



Conhecimentos, atitudes e práticas relacionadas com a tuberculose na população de Bissau (Guiné-Bissau)

Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Bragança e ao Instituto Politécnico da Guarda para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde (Ramo Biotecnologia)

Orientadores:

Orientadora: professora Doutora Maria José Alves

Co- orientador–Doutor Baltazar Cá

Proponente:

Cesaltina João Djompe Malaca (a46910)

Bragança, 2024

Este trabalho foi apoiado pela parceria entre a Europa e os países em Desenvolvimento para realização de Ensaio clínico (EDCTP), Instituto da Cooperação e da língua portuguesa no âmbito do projeto saúde Bandim.



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu bom Deus pelo dom da vida.

Em primeiro lugar agradeço ao meu co-orientador Doutor Baltazar Cá, que me ajudou em momentos difíceis da minha vida. Foi com ele que iniciei os primeiros trabalhos deste estudo. Ele proporcionou-me a aprendizagem de conceitos fundamentais para a caminhada ser mais fácil. Com ele aprendi a ser resiliente. Agradeço também à orientadora professora Doutora Maria José Alves, pela vontade e dedicação de orientar a minha dissertação.

Agradeço à investigadora Doutora Daniela Correia que sempre esteve disponível quando solicitei a sua ajuda.

Ao Instituto politécnico de Bragança, e ao Instituto Politécnico da Guarda pela oportunidade.

Aos Diretores de curso professora Josiana Vaz, professora Ana Maria pereira e professora Paula Coutinho.

ÀS minhas Irmãs que cuidaram de mim desde a infância, mas também dos meus filhos com todo carinho.

A Dra. Lilica Hulile Sanca e a professor Doutor Fernandinho Domingos Sanca.

Por fim, a todos que me apoiaram de uma forma direta ou indireta na construção desta dissertação de mestrado.

ABREVIATURAS

BCG - Bacille Calmette-Guérin

CAP / KAP - Conhecimentos, Atitudes e Práticas

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

EPTB - Tuberculose extrapulmonar

IFN- γ - Interferon-gama

IGRA - *Interferon Gamma Release Assay*

ILTb - Infecção Latente de Tuberculose

HIV / VIH- Vírus da imunodeficiência humana

L - Linhagem

LNSP - Laboratório Nacional de Saúde Pública

Mtb - *Mycobacterium tuberculosis*

MTBC - complexo de *Mycobacterium tuberculosis*

OMS / WHO - Organização Mundial de Saúde

PCR - Reação de polimerase em cadeia

PNLT - Programa Nacional de Luta contra a Lepra e Tuberculose

POP - Procedimento Operacional Padrão

PSB - Projeto Saúde de Bandim

PTB - Tuberculose pulmonar

TB -Tuberculose

TB-MDR – Tuberculose multirresistente (resistente à rifampicina e isoniazida)

TB-RR - Tuberculose resistente à rifampicina

SIDA - Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

UV - Radiação ultravioleta

Índice

AGRADECIMENTOS	3
ABREVIATURAS	4
Índice de Figuras.....	7
Índice de Tabelas	8
RESUMO	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	12
2.1. Introdução	12
2.2. Aspectos Epidemiológicos da TB.....	12
2.2.1. Tuberculose na Guiné-Bissau	14
2.3. Agentes Causais.....	16
2.3.1. Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
2.3.1.1. TB causada por <i>M. africanum</i> vs <i>M. tuberculosis</i>	20
2.4. Transmissão e Mecanismos de Infecção	21
2.5. Aspectos Clínicos da TB.....	24
2.5.1. TB Latente	24
2.5.2. TB Ativa.....	24
2.5.3. Resistências a antibióticos	25
2.6. Diagnóstico laboratorial	26
2.6.1. Método de Baciloscopia	26
2.6.2. GeneXpert®	27
2.6.3. Teste IGRA (<i>Interferon Gamma Release Assay</i>)	27
2.7. Tratamento e Prevenção.....	28
2.8. Inquéritos CAP	29
2.8.1. Conhecimentos	30
2.8.2. Atitudes	30
2.8.3. Práticas	30
2.8.4. Aplicação de Inquéritos CAP na tuberculose	31
3. OBJETIVOS	32
4. Materiais e Métodos	33
4.1. Metodologia do estudo.....	33
4.2. Local do Estudo.....	33
4.3. Desenho do Estudo.....	33

