriais na tuberculose é importante para mostrar quais atividades devem ser melhoradas na organização do serviço e guiar possíveis novas estratégias. Objetivamos relatar os indicadores avaliados no laboratório de tuberculose de Maceió-AL desde a reorganização em 2011 até 2013. **Métodos:** Foram revisados os relatórios trimestrais e anuais enviados à vigilância epidemiológica pelo laboratório, para obtenção de dados referentes ao percentual de amostras com aspecto de saliva, número de bacilosco-pias realizadas por sintomático respiratório (SR), positividade da baciloscopia ao diagnóstico, e percentual de liberação de exames até 72 horas (período pactuado por Maceió). **Resultados:** Observou-se que 20,6% das amostras tinham aspecto de saliva no ano de 2011, 13,2% em 2012 e 8,87% em 2013, mostrando melhora ao longo do tempo na qualidade da amostra recebida, no entanto, o número de baciloscopia por SR foi de 1,7 para os três anos, indicando que a busca de SR ainda não está adequada, pela falta de melhor aporte da 2ª amostra. A positividade da baciloscopia ao diagnóstico foi adequada (entre 5% e 10%) apenas no ano de 2012 (9,7%), tendo sido 12,5% em 2011, e 10,6% em 2013. A liberação do exame em até 72 horas ficou abaixo do preconizado nos três anos: 42%, 60,7% e 63,5%, respectivamente, mas investimentos na contratação de mais funcionários já foram feitos pra melhorar este indicador. **Conclusão:** Os resultados não adequados observados mostram a necessidade de capacitação das equipes de saúde para melhorar a busca de SR, o que tem sido feito nas supervisões às Unidades de Saúde. **Descritores:** tuberculose, indicadores laboratoriais, baciloscopia.

POSTER Nº: 48

### AVALIAÇÃO DA INTEGRAÇÃO DAS AÇÕES E SERVIÇOS NA ASSISTÊNCIA AO PORTADOR DE TUBERCULOSE EM UBERABA/MG

Rebeca Ainoã de Souza<sup>1</sup>, Sybelle de Souza Castro<sup>1</sup>, Larissa Roseiro<sup>1</sup>, Lucia Marina Scatena<sup>1</sup>, Tereza Cristina Scatena Villa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil. <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Brasil. E-mail: rebecasouza\_mg@yahoo.com.br

**Justificativa e Objetivos:** Uma rede integrada de serviços é condição essencial para a redução do número de casos e óbitos por tuberculose. Objetivou-se avaliar o nível de integração de ações e serviços na assistência ao portador de tuberculose, as potencialidades e pontos críticos do processo de integração. **Métodos:** Estudo transversal, realizado em Uberaba/MG em 2014, por meio de entrevistas com profissionais da saúde. As dimensões avaliadas foram Organização da atenção à Tuberculose, Articulação com a comunidade, Autocuidado apoiado, Suporte à decisão, Desenho do sistema de prestação de serviços, Sistemas de informação clínica e Integração dos componentes do modelo de atenção às pessoas com Tuberculose. A avaliação utilizou uma escala de 0 a 11 sendo: <3- capacidade limitada; ≥3 e <6 capacidade básica; ≥ 6 e <9 razoável capacidade e ≥9 capacidade ótima. **Resultados:** Foram entrevistados 101 profissionais, de 16 unidades de saúde. Na classificação geral, o município obteve capacidade básica em 6(85,7%) das dimensões avaliadas e apenas a dimensão Desenho do sistema de prestação de serviços apresentou capacidade razoável. O Centro de Referência e as Unidades Básicas de Saúde apresentaram capacidade superior às Unidades de Saúde da Família em 6(85,7%) dimensões. Articulação com a comunidade foi a dimensão avaliada com menor capacidade devido à escassez de parcerias entre as unidades de saúde e os recursos da comunidade. **Conclusão:** A rede de atenção à tuberculose deve ser alvo de constante monitoramento para que o processo de integração das ações e serviços seja assegurado e a integralidade e continuidade do cuidado alcançadas. **Descritores:** Tuberculose, atenção primária, serviços de saúde

POSTER Nº: 49

### AVALIAÇÃO DO AUTOCUIDADO APOIADO AOS PORTADORES DE TUBERCULOSE EM UBERABA/MG

Larissa Roseiro<sup>1</sup>, Rebeca Ainoã de Souza<sup>1</sup>, Sybelle de Souza Castro<sup>1</sup>, Lucia Marina Scatena<sup>1</sup>, Tereza Cristina Scatena Villa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil; <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, Brasil. E-mail: la.roseiro@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Este estudo visa avaliar a capacidade para atenção à Tuberculose em relação a efetividade do autocuidado apoiado aos seus portadores nos serviços de saúde de Uberaba/MG. A melhoria do processo de trabalho das equipes é imprescindível para a promoção da saúde já que integração de ações, assistências e serviços são pontos chave no controle e cura da Tuberculose. **Métodos:** Estudo avaliativo, descritivo e quantitativo. A partir de questionário estruturado, foram entrevistados enfermeiros, técnicos de enfermagem, agentes comunitários de

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

saúde (ACS) e médicos que já trabalharam na assistência em tuberculose. Cada item do questionário utilizou uma escala de 0 a 11 sendo: <3- capacidade limitada;  $\geq 3$  e <6 capacidade básica;  $\geq 6$  e <9 razoável capacidade e  $\geq 9$  capacidade ótima para atenção à tuberculose. **Resultados:** Foram entrevistados 101 profissionais de saúde distribuídos entre 16 unidades de saúde (US). Das US, 50% receberam classificação como básica e outros 50% como razoável em relação ao autocuidado apoiado, não havendo diferenças significativas na classificação entre os profissionais. Os médicos e os ACS classificaram as unidades, em relação ao sistema de prestação de serviços, como básica capacidade, inferior à pontuação dos demais profissionais. **Conclusão:** O autocuidado apoiado no município foi classificado como capacidade básica e o desenho do sistema de prestação de serviços como capacidade razoável para atenção à Tuberculose, o que alerta sobre a necessidade de possíveis melhorias. **Descritores:** Tuberculose, Autocuidado, Assistência à Saúde.

POSTER Nº: 52

### CONHECIMENTOS DOS SINTOMÁTICOS RESPIRATÓRIOS SOBRE A TUBERCULOSE

Amélia Nunes Sicsú<sup>1,2</sup>, Ana Paula Pimentel dos Anjos<sup>2</sup>, Laís Mara Caetano da Silva<sup>1</sup>, Mônica Cristina Ribeiro Alexandre d'Auria de Lima<sup>1</sup>, Jaqueline Garcia de Almeida Ballester<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (EERP-USP), Brasil; <sup>2</sup>Bolsista da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM)/Universidade do Estado do Amazonas (UEA).  
E-mail: ansicsu@usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é um problema de saúde pública mundial. A educação permanente se constitui como uma ferramenta para a melhoria das estratégias de controle da doença. Este estudo analisa o conhecimento dos sintomáticos respiratórios (SR) sobre a TB. **Métodos:** Tratou-se de uma pesquisa de campo, exploratória, descritiva, com abordagem quantitativa realizada no Centro de Referência em Pneumologia Sanitária (CREPS) "Cardoso Fontes" em Manaus (AM), entre dezembro de 2012 e março de 2013. Os dados foram obtidos por meio da aplicação de um questionário estruturado e os resultados foram analisados por meio de estatística descritiva e são apresentados por meio de tabelas e frequência simples. **Resultados:** Dos 294 SR, a maioria era do sexo feminino (55,10%); com idade entre 31 a 59 anos, casados (46,94%); provenientes da zona urbana (81,63%); trabalhadores do lar (31,29%); com ensino fundamental incompleto (31,29%); renda mensal variando de 1 a 3 salários mínimos (88,10%). Apesar da maioria (50,68%) afirmar que já receberam informações sobre a TB, os resultados demonstraram que os mesmos não detinham conhecimentos sobre: transmissão (69,73%); sintomas (49,32%), etiologia (96,60%); diagnóstico (51,70%); tratamento (68,60%); duração do tratamento (76,53%) e prevenção (90,48%) da doença. Uma

relevante parcela (96,59%) respondeu que se tivessem mais conhecimentos sobre a TB teria procurado o serviço de saúde mais cedo. **Conclusão:** Conclui-se que os SR não apresentam os conhecimentos necessários sobre a maioria dos aspectos relacionados ao adoecimento por TB. Os resultados deste estudo sugerem o fortalecimento de estratégias educacionais que promovam o conhecimento desta doença para toda população. **Descritores:** Serviços de saúde, Tuberculose, Educação Permanente.

POSTER Nº: 54

### TUBERCULOSE NAS UNIDADES PRISIONAIS DO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO, NO PERÍODO DE 2008-2012

Mônica Cristina Ribeiro Alexandre d'Auria de Lima<sup>1</sup>, Amélia Nunes Sicsú<sup>1,2</sup>, Lis Aparecida de Souza Neves<sup>3</sup>, Livia Maria Lopes<sup>1</sup>, Aline Aparecida Monroe<sup>1</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil; <sup>2</sup>Bolsista da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM)/Universidade do Estado do Amazonas (UEA); <sup>3</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, Brasil.  
E-mail: ansicsu@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** A tuberculose apresenta propagação potencializada especialmente em populações confinadas. A superlotação nas unidades prisionais e a pouca ventilação, favorecem a alta incidência da doença nessas instituições. Este estudo visa descrever a população privada de liberdade acometida por tuberculose nas três unidades prisionais do município de Ribeirão Preto, no período 2008-2012. **Métodos:** Estudo descritivo, retrospectivo, de abordagem quantitativa, em que foram utilizados dados extraídos de fonte secundária - Sistema TBweb de controle de pacientes com tuberculose, fornecidos pelas Secretaria Municipal da Saúde, gerando um Banco de Dados analisado no programa Statística 8.0, da Statsoft. **Resultados:** No período analisado, 137 indivíduos tiveram tuberculose com uma média de 27,5 casos/ano. A maioria era do sexo masculino (94,8%) e a faixa etária dos 19 a 29 anos a de maior número de casos (46,7%). Quanto ao tipo de caso, 83,2% eram novos, 12,4% recidivas e 4,4% retratamento por abandono; o desfecho do tratamento apresentou 83,2% de cura, 8,7% de óbitos e 5,1% de abandono. A forma clínica predominante foi pulmonar (92%) sendo que 55,47% de todos os casos apresentaram baciloscopia positiva. **Conclusão:** As taxas de cura e de abandono indicam que, mesmo se tratando de uma instituição fechada, o controle está aquém do preconizado pelo Ministério da Saúde reforçando a necessidade de fortalecimento nas ações voltadas para o controle da doença nestas instituições. A alta incidência da forma pulmonar indica a premência da busca ativa nesse contexto, uma vez que mais da metade dos casos apresentavam baciloscopia positiva. **Descritores:** Tuberculose, prisões, prisioneiros.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 57

### TENDÊNCIA DA INCIDÊNCIA DE TUBERCULOSE RUMO AO OBJETIVO DO MILÊNIO: REALIDADE DE UMA CAPITAL DO SUDESTE BRASILEIRO

Cláudia M M Moreira<sup>1</sup>, Geisa Fregona Carlesso<sup>1</sup>, Eliana Zandonade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação da Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.  
E-mail: claudiamoreira@superig.com.br

**Justificativa:** A OMS tem como visão futura um mundo livre da tuberculose (TB). Para isso, estima que até 2015 a incidência da doença seja reduzida à metade em relação ao ano 1990. Após estabilidade no período de 1990 a 2001, a Taxa de Incidência (TI) no mundo tem apresentado tendência de declínio. Seguindo também esta tendência, o Brasil ainda tem como desafio a heterogeneidade da TI quando analisada por estados e municípios.

**Objetivo:** Avaliar a tendência da TI da TB no período de 1990 a 2011 segundo faixa etária e sexo, em Vitória, ES, Brasil. **Métodos:** Estudo de série temporal, baseado em dados secundários do SINAN-TB do município de Vitória, ES, e dado populacional do endereço eletrônico do MS. A tendência temporal foi avaliada por meio de regressão linear simples. **Resultados:** A TI de TB decresceu em 40,7%, em média 1,85% ao ano, (76,1 para 45,1/100 mil). Para que a TI se reduzisse a metade até 2015, o declínio deveria ter sido de 2% ao ano. Houve redução nas faixas de idade acima de 10 anos, com aumento da TI entre as crianças (0 a 9 anos). O sexo masculino apresentou TI superiores ao feminino em todo o período. **Conclusão:** O município de Vitória, capital do ES, provavelmente não alcançará o objetivo do Milênio em relação a incidência da doença. Embora tenha se observado redução na maioria das idades, preocupa o aumento da ocorrência da doença em crianças, pois provavelmente se deve a presença do bacilo entre seus contatos adultos. **Descritores:** tuberculose, incidência, estudos de series temporais.

POSTER Nº: 67

### ESTUDO DE CUSTOS INCORRIDOS AOS DOENTES DE TUBERCULOSE E SEUS FAMILIARES PARA REALIZAR O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Michela Prestes Gomes<sup>1</sup>, Aldaísa Cassanho Forster<sup>1</sup>, Claudia Souza Passador<sup>1</sup>, Ione Carvalho Pinto<sup>1</sup>, Maria Eulália Lessa do Valle Dallora<sup>1</sup>, Nathalia Halax Orfão<sup>1</sup>, Tiemi Arakawa<sup>1</sup>, Antonio Ruffino Netto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Brasil.  
E-mail: michelagomes@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** Avaliação de tecnologia em saúde é uma ferramenta metodológica, que inclui estudos de custos e seus efeitos econômicos, para a decisão no uso racional de recursos finitos. A tuberculose (TB) ainda é um grave problema de

saúde pública no Brasil e no mundo, sugerir intervenções operacionais demandam estudos de ATS. **Objetivo:** estimar custos diretos e indiretos incorridos aos doentes de TB e seus familiares que realizaram o Tratamento Diretamente Observado (TDO) e Autoadministrado (TAA) em regiões do município de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Métodos:** estudo epidemiológico, descritivo e analítico, estimativa de custos. Amostragem tipo conveniência abrangendo pacientes com TB (32, destes 26 em TDO e 6 em TAA). Os dados foram obtidos através de entrevistas com os doentes. **Resultados:** 48% daqueles em TDO relataram não possuir renda; daqueles em TAA 33,3% relataram renda entre R\$ 801 a R\$ 1.200, e 33,3% acima de R\$ 1.200. Custo médio total antes do diagnóstico: TDO R\$151,98, TAA R\$508,44. Custo médio após diagnóstico: TDO R\$1780,88, TAA R\$479,43. Custo médio hospitalização: TDO R\$282,42, TAA R\$214,20. Custo médio total: TDO R\$2001,39, TAA R\$1158,98. **Conclusão:** Embora o tratamento para o TB seja oferecido gratuitamente, o doente e seus familiares gastam recursos próprios para realizar o tratamento - transporte, perdas de horas de trabalho, alimentação, medicações não tuberculínicas, entre outras. Isso pode refletir em abandono, e casos multidroga resistente. Encontramos a necessidade de ampliar estudos de avaliação econômica do tipo custo-efetividade. **Descritores:** Tuberculose, avaliação da tecnologia biomédica, avaliação em saúde

POSTER Nº: 68

### AVALIAÇÃO ECONÔMICA EM SAÚDE: ANÁLISE DE CUSTO-EFETIVIDADE DO TRATAMENTO SUPERVISIONADO E AUTOADMINISTRADO DA TUBERCULOSE

Michela Prestes Gomes<sup>1</sup>, Aldaísa Cassanho Forster<sup>1</sup>, Claudia Souza Passador<sup>1</sup>, Ione Carvalho Pinto<sup>1</sup>, Maria Eulália Lessa do Valle Dallora<sup>1</sup>, Nathalia Halax Orfão<sup>1</sup>, Tiemi Arakawa<sup>1</sup>, Antonio Ruffino Netto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Brasil.  
E-mail: michelagomes@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** Tuberculose é uma das importantes causas de mortalidade no mundo, e apresenta alta prevalência e incidência no Brasil. Estudos de Avaliação de Tecnologia em Saúde (ATS) é importante ferramenta para tornar o Programa de Controle da Tuberculose (PNCT) sustentável e com efetividade. **Objetivo:** analisar a razão custo-efetividade incremental do tratamento da TB, comparando as estratégias de Tratamento Diretamente Observado (TDO) e autoadministrado (TAA), no distrito oeste de Ribeirão Preto-São Paulo. **Métodos:** Trata-se de estudo epidemiológico, descritivo e analítico, com levantamento de dados sócio-demográficos, uma ATS do tipo Análise de Custo-efetividade. O desenho do método para estimar os custos diretos médios do TDO e TAA, considerou as características do acompanhamento e evolução do tratamento através dos dados obtidos dos prontuários mé-

## POSTER PRESENTATION

*dicos. Resultados:* Obtivemos as seguintes estimativas de custo médio direto: a Razão de Custo-efetividade Incremental teve um valor negativo, o qual enquadramos num cenário chamado dominado, ou seja, o TDO tem um custo maior, com menor efetividade. **Conclusão:** O cenário dominado encontrado neste estudo, nos levaria a recomendar o descarte da tecnologia em saúde, neste caso o TDO. Porém, nos deparamos com diversas dificuldades em operacionalizar as estimativas dos custos e das efetividades devido a precariedade de informações. A partir do achado ressaltamos importância de novos estudos em ATS incluindo os custos indiretos do tratamento da tuberculose. **Descritores:** Tuberculose, avaliação da tecnologia biomédica, avaliação de custo-efetividade.

POSTER Nº: 72

### VULNERABILIDADE DOS PACIENTES DE TUBERCULOSE NO DISTRITO OESTE NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO-SP

Rosana Moreira de Oliveira<sup>1</sup>, Elisângela Gisele de Assis<sup>1</sup>, Shirlei Aparecida Vitor<sup>1</sup>, Fernanda Eugênio Ferreira<sup>1</sup>, Sidney Gomes de Carvalho<sup>1</sup>, Ivana Astolfo Gandra Passeri<sup>1</sup>, João Terra Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Brasil E-mail: fernandaeugenio@live.com

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é um problema de saúde pública que predispõe os doentes à situações de vulnerabilidade, a qual é concebida nos planos individual, social e programático. O objetivo deste estudo foi identificar os diferentes tipos de vulnerabilidade nos pacientes de TB em um serviço de saúde em Ribeirão Preto (SP) no período de Junho de 2013 a Maio de 2014. Os dados foram coletados em fontes secundárias e construída uma planilha em Excel com as variáveis: doença de base, gênero, idade, uso de drogas, fornecimento de insumos para os doentes de TB. **Resultados:** Quanto à vulnerabilidade individual todos os pacientes (40) possuíam a TB sendo que 85% (34) apresentaram a forma pulmonar; 67,5% (27) são homens com média de idade de 39,57 anos. Quanto à vulnerabilidade social verificou-se o consumo de drogas lícitas onde, 55% (22) consomem álcool, 47,5% (19) são tabagistas e 7,5% (3) sem informação, considera-se que pode haver o uso concomitante à estas drogas; e ilícitas onde, 15% (6) consomem cocaína, 2,5% (1) consomem crack, 20% (8) consomem maconha e 7,5% (3) sem informação. Quanto à vulnerabilidade programática, todos os pacientes em estudo tiveram acesso às ações do programa de TB como o TDO e os insumos (cesta básica, leite, vale-transporte, máscara cirúrgica). **Conclusão:** As vulnerabilidades individuais e sociais apontaram necessidades de maior investimento das políticas públicas de saúde e sociais enquanto que a vulnerabilidade programática e de serviços tem proporcionado recursos satisfatórios para este distrito de saúde. **Descritores:** tuberculose, vulnerabilidade em saúde, terapia diretamente observada.

POSTER Nº: 107

### ANÁLISE DOS ÓBITOS OCORRIDOS EM PACIENTES NOTIFICADOS COM TUBERCULOSE EM MUNICÍPIO DO INTERIOR DE SÃO PAULO

Lis Aparecida de Souza Neves<sup>1</sup>, Maria Elvira Santos de Lucca<sup>1</sup>, Angela Maria Aparecida Serafim<sup>1</sup>, Fabiana Catani<sup>1</sup>, Maria Luiza Freires<sup>1</sup>

Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

E-mail: dvetb@saude.pmp.rj.br

**Justificativa e Objetivos:** A mortalidade em pacientes com tuberculose é comumente associada à quimioterapia irregular, demora no diagnóstico e coinfeção com HIV, sendo considerado um bom indicador da qualidade do controle da doença. O objetivo do estudo foi descrever as características dos óbitos ocorridos em pacientes notificados com TB no município de Ribeirão Preto-SP. **Métodos:** Foram analisados os dados de notificação e acompanhamento dos indivíduos com tuberculose cujo desfecho foi óbito, no período de 2009 a 2013, residentes em Ribeirão Preto-SP. As informações foram obtidas no Sistema de Informações em Tuberculose (TBweb), sendo excluídos os menores de 15 anos e os detentos. Por metodologia descritiva foram analisadas variáveis clínicas, considerando o "tipo de óbito" (TB ou NTB) como variável dependente. **Resultados:** No período foram notificados 996 casos de tuberculose, com 108 tendo desfecho óbito (letalidade 10,8%); 19% foi considerado como TB e 81% NTB (outras causas), sendo que a forma pulmonar prevaleceu em ambos os casos. O óbito NTB predominou nos indivíduos mais jovens (61% <50 anos), com sorologia reagente para HIV (66%), descoberta por "demanda ambulatorial" (57%) e maior tempo de tratamento (49% >30 dias); o óbito TB teve prevalência em indivíduos acima de 50 anos (66%), menor tempo de tratamento (70% <7dias) e descoberta por internação hospitalar (57%). **Conclusões:** As características dos óbitos TB, principalmente diagnóstico feito em internação hospitalar e menor tempo de tratamento, sugere que está ocorrendo diagnóstico tardio, servindo de alerta para aumentar a busca ativa dos casos de TB nas unidades de saúde e na comunidade. **Descritores:** Tuberculose, óbito, mortalidade.

POSTER Nº: 117

### ANÁLISE DA COMPLETUDE DOS DADOS DE UM SISTEMA DE INFORMAÇÃO PARA A TUBERCULOSE NO SISTEMA PRISIONAL DA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO-SP

Livia Maria Lopes<sup>1</sup>; Erika Aparecida Catoia<sup>1</sup>; Mônica Cristina Ribeiro Alexandre d'Auria de Lima<sup>2</sup>; Lis Aparecida de Souza Neves<sup>2</sup>; Aline Araujo Antunes<sup>1</sup>; Aline Cristina Gonçalves Andrade<sup>1</sup>; Gláucia Morandim Ravanholi<sup>1</sup>; Mayara Fálco Faria<sup>1</sup>; Fernanda Eugênio Ferreira<sup>1</sup>; Pedro

## POSTER PRESENTATION

**Fredemir Palha<sup>1</sup>; Aline Aparecida Monroe<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto; 2 Secretária Municipal de Saúde de Ribeirão Preto.  
E-mail: erikacatoia@hotmail.com

**Justificativa e Objetivo:** A tuberculose (TB) no sistema prisional é um grande desafio para a saúde pública e os Sistemas de Informação (SI) são ferramentas fundamentais para o monitoramento, integração e melhoria da qualidade da assistência. O objetivo do estudo foi analisar a completude dos dados do SI de Tuberculose do Estado de SP -TBWEB- notificados nas unidades prisionais de Ribeirão Preto, no período de 2008-2012.

**Métodos:** Estudo epidemiológico, com abordagem quantitativa. Foram avaliadas variáveis sociodemográficas, clínicas, de acompanhamento e exames realizados. Foram considerados como não-completude os dados em branco e registrados como sem informação. Na análise, utilizou-se estatística descritiva, com construção de indicadores para cada variável, categorizados conforme o escore proposto por Romero e Cunha: excelente (<5%), bom (5%-10%), regular (10%-20%), ruim (20%-50%) e muito ruim (>50%). **Resultados:** Dos 137 registros analisados, "data de nascimento" e "sexo" apresentaram indicadores excelentes, enquanto "raça/cor" e "escolaridade" regulares; nos exames realizados, "baciloscopia de escarro" apresentou-se como excelente, "cultura de escarro" e "sorologia HIV" bom e "raio-x de tórax" como regular. Quanto ao acompanhamento, "data de início de tratamento", "tipo de caso", "classificação da TB", "desfecho do tratamento", "data de encerramento" foram excelentes.

**Conclusão:** É necessário melhorar a qualidade das informações, uma vez que são essenciais para subsidiar a tomada de decisão e adotar estratégias para qualificar o preenchimento dos dados, visto que este procedimento é processado de forma descentralizada, estando sujeito a questões de infraestrutura, comunicação e comprometimento profissional, podendo acarretar em prejuízos nas informações para o manejo da TB no sistema prisional.

**Descritores:** Tuberculose, prisões, sistemas de informação.

POSTER Nº: 123

## TUBERCULOSE NA INFÂNCIA PELO STATUS DO HIV NO BRASIL: UMA ANÁLISE HIERÁRQUICA

**Elias dos Santos Dias<sup>1</sup>, Thiago Nascimento do Prado<sup>1</sup>, Alexandre Lucio da Silva Guimarães<sup>1</sup>, Maria Cristina Ramos<sup>1</sup>, Eliane de Fátima Almeida Lima<sup>1</sup>, Clemax Couto Sant'Anna<sup>2</sup>, Ethel Leonor Noia Maciel<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: eliasvix@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Comparar as características sociodemográficas e clínicas da tuberculose infantil pelo status do HIV. **Métodos:** Estudo de corte transversal, a partir do banco

de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação, com indivíduos menores de 15 anos comparando coinfectados TB e HIV com TB somente, de 1 de janeiro de 2007 a 31 de dezembro de 2011. Foi aplicado um modelo de regressão logística hierárquica utilizando o programa Stata 13.0. **Resultados:** Comparados 6091 indivíduos, dos quais 780 (12,80%) eram TB-HIV e 5311 (87,20%) TB. Crianças coinfectadas TB-HIV têm menor probabilidade de ter idade entre 10-14 anos (OR: 0,73 IC 95 % 0,59-0,91), residir na zona rural (OR = 0,65, CI 95% 0,46-0,92) e de realizarem o tratamento supervisionado (OR = 0,57, CI 95% 0,47-0,70). Por outro lado, é mais provável que sejam: institucionalizadas em abrigos (OR = 2,22, CI 95% 1,43-3,46), recidiva (OR = 5,03, CI 95% 2,02-12,5), retorno pós-abandono (OR = 16,7, CI 95% 4,34-64,46), bem como a terem desfechos desfavoráveis, como: abandono (OR = 2,85, CI 95% 1,81-4,49), morte por TB (OR = 2,76, CI 95% 1,27-6,03) e morte por outras causas (OR = 5,59, CI 95% 2,63-11,8). **Conclusão:** Este estudo destaca a importância do HIV entre crianças com tuberculose no Brasil. Além disso, a análise multivariada hierarquizada permitiu justificar as características que podem explicar as diferenças da TB em pacientes de TB-HIV. Podendo estabelecer importantes estratégias para o desenvolvimento de intervenções de saúde pública. **Descritores:** TB, coinfeção, HIV/Aids, saúde da criança, TB crianças, adolescentes.

POSTER Nº: 132

## ATENCIÓN PRIMÁRIA A LA SALUD EN LA DETECCIÓN DE CASOS DE TUBERCULOSIS EN MUNICIPIOS PRIORITARIOS DEL SUR DEL BRASIL: DESAFIOS E INVERSIONES EN ESTRATEGIAS DE INFORMACIÓN

**Roxana Isabel Cardozo Gonzáles, Bianca Contreira Jung<sup>1</sup>, Jenifer Harter, Javier Vargas Herrera, Lilian Lima, Dagoberta Alves Viera Beduhn, Jessica Tomberg, Pedro Fredemir Palha, Eduarda Gonçalves**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Brasil; Faculdade de Enfermagem, Brasil.

E-mail: biajung@bol.com.br

**Justificación y Objetivos:** Inversiones en la evaluación de servicios de la atención primaria a la salud son de relevancia para el control de la tuberculosis. Estos servicios contribuyen directamente en la detección precoz, diagnóstico y tratamiento oportuno de casos. Aun son fundamentales estudios orientados para la calificación de los sistemas de información en salud y fortalecimiento de la estructura de la red de laboratorio pública de salud. El trabajo objetivó la descripción de uno proyecto de evaluación del desempeño de los servicios en la detección de casos de tuberculosis pulmonar e implementar tecnologías de información evaluando su impacto en la calidad e integración de acciones entre los servicios de salud. **Metodología:** Estudio de abordaje cuantitativa y cualitativa que está siendo desarrollado

## POSTER PRESENTATION

en cuatro municipios prioritarios en el distrito del Rio Grande do Sul (Pelotas, Canoas, Sapucaia do Sul e Santa Cruz do Sul). Los datos están siendo recolectados de fuentes secundarias (libros de registro e historias clínicas) y fuentes primarias (entrevista de enfermos con tuberculosis). **Resultados:** Se inició el proceso de implementación de un sistema de registro informatizado online, que concentra una versión digital de los documentos de registros utilizados en la detección de casos de tuberculosis, diagnóstico y tratamiento, además de una historia clínica electrónica para acompañamiento del caso. **Conclusiones:** Esperase que lo estudio contribuya para potencializar lo involucramiento de los gestores e profesionales de salud en la identificación de estrategias de impacto al control de la enfermedad específicamente no que respecta a la detección y diagnóstico de la tuberculosis. **Descriptor:** Tuberculosis, atención primaria de salud, sistemas de información en salud.

POSTER Nº: 137

### TUBERCULOSE NO SISTEMA PRISIONAL E O IMPACTO DA COINFEÇÃO HIV/AIDS NO PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E CLÍNICO

Erika Aparecida Catoia<sup>1</sup>, Carmen Silvia Vilela Pinese<sup>2</sup>, Gabriela Ortega de Lima<sup>2</sup>, Maria Cleudeni Soares Bianchi<sup>2</sup>, Caline Fernandes Freitas<sup>2</sup>, Milena Aparecida Tolentino<sup>2</sup>, Lis Aparecida de Souza Neves<sup>3</sup>, Aline Aparecida Monroe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Brasil; <sup>2</sup>Secretaria de Administração Penitenciária de São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. E-mail: erikacatoia@hotmail.com

**Justificativa e Objetivo:** A alta prevalência da tuberculose e do HIV/AIDS no âmbito prisional caracteriza-se como um problema de saúde pública agravado nos casos de coinfeção TB/HIV, portanto, o estudo analisou o perfil sociodemográfico e clínico das pessoas privadas de liberdade que realizaram tratamento para tuberculose segundo a coinfeção HIV/aids na região de Ribeirão Preto-SP. **Métodos:** Estudo epidemiológico, descritivo, retrospectivo com abordagem quantitativa, nas unidades prisionais da região de Ribeirão Preto/São Paulo. Os dados, referentes ao período de 2008 a 2012, foram coletados de fonte secundária no Sistema de Notificação e Acompanhamento dos Casos de Tuberculose - TBWEB do estado de São Paulo, em Março de 2014. Para a análise dos dados utilizou-se o programa Statística 8.0, da Statsoft por meio de técnicas de estatística descritiva e teste qui-quadrado. **Resultado:** Foram identificados 137 casos de tuberculose nas unidades prisionais estudadas, dos quais 24,8% (34) apresentavam coinfeção para o HIV/aids. Verificou-se no cruzamento das variáveis sociodemográficas e clínicas com a coinfeção TB/HIV/aids associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nas variáveis idade (30-39 anos), duração do tratamento da TB (<06 meses em decorrência do óbito ou abandono)

tipo de caso (recidiva), desfecho do tratamento (óbito NTB), classificação tipo de TB (extra-pulmonar) e internação hospitalar (presença). **Conclusão:** No âmbito prisional a infecção da TB possui impacto distinto quando associada à infecção do HIV/aids, acarretando maior complexidade no cuidado às PVHA em tratamento para TB tornando-se prioritário a realização do teste sorológico para o HIV/aids nas pessoas privadas de liberdade em tratamento para TB. **Descriptor:** Prisões, tuberculose, coinfeção, HIV, síndrome da imunodeficiência adquirida.

POSTER Nº: 139

### CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE PACIENTES COM TUBERCULOSE ATENDIDOS EM UM HOSPITAL ESTADUAL DE PORTO ALEGRE/RS EM 2012

Carmen Alice de Oliveira Correia<sup>1</sup>, Solange de Fátima Mohd Suleiman Shama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil.

E-mail: carmenalice@feevale.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose, doença infecto contagiosa de grande impacto social, tem apresentado considerável incidência no Brasil, ocupando a 16ª posição em prevalência de TB no mundo. Esta pesquisa tem como objetivos conhecer as características sociodemográficas de pacientes com tuberculose, atendidos em um hospital de referência no município de Porto Alegre/RS em 2012, os fatores de risco, as causas da internação, as patologias associadas a TB, taxa de coinfeção TB/HIV-AIDS e o desfecho clínico. **Métodos:** A pesquisa teve caráter quantitativo, exploratório, retrospectivo, descritivo com delineamento transversal. **Resultados:** No período ocorreram 267 internações, com predomínio masculino (69,3%), sendo que destes 121 relataram fazer uso de drogas ilícitas. Quanto à idade predominou a faixa etária de 41 a 50 anos. A forma clínica prevalente foi pulmonar e o percentual de cura entre todos os tipos de tuberculose, foi de 10,11%. O total de óbitos ficou em 7,12%, inferior a média nacional que foi de 7,8% no ano de 2010. A combinação TB/HIV esteve presente em 127 sujeitos, sendo que 59,8% foram pacientes masculinos. **Conclusão:** Ao concluirmos este estudo foi percebido que as causas que levam a internação para tratamento da tuberculose são várias: falta de vínculos familiares, não adesão ao tratamento, baixa escolaridade, patologias associadas a TB e o consumo de drogas ilícitas, em muitos casos existe uma combinação destes fatores. Consideramos que é preciso atualizar e implantar programas de avaliação das estratégias de controle da tuberculose, para identificar lacunas que estão permitindo os números elevados de internações e retratamento entre os pacientes internados na instituição. **Descriptor:** Tuberculose, adesão ao tratamento, internação hospitalar.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 141

### DIFERENÇAS ENTRE REDES SOCIAIS DE CASOS E CONTROLES DE TUBERCULOSE EM SALVADOR –BAHIA, BRASIL

Maria Yaná Guimarães Silva Freitas<sup>1</sup>, Susan Martins Pereira<sup>2</sup>, Suani Tavares Rubim de Pinho<sup>3</sup>, Mauricio Lima Barreto<sup>4</sup>, Roberto Fernandes Silva Andrade<sup>5</sup>, José Garcia Vivas Miranda<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana, Brasil; <sup>2,3,4,5,6</sup>Universidade Federal da Bahia, Brasil.

E-mail: yanafreitas@uol.com.br

**Introdução:** A abordagem de redes em epidemiologia tem sido utilizada considerando a necessidade de compreender os processos de propagação de doença. Nas redes sociais as relações interpessoais produzem díspares contatos que podem, inclusive, demonstrar padrões de ocorrência de doenças ao compartilhar o mesmo ambiente em doenças endêmicas a exemplo da tuberculose. **Objetivo:** Identificar diferenças nas redes de casos e controles de TB segundo condições socioeconômicas. **Metodologia:** Trata-se de estudo caso controle composto por 717 casos e 717 controles; a coleta de dados foi realizada por questionário clínico e de redes. Em cada rede moradia, trabalho e estudo utilizou-se filtro para identificar as redes por renda familiar e escolaridade realizados pelo sistemas computacionais Graphtube e gephi para formação e cálculo de parâmetros de redes. Para análise da associação foram realizados testes não paramétricos, entre dois grupos, com vinculação, Wilcoxon e testes não pareados Mann Whitney no programa SPSS. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética do ISC/UFBA. **Resultados:** Na rede trabalho a média de grau foi de 8,35 nos casos e 5,45 nos controles; a centralidade de aproximação apresentou média de 0,19 nos casos e 0,17 nos controles e apresentaram diferença estatisticamente significativa. **Conclusão:** Esse é o primeiro estudo que descreve características de redes sociais por condição socioeconômica em casos de tuberculose, e respectivos controles. A utilização das redes revelou os padrões de comportamento e de mobilidade dos casos de TB e seus controles. Observou-se que, dentre as três redes, a de trabalho apresenta maior grau de conexão e coesão. **Descritores:** Redes sociais, tuberculose pulmonar, fatores socioeconômica.