4.4.	Amostragem e População de Estudo	34
4.5.	Critérios de Inclusão e Exclusão	34
4.6.	Considerações Éticas	35
4.7.	Metodologia de Diagnóstico	35
4.7.1.	Questionários.....	35
4.7.2.	Teste IGRA.....	36
4.8.	Recolha e Análise de Dados de Inquéritos	38
4.8.1.	Recolha de dados.....	38
4.8.2.	Análise Estatística	38
5.	Resultados e Discussão	40
5.1.	Características Sociodemográficas da amostra.....	40
5.2.	Conhecimentos, Atitudes e Práticas	45
5.2.1.	Conhecimentos	51
5.2.2.	Atitudes.....	52
5.2.3.	Práticas	53
6.	Considerações Finais	55
7.	Referências bibliográficas	56
	ANEXO I	69
	ANEXO II.....	85
	ANEXO III	104

Índice de Figuras

Figura 1 - Estimativa das taxas de incidência da tuberculose em 2022.....	14
Figura 2 - Distribuição de linhagens de <i>M. africanum</i> (L5, L6 e L9)	18
Figura 3 - Distribuição de linhagens do Complexo MTBC.....	19
Figura 4 - Mecanismo de infecção por <i>M. tuberculosis</i>	22
Figura 5 - Número de utentes recrutados para o questionário e teste IGRA.	36

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Estimativa da incidência e mortalidade em 2022 no mundo	13
Tabela 2 - Estimativa da incidência e mortalidade em 2022 na Guiné-Bissau.....	16
Tabela 3 - Características sociodemográficas da amostra populacional.....	40
Tabela 4 - Resultados do teste IGRA tendo em conta as características sociodemográficas.	43
Tabela 5 - Resumo da segunda parte dos resultados dos inquéritos CAP.	46

RESUMO

A tuberculose (TB) é um dos maiores desafios globais, especialmente nos países em desenvolvimento, como a Guiné-Bissau, onde a prevalência da TB é elevada. Este estudo faz parte de um projeto financiado pela Parceria entre a Europa e os Países em Desenvolvimento para a Realização de Ensaio Clínicos (EDCTP), visando avaliar detalhadamente a TB na África Ocidental, com o objetivo de identificar lacunas no conhecimento, abordar atitudes prejudiciais e promover práticas eficazes para melhorar o controle da TB em Bissau. O estudo envolveu 175 coabitantes de doentes com TB em Bissau, Guiné-Bissau, aos quais foram realizados inquéritos de Conhecimentos, Atitudes e Práticas (CAP), e o teste IGRA (*Interferon Gamma Release Assay*). Os resultados obtidos, mostraram uma grande diversidade no grupo de participantes, sendo que 54,8% identificaram-se como indivíduos do género feminino, e 44,1% como indivíduos do género masculino. O teste IGRA, revelou uma exposição significativa à bactéria *M. tuberculosis*, com 75 indivíduos em 175 participantes (43,4%) com tuberculose latente. Embora os participantes demonstrem bom conhecimento sobre os sintomas e formas de transmissão da TB, continuam a persistir algumas dúvidas. Continua a ser observável a discriminação entre a população, aumentando o risco de contrair TB, embora a maioria dos participantes reconheça a importância do rastreio. Quanto às práticas relacionadas com a TB, existem variações, a maioria dos participantes afirmam que procurariam tratamento, porém ainda há dificuldade no acesso aos serviços de saúde. Em suma, o estudo destaca a necessidade contínua de intervenções educativas e melhoria no acesso aos cuidados de saúde para uma gestão eficaz da TB.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is one of the biggest global challenges, especially in developing countries such as Guinea-Bissau, where TB prevalence is high. This study forms part of a project funded by the European and Developing Countries Clinical Trials Partnership (EDCTP), which aims to assess TB in West Africa, focusing on identifying knowledge gaps, addressing damaging attitudes, and promoting effective practices to enhance TB control in Bissau. The study involved 175 cohabitants of TB patients in Bissau, Guinea-Bissau, who were inquired with the Knowledge, Attitudes and Practices (KAP) surveys and simultaneously did the IGRA (Interferon Gamma Release Assay) test. The results demonstrated diverse sociodemographic characteristics in the group of participants, with 54.8% identifying themselves as female and 44.1% as male. The IGRA test revealed substantial exposure to the *M. tuberculosis* bacterium, with 75 individuals out of 175 participants (43.4%) with latent tuberculosis. Although the participants showed good knowledge of TB symptoms and transmission routes, some uncertainties persist. Discrimination among the population is still evident, increasing the risk of contracting TB, although most participants acknowledge the importance