POSTER Nº: 149

### REGISTRO DE SINTOMÁTICOS RESPIRATÓRIOS EM UNIDADES DE ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE SANTA CRUZ DO SUL – RS: ESTUDO DE AVALIAÇÃO DAS INFORMAÇÕES

Vânia Rosimeri Frantz Schlesener<sup>1</sup>, Inajara Humburger<sup>1</sup>, Lia Gonçalves Possuelo<sup>1</sup>, Andreia Rosane de Moura Valim<sup>1</sup>, Roxana Isabel

Cardozo Gonzales<sup>2</sup>, Lilian Lima<sup>2</sup>, Bruna Franke<sup>3</sup>, Caroline Busatto<sup>3</sup>, Suzane Beatriz Frantz Krug<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Promoção da Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Enfermagem – UFPel, Brasil; <sup>3</sup>Bolsistas de Iniciação Científica PIBIC-CNPq – UNISC, Brasil. E-mail: vaniaf@unisc.br

**Justificativa e objetivos:** A detecção de casos de tuberculose é uma das prioridades do Plano Nacional de Controle da Tuberculose, sendo as ações de busca de sintomáticos respiratórios necessárias, permanentes e incorporadas às rotinas de atividades das equipes de saúde de atenção primária. Neste contexto, essas unidades são frequentemente procuradas pelo usuário para o diagnóstico e tratamento da doença. Os profissionais de saúde usam diversos recursos para registros dos dados de investigação, o Livro de Registro de Sintomáticos Respiratórios (LRS), preconizado pelo Ministério da Saúde. Avaliar a completude dos registros nos LRS, na perspectiva de investigação e diagnóstico dos casos. **Métodos:** Estudo quantitativo, descritivo, transversal, de caráter observacional, onde coletou-se dados dos registros de 2013 de LRS de oito unidades de Estratégia de Saúde da Família do município de Santa Cruz do Sul – RS, os registros foram classificados em três categorias: registros com resultados completos, registros com resultados incompletos e registros onde não consta nenhum resultado. **Resultados:** Neste período, as unidades totalizaram 112 registros de solicitação de baciloscopia no LSR, onde constavam 35 registros completos, sendo estes 33 (29,16%) exames de BAAR negativos e 2 (1,78%) exames de BAAR positivos. Em 15 (12,87%) registros as informações apresentavam-se incompletas em alguns campos e em 62 (55,3%) registros não constava nenhum dado de resultado do caso encaminhado. **Conclusão:** Constatou-se incompletude dos registros nos LRS das ESFs nas perspectivas estudadas, o que pode ser um fator importante na dificuldade das ESFs em acompanhar a efetividade dos exames solicitados e a definição do índice de positividade em cada serviço. **Descritores:** Estratégia de saúde da família, registros, tuberculose pulmonar.

POSTER Nº: 161

### ASSOCIAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE LINFÓCITOS TCD4+ E O RESULTADO DA PROVA TUBERCULÍNICA EM INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS

Danielle Talita dos Santos<sup>1</sup>, Sílvia Paulino Ribeiro Albanese<sup>2</sup>, Arlete Alves Nunes Fragoso da Costa<sup>3</sup>, Flávia Meneguetti Pieri<sup>4</sup>, Ricardo Alexandre Arcêncio<sup>5</sup>, Elma Mathias Dessunti<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Brasil. <sup>2</sup>Hospital Universitário Norte do Paraná, Brasil. <sup>3</sup>Autorquia do Serviço Municipal de Saúde de Londrina, Brasil. <sup>4</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil. <sup>5</sup>Universidade de São Paulo, Brasil. <sup>6</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil. E-mail: danielletalita@hotmail.com

## POSTER PRESENTATION

**Introdução:** Pessoas com HIV/aids estão sob a recomendação da realização periódica da prova tuberculínica (PT) para a prevenção da tuberculose. **Objetivo:** Analisar a frequência de realização das PT nos indivíduos portadores de HIV/AIDS e a associação dos resultados com a contagem de linfócitos TCD4+. **Métodos:** Estudo de coorte retrospectiva, realizado em um Centro de Referência para tuberculose e AIDS. A população de estudo foi composta por 880 pacientes que realizaram a PT entre 2003 e 2010 e a amostra por 767 indivíduos. Os dados foram tabulados no programa SPSS; para análise estatística, foram aplicados os testes qui-quadrado, exato de Fisher e Mann-Whitney. Fixou-se nível de significância estatística em  $\alpha=5\%$  ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Dos 698 casos que completaram a PT, 9,5% eram reatores, observando-se associação estatisticamente significativa entre resultado positivo com o sexo masculino ( $p=0,017$ ) e populações em confinamento ( $p=0,003$ ). Foram realizados 1172 exames nos indivíduos da amostra, resultando em uma média de 1,52 testes por indivíduo, considerando um tempo médio de acompanhamento pelo serviço de 7,7 anos ( $DP=4,2$ ). Dentre as 1016 PT com resultado conhecido, a maioria dos 78 casos positivos apresentava contagem de TCD4+ >200 células (89,7%), observando-se associação estatisticamente significativa entre essa contagem e a PT ( $p=0,027$ ). A média de contagem de células entre os casos positivos foi de 523,01 ( $DP=305,87$ ) e entre os casos negativos foi de 414,42 ( $DP=253,37$ ). **Conclusão:** O controle da TB deve ser mais efetivo entre os indivíduos com HIV/AIDS, melhorando a frequência de realização da PT e concomitante avaliação das células TCD4+. **Descritores:** AIDS, tuberculose, linfócitos T.

POSTER Nº: 162

## INFECÇÃO LATENTE DE TUBERCULOSE E TUBERCULOSE ATIVA ENTRE INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS SUBMETIDOS À PROVA TUBERCULÍNICA E A EVOLUÇÃO DESSES CASOS AO LONGO DO TRATAMENTO

Danielle Talita dos Santos<sup>1</sup>. Sílvia Paulino Ribeiro Albanese<sup>2</sup>. Arlete Alves Nunes Fragoso da Costa<sup>3</sup>. Flávia Meneguetti Pieri<sup>4</sup>. Ricardo Alexandre Arcêncio<sup>5</sup>. Elma Mathias Dessunti<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Brasil; <sup>2</sup>Hospital Universitário Norte do Paraná, Brasil; <sup>3</sup>Autoria do Serviço Municipal de Saúde de Londrina, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>5</sup>Universidade de São Paulo, Brasil; <sup>6</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil.  
E-mail: danielletalita@hotmail.com

**Introdução:** Pessoas com HIV/AIDS devem ser investigadas quanto à Infecção Latente da Tuberculose (ILT) para melhor prognóstico e qualidade de vida. **Objetivo:** Analisar as taxas de detecção de infecção latente por tuberculose e de tuberculose ativa entre indivíduos portadores de HIV/AIDS submetidos à prova tuberculínica e a evolução desses casos ao longo do trata-

mento. **Métodos:** Estudo de coorte retrospectiva, realizado em um Centro de Referência para tuberculose e AIDS. A população de estudo foi de 880 pacientes com HIV/AIDS que realizaram a PT entre 2003 e 2010 e a amostra de 767 indivíduos. Os dados foram tabulados no programa SPSS. **Resultados:** Dentre os 698 indivíduos que completaram a PT, 66 (9,5%) foram reatores, dos quais 13 (19,7%) estavam associados à confirmação da TB ativa. Entre os reatores, 53 (80,3%) caracterizavam-se como ILTB e destes, 14 (26,4%) não iniciaram o tratamento. Dos 39 pacientes que iniciaram o tratamento com isoniazida, a taxa de abandono foi de 25,6%. A média de tempo de tratamento entre os casos de abandono foi de 2,7 meses. Pode-se observar que entre os 58 casos de TB, 50 (6,5%) evoluíram para TB ativa após a realização da PT e a taxa de abandono do tratamento foi de 22,4% (13 casos). A forma clínica pulmonar foi a mais freqüente, ocorrendo em 33 casos (56,9%). Verificou-se que 02 pacientes evoluíram para óbito relacionado à TB. **Conclusão:** O tratamento da ILTB deve ser mais efetivo entre os indivíduos com HIV/AIDS, visando e redução de casos de TB. **Descritores:** tuberculose, tuberculose latent, AIDS.

POSTER Nº: 164

## PERFIL SOROLÓGICO DE PACIENTES COM TUBERCULOSE EM UM AMBULATÓRIO ESPECIALIZADO DE RIBEIRÃO PRETO-SP

Adriana Teixeira Renosto<sup>1</sup>, Anna Christina Tojal da Silva<sup>1</sup>, Giovanna Bin<sup>1</sup>, Juliana Leopoldino Amadeu<sup>1</sup>, Lis Aparecida Souza Neves<sup>1</sup>, Solange Aparecida Oliveira Réia<sup>1</sup>, Solange de Lourdes Rosa de Oliveira<sup>1</sup>, Stênio José Correa Miranda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.  
E-mail: crjrcampi@saude.pmrp.com.br

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) ainda é um desafio para a saúde pública, estando frequentemente associada com populações mais vulneráveis, assim como a aids, sífilis e as hepatites virais. Diante disso, há alguns anos foi incorporada na rotina de atendimento do paciente com TB, a solicitação das demais sorologias. Este estudo tem como objetivo identificar o perfil sorológico dos pacientes com TB no período de 2010 a 2013 em um ambulatório especializado no município de Ribeirão Preto - SP. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo, utilizando-se os dados do Livro de Registro de TB e consulta aos prontuários; foram incluídos os pacientes maiores de 15 anos e analisadas as variáveis sexo, tipo de caso, forma clínica, desfecho, sorologias para HIV, Sífilis, Hepatite B e C. **Resultados:** No período foram acompanhados 110 pacientes, sendo 79 (71,8%) do sexo masculino; 9,1% dos casos eram recidiva e a principal forma clínica foi a pulmonar (92,7%), sendo encontradas também formas pleural, ganglionar periférica, oftálmica e óssea. Quanto ao desfecho, 103 (93,6%) pacientes obtiveram alta cura, 6 óbitos (5,5%), um abandono e uma falência. Quanto ao perfil

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

sorológico, o exame HIV foi realizado em todos os pacientes, sendo 16 reagentes (14,5%); os demais exames foram realizados em 101 pacientes, sendo detectados reagentes 6 VDRL (5,5%), 7 HCV (6,3%) e 8 anti-HBc (7,2%) -cicatriz sorológica para hepatite B. Os pacientes com sorologias reagentes para sífilis e HIV tiveram tratamento e acompanhamento realizados na própria unidade de tratamento da TB e aqueles reagentes para hepatites foram encaminhados para a unidade de referência. **Conclusão:** Aproveitar o vínculo criado com o paciente de TB para realizar aconselhamento e testagem para doenças sexualmente transmissíveis, se mostra uma estratégia efetiva para a detecção e tratamento adequado das mesmas, quebrando a cadeia epidemiológica de transmissão e propiciando a orientação de prática de comportamentos seguros. **Descritores:** Tuberculose, testes sorológicos, doenças sexualmente transmissíveis.

POSTER Nº: 167

### TUBERCULOSE PULMONAR EM PERÍODO POSTERIOR A INTRODUÇÃO DO NOVO ESQUEMA TERAPÊUTICO. MUNICÍPIO DE SANTOS (SP), 2011-2012\*

Ana-Carolina Chiou Nascimento<sup>1</sup>; Andrea Gobetti Coelho Bombonate<sup>2</sup>; Eliseu Alves Waldman<sup>3</sup>; Vanderleia Cleonice Andreza da Silva<sup>4</sup>; Lucilaine Ferrazoli<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (SP), Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Micobactérias - Núcleo de Ciências Biomédicas - Instituto Adolfo Lutz - Centro Laboratório Regional de Santos (SP), Brasil; <sup>3</sup>Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (SP), Brasil; <sup>4</sup>Programa de Controle da Tuberculose - Prefeitura Municipal de Santos (SP), Brasil; <sup>5</sup>Núcleo de Tuberculose e Micobacterioses - Instituto Adolfo Lutz - Laboratório Central (SP), Brasil.  
E-mail: carolchiou@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** O município de Santos (SP) apresenta elevada incidência (72/100.000 habitantes-ano) de tuberculose (TB), com 12% de abandono (2012). Considerando a introdução do novo esquema terapêutico (RHZE) em 2010, desenvolvemos um estudo com o objetivo de caracterizar o perfil TB pulmonar (TBP) nos dois anos posteriores a introdução do RHZE. **Métodos:** Estudo descritivo abrangendo casos de TBP, entre residentes do município de Santos (SP), maiores de 15 anos, caso novo ou retratamento pós-cura ou recidiva, entre 2011-2012, acompanhados até dezembro de 2013 para verificação dos desfechos. Os dados foram obtidos no Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE-SP). **Resultados:** Dos 792 casos de TB notificado, selecionamos 594 casos, 24% deles receberam tratamento supervisionado e 19% foram hospitalizados. Desse total, 66,3% (394/594) eram homens e 66,0% (392/594) apresentavam entre 20 e 49 anos. Dos pacientes para os quais dispúnhamos de informação, 41,4% (168/406) apresentavam entre 8 e 11 anos de estudo; 18,6% (88/472) eram HIV positivos. Em 93,8% (557/594) o esquema inicial foi o RHZE. Dos casos que apresentaram desfecho, 75,8%

(435/574) curaram, 16,9% (97/574) abandonaram o tratamento, 2,6% (15/574) foram a óbito e em 1,2% (7/574) houve falência. Dos 594 casos, 20,0% (119/594) apresentaram TB no passado e desses 95,8% (114/119) não mudaram o esquema. Desses, 115 casos tinham desfecho: 64,3% (74/115) curaram e 23,5% (27/115) abandonaram. **Conclusões:** As taxas de cura, abandono, óbito e falência de tratamento encontrada são semelhantes àquelas verificadas no período anterior a introdução do RHZE, sendo consistente com a baixa cobertura do tratamento supervisionado. **Descritores:** Tuberculose pulmonar, resultado de tratamento, epidemiologia. \*Os resultados são parte de um estudo de doutorado sobre o impacto do novo esquema de tratamento.

POSTER Nº: 172

### FATORES ASSOCIADOS COM TB PELO STATUS DO HIV NO BRASIL: UM ESTUDO DE CORTE TRANSVERSAL

Thiago Nascimento do Prado<sup>1,3</sup>, Angélica Espinosa Miranda<sup>3,4</sup>, Fernanda Mattos de Souza<sup>1,3</sup>, Elias dos Santos Dias<sup>1,2</sup>, Lorena Kellen Fernandes Sousa<sup>1,2</sup>, Denise Arakaki-Sanchez<sup>5</sup>, Mauro N Sanchez<sup>6</sup>, Jonathan E. Golub<sup>7</sup> e Ethel Leonor Noia Maciel<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Epidemiologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>3</sup>Programa de Pós Graduação em Doenças Infeciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>4</sup>Programa de Pós Graduação em Saúde Pública, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>5</sup>Organização Pan Americana de Saúde, Brasília, Brasil; <sup>6</sup>Departamento de Saúde Pública, Universidade de Brasília, Brasil; <sup>7</sup>Center for Tuberculosis Research, Johns Hopkins University, Baltimore (MD) EUA.  
E-mail: lorenakellen@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Nas últimas décadas a incidência e mortalidade da Tuberculose (TB) vêm estavelmente declinando no Brasil. Contudo, esta tendência não é observada entre os pacientes infectados pelo HIV. Assim, este estudo comparou o perfil epidemiológico dos pacientes com TB pelo status do HIV usando o Sistema de Agravos e Doenças de Notificação Compulsória (SINAN-TB). **Métodos:** Todos os pacientes notificados com TB no ano de 2011, com informação do status do HIV, foram comparados usando modelo de regressão logística hierárquica. **Resultados:** Analisamos 243.676 pacientes dos quais 46.466 eram coinfectados TB-HIV e 197.210 tinham apenas TB. Os pacientes com TB-HIV eram mais prováveis de serem homens (OR: 1,06; IC 95% 1,03-1,10), ter idade entre 20 a 39 (OR: 4,82; IC 95% 4,34-5,36), negro (OR: 1,08; IC 95% 1,04-1,13), 4 a 7 anos de estudo (OR: 1,13; IC 95% 1,19-1,28), apresentar a forma TB pulmonar mais extrapulmonar (OR: 2,80; IC 95% 1,56-5,02), exame histopatológico sugestivo de TB (OR: 2,15; IC 95% 1,13-4,07) e terem desfechos do tratamento da TB desfavoráveis: abandono (OR: 2,96; IC 95% 2,36-3,71) e morte por TB (OR: 3,64; IC 95% 2,92-4,53). Por outro lado, os coinfectados TB-HIV foram menos prováveis de morar na zona rural (OR:

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

0,45; IC 95% 0,42-0,48) e ter baciloscopia positiva (OR: 0,55; IC 95% 0,32-0,95). **Conclusão:** Esta análise permitiu entender as características que explicam as diferenças entre os pacientes coinfectados ou não por TB-HIV no Brasil e com isso, propor ações de vigilância, assistência e controle da TB direcionadas para estes grupos. **Descritores:** Tuberculose, HIV, coinfecção.

POSTER Nº: 173

### TUBERCULOSE ENTRE IDOSOS NO BRASIL: UM ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Kassia Gomes de Jesus<sup>1,2</sup>, Mariana Barbosa Zamprogno<sup>2</sup>, Lorena Kellen Fernandes Sousa<sup>1,2</sup>, Fernanda Mattos de Souza<sup>1,3</sup>, Thiago Nascimento do Prado<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Epidemiologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; <sup>3</sup>Programa de Pós Graduação em Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.  
E-mail: kassia\_gomesj@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Seguindo a tendência mundial de envelhecimento da população, a incidência de tuberculose (TB) no Brasil começa a se deslocar para os idosos. No ano de 2012, 13% dos casos da doença ocorreram em pessoas maiores de 60 anos, o que revela a importância epidemiológica da doença entre os idosos no país. Assim, comparamos o perfil epidemiológico e os aspectos clínicos da TB entre adultos e idosos no Brasil utilizando o Sistema de Agravos e Doenças de Notificação Compulsória (SINAN-TB). **Métodos:** Foi realizado um estudo de corte transversal no período de 2007 a 2011 com 429.569 notificados (371.475 adultos e 59.094 idosos). Aplicou-se um modelo de regressão logística hierárquica, estabelecendo nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%. As análises foram feitas com o programa estatístico Stata 13.1. **Resultados:** Os idosos com TB têm menos chances de serem homens (OR: 0,97; IC 95%: 0,95-0,99) e negros (OR: 0,68; IC 95%: 0,66-0,70). Quanto ao tipo de TB, a forma mais frequente entre os idosos é a pulmonar (84,3%). Em relação ao desfecho do tratamento para TB, os idosos têm menos chances de abandoná-lo (OR: 0,49; IC 95%: 0,33-0,73), mas apresentam maior chance de morrer por TB (OR: 1,97; IC 95%: 1,12-3,46). **Conclusão:** O diferencial na comparação da TB em adultos e idosos não se deve apenas aos fatores fisiológicos, mas também à fatores econômicos e demográficos, tornando necessário novas estratégias visando à promoção da saúde e a melhoria da qualidade de vida dos idosos no país. **Descritores:** Idoso, tuberculose, epidemiologia.

POSTER Nº: 175

### PREVALÊNCIA DA TUBERCULOSE NO MUNICÍPIO DE CANOAS/RS NO PERÍODO DE 2008 A 2012

Natália Lombardo<sup>1</sup>, Solange de Fátima Mohd Suleiman Shama<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Feevale, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Feevale, Brasil.  
E-mail: lombardo.natalia@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa de grande impacto social com considerável número de novos casos. O Brasil está entre os países do mundo com maior número de casos da doença. Este estudo objetivou verificar a prevalência da TB em Canoas, município da região metropolitana de Porto Alegre/RS, no período de 2008 a 2012, bem como avaliar os principais indicadores relacionados a patologia, como cura, abandono ao tratamento e as características sócio-demográficas dos indivíduos acometidos pela doença. **Métodos:** Constitui-se de uma pesquisa quantitativa, descritiva com delineamento transversal. A população foi composta por todos os indivíduos notificados com Tuberculose no município de Canoas, totalizando 1465 indivíduos. **Resultados:** A maior prevalência registrada no período estudado foi no ano de 2011, com 119,93casos/100.000 habitantes. Identificou-se que a TB é mais prevalente em homens, da raça branca, na faixa etária de 20 a 59 anos, com ensino fundamental incompleto. A forma de TB mais prevalente é a pulmonar e o tipo de entrada são casos novos. A taxa de cura foi de 68,40%, de abandono 10,99%, multirresistência 0,20%, coinfecção 20,35% e óbitos por TB 3,48%. Em 89,56% dos casos não houve indicação de TDO. AIDS, alcoolismo e drogadição estão entre os principais agravos associados descritos nos registros do SINAN. **Conclusão:** Os resultados encontrados revelam que a cidade de Canoas ainda não conseguiu alcançar as metas propostas pelo Ministério da Saúde, portanto são necessários ajustes no programa de controle municipal de TB. **Descritores:** Tuberculose, prevalência, indicadores.

POSTER Nº: 177

### PLANEJAMENTO EM SAÚDE E AS AÇÕES DE CONTROLE DA TUBERCULOSE: A DISCURSIVIDADE DOS SUJEITOS GESTORES

Anne Barrêto<sup>1</sup>, Lenilde Sá<sup>2</sup>, Patrícia Pinheiro<sup>1</sup>, Khívia Barbosa<sup>1</sup>, Janaina Trigueiro<sup>1</sup>, Amanda Romera<sup>2</sup>, Pedro Palha<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal da Paraíba, Brasil; <sup>3</sup>Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP, Brasil.  
E-mail: anejaque@gmail.com

**Justificativa:** A tuberculose (TB) permanece como um problema de saúde pública a ser enfrentado nos dias atuais, consistindo em desafio para gestores, trabalhadores de saúde e sociedade civil. O planejamento em saúde pode configurar um instrumento essencial para o alcance das ações de controle da TB, pois potencializa o desenvolvimento do trabalho e esclarece objetivos e compromisso compartilhados nas organizações. A não participação e o desconhecimento dos gestores, sobretudo daqueles que gerenciam os serviços de saúde, no que se refere ao planejamento das ações de TB, revela pouco compromisso

## POSTER PRESENTATION

político na manutenção e continuidade das ações de controle da doença. **Objetivos:** Analisar a discursividade dos sujeitos gestores relacionada à prática das ações de controle da TB na perspectiva do planejamento em saúde. **Métodos:** Estudo de abordagem qualitativa, realizado no município de João Pessoa/PB, considerado prioritário para o controle da TB. Os sujeitos colaboradores foram 25 profissionais de saúde que atuavam na gestão ou equipes gestoras no município. Para análise do material empírico foi utilizado o dispositivo teórico-analítico Análise de Discurso, de matriz francesa. **Resultados:** Os discursos dos sujeitos gestores evidenciaram uma prática de planejamento com forte viés centralizador, hierarquizado e fragmentado; no campo ideológico, os discursos dos sujeitos gestores filiam-se a prática de planejamento baseada na racionalidade gerencial hegemônica. **Conclusão:** Sugere-se a implementação de processos pedagógicos e gerenciais que favoreçam o fortalecimento teórico e reflexivo sobre o planejamento das ações de controle da TB. **Descritores:** Gestão em saúde, planejamento em saúde, tuberculose.

POSTER Nº: 178

### ESTRATÉGIAS PARA FACILITAR À ADEÇÃO DO DOENTE DE TUBERCULOSE AO TRATAMENTO DIRETAMENTE OBSERVADO: O DISCURSO DE ENFERMEIRAS

Séfora Andrade<sup>1</sup>, Lenilde Sá<sup>1</sup>, Patrícia Pinheiro<sup>2</sup>, Lilia Alcântara<sup>1</sup>, Anne Barrêto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Brasil.

E-mail: annejaque@gmail.com

**Justificativa:** O Tratamento Diretamente Observado (TDO) consiste na supervisão da tomada do medicamento diariamente por um profissional de saúde treinado. Sua finalidade é o fortalecimento da adesão do paciente ao tratamento, assim como a prevenção do aparecimento de cepas resistentes, a redução das taxas de abandono e o aumento da probabilidade de cura. Este estudo fundamenta-se na ideia de que o enfermeiro, sendo um dos profissionais da Estratégia Saúde da Família (ESF) que mais estabelece vínculo com o doente de TB, pode pelo seu discurso, anunciar estratégias que favoreçam à adesão dos doentes de TB ao tratamento. **Objetivo:** Analisar o discurso de enfermeiras da ESF relacionado às estratégias para facilitar à adesão do doente de TB ao TDO. **Método:** Estudo qualitativo, desenvolvido no município de João Pessoa-PB com participação de 13 enfermeiras que registraram realizar o TDO. O material empírico foi analisado segundo o dispositivo teórico-analítico Análise de Discurso (AD), linha francesa. **Resultados:** A análise dos fragmentos discursivos revelam que os discursos das enfermeiras apontaram sentidos e significados de estratégias relacionadas à educação

em saúde (ES) e à relação de vínculo entre profissionais e doentes como estratégias para adesão ao TDO. **Conclusão:** Conclui-se que precisam ser revistas as ações anacrônicas de ES, sendo necessário envolver o doente de TB no seu processo de cuidado, baseando na troca de saberes e contemplando os aspectos particulares do indivíduo, tendo como resposta um fortalecimento do vínculo entre profissional e doente de TB, o que facilita a promoção da adesão ao TDO. **Descritores:** Tuberculose, enfermagem, terapia diretamente observada.

POSTER Nº: 188

### PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO PELO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EM CONTATOS DE CASOS DE TUBERCULOSE

Silvia Paulino Ribeiro Albanese<sup>1</sup>, Danielle Talita dos Santos<sup>2</sup>, Arlete Alves Nunes Fragoso da Costa<sup>3</sup>, Flávia Meneguetti Pieri<sup>4</sup>, Elaine Alves<sup>5</sup>, Elma Mathias Dessunti<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitário Norte do Paraná, Brasil; <sup>2</sup>Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Brasil; <sup>3</sup>Autorquia do Serviço Municipal de Saúde de Londrina, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>5</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil; <sup>6</sup>Universidade Estadual de Londrina, Brasil.  
E-mail: silviapaulinoab@yahoo.com.br

**Introdução:** Os contatos de pacientes com tuberculose constituem-se em grupo importante para a manutenção da cadeia de transmissão da doença, sendo relevante a busca de sintomáticos respiratórios e a realização do teste tuberculínico (TT) nesses indivíduos. **Objetivo:** Analisar a prevalência e a evolução de Infecção Latente de Tuberculose (ILT) e Tuberculose entre os contatos de casos da doença. **Metodologia:** Estudo de coorte retrospectiva, realizado num Centro de Referência para tuberculose, cuja população de estudo constituiu-se dos 6.828 pacientes que realizaram TT no período de 2003 a 2010 e a amostra de 2.425 (35,5%) pacientes cuja indicação foi o contato com indivíduos com tuberculose. Os dados foram levantados do Livro de registro dos TT, dos prontuários e das fichas do Sistema de Informações de Agravos de Notificação. Para verificar a evolução para tuberculose entre os contatos, foram consultadas as fichas de casos notificados até março de 2014. Os dados foram analisados no programa SPSS. **Resultados:** Da amostra estudada, 435 (17,9%) não retornaram para leitura. Dentre os 1.990 contatos que completaram o teste, 704 (35,4%) foram reatores, dos quais 356 (50,6%) tinham indicação para tratamento de infecção latente. Destes, 153 (42,9%) abandonaram o tratamento, 95 (62,1%) nos três primeiros meses. De todos os contatos, 42 (1,73%) desenvolveram tuberculose, dos quais 6 (14,3%) abandonaram o tratamento. **Conclusão:** As políticas públicas para o controle da tuberculose estão bem estruturadas, constatando-se dificuldades na implementação das propostas, especialmente entre os contatos, considerando-se a elevada taxa de abandono observada para o tratamento da ILT e tuberculose. **Descritores:** Tuberculose, infecção tuberculosa latente, busca por contatos.

## POSTER PRESENTATION

POSTER Nº: 202

### PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA TUBERCULOSE EM SÃO MATEUS, ESPÍRITO SANTO

Leticya de Almeida dos Santos Negri<sup>1</sup>, Leticia Molino Guidoni<sup>1</sup>, Anne Carolina Barbosa Cerqueira Vieira<sup>1</sup>, Ethel Leonor Noia Maciel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/Centro Universitário do Norte do Espírito Santo (UFES/CEUNES), Brasil.  
E-mail: leticyanegri@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O município de São Mateus, situado ao norte do Espírito Santo, caracteriza-se como um dos nove municípios prioritários no combate a tuberculose no ES. É a cidade com a maior população afrodescendente do estado do Espírito Santo. Objetiva-se caracterizar o perfil epidemiológico dos pacientes com tuberculose em São Mateus, Espírito Santo, com ênfase nos indicadores operacionais no período de 2002 a 2012. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, cujos dados foram obtidos junto ao Sistema de Informação de Agravos e Notificação (SINAN). **Resultados:** A incidência de TB mantém-se em 40 casos/100.00, com declínio só ano de 2010. A raça parda predominou, e a raça preta aumentou nos últimos anos, passando de média 13 casos entre 2002 e 2011 para 39 em 2012. A realização de HIV em casos novos de TB ainda é baixa. A porcentagem de casos curados oscilou entre 58.33% em 2002, 73% de cura em 2011. Um dado que oscilou ao longo dos anos, foi o número de casos novos de tuberculose que realizaram teste de HIV. Indivíduos que realizaram HIV, ficou em 55%, sendo que em 2009, 29% de exames realizados. Em 2012 foi 90% de testes realizados. **Conclusão:** Os dados encontrados vão de encontro com a Ficha de Informações Municipais – 2013, fornecidas pelo governo do ES, em que São Mateus, os Problemas detectados foram: a baixa detecção de casos, a alta rotatividade de Coordenador de Programa de municipal e o aumento no número de casos de TB com outras comorbidades como álcool e drogas. Uma dificuldade enfrentada pelo município também é a aquisição de incentivos para realização de tratamento diretamente observado e realização de exames de contatos, tais como (vale transporte e cesta básica). A centralização, transporte e acompanhamento dos pacientes encaminhados ao Hospital das Clínicas é um agravante. Pacientes com Tb multirresistência primária e importada de outros Estados. Esses fatores corroboram com o perfil preocupante do norte do estado. Fazendo com discussões e políticas sejam feitas para reverter esse quadro Epidemiológico. **Descritores:** Tuberculose, epidemiologia, HIV.

POSTER Nº: 212

### O TRATAMENTO DIRETAMENTE OBSERVADO DA TUBERCULOSE

### SEGUNDO A PERSPECTIVA DA EQUIPE DE ENFERMAGEM DE UM MUNICÍPIO PRIORITÁRIO DO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO

Lais Mara Caetano da Silva<sup>1</sup>, Luciana de Oliveira Sousa<sup>1</sup>, Ellen Cristine Ramdohr Sobrinho<sup>2</sup>, Rosely Moralez de Figueiredo<sup>2</sup>, Simone Teresinha Protti<sup>2</sup>, Pedro Fredemir Palha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (EERP-USP), Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, Brasil. Departamento de Enfermagem.  
E-mail: laismara@eerp.usp.br

**Justificativa e Objetivos:** A detecção de casos e o tratamento adequado da tuberculose (TB) são essenciais para o controle da doença, sendo o Tratamento Diretamente Observado (TDO) importante ferramenta para a adesão ao tratamento e cura. Realizado no Brasil desde os anos 90, a equipe de enfermagem (auxiliares, técnicos e enfermeiros) tem contribuído para sua viabilização, tendo em vista as competências inerentes à categoria profissional. **Métodos:** Pesquisa de campo, com abordagem qualitativa, realizada em Ribeirão Preto (SP), entre fevereiro e abril de 2014. Foram sujeitos do estudo profissionais de enfermagem, vinculados ao serviço por mais de seis meses, que aceitaram participar após leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para a obtenção dos dados utilizou-se roteiro de entrevistas semi-estruturado. As entrevistas foram audiogravadas, transcritas e analisadas pela Análise de Conteúdo-Modalidade Temática. **Resultados:** Participaram do estudo nove profissionais: três auxiliares, três técnicos e três enfermeiros. As categorias que emergiram foram: 1) Segurança do profissional para viabilizar o TDO (tendo em vista a exposição a situações de violência social); 2) Estabelecimento de vínculo junto aos doentes como promotor da adesão ao TDO; 3) Atenção integral ao doente de TB, adotando como perspectiva o contexto social. **Conclusão:** Os relatos revelam as potencialidades e fragilidades das ações de controle da TB, especialmente face ao contexto social do doente e as adequações necessárias para promover a efetividade do tratamento. Ressalta-se a importância do planejamento de estratégias que promovam maior sensação de segurança para os profissionais que acessam áreas de instabilidade social. **Descritores:** Tuberculose, serviços de saúde, equipe de enfermagem.

POSTER Nº: 225

### AVALIAÇÃO ECONÔMICA DO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE: DIFICULDADES ENCONTRADAS EM SITUAÇÃO REAL

Michela Prestes Gomes<sup>1</sup>, Aldaísa Cassanho Forster<sup>1</sup>, Claudia Souza Passador<sup>1</sup>, Ione Carvalho Pinto<sup>1</sup>, Maria Eulália Lessa do Valle Dallora<sup>1</sup>,

## POSTER PRESENTATION

**Nathalia Halax Orfão<sup>1</sup>, Tiemi Arakawa<sup>1</sup>, Antonio Ruffino Netto<sup>1</sup>**  
*1Universidade de São Paulo, Brasil.*  
E-mail: michelagomes@usp.br

**Justificativa e Objetivo:** Tecnologias em saúde vêm causando preocupação para gestores, por resultar em elevados custos. A inexistência de conhecimento sobre custos e efetividade, faz com que estudos de avaliação econômica sejam indispensáveis. **Objetivo:** Descrever as dificuldades em aplicar método de análise custo-efetividade em situação real do Programa de Controle de Tuberculose (PCT) em Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Métodos:** Estudo exploratório, epidemiológico descritivo, tipo inquérito e levantamento. Coletamos dados no PCT do Centro Saúde Escola - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, e entrevistamos doentes de TB nos 4 PCT do município. Consideramos 59 prontuários clínicos, entrevistamos 7 profissionais da saúde, e 32 doentes de TB. Para estimar custos indiretos e diretos, das estratégias de tratamento da TB, tratamento diretamente observado (TDO) e autoadministrado (TAA). **Resultados:** Assinalaram-se variáveis que dificultaram a operacionalização do estudo. Entre estes fatores estavam: a) estrutura e organização do PCT: estrutura física e recursos humanos insuficientes; déficit de informações, do TBWEB, no sistema de informação da Secretaria Municipal de Saúde; déficit de dados de custos. b) profissionais de saúde: dificuldades na colaboração e aceitação da pesquisa de campo; sobrecarga de trabalho; preenchimento falho de informações. c) moradia dos pacientes: difícil acesso; alta periculosidade. d) pacientes: ausência no domicílio, resultando em entrevistas realizadas nos finais de semana e feriados; não comparecimento às consultas; falta de comunicação com o paciente. **Conclusão:** É um desafio realizar pesquisas no âmbito das avaliações de tecnologias em saúde no país, devido ao déficit dos registros de dados e das informações. **Descritores:** Tuberculose, avaliação da tecnologia biomédica, avaliação em saúde.

POSTER Nº: 228

## PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES COM TUBERCULOSE ATENDIDOS EM CANOAS NO ANO DE 2012

**Maria Rita Castilhos Nicola<sup>1</sup>, Natali Linck<sup>2</sup>, Daniele Sidegum<sup>2</sup>, Graziele Bello<sup>3</sup>, Luciene Scherer<sup>2,3</sup>, Maria Lucia Rossetti<sup>2,3,4</sup>**  
*1Biologia - Universidade Luterana do Brasil, Brasil; 2Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular aplicado à saúde (PPGBiosauúde)/ ULBRA, Brasil; 3Biomedicina - ULBRA, Brasil; 4Farmácia - ULBRA, Brasil.*  
E-mail: mariaritanicola@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** Este trabalho apresenta dados de como a tuberculose ainda é um grave problema de saúde pública no Brasil, sendo uma doença infecciosa crônica causada por *Mycobacterium tuberculosis*. Com esse estudo podemos

contribuir com informações dos aspectos epidemiológicos dos indivíduos tratados. O presente estudo teve como objetivo caracterizar o perfil epidemiológico de pacientes com tuberculose atendidos pelo Serviço de Tisiologia na cidade de Canoas no ano de 2012. **Métodos:** As fontes de dados foram realizadas através da coleta de informações do Livro de Registro de pacientes e acompanhamento de tratamento dos casos de tuberculose e posteriormente os dados foram analisados estatisticamente pelo programa SPSS Versão 18. **Resultados:** Foram registrados 243 pacientes, destes 82,3% foram identificados como casos novos. Dos pacientes analisados 66,7% eram do sexo masculino, e a faixa etária predominante foi entre 21 a 30 anos. A maioria dos pacientes analisados, 24,3% residiam no bairro Mathias Velho. A forma clínica mais frequente foi a pulmonar (74,9%). Dos pacientes analisados 23,9% possuíam co-infecção com HIV. Do total de pacientes atendidos pelo Serviço de Tisiologia a grande maioria eram adultos jovens do sexo masculino. **Conclusão:** Essa distribuição relacionada ao sexo é compatível com o observado na população brasileira em geral, onde os homens correspondem por mais da metade dos casos de tuberculose. Portanto, trabalhos como estes são importantes, uma vez que realizam o levantamento de dados de relevância epidemiológica para o sistema de saúde. **Descritores:** Saúde, epidemiologia, tuberculose.

POSTER Nº: 232

## CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM TUBERCULOSE EM UM CENTRO DE SAÚDE ESCOLA NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO- SÃO PAULO

**Fernanda Eugênio Ferreira<sup>1</sup>, Rosana Moreira de Oliveira<sup>1</sup>, Elisangela Gisele de Assis<sup>1</sup>, Shirlei Aparecida Vitor<sup>1</sup>, Sidney Gomes de Carvalho<sup>1</sup>, Ivana Astolfo Gandra Passeri<sup>1</sup>, João Terra Filho<sup>1</sup>**  
*1Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Brasil. E-mail: fernandaeugenio@live.com*

**Justificativa e Objetivos:** A tuberculose (TB) é um grave problema de saúde pública presente ainda neste século. O objetivo deste estudo foi caracterizar os pacientes de um programa de controle da TB em um serviço de saúde em Ribeirão Preto no Estado de São Paulo (ESP), no período de Junho de 2013 a Maio de 2014. **Métodos:** Os dados foram coletados em fontes secundárias e foi construída uma planilha em Excel com as variáveis: gênero, idade, forma clínica, alta, tipo de tratamento: Tratamento Diretamente Observado (TDO) ou Autoadministrado (AA), associação com HIV e drogadição. **Resultados:** dos 40 pacientes atendidos no período, 67,5% (27) são homens, com idade média de 39,57 anos. Da população estudada, 100% (40), possuía a TB, sendo que 85% (34) apresentou a forma pulmonar onde 5,8% (2) associados com TB laríngea. Outras formas foram: pleural 66,6% (4), ocular 16,7% (1) e ganglionar 16,7%

## POSTER PRESENTATION

(1). Do total de pacientes, 57,5% (23) recebeu alta onde 78,3% (18) alta cura, 8,7% (2) alta por mudança de diagnóstico e 13% (3) alta por abandono. Desses 23, 87% (20) realizou predominantemente o TDO e 13% (3) AA. A coinfeção com HIV foi de 5% (2) e em relação ao uso de drogas, 32,5% (13) não consomem e 67,5% (27) utilizam qualquer tipo de droga, lícitas ou ilícitas. O restante 42,5% (17) está em tratamento. **Conclusão:** predomínio da doença no sexo masculino, na faixa etária produtiva e na forma pulmonar. O TDO, o uso de drogas e a alta cura prevaleceram. **Descritores:** tuberculose, terapia diretamente observada, serviços de saúde.

POSTER Nº: 238

### VISITAÇÃO DOMICILIAR PARA REDUZIR O ABANDONO DE TRATAMENTO EM TUBERCULOSE

Adilson Souza<sup>1</sup>, Monica Barcellos<sup>1</sup>, Jacqueline Oliveira<sup>1</sup>, Jose M. Seixas<sup>1</sup>, Afranio Kritiski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: seixas@lps.ufrj.br

**Justificativa e Objetivos:** É elevada a proporção de abandono (15% a 25%) do tratamento de tuberculose (TTO-TB) na região norte do município do Rio de Janeiro. Nos últimos anos, a busca dos faltosos não tem sido realizada nos Centros Municipais de Saúde (CMS), principalmente em razão da violência. **Objetivo:** Descrever as visitas domiciliares (VD) realizadas em pacientes que abandonaram o TTO-TB, identificar os principais motivos do abandono e as dificuldades para retornar ao CMS. **Métodos:** No período de julho de 2010 a novembro de 2013, foram realizadas VD nas comunidades do entorno do CMS de Guadalupe, empregando um carro oficial da UFRJ, com motorista, e uma equipe com dois enfermeiros, que utilizou um formulário padronizado. As visitas foram definidas a partir da lista de pacientes que tinham abandonado o TTO-TB. **Resultados:** A principal dificuldade encontrada foi a segurança nas comunidades, além da dificuldade em localizar os domicílios. Entre os 89 pacientes entrevistados, 40 pacientes (45%) não retornaram ao tratamento da TB, sendo que 22% destes pacientes relatavam associação com o tráfico de drogas ou se tornado moradores de rua. Houve um aumento na auto-estima dos pacientes, ao verem o Estado se movimentar para obter a cura da sua doença. **Conclusões:** Apesar das dificuldades de logística e de segurança, observou-se que a VD continua uma ferramenta importante para a redução do abandono do TTO-TB. Além disso, por meio dela, as comunidades perceberam o acolhimento oferecido e mostraram boa receptividade para a atividade. **Descritores:** Tuberculose, abandono de tratamento, visita domiciliar, busca ativa

POSTER Nº: 244

### INVESTIGAÇÃO DA EXPERIÊNCIA DE ADOECIMENTO COMO ESTRATÉGIA PARA PROMOVER A ADESÃO AO TRATAMENTO DE TUBERCULOSE NA ATENÇÃO BÁSICA: RESULTADOS PRELIMINARES\*

Mônica Kramer de Noronha Andrade<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Estellita-Lins<sup>2</sup>, Valeria Lino<sup>3</sup>, Mônica Bastos de Lima Barros<sup>3</sup>, Nadia Rodrigues<sup>3</sup>, Gisele O'Dwyer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, REDETB, Brasil; <sup>2</sup>ICICT/FIOCRUZ, Brasil; <sup>3</sup> Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, Brasil.

E-mail: monicakra@gmail.com

**Justificativa:** O controle da tuberculose (TB) permanece um desafio principalmente em comunidades carentes. Manguinhos é um território de grande vulnerabilidade econômica e social com um dos piores Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) do Município de Rio de Janeiro. **Objetivo geral:** Conhecer a experiência de adoecimento de pacientes com TB. **Objetivos específicos:** a) identificar fatores relacionados à adesão ao tratamento sob o ponto de vista dos pacientes; b) estudar a relação entre a frequência de depressão e adesão ao tratamento para TB; c) conhecer a opinião de profissionais de saúde sobre a má adesão terapêutica. **Métodos:** População: pacientes com TB, residentes em Manguinhos, atendidos em duas Unidades de Saúde e profissionais de saúde que prestam atendimento. Estudo transversal, observacional com abordagem qualitativa e aplicação de ferramentas quantitativas de saúde mental nos pacientes (McGill MINI Narrativa de Adoecimento; SRQ-20; Inventário de Depressão de Beck). Para os profissionais de saúde, grupos focais em Oficinas. **Resultados:** Entrevistados 15 pacientes e segundo a narrativa das experiências vivenciadas, identificados quatro fatores relacionados à adesão: apoio familiar, trabalho, serviço de saúde e rede de apoio social. À aplicação dos instrumentos, 06 pacientes (40%) apresentavam depressão. A relação depressão - adesão, nesta fase do estudo, ainda não pode ser analisada. Formados 07 grupos focais (84 profissionais), identificados os mesmos fatores com o acréscimo de transtornos psiquiátricos e dependência química. **Conclusão:** Observou-se convergência entre a visão dos pacientes e profissionais de saúde e estratégias para adesão devem ser planejadas com base nos resultados obtidos, de acordo com a governabilidade. **Descritores:** Tuberculose, tratamento, adesão terapêutica. \*MCTI/ CNPq nº 14/2013.

## POSTER PRESENTATION

### ABSTRACTS

## NEW CONSORTIA FOR INTERNATIONAL RELATIONS

POSTER N°: 189

### PROGRAMA DE CAPACITAÇÃO EM PESQUISA EM TUBERCULOSE (TB) NO BRASIL: DESCRIÇÃO E DESFECHOS

Natália Lapa e Silva<sup>1</sup>, Victoria Brant<sup>1</sup>, Antonio Ruffino Netto<sup>2</sup>, José Roberto Lapa e Silva, Afrânio Kritski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, Brasil. E-mail: natalialapa@hucff.ufjf.br

**Justificativa e Objetivos:** Apesar da grande inversão de recursos de agências internacionais para a capacitação em pesquisa em saúde, são ainda escassas as avaliações dos desfechos de tal capacitação. O objetivo é descrever as motivações, expectativas, competências, barreiras e facilitadores para o desenvolvimento de pesquisa por profissionais que participaram do programa ICOHRTA de capacitação em pesquisa do National Institutes of Health no período de 2004 a 2011. **Métodos:** Foi utilizada análise de conteúdo das entrevistas de seleção dos cursos e questionário para alunos que completaram pelo menos um curso de 80 horas e analisado por meio da triangulação de métodos. **Resultados:** Em 208 entrevistas, 52% esperava que o curso contribuisse para desenvolvimento de pesquisa e pós-graduação futuras, 27% que contribuisse para desenvolvimento de projeto atual, 21% melhora na atuação profissional. Os temas preferenciais para pesquisa em TB foram: diagnóstico, abandono e adesão ao tratamento. Dos 117 questionários respondidos, falta de tempo, de apoio operacional e financeiro apareceram como as maiores barreiras. Ingresso em programas de pós-graduação e capacitação em centros avançados foram apontados como facilitadores. **Conclusão:** o programa de capacitação em pesquisa permitiu avanços na carreira dos participantes, mas ainda há dificuldades para a plena inserção em programas de pesquisa em TB. **Descritores:** tuberculose, pesquisa, capacitação.

### ABSTRACTS

## LEPRA

POSTER N°: 79

### GENOTYPING OF *Mycobacterium leprae* STRAINS ASSOCIATED WITH DRUG RESISTANCE

Patricia S. Rosa<sup>1</sup>, Luciana R V Fachin<sup>1</sup>, Suzana M. Diório<sup>1</sup>, Andréa F. F. Belone<sup>1</sup>, Ida M.F.D. Baptista<sup>1</sup>, Philip N. Suffys<sup>2</sup>, Carla A. Pires<sup>3</sup>, Marília B. Xavier<sup>3</sup>, Wladimir F. B. Delanina<sup>1</sup>, Somei Ura<sup>1</sup>, Milton O. Moraes<sup>2</sup>, Marcelo T. Mira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru – SP, Brazil, <sup>2</sup>Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro – RJ, <sup>3</sup>Universidade Estadual do Pará, Belém – PA, <sup>4</sup>Pontifícia Universidade Católica, Curitiba – PR. E-mail: sammarcop@hotmail.com

**Background and Objectives:** In Brazil, the overall contribution of drug resistance to leprosy relapse seems to be small but more attention is needed to particular sites with suspicion of high levels of leprosy transmission. We therefore performed genotyping of *Mycobacterium leprae* in a highly endemic leprosy area. **Methods:** Leprosy cases who had completed at least one multidrugtherapy regimen and their contacts were invited to participate. Individuals were evaluated through dermatological and neurological examination to indentify relapse or new leprosy cases. A skin biopsy of the suspected cases was collected for drug resistance investigation by sequencing. **Results:** This enrollment strategy allowed evaluation of 330 individuals, including 198 individuals that had completed treatment and 132 contacts. Fourteen treated individuals and 17 contacts were diagnosed with active disease. Amongst the 14 relapse cases, 7 had rifampicin and dapsone double resistance, and 3 only dapsone resistance. Among the 17 new cases, 3 had rifampicin and dapsone double resistance, one dapsone and one rifampicin resistance. All mutations in *rpoB* were in codon 53 (TCG to ATG; Ser to Met) while in the *folP1*, all occurred at codon 55, presenting CCC to CGC (Pro to Arg), CCC to GCC (Pro to Ala), and CCC to CTC (Pro to Leu) mutations. **Conclusion:** Genotypes occurring in both, reactivation and new leprosy cases, suggest transmission of the resistant strains (primary resistance), therefore, the disease control should focus on pockets of high endemicity of leprosy, often subjected to poor epidemiological surveillance due to logistic problems. **Keywords:** leprosy, genotyping, drug susceptibility.

POSTER N°: 118

### DETECÇÃO MOLECULAR DE MYCOBACTERIUM LEPRAE EM INDIVÍDUOS DE UMA ÁREA ENDÊMICA DO ESTADO DO CEARÁ

Luana Nepomuceno G C Lima<sup>1</sup>, João Carlos P Dantas<sup>2</sup>, Cristiane Cunha Frota<sup>3</sup>, Lígia Regina Sansigolo Kerr<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Evandro Chagas, Brasil; <sup>2-4</sup>Universidade Federal do Ceará. E-mail: uanalima@iec.pa.gov.br

**Justificativa e Objetivos:** O estudo da detecção de DNA do *M. leprae* em secreção nasal (SN) de pacientes e indivíduos saudáveis poderá complementar a epidemiologia da hanseníase. Este estudo avaliou a positividade de DNA de *M. leprae* na SN de pacientes com hanseníase e de indivíduos sadios, estudando

## POSTER PRESENTATION

a relação com fatores epidemiológicos. **Métodos:** Foram coletadas amostras de SN de 185 pacientes, de 136 indivíduos sem hanseníase (C1) que frequentavam o Centro de Dermatologia Dona Libânia em Fortaleza, Ceará e 121 alunos da Faculdade Christus em Fortaleza (C2). As amostras foram submetidas à extração de DNA e à amplificação da região RLEP por meio de PCR NESTED. **Resultados:** Foram RLEP positivo 69,2% dos pacientes, 66,9% de C1 e 28,1% de C2. O fato de o indivíduo ser homem, pertencer à classe socioeconômica D/E e a cada ano de idade que envelhece, aumenta a chance em 6,266, 3,083 e 1,046, respectivamente, dele ser PCR positivo. Na análise de distribuição geográfica dos indivíduos RLEP positivos, o grupo C1 foi o grupo de interseção entre os pacientes e C2 e em relação aos pacientes, os com baciloscopia positiva e RLEP positivo estiveram mais agrupados do que os com baciloscopia positiva e RLEP negativo. **Conclusão:** Foram constatadas altas taxas de positividade de DNA de *M. leprae* em amostras de SN, o que reflete no quanto o bacilo pode estar se disseminando nesta população, podendo estes indivíduos infectados estarem tendo um papel na manutenção do bacilo na comunidade. **Descritores:** Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Reação em Cadeia da Polimerase.

POSTER Nº: 148

### ANÁLISE MOLECULAR PARA A DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DO *Mycobacterium leprae* EM BIÓPSIAS DE PELE DE PACIENTES COM HANSENÍASE

Amanda Juliane Finardi<sup>1,2</sup>, Eloise Brasil de Moraes<sup>1,2</sup>, Beatriz Gomes Carreira Sartori<sup>1,2</sup>, Patrícia Sammarco Rosa<sup>2</sup>, Suzana Madeira Diorio<sup>2</sup>, Dejáir Caetano Nascimento<sup>2</sup>, Milton Ozorio Moraes<sup>3</sup> Ida Maria Foschiani Dias Baptista<sup>1,2</sup>

Faculdade de Medicina de Botucatu-Unesp<sup>1</sup>, Instituto Lauro de Souza Lima<sup>2</sup>, Fundação Oswaldo Cruz<sup>3</sup>  
E-mail: ifoschiani@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** A impossibilidade do cultivo em meio de cultura axênico do *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), dificulta os estudos *in vitro* e os ensaios clínicos mostram-se complicados pela lenta progressão do bacilo. O objetivo deste estudo é otimizar e aplicar a técnica de qPCR pela detecção de RNAr 16S para avaliação da viabilidade do *M. leprae* em biópsias de pele. **Métodos:** 17 pacientes com hanseníase foram diagnosticados e classificados de acordo com Ridley & Jopling. Os níveis de RNAr 16S de *M. leprae* em biópsia de pele e coxim plantar de camundongos foram determinados usando qPCR. Esses níveis foram normalizados por enumeração bacteriana, baseada em DNA da sequência repetitiva RLEP (específica para o *M. leprae*). **Resultados:** As avaliações foram realizadas em amostras clínicas com tempo zero de tratamento e aos 12 meses (final de tratamento) para pacientes multibacilares e para pacientes paucibacilares antes do tratamento e ao final deste (6

meses). Os resultados de rRNA 16S e RLEP foram positivos para todas as amostras de biópsia analisadas com CT variando 21,9 -36,1. As inoculações em pata de camundongo foram positivas com CT variando 29,8- 36,9. **Conclusão:** O ensaio de rRNA 16S é uma ferramenta útil na determinação da viabilidade do *M. leprae* e o monitoramento da eficácia do tratamento. **Descritores:** *Mycobacterium leprae*, qPCR, RNAr 16S. Financiamento FAPESP processo N° 2010/03693-9.

## ABSTRACTS NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA

POSTER Nº: 06

### EVALUATION ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF RAPIDLY GROWING MYCOBACTERIA BY RAPID COLORIMETRIC TEST

Ivy Bastos Ramis<sup>1,2</sup>, Margo Cnockaert<sup>2</sup>, Juan Carlos Palomino<sup>2</sup>, Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>1,3</sup>, Peter Vandamme<sup>2</sup>, Anandi Martin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Brazil; <sup>2</sup>Ghent University, Belgium; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brazil.  
E-mail: ivynha@hotmail.com

**Background and objective:** Rapidly growing mycobacteria (RGM) are increasingly recognized as causative agents of opportunistic infections in humans. For most RGM infections the therapy of choice is drug treatment. The aim of this study was to develop and standardize the resazurin microtiter assay (REMA) perform in 7H9 medium and the Mueller-Hinton (MH) medium with resazurin for drug susceptibility testing in RGM. **Methods:** The *in vitro* antimicrobial activities of 8 drugs: amikacin (AMK), cefoxitin (FOX), ciprofloxacin (CIP), clarithromycin (CLA), doxycycline (DOX), linezolid (LZD), moxifloxacin (MXF) and trimethoprim-sulfamethoxazole (STX) were evaluated against 48 RGM. The standard method was performed in cation-adjusted MH medium according to the CLSI and the REMA plate in 7H9 medium as described by Palomino et al., 2002 with minor modifications. REMA and MH microplates were incubated at 37°C and visually examined during five days. In the REMA and MH plates, resazurin was used to assess viability. The MH plates were interpreted also by the appearance of turbidity at the well before adding resazurin. **Results:** Full agreement of results was obtained between standard method (MH) and MH with resazurin. Only one strain (2.1%) for FOX/CLA/DOX/MXF was discordant. However, we had some differences between the reference method (MH) and REMA. Eight strains (16.7%) for FOX, six (12.5%) for CLA and DOX, nine (18.7%) for LZD, two (4.2%) for MXF and one (2.1%) for STX were discordant. **Conclusion:**

## POSTER PRESENTATION

As sometimes the end point readings with the standard method are difficult, the MH medium with resazurin could be a reliable alternative method for the rapid detection of drug resistance in RGM. **Keywords:** Drug susceptibility testing, mycobacterium, nontuberculous mycobacteria.

POSTER Nº: 12

### DOENÇA CAUSADA POR MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS (MNT): PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA

Heloisa da Silveira Paro Pedro<sup>1</sup>, Isabela Mazuco Mansur<sup>1</sup>, Andréa Gobbetti Vieira Coelho<sup>2</sup>, Liliana Aparecida Zamarioli<sup>2</sup>, Ana Carolina Chiou Nascimento<sup>2</sup>, Maria Izabel Ferreira Pereira<sup>1</sup>, Maria Rita de Cássia Oliveira Cury<sup>3</sup>, Susilene Maria Tonelli Nardi<sup>1</sup>, Erica Chimara<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Micobactérias, Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto (SP), Brasil; <sup>2</sup>Instituto Adolfo Lutz de Santos (SP), Brasil; <sup>3</sup>Secretaria Municipal de Saúde de São José do Rio Preto (SP), Brasil; <sup>4</sup>Instituto Adolfo Lutz Central, São Paulo (SP), Brasil.

E-mail: hspedro@ial.sp.gov.br

**Justificativa e Objetivo:** Apesar da elevada frequência de isolamentos de MNT nos laboratórios de micobactérias, são raros os estudos sobre as condições epidemiológicas e clínicas dos pacientes. Objetivou-se analisar retrospectivamente o perfil epidemiológico de pacientes com diagnóstico laboratorial confirmatório de micobacteriose. **Material e métodos:** Foi realizada análise retrospectiva dos pacientes com isolamento de MNT feito pelo Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto-SP (SJRP-SP) de 2000 a 2009. Os dados clínicos e epidemiológicos foram resgatados dos prontuários, unidades de saúde pública de SJRP-SP e da TBWEB, programa on line de notificação oficial de casos de tuberculose. **Resultados:** Foram analisados 135 pacientes com isolamento de MNT, maioria do gênero masculino (67,7%), média de idade 46,23 anos (DP 15,9) e maioria com ensino fundamental completo (39%). Em muitos casos, havia outra patologia associada, das quais 44% eram co-infecção pelo HIV (n=59). O maior número de isolamentos foi feito de sítio pulmonar (n=115, 88%), mas também foram isolados de sangue (n=13, 10%), de secreção de mama (n=3, 2%) e outros materiais (n=4, 2,9%). As espécies mais frequentes foram *M. avium* (n=48, 35,6%), *M. abscessus* subsp. *bolletii* (n=21, 15,5%), *M. fortuitum* (n=15, 11,1%) e *M. gordonae* (n=10, 7,4%). Do total, 95 pacientes (70%) foram notificados na TBWEB. **Conclusão:** O perfil epidemiológico dos pacientes com MNT assemelha-se ao de pacientes com tuberculose. Enfatiza-se a necessidade da realização sistemática da identificação de MNT e sua integração com a clínica. Estas informações podem contribuir na correta caracterização da doença e ações de efetivo controle. **Descritores:** Micobactérias não tuberculosas, epidemiologia, especificação. **Fomento:** Secretaria Es-

tadual de Saúde/Programa de Aprimoramento Profissional da Fundação do Desenvolvimento Administrativo (PAP/FUNDA/P/IAL); FAPERP de São José do Rio Preto-SP.

POSTER Nº: 51

### ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS AMBIENTAIS EM MATERIAL DE COMPOSTAGEM

Machado GE<sup>1</sup>, Oliveira DVC<sup>1</sup>, Junior JDL<sup>1</sup>, Matsumoto CK<sup>1</sup>, Leão SC<sup>1</sup>, Viana-Niero C<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP; <sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP.

**Justificativa e Objetivos:** O isolamento de micobactérias já foi descrito em uma infinidade de ambientes, tanto naturais (como em solo e água), como em ambientes domésticos ou relacionados ao homem. Nesse trabalho, foram isoladas pela primeira vez micobactérias ambientais de material de compostagem. A compostagem é um processo de decomposição controlada de materiais orgânicos por uma grande variedade de micro e macrorganismos com a geração de uma matéria final chamada de composto. A Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP) possui uma Unidade de Produção de Composto que recebe material de todo o Zoológico, tanto de origem vegetal como animal, para a produção de composto. Por abrigar uma rica e variada fauna, acreditamos que o material de compostagem da FPZSP possa servir como uma farta fonte de isolamento de micobactérias. **Métodos:** O isolamento das micobactérias utilizando o material coletado na FPZSP foi realizado no Setor de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do campus Diadema da UNIFESP, de onde foram enviados para o campus São Paulo para identificação. **Resultados:** Do total de 24 isolados identificados até o momento pelo método de PRA-hsp65, foram observados 11 isolados de *Mycobacterium fortuitum* 1, 4 isolados de *M. fortuitum* 2, 3 isolados de *Mycobacterium kumamotoense* 1, 1 isolado de *Mycobacterium smegmatis*, 1 isolado de *Mycobacterium peregrinum* 1, 3 isolados de *M. peregrinum* 2 e 1 isolado *M. peregrinum* 3. **Conclusão:** Portanto, o material de compostagem tem se mostrado uma fonte possível e variada para o isolamento de micobactérias ambientais, especialmente aquelas de crescimento rápido. **Descritores:** compostagem, micobactérias ambientais. **Financiamento:** FAPESP (projeto temático 2011/18326-4), CAPES, CNPq.

POSTER Nº: 56

### MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS EM LESÕES DE PELE: IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Lazara Moreira Trino<sup>1</sup>, Ana Elisa Fusaro<sup>1</sup>, Suzana Madeira Diório<sup>1</sup>

## POSTER PRESENTATION

*1*Instituto Lauro de Souza Lima, Brasil.  
E-mail: micro@ils.br

**Justificativa e Objetivos:** a incidência das infecções causadas por micobactérias não tuberculosas (MNT) tem aumentando progressivamente, inclusive entre indivíduos imunocompetentes. Isto se deve, em parte, à maior exposição do homem ao meio ambiente e a melhoria na qualidade dos métodos diagnósticos. A pele é um dos sítios frequentemente acometidos pelas MNT, porém seu diagnóstico muitas vezes é confundido com dermatites ou outras doenças dermatológicas. O objetivo deste estudo é mostrar a importância da suspeição clínica e da investigação laboratorial de lesões cutâneas com longo período de evolução sem regressão espontânea. **Métodos:** três indivíduos imunocompetentes, sem comorbidades, foram atendidos em um serviço de dermatologia com queixa de lesões em pele (placas eritematosas descamativas/nódulos) de evolução entre dois a sete anos. Foram coletas biópsias para exame histopatológico e cultura para fungos, bactérias e micobactérias. A identificação para MNT foi realizada a partir da cultura positiva e pelo método de análise por enzimas de restrição (PRA). Dois indivíduos tinham contato com aquário e outro trabalhava com conservação e limpeza; todos possuíam diagnóstico prévio de dermatite crônica, sendo tratados com corticóide e "pomada"; nessa ocasião não foi realizada cultura para fungos/bactérias. **Resultados:** em duas culturas foram isolados *Mycobacterium marinum* e em outra *Mycobacterium intracellulare*; não foram isolados fungos e bactérias; o histopatológico mostrou dermatite crônica granulomatosa, ocasionais granulomas epitelióides e BAAR negativo. Todos pacientes foram tratados com minociclina e claritromicina com melhora significativa das lesões. **Conclusão:** a suspeição de micobacteriose e a correlação clínico-laboratorial são fundamentais para o diagnóstico e terapêutica das MNT. **Descritores:** micobacterioses, pele, diagnóstico laboratorial.

POSTER Nº: 65

### CARACTERIZAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS (MNT) ISOLADAS DE PACIENTES INFECTADOS OU NÃO PELO HIV, ATENDIDOS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO NORDESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO ENTRE 2011 E 2014

Renata HC Pocente<sup>1</sup>, Fernanda Guioti Puga<sup>1</sup>, Sandra Moroti<sup>1</sup>, Margareta Passeri do Nascimento<sup>2</sup>, Jaqueline Otero Silva<sup>3</sup>, Erica Chimara<sup>4</sup>, Valdes R Bollela<sup>2</sup>

*1*Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Brasil; *2*Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Brasil; *3*Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto, Brasil; *4*Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Brasil.  
E-mail: rhcpocente@hotmail.com

**Introdução:** O isolamento de micobactérias não tuberculosas (MNT) tem aumentado nos últimos anos, independente se o paciente é ou não infectado pelo HIV. A maior sensibilidade das técnicas de cultivo tem resultado no maior isolamento tanto em número quanto em variedade de espécies, variando de acordo com a área geográfica. **Objetivo:** Descrever as espécies de MNTs, isoladas de amostras clínicas, e sua distribuição entre populações infectadas ou não pelo HIV. **Metodologia:** revisão do banco de dados entre 2011 e 2014, analisando a frequência das diferentes espécies de MNT em um hospital terciário. As amostras foram cultivadas no MGIT-960(BD<sup>®</sup>) e posteriormente identificadas pelo teste imunocromatográfico que detecta o AgMPT64 (Alere). A identificação da espécie de MNT foi feita pelo Instituto Adolfo Lutz pela técnica de PCR e análise de restrição de fragmento do gene *hsp65*. **Resultados:** foram isoladas 632 MNTs, sendo 189 identificadas ao nível de grupo. Das 443 com identificação da espécie, 44 (10%) foram de pacientes infectados pelo HIV, enquanto 399(90%) foram isoladas de pacientes não infectados pelo HIV. Foram identificadas 12 diferentes espécies. As três espécies mais comuns em pessoas infectadas pelo HIV foram: *M. avium* (61%); *M. intracellulare* (23%) e *M. abscessus* (7%). Entre os pacientes sem infecção pelo HIV as MNTs foram: *M. intracellulare* (53%); *M. abscessus* (18%); *M. avium* (12%). **Conclusão:** *M. intracellulare*, *M. abscessus* e *M. avium* são as espécies mais isoladas entre pacientes do nordeste paulista, e apresentam distribuição de frequência muito diferente entre as pessoas infectadas ou não pelo HIV. **Descritores:** Micobactérias não tuberculosas, infecções por HIV, diagnóstico.

POSTER Nº: 78

### EVALUATION OF A DNA LINE PROBE ASSAY FOR IDENTIFICATION OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA ISOLATES IN A PUBLIC HEALTH TUBERCULOSIS REFERENCE LABORATORY

Angela Pires Brandão<sup>1,2</sup>, Fernanda Cristina dos Santos Simeão<sup>1</sup>, Natália Fernandes Garcia de Carvalho<sup>1</sup>, Andreia Rodrigues de Souza<sup>1</sup>, Sabrina Nascimento<sup>3</sup>, Lucilaine Ferrazoli<sup>1</sup>, Erica Chimara<sup>1</sup>

*1*Instituto Adolfo Lutz; *2*Fundação Oswaldo Cruz; *3*Medivax, Brazil.  
E-mail: echimara@ial.sp.gov.br

**Background and Objectives:** Infections caused by nontuberculous mycobacteria (NTM) are increasingly reported as the cause of extrapulmonary and pulmonary diseases. Since treatment and management differ from tuberculosis, it is important to differentiate rapidly and accurately these mycobacteria. We evaluated the usefulness of the "Speed-oligo<sup>®</sup> Mycobacteria" DNA assay (SO-M; Vircell S.L., Granada, Spain) for the rapid identification of NTM species and *M. tuberculosis* Complex in a routine tuberculosis laboratory. **Methods:** SO-M assay was evaluated

## POSTER PRESENTATION

on 396 clinical NTM-suspected isolates received from January to June, 2012 at the Tuberculosis and Mycobacteriosis Branch of the Adolfo Lutz Institute to where mycobacterial isolates from the State of Sao Paulo, Brazil are sent for drug susceptibility testing and species identification. The DNA was extracted and SO-M test was performed following manufacturer's instructions. The results were compared to the PCR restriction-enzyme analysis of the *hsp65* gene assay (PRA-*hsp65*) and conventional phenotypic methods. For discrepant cases, *hsp65* gene was sequenced. **Results:** SO-M yielded favorable results in 80.3% (318/396) of isolates. Among the remaining 78 isolates which are being submitted to sequencing, 10 out of 27 were concordant, raising concordance to 82.9% and showing sensitivity may be higher. Final SO-M sensitivity will be assessed as we obtain all sequencing results. **Conclusion:** SO-M assay can ease the identification of 14 frequently encountered NTMs. The procedures are simple and the results may be available in far less time, which is very important to provide early and appropriate therapy and implement public health control measures. **Keywords:** Nontuberculous mycobacteria, Molecular probe techniques, Genetic speciation. **Funding:** The study was partially supported Medivax. **Conflicts of interest:** S. Nascimento is an employee of Medivax (Brazil).

POSTER Nº: 90

### EVOLUÇÃO CLÍNICO-RADIOLOGICA E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE DOENÇA PULMONAR POR *Mycobacterium abscessus*

Andréia R. Souza<sup>1</sup>, Natalia F. G. Carvalho<sup>1</sup>, Thais S. R. Di Gioia<sup>2</sup>, Roberta K. B. Sales<sup>3</sup>, Fernando Pavan<sup>4</sup>, Daisy N. Sato<sup>1</sup>, Erica Chimara<sup>1</sup>  
*1*Instituto Adolfo Lutz, São Paulo; *2*Laboratório de Microbiologia do DLC do HCFMUSP; *3* Divisão de Pneumologia do InCor - HCFMUSP; *4*Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara.  
E-mail: echimara@ial.sp.gov.br

**Justificativa e Objetivos:** Descrever um caso de infecção pulmonar por *Mycobacterium abscessus* com sua evolução clínico-radiológica, dados microbiológicos e genéticos atualizados com as descobertas quanto a identificação da subespécie e análise de resistência tardia (14 dias de incubação) à claritromicina. **Métodos:** Os aspectos clínicos foram obtidos no prontuário do HCFMUSP e os microbiológicos do banco de dados do Instituto Adolfo Lutz. As cepas foram reanalisadas: sequenciamento da região V do gene *rpoB* para identificação da subespécie e detecção de mutação no gene da metilase eritromicina ribossomal (*erm*) 41. O teste de suscetibilidade a claritromicina foi realizado pelo método de concentração inibitória mínima (MIC) com leitura estendida de 14 dias. **Resultados:** O paciente masculino de 79 anos, com antecedentes de três tratamentos para tuberculose pulmonar (último em 2003), hipertensão e diabetes. Feito diagnóstico de infecção por *M abscessus* após 2 escarros positivos. Iniciou tratamento com amicacina, claritromicina e levo-

floxacina, e depois com linezolida, claritromicina e levofloxacina, sem erradicação do mesmo, porém com estabilidade clínica e radiológica. As cepas foram identificadas como *M. abscessus*, com sequências idênticas. O MIC com três dias de leitura foi de MIC<0,5ug/mL (sensível), enquanto que, com 14 dias, apresentou MIC>64ug/mL (resistente). O sequenciamento do gene *erm* (41) revelou perfil T28, associado a resistência induzida. **Conclusão:** Apesar de evidente doença ativa, inclusive nas tomografias e a persistência das culturas positivas, a estabilidade clínica possivelmente devia-se ao uso de terapia combinada. A detecção da subespécie e a análise da resistência tardia a claritromicina mostraram-se fundamentais no manejo desta infecção. **Descritores:** *Mycobacterium abscessus*, doença pulmonar, resistência induzida à claritromicina.

POSTER Nº: 95

### ANÁLISE DA DOENÇA PULMONAR POR *Mycobacterium abscessus* lato sensu

Natalia F. G. Carvalho<sup>1</sup>, Andréia R. Souza<sup>1</sup>, Thais S. R. Di Gioia<sup>2</sup>, Roberta K. B. Sales<sup>3</sup>, Viviane C. R. Cardeal<sup>2</sup>, Fernando Pavan<sup>4</sup>, Daisy N. Sato<sup>1</sup>, Erica Chimara<sup>1</sup>  
*1*Instituto Adolfo Lutz, São Paulo; *2*Laboratório de Microbiologia do DLC do HCFMUSP; *3*Divisão de Pneumologia do InCor - HCFMUSP; *4*Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara.  
E-mail: echimara@ial.sp.gov.br

**Justificativa e Objetivos:** *M. abscessus* é a mais virulenta e resistente dentre o grupo de micobactérias de crescimento rápido. O estudo descreve o perfil clínico-radiológico, microbiológico e genético de casos de *M. abscessus* ocorridos em 2010 e 2011. **Métodos:** Os aspectos clínicos foram obtidos no prontuário do HCFMUSP e os microbiológicos do banco de dados do Instituto Adolfo Lutz. As cepas foram analisadas: sequenciamento da região V do gene *rpoB* para identificação da espécie e detecção de mutação nos genes *erm*(41) e *rrl*. O teste de suscetibilidade a claritromicina foi realizado pelo método de concentração inibitória mínima com leitura estendida de 14 dias. **Resultados:** Analisados 10 pacientes, idade média de 54,1(DP23,8). Quadro clínico geralmente com múltiplas infecções respiratórias e as alterações tomográficas mais evidentes foram nódulos centrolobulares com árvore em brotamento e lesões cavitárias. Todos os quatro casos de *M. massiliense* foram sensíveis a claritromicina (todas T28 e 2058A) e todos os quatro de *M. abscessus* apresentaram resistência a claritromicina, um com resistência em 3 dias (2058A) e os demais com resistência induzida (T28). Dos dois casos de *M. bolletii*, um foi sensível e um paciente teve isolamento de cepas sensíveis e uma resistente (todas T28 e 2058A). **Conclusão:** Devido ao pequeno número de amostras, não obtivemos perfil de evolução clínico-radiológico característicos por subespécie. A detecção da subespécie e a análise da resistência induzida à claritromicina mostraram-se importantes no manejo

# Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção



ISSN 2238-3360 | Ano IV - Volume 4 - Número 2 - 2014 - Abr/Jun

## POSTER PRESENTATION

da infecção, porém é necessário avançar na análise molecular com genotipagem para melhor correlacionar com a evolução clínica. **Descritores:** *Mycobacterium abscessus*, doença pulmonar, resistência induzida à claritromicina.

POSTER Nº: 104

### DISTRIBUIÇÃO E ENCERRAMENTO DOS CASOS DE INFECÇÃO PULMONAR POR *M. abscessus* NO ESTADO DE RONDÔNIA

Jenifer L.A Felipe<sup>1</sup>, Vanessa Cristine da Silva<sup>1</sup>, Maria Socorro Calixto de Oliveira<sup>1,3</sup>, Maria Manuela da Fonseca Moura<sup>1</sup>, Cleoni Alves Mendes de Lima<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Rondônia/UNIR/RO; <sup>2</sup>Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia/LACEN/RO. <sup>3</sup>Instituto Federal de Rondônia/IFRO-Brasil. E-mail: cleoniml@yahoo.com.br

**Justificativa:** O Complexo *Mycobacterium abscessus*, é o terceiro complexo de micobactérias não tuberculosas (MNT) mais frequente, responsável por infecções na comunidade em países desenvolvidos, composto por uma única espécie denominada *M. abscessus*, com duas subespécies: *M. abscessus* subsp. *abscessus* e *M. abscessus* subsp. *bolletii*. Em Rondônia é o primeiro grupo mais frequente. **Objetivos:** Avaliar a distribuição e encerramento dos casos de indivíduos com infecção pulmonar por *M. abscessus*. **Métodos:** A avaliação foi realizada em prontuários na Unidade de Referência responsável pelo tratamento dos casos de micobactérias não causadoras de tuberculose em Rondônia. **Resultados:** Foram notificados 12 casos de infecção pulmonar causadas por *M. abscessus* no Estado de Rondônia, período de 2008 a 2012. A distribuição do número de casos se deu em cinco municípios, Porto Velho (5), Ji-Paraná (2), Cacoal (2), Ariquemes (2) e Rolim de Moura (1). A forma de encerramento foi classificada em: óbito (25%) dos casos, abandono (25%), transferidos (10%) e Continuar em tratamento (40%). **Conclusão:** Observamos que o número de municípios representados com casos de *M. abscessus*, não revela a realidade de todo o Estado, os três primeiros municípios aqui representados realizam cultura para micobactérias. O município de Ariquemes tem maior proximidade a Porto Velho, mostrando assim, a necessidade de ampliar a realização do referido exame aos demais municípios. E quanto ao encerramento dos casos, não houve encerramento por cura, números de óbitos e abandonos são elevados, demonstrando assim, a gravidade desta infecção e a dificuldade na realização do tratamento como descrito na literatura. **Descritores:** Infecção Pulmonar, micobactérias não tuberculosas (MNT), *M. abscessus*.

POSTER Nº: 160

### INFECÇÃO PULMONAR POR *Mycobacterium abscessus*: RELATO DE CASO

Jaciara de Lourdes do Carmo Guimarães Diniz<sup>1</sup>, Ana Bárbara Scholante Silva<sup>1</sup>, Andrea von Groll<sup>1</sup>, Ramon Joaquim Hallal<sup>2</sup> e Pedro Eduardo Almeida da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande, Brasil; <sup>2</sup>Secretaria Municipal de Saúde - Pelotas RS, Brasil. E-mail: jaciara\_1988@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** *Mycobacterium abscessus* pode causar uma variedade de infecções, frequentemente associadas à pele e tecidos subcutâneos. Entretanto, também pode estar envolvido em severas infecções pulmonares, particularmente em pacientes com doenças pulmonares crônicas. **Resultados:** Um paciente do sexo masculino, 64 anos, não fumante, cardiopata em tratamento, criando pássaros há dois anos, apresentava tosse seca, dispnéia e cansaço, com microscopia do escarro apresentando BAAR positiva em duas amostras, iniciou o esquema RHZE, não aceitou bem mas usou por algum tempo. Com a continuidade dos sintomas, foi realizada uma tomografia que mostrou uma fibrose por amiodarona, medicamento usado há dez anos. Iniciou tratamento com prednisona e fluticasona/salmeterol, evoluiu bem, embora ainda apresentasse tosse produtiva. Com cultura positiva para micobactérias identificou-se como membro do complexo *M. abscessus* através de um teste comercial de hibridização reversa. **Conclusão:** o diagnóstico laboratorial, incluindo o cultivo e identificação molecular de espécie micobacteriana, foi essencial para identificar o *M. abscessus* como o agente etiológico associado a um quadro clínico característico de tuberculose pulmonar e assim, determinar a conduta terapêutica adequada para o tratamento deste paciente. **Descritores:** *M. abscessus*; infecção respiratória, diagnóstico

POSTER Nº: 180

### DIFERENCIAÇÃO DE ESPÉCIES DO COMPLEXO MYCOBACTERIUM AVIUM ISOLADAS DE ESPÉCIMES CLÍNICOS HUMANOS EM 7H10 SUPLEMENTADO COM VERMELHO CONGO, IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANO

Tatiana de Campos Rodrigues<sup>1</sup>, Ana Carolina da Silva Carvalho<sup>2</sup>, Leila de Souza Fonseca<sup>3</sup>, Marlei Gomes Silva<sup>3</sup>, Karen Machado Gomes<sup>3</sup>, Rafael Silva Duarte<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Rwth Aachen, Alemanha; <sup>2</sup>Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé; <sup>3</sup>CCS, IMPPG, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão. E-mail: anacarolinaufjrmacae@gmail.com

**Justificativa e Objetivos:** *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium intracellulare* são importantes patógenos oportunistas que não são facilmente identificados por testes fenotípicos nos laboratórios de rotina. O Vermelho Congo (VC) é um corante capaz de se ligar de forma diferente a lipídeos e a lipoproteínas da parede celular de algumas espécies bacterianas. O presente trabalho teve como objetivo diferenciar duas importantes espé-

## POSTER PRESENTATION

cies do complexo *Mycobacterium avium* (MAC) obtidas a partir de amostras hospitalares, por incorporação do VC, bem como a identificação molecular e avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos. **Métodos:** Vinte e sete amostras previamente identificadas como MAC por provas bioquímicas foram inoculadas em meio 7H10 contendo o 0,2% do corante VC. Depois desta diferenciação foram originadas 29 amostras. Para identificação molecular foi utilizada a PCR IS1245 e o método da PCR seguida de digestão enzimática (PRA- hsp65). Para susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi utilizado o método de concentração mínima inibitória (CMI) para rifampicina e claritromicina. **Resultado:** Onze amostras (38%) apresentaram colônias vermelhas, o que determina o fenótipo para *M. avium*, sendo nove (82%) delas positivas para PCR IS1245. Das 18 restantes brancas (fenótipo para *M. intracellulare*), cinco (27,7%) mostraram-se negativas para a IS1245. Não foi observada relação entre CMI e os dois diferentes morfotipos encontrados no VC. No PRA foi identificado três perfis diferentes: *M. avium* subsp. *avium* tipo I e II e *M. genavense* tipo II. **Conclusão:** A diferenciação dos morfotipos de MAC pelo crescimento em 7H10 com VC é um método barato e de simples execução. **Descritores:** Micobactéria, vermelho congo, PCR

POSTER Nº: 186

### PULMONARY NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIAL DISEASE, TEN YEARS OF FOLLOW-UP IN AN AMBULATORY SETTING

Gisela Unis<sup>1</sup>, Claudia Dias, Maiara Carneiro<sup>2</sup>, Luciana Nunes

<sup>1</sup>Hospital Sanatório Partenon, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: giunis@terra.com.br

**Background:** To identify epidemiological aspects of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease (PNTM) in south of Brazil and review brazilian literature, a retrospective study had been performed. **Methods:** Clinical record data of 89 patients with at least one respiratory culture positive for nontuberculous mycobacteria from a reference ambulatory of Rio Grande do Sul (RS) were analyzed, from 2003 till 2013. **Results:** An increase of patients with PNTM was observed over these years. The most prevalent species were: *Mycobacterium avium* complex, 34(38,2%), *M. kansasii*, 16(18%) and *M. abscessus*, 11(12,4%), comprising 68,6% of the identified species. The main associated conditions were bronchiectasis, 19(24,6%), AIDS, 17(21,6%) and chronic obstructive pulmonary disease, 11(14,6%). Overall, 78 (87,6%) had been treated for tuberculosis before the diagnosis and 62 (69,7%) patients met the ATS criteria for PNTM. **Conclusions:** As PNTM is not a notifiable condition, few is known about the epidemiology of the disease in Brazil. In RS, the number of reports increased considerably in ten years, *M. avium* complex is

the main pathogen diagnosed and PNTM is often misdiagnosed as tuberculosis showing the urgency for enhanced diagnosis and surveillance of the disease. **Keywords:** pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, epidemiology, PRA.

POSTER Nº: 207

### PLANT EXTRACTS ISOLATED FROM THE BRAZILIAN PANTANAL PRESENT ANTIMICROBACTERIAL ACTIVITY IN VITRO AGAINST *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*

Jacqueline Souza Amaral Melo<sup>1</sup>, Rogério Coutinho das Neves<sup>1</sup>, Carlos Alexandre Carollo<sup>2</sup>, Amanda Galdi Boaretto<sup>2</sup>, Ana Paula Junqueira-Kipnis<sup>1</sup>, André Kipnis<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil. E-mail: jacquelinesamelo@gmail.com

**Background and Objectives:** Tuberculosis is a contagious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Despite of being discovered hundreds of years ago, it continues to be a serious global public health problem mainly because of the increase of cases of multidrug resistant tuberculosis; therefore, the development of new drugs is necessary. One of the favorable perspectives for the discovery of new drugs to treat mycobacteriosis is the screening of plant extracts. Thus, the goal of this study was to evaluate the possible antimycobacterial activity of four plant extracts; BEPAN 27, 36, 50 and 76 derived from the Brazilian pantanal flora biodiversity that might be used as an alternative treatment of diseases caused by mycobacteria. **Methods:** The antimycobacterial activity was evaluated by incubating for two days *M. abscessus* subsp. *bolletii*, strain GO 06 in different concentrations of the extracts. The growth inhibition was evaluated by plating each test in Mueller Hinton agar for CFU/mL determination. Inhibition was calculated as a percentage of growth compared to growth in media only controls. **Results:** Our studies showed that the plant extracts BEPAN 36 and 76 (from *Paullinia pinnata* and *Anadenanthera colubrina*, respectively) presented antimycobacterial activity of 100% and 71%, in the concentrations of 0,14µg/mL and 1,15µg/mL, respectively, whereas the extracts BEPAN 50 and 27 (from *Lafoensia pacari* and *Randia armata*, respectively) presented antimycobacterial activity of 98.2% and 68.5%, respectively, both with the concentration of 200µg/mL. **Conclusion:** The results showed that the BEPAN plant extracts tested have significant antimycobacterial activity against *M. abscessus* subsp. *bolletii* in vitro. **Keywords:** Mycobacteria, tuberculosis, BEPAN

POSTER Nº: 209

### EVALUATION OF GENOTYPE<sup>®</sup> *Mycobacterium* CM/AS ASSAY FOR IDENTIFICATION OF MEMBERS OF THE

## POSTER PRESENTATION

### ***Mycobacterium chelonae*-*M. abscessus* GROUP**

Christiane Lourenço Nogueira<sup>1</sup>, Cristianne Kayoko Matsumoto<sup>1</sup>, Juan Carlos Palomino<sup>2</sup>, Peter Vandamme<sup>2</sup>, Anandi Martin<sup>2</sup>, Sylvia Cardoso Leão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>2</sup>University of Ghent, Faculty of Science, Laboratory of Microbiology, Gent, Belgium.  
E-mail: [nogueira.chris@gmail.com](mailto:nogueira.chris@gmail.com)

**Background and Objective:** Nontuberculous mycobacteria are ubiquitous environmental organisms that can cause opportunistic infections in humans, especially the species belonging to *M. chelonae*-*M. abscessus* group. This group comprises five closely related species: *M. chelonae*, *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *bolletii*, *M. immunogenum*, *M. salmoniphilum* and the recently proposed "*M. franklinii*". GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain, LifeScience, Germany), common mycobacteria (CM)/additional species (AS), is a commercial DNA strip assay for rapid mycobacteria identification. GenoType CM is capable of identifying 23 species and GenoType AS identifies 14 additional species. Despite the limited number of identifiable species, this test is fast and could be used in laboratories that don't have sequencing facilities. **Methods:** Since *M. immunogenum*, *M. salmoniphilum* and "*M. franklinii*", have not been consistently evaluated with the GenoType assay, and considering the importance of correct *M. chelonae*-*M. abscessus* species identification for outbreak surveillance and clinical management of patients, we tested the type strains *M. abscessus* subsp. *abscessus* ATCC19977, *M. abscessus* subsp. *bolletii* CCUG50184, *M. chelonae* ATCC35752, *M. immunogenum* ATCC700505, *M. salmoniphilum* ATCC13758, "*M. franklinii*" DSMZ45524, and 22 clinical and environmental isolates. **Results:** Genotype CM identified correctly the species *M. abscessus* and *M. chelonae*. The other type strains and the clinical and environmental isolates showed the *M. chelonae* GenoType CM profile. **Conclusion:** GenoType AS did not discriminate the species of this group. In conclusion, GenoType is a suitable test for identifying strains as belonging to *M. chelonae*-*M. abscessus* group, but is not capable of distinguishing all individual species of this group. **Keywords:** MNT, Genotype, *M. chelonae*-*M. abscessus* group. **Financial support:** FAPESP (projeto temático 2011/18326-4, bolsa de Doutorado 2012/13763-0).

POSTER Nº: 223

### **BCF-1 POSSUEM MAIOR RESISTÊNCIA A INFEÇÃO POR "*Mycobacterium massiliense*"**

Joyce Moreira Camargo<sup>1</sup>, Fábio Muniz de Oliveira, Monalisa Martins Trentini, André Kipnis, Ana Paula Junqueira-Kipnis

<sup>1</sup>Universidade Federal de Goiás, Brasil.  
E-mail: [joycemoreiracamargo@hotmail.com](mailto:joycemoreiracamargo@hotmail.com)

**Justificativa e Objetivos:** "*Mycobacterium massiliense*" é uma micobactéria de crescimento rápido, amplamente distribuída no ambiente, particularmente no solo e na água. Elas estão esporadicamente envolvidas em infecções nosocomiais. Ainda não está bem claro como essas micobactérias desencadeiam uma resposta imune no hospedeiro, porém acredita-se que o mecanismo de defesa seja semelhante ao estabelecido pelo *M. tuberculosis*. Foi demonstrado que camundongos C57BL/6 controlam melhor a infecção por "*Mycobacterium massiliense*" que camundongos BALB/c, reduzindo a carga bacteriana no baço (Sousa et. al, 2010. Acute immune response to *Mycobacterium massiliense* in C57BL/6 and BALB/c mice. *Infect. Immun.* 2010 Apr;78(4):1571-81), o que é justificado pelo fato de que camundongos C57BL/6 tendem a induzir altos níveis de linfócitos Th1, enquanto camundongos BALB/c apresentam uma resposta imune mais moderada. Acredita-se que uma linhagem híbrida BCF-1 (BALB/c x C57BL/6) permitiria a compreensão dos mecanismos de infecção e qual a resposta imune ideal para o controle desta. **Métodos:** Camundongos BCF-1 foram infectados com "*Mycobacterium massiliense*" (via endovenosa, 10<sup>6</sup>CFU/animal). A cinética da quantidade da carga bacilar no fígado, baço e pulmão foram determinadas. **Resultados:** Com sete dias de infecção foi observado nos órgãos dos camundongos BCF-1 um aumento da carga bacilar em comparação ao dia 1, em contrapartida ao longo da infecção houve uma redução significativa da carga bacilar em todos os órgãos avaliados. **Conclusão:** Camundongos BCF-1 mostram-se mais resistentes a infecção por "*Mycobacterium massiliense*" que camundongos C57BL/6 e BALB/c, pois reduzem a carga bacilar progressivamente ao logo da infecção. **Descritores:** BCF-1, *M. massiliense*.

## ABSTRACTS

### **Veterinary Importance *Mycobacteria***

POSTER Nº: 82

### **COMPARISON OF VIRULENCE GENES OF TWO *Mycobacterium bovis* STRAINS BY NEXT-GENERATION WHOLE GENOME SEQUENCING**

Ana Beatriz Canevari Castelão<sup>1</sup>, Cristiane Nishibe, Martín José Zumárraga, Angel Adrian Cataldi, Federico Carlos Blanco, Antônio Augusto Fonseca Júnior, Mikael Arrais Hodon, Paulo Martins Soares Filho, Marina de Azevedo Issa, Nalvo Franco Almeida, Flávio Ribeiro de Araújo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil; <sup>2</sup>Embrapa Gado de Corte, Brasil.  
E-mail: [anabia\\_85@yahoo.com.br](mailto:anabia_85@yahoo.com.br)

## POSTER PRESENTATION

*Mycobacterium bovis* is the causative agent of bovine tuberculosis, a chronic infectious disease from cattle that can also affect other domesticated species, wild animals and humans, with worldwide annual losses to agriculture of US\$3 billion. Using next-generation WGS platforms, two strains of *M. bovis* have been sequenced recently, namely AN5, used to produce PPD (purified protein derivative) for the intradermal test for bovine tuberculosis, and 04-303, an Argentinean strain from wild boar. In mice, AN5 showed moderate virulence, producing 50% mortality after 4 months of infection. In contrast, strain 04-303 induced 100% mortality by 6 weeks after infection. This study aimed to analyze a repertoire of virulence-related genes present in both genomes. One hundred and thirty virulence genes were analyzed by Blastn and Blastx, using AF2122/97 as a reference genome. Nucleotide mutations were found in 10 genes of 04-303: 2 silent mutations (no amino acid changes), 7 missense mutations (amino acid substitution), and 1 deletion (frameshift). Mutations were found in 16 genes of AN5 strain: 3 silent mutations, 12 missense mutations and 1 deletion. Seven of these mutations were common to both isolates, including the frameshift mutation in Mb1974 gene (probable oxidoreductase). A more deep analysis of these genes will be done and certainly will be very important in uncovering evolutionary relationship and virulence issues among these and others *M. bovis* isolates. **Key-words:** *Mycobacterium bovis*, virulence genes, bovine tuberculosis. **Financial support:** Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul – FUNDECT and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

POSTER Nº: 83

### AVALIAÇÃO DE QUIMERA RECOMBINANTE DE MPB70, MPB83 E ESAT-6 PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Mycobacterium bovis* POR ELISA

Ingrid Ieda Fernando de Souza Meneses<sup>1</sup>, Elaine Silva de Pádua Melo, Carlos Alberto do Nascimento Ramos, Thaís Araújo Farias, Ana Luiza Alves Rosa Osório, Klaudia dos Santos Gonçalves Jorge, Carlos Eugênio Soto Vidal, Altino de Sousa e Silva, Márcio Roberto Silva, Aiesca O Pellegrin, Ana Beatriz Canevari Castelão, Flávio Ribeiro de Araújo<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil <sup>2</sup>Embrapa Gado de Corte, Brasil;  
E-mail: ingridsbio2005@gmail.com

Tuberculose bovina é uma enfermidade infecciosa e crônica, causada pela bactéria *Mycobacterium bovis*, responsável por consideráveis perdas econômicas, além de constituir problema de saúde pública. Os programas de controle são baseados no teste-abate, com base na tuberculinização intradérmica. Porém este teste possui limitações, tornando-se necessários outros métodos para garantir a confiabilidade do diagnóstico. Um teste

sorológico, como o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), pode incrementar a cobertura diagnóstica desta doença. Assim, o objetivo neste estudo foi produzir a proteína recombinante quimera com fragmentos hidrofílicos de MPB70, MPB83 e ESAT-6 de *Mycobacterium bovis* e avaliá-la como antígeno em ensaios ELISA. O gene foi clonado no plasmídeo de expressão pET-47b(+), expresso em *E. coli* Rosetta e purificado por cromatografia de afinidade por metal imobilizado. A proteína foi testada por ELISA com 126 soros de animais negativos ao teste cervical comparativo (TCC) e 107 soros de bovinos positivos ao TCC. Também, foram testados 236 soros de bovinos de corte livres de tuberculose. A quimera demonstrou boa concordância com o TCC (índice kappa de 0,688), com sensibilidade de 83,2% e especificidade de 86,5%. As absorvâncias dos soros de bovinos livres de tuberculose no ELISA tiveram níveis semelhantes ao observado nos animais positivos no TCC. Isto pode ser devido à realização de consecutivos testes de tuberculinização nesses animais, o qual é necessário para caracterização do rebanho como livre de tuberculose. No entanto, o ensaio ELISA com a quimera foi útil para discriminar animais positivos e negativos em rebanhos para posterior confirmação pelo TCC. **Descritores:** ELISA, Quimera, *Mycobacterium bovis*. **Apoio Financeiro:** Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul – FUNDECT. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

POSTER Nº: 93

### PRODUCTION OF HOMOGENEOUS RECOMBINANT ANTIGEN 85B OF *Mycobacterium bovis*

Caroline Rizzi<sup>1</sup>, Ana Carolina Peiter<sup>1</sup>, Júlia Labonde<sup>1</sup>, Amanda Soares<sup>1</sup>, Odir Antônio Dellagostin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal University of Pelotas, Brazil.  
E-mail: ccrizzi@yahoo.com.br

**Background and Objectives:** Bovine tuberculosis (TB) is a disease that constitutes an important economic and zoonotic problem in Latin America. *Mycobacterium bovis* antigen 85B (Ag85B) is the bacillus immunodominant antigen and a promising target for vaccine and diagnosis development. Ag85B combined with other immunogens is considered as being a potential diagnostic tool for TB ELISA assay. Anti-Ag85B antibodies have high sensitivity and specificity for mycobacteria detection in commercial tests. However, production of recombinant mycobacterial proteins in *Escherichia coli* is usually unsuccessful. Here we describe the homogeneous recombinant Ag85B overexpression by *Mycobacterium smegmatis*, a fast growing mycobacterial specie. **Methods:** Synthetic oligonucleotide primers were designed using Vector NTI software, based on the *M. bovis* AF2122/97 complete genome sequence. These primers were

## POSTER PRESENTATION

used for PCR amplification of *fbpB* gene, which was cloned into pUP410 mycobacterial expression vector. *M. smegmatis* mc2 electrocompetent cells were transformed with recombinant vector and grown in selective medium containing kanamycin. The cultures were lysed by sonication. Ag85B expression was detected at soluble and insoluble fractions by western blot employing mouse polyclonal anti-Ag85B and anti-histidine antibodies. The soluble fraction was submitted to chromatographic purification using nickel affinity columns. **Results:** The recombinant antigen expression with expected molecular mass was observed in the soluble fraction of transformed *M. smegmatis*. High levels of expression of Ag85B compared to controls occurred and the homogeneous Ag85B was obtained by chromatographic purification. **Conclusions:** The recombinant antigen production by *M. smegmatis* will enable the subsequent production of polyclonal and monoclonal antibodies against Ag85B. **Keywords:** Bovine tuberculosis, 85B antigen.

POSTER Nº: 99

### RESPUESTA INMUNOLÓGICA CONTRA LA TUBERCULOSIS CONFERIDA POR LA VACUNACIÓN EN RATONES CON DIFERENTES CEPAS MUTANTES DE *Mycobacterium bovis*

Elizabeth A. García<sup>1</sup>, María Verónica Bianco<sup>1</sup>, Federico Blanco<sup>1</sup>, María José Gravisaco<sup>1</sup> y Fabiana Bigi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Argentina.

E-mail: bigi.fabiana@inta.gov.ar

**Introducción y objetivos:** La respuesta inmunológica a las micobacterias patógenas es compleja e involucra a diversos componentes del sistema inmune. Su caracterización es de gran relevancia para determinar la efectividad de nuevos candidatos vacunales. En un trabajo previo generamos mutantes en los genes *mce2* y *phoP* de *Mycobacterium bovis*, el agente causal de la tuberculosis bovina, que ensayadas como candidatos vacunales mostraron niveles de protección similares a BCG en el modelo de ratón. Para profundizar en la respuesta inmunológica que desarrollan estos candidatos vacunales se determinó los niveles de citoquinas secretadas por esplenocitos de ratón estimulados con PPDB luego de 45 días post-vacunación. **Métodos:** Para ello, se utilizó un kit de perlas para analizar múltiples citoquinas relacionadas con las respuestas tipo Th1, Th2 y Th17 mediante el uso del citómetro de flujo. **Resultados y conclusiones:** Los resultados obtenidos muestran una respuesta inmune similar entre las cepas analizadas, sugiriendo una fuerte respuesta inmune tipo Th1.

POSTER Nº: 103

### PARATUBERCULOSIS DIAGNOSIS IN

### CALVES EXPERIMENTALLY INFECTED WITH ARGENTINEAN ISOLATES

Bárbara Fernández, Silvia B. Colavecchia, Ana Jolly, Leonardo Minatel, Ana Stempler, María L. Fortuny, Giselle Ingratta, Silvia Hajos, Fernando A. Paolicchi, Silvia L. Mundo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

E-mail: smundo@fvet.uba.ar

**Background and objective:** Johne's disease, caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), is a chronic granulomatous enteritis affecting ruminants. The aim of this work was to evaluate fecal culture, serology, IFN- $\gamma$  production, intradermal test and histopathology in order to indentify infection in experimental challenged calves. **Methods:** Two month old-Holstein calves were infected with 200 mg wet weight of two different bovine Map isolates (two RFLP patterns: A, n=3; C, n=2) or mock infected (MI, n=2). Fecal cultures, specific IgG, IgG1 and IgG2 against Map-protoplasmic antigen (PPA) and Map whole bacteria (wMap), avian purified protein derivative (PPDa) and bovine purified protein derivative (PPDb) specific IFN- $\gamma$  production were evaluated monthly. Intradermal test (IT) and histopathology were studied at 160 and 180 days post-infection (dpi) respectively. **Results:** Map-infected calves (4/5) were positive to fecal culture and the isolates were confirmed by IS900-PCR. Map-infected animals were not detected by PPA-ELISA for IgG meanwhile, wMap-ELISA could identify infected calves (4/5), since 80 dpi. Interestingly, the use of anti-bovine IgG2 improved the identification of Map-infected calves by both ELISAs (5/5). IFN $\gamma$  production was variable, detecting an increase of PPDa specific in A at 90 dpi. In addition, all infected calves showed reactivity by IT and incipient granulomatous lesions by histopathology. **Conclusion:** Our results demonstrate the development of an early humoral immune response in Map-experimentally infected calves and suggest that serological diagnostic tools currently applied might be reconsidered. Diagnostic strategies should be modified (new antigens and isotypes targeted) in order to improve identification of Map-infected bovines. **Keywords:** Paratuberculosis; bovine; diagnosis.

POSTER Nº: 106

### *Mycobacterium bovis* EN ARGENTINA Y BRASIL: GENOTIPIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS OBTENIDOS ENTRE 2011 Y 2014

Martín José Zumárraga<sup>1</sup>, Daniela de O. Czozala<sup>2</sup>, Analía Macías<sup>3</sup>, Gabriel Magnano<sup>3</sup>, Soledad Barandiaran<sup>4</sup>, Sergio Garbaccio<sup>5</sup>, Fernando Paolicchi<sup>6</sup>, Claudia Morsella<sup>6</sup>, Gabriel Travería<sup>7</sup>, Klaudia dos S. G.

Jorge<sup>2</sup>, Antônio F. Souza-Filho<sup>8</sup>, Ana Luiza A. R. Osório<sup>2</sup>, Cristina Corsi Dib<sup>9</sup>, Eliana Roxo<sup>9</sup>, Angel Cataldi<sup>1</sup>, Flávio Ribeiro de Araújo<sup>10</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina; <sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil; <sup>3</sup>Facultad de Veterinaria,

## POSTER PRESENTATION

Universidad de Río Cuarto, Córdoba, Argentina; 4Facultad de Veterinaria, Universidad de Buenos Aires, Argentina; 5Instituto de Patobiología, INTA, Castelar, Argentina; 6Estación Experimental Agropecuaria, INTA, Balcarce, Argentina; 7Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, La Plata, Buenos Aires, Argentina; 8Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil; 9Instituto Biológico, São Paulo, Brasil; 10EMBRAPA, Gado de Corte, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: zumarraga.martin@inta.gob.ar

**Introducción y objetivos:** Argentina y Brasil poseen 51 y 189 millones de cabezas de ganado respectivamente, con una prevalencia de TBB estimada en 0,3% y 0,4-3,6% cada uno. El conocimiento de los genotipos circulantes y su relación, permite dar explicaciones ante posibles brotes de TBB, por eso el objetivo de este trabajo es genotipificar y comparar aislamientos de *M. bovis* de Argentina y Brasil. **Métodos:** Se tipificaron 258 aislamientos de *M. bovis* (115 de Argentina y 143 de Brasil) por spoligotyping. Los spoligotipos fueron analizados con el programa BioNumerics (Applied Maths, Bélgica) y el PhyloViz. **Resultados:** Se detectaron 50 spoligotipos, (30 de Brasil, 16 de Argentina y 4 compartidos por ambos países). El 58% de los aislamientos estudiados de Argentina estuvieron agrupados en el spoligotipo SB0140, mientras que el más frecuente de Brasil (SB1145) agrupó al 13% de los mismos. Se detectaron 4 complejos clonales, de los cuales uno relacionó a 16 spoligotipos (5 de Argentina, 10 de Brasil y uno compartido) correspondientes al 35% de los aislamientos, siendo el SB0120 el genotipo fundador. El segundo involucró al 26% de los aislamientos, relacionó a 6 spoligotipos (4 de Argentina y 2 compartidos), y tuvo por genotipo fundador al SB0140, el más frecuente en Argentina. Los restantes fueron de aislamientos de Brasil con dos spoligotipos cada uno. **Conclusiones:** El spoligotipo predominante en Brasil nunca fue detectado en Argentina, mientras que el más frecuente de Argentina, es minoritario en Brasil. El análisis eBURST permitió visualizar cómo se correlacionaron los spoligotipos en cada país. **Descriptor:** *Mycobacterium bovis*, genotipificación, tuberculosis bovina.

POSTER N°: 146

## USO DE SIG PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO AMBIENTAL SOBRE LA PRESENCIA DE REACCIONES FALSO-POSITIVAS A LA PRUEBA TUBERCULINICA ANO CAUDAL EN REBAÑOS BOVINOS DE CUATRO COMUNAS DE LA REGION DE LOS RIOS

Eduardo Raffo<sup>1</sup>, Luis Pablo Hervé<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Austral de Chile, Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias; <sup>2</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Departamento de Ciencias Clínicas. Chile.

E-mail: edoraffo@gmail.com.

**Introducción y Objetivos:** La Región de los Ríos presenta una muy baja prevalencia de Tuberculosis bovina a nivel de rebaños (<5%), sin embargo es frecuente la presencia de reacciones falso positivas (RF+) al aplicar pruebas diagnósticas como la prueba ano-caudal con PPD Bovino (PAC). El objetivo del presente trabajo es definir si existe una característica ambiental que favorezca la aparición de estas reacciones en la Región. **Métodos:** Se obtuvieron las coordenadas geográficas de todos los rebaños bovinos confirmados negativos a la presencia de infección por *Mycobacterium bovis* durante el periodo 2010-2014 (N=218) de cuatro comunas de la Región, clasificando los rebaños en: Negativos (n=168) y Negativos con reaccionantes (n=56). La información obtenida se utilizó para construir un SIG (sistema de información geográfico) mediante Quantum GIS 2.4.0. Las características geográficas obtenidas desde cada punto fueron posteriormente tabuladas y analizadas mediante Infostat para evaluar correlaciones. **Resultados:** Sólo pudo determinarse diferencias estadísticamente significativas para Elevación, observándose que es más probable la presencia de RF+ en rebaños que se encuentren por debajo de los 27 m.s.n.m., y Drenaje, donde es más posible la aparición de RF+ en rebaños en suelos con buen drenaje. **Conclusiones:** Las características ambientales no juegan un rol importante en la presencia RF+ a la PAC salvo por la Elevación y Drenaje y esto probablemente se deba a la posibilidad de la presencia y permanencia de especies vectores de agentes infecciosos como *Mycobacterium avium*, principal implicado en este tipo de reacciones cruzadas, más que a características ambientales propias de cada sector. **Descriptor:** *Mycobacterium bovis*, Diagnóstico, Ambiente.

POSTER N°: 181

## IMUNODETECCIÓN DE ANTÍGENO MICOBACTERIANO NAS FEZES DO GADO BOVINO COM PARATUBERCULOSE

Giliane S. de Souza<sup>1</sup>, Ana Bárbara Freitas Rodrigues<sup>2</sup>, Maria Isabel Romano<sup>3</sup>, Elena Lassounskaia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia do Reconhecer do Centro de Biociências e Biotecnologia e <sup>2</sup>Laboratório de Sanidade Animal do Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, RJ- Brasil <sup>3</sup> Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Buenos Aires, Argentina. E-mail: giguienf@hotmail.com

**Justificativa:** A Paratuberculose bovina (PTB) continua entre os maiores problemas veterinários provocando grandes perdas econômicas, principalmente nos países de agropecuária industrial. Sua incidência no Brasil é subestimada por falta de métodos sensíveis e específicos, além de simples e baratos, para o diagnóstico precoce. Sabe-se que a bactéria causadora da PTB, *M. avium* subesp. paratuberculosis (MPTB), secreta alguns antígenos, incluindo a proteína Apa. **Objetivo:** Verificar a presença do antígeno Apa nas fezes de bovinos com forma clínica da doença. **Metodologia:** Para detecção e isolamento do antígeno Apa nas fezes utilizamos

## POSTER PRESENTATION

os anticorpos monoclonais, Mab, específicos que foram produzidos no nosso laboratório (Souza et al., 2011). Os sobrenadantes das fezes dos bovinos com manifestações clínicas da PTB e animais sadios foram submetidos à imunoprecipitação utilizando os Mabs anti-Apa e proteína A/G-agarose. A presença da proteína Apa foi verificada através da análise do imunoprecipitado por Western blotting. Soro policlonal anti-Apa foi utilizado como anticorpo de detecção. **Resultado:** Os resultados demonstram a presença do antígeno Apa MPTB somente nas fezes dos bovinos com paratuberculose, diferentemente dos animais saudáveis. **Conclusão:** Os dados obtidos são promissores para utilização da proteína Apa como alvo de imunodiagnóstico. **Descritores:** Paratuberculose bovina, Fezes, Antígenos.

POSTER Nº: 194

### CONFIRMAÇÃO MOLECULAR, POR NESTED-PCR, DA INFEÇÃO POR *Mycobacterium* spp. EM LESÕES SUGESTIVAS DE TUBERCULOSE PRESENTES EM CARCAÇAS DE BOVINOS ABATIDOS EM TAILÂNDIA, PARÁ

Ismari Perini Furlaneto<sup>1</sup>, Emilyn Costa Conceição<sup>2</sup>, Ana Roberta Fusco da Costa<sup>3</sup>, Gerlane Nunes Noronha<sup>4</sup>, José de Brito Lourenço Júnior<sup>4</sup>, Alex Brito Souza<sup>3</sup>, Alberto Mello e Silva Giordano<sup>3</sup>, Rafaela de Barros Nóbrega<sup>5</sup>, Paula Carine de Oliveira Medeiros<sup>5</sup>, Karla Valéria Batista Lima<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>Universidade do Estado do Pará, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil; <sup>3</sup>Instituto Evandro Chagas, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal do Pará, Brasil; <sup>5</sup>Centro Universitário do Pará, Brasil.  
E-mail: ismaripf@hotmail.com

**Justificativa e Objetivos:** O Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) é formado por espécies causadoras de tuberculose (TB) em humanos e animais, dentre as quais se encontra o *M. bovis*, principal agente da TB bovina. A infecção pelo *M. bovis* traz sérios prejuízos à pecuária e tem importantes impactos na saúde pública devido ao caráter zoonótico do bacilo. Atualmente, o diagnóstico da TB bovina é presuntivo, baseado em testes de tuberculinização e, principalmente, achados de abatedouros-frigoríficos durante inspeção sanitária oficial, levando à condenação das carcaças. Assim, avaliou-se o uso da PCR para confirmação molecular da infecção por micobactérias. **Métodos:** Dezoito amostras de lesões presuntivas de TB localizadas em linfonodos e coletadas durante inspeção sanitária, foram submetidas à extração pelo método de fenol-clorofórmio, e, posteriormente à Nested-PCR utilizando iniciadores disponíveis na literatura (*hsp65A/B* e *TB11/12*), e à PCR convencional, utilizando iniciadores desenhados em nosso Laboratório, que amplificam um fragmento de 110pb, específico do CMTB, inserido no gene *hsp65*. **Resultados:** Na Nested-PCR foi possível detectar a amplificação do fragmento de 441pb do gene *hsp65* em 5.56% (1/18) das amostras enquanto que na PCR convencional não foi possível visualizar o amplicom, sendo que os

controles positivos (*M. bovis* BCG/H37Rv) apresentaram amplicons de tamanho esperado em ambos os métodos. **Conclusão:** Estes resultados evidenciam a necessidade de avaliar outros métodos de extração e purificação de DNA a partir desse tipo de amostra, que possui muitos inibidores, assim como realizar cultura e avaliar outros marcadores moleculares, para então correlacionar as características macroscópicas das lesões com a infecção por micobactérias. **Descritores:** *Mycobacterium bovis*, Tuberculose bovina, Reação em Cadeia da Polimerase.

POSTER Nº: 242

### EVALUACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS COMPARADAS CON EL DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL DE LA ENFERMEDAD DE JOHNE GENERADA POR *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP)

Roberto Damian Moyano<sup>1</sup>, Luis Peralta<sup>2</sup>, Fiorela Alvarado Pinedo<sup>2</sup>, Marina Forrellard<sup>1</sup>, Gabriel Traveria<sup>2</sup>, Maria Isabel Romano<sup>3</sup>  
<sup>1</sup> Becario de CONICET. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias. FCV. UNLP. Alvear y Salta (7139), Chascomús. <sup>3</sup> Investigadora principal CONICET. Buenos Aires, Argentina.

**Introducción y Objetivos:** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), es miembro del complejo *Mycobacterium avium* (MAC) y agente etiológico de la paratuberculosis bovina (PTB). Es un microorganismo ácido-alcohol resistente por tinción Ziehl-Neelsen (ZN) y Gram positivo. Fenotípicamente es de crecimiento lento (60-120 días), requiere micobactina en el medio y forma colonias rugosas no pigmentadas. El diagnóstico confirmatorio de PTB utiliza el cultivo de MAP a partir de materia fecal, la cual debe ser decontaminada y coloreada por ZN para evidenciar las micobacterias. Además, se utilizan técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que amplifica la secuencia de inserción IS900, altamente conservada en el genoma de MAP. El objetivo del trabajo es comparar las técnicas usuales de diagnóstico con técnicas de PCR en tiempo real (qPCR) y de amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (LAMP). **Metodología:** La metodología se basa en amplificar la secuencia IS900 a partir de muestras de materia fecal, utilizando los oligos IS900, según describe Collins (2011) para qPCR y oligos de nuevo diseño para LAMP. **Resultados:** Los resultados obtenidos demostraron que tras evaluar 45 muestras de materia fecal de rodeos con PTB provenientes de la provincia de Buenos Aires, 31 resultaron positivas para LAMP y fueron verificadas por qPCR. En las 14 muestras restantes, 6 fueron negativas por LAMP y qPCR y 8 fueron positivas sólo para qPCR, detectándose baja concentración de ADN. **Conclusiones:** En base a estos resultados podemos concluir que la técnica LAMP puede detectar animales con PTB y permite la discriminación visual de resultados sin equipos sofisticados. **Descritores:** Diagnóstico, paratuberculosis, *Mycobacterium*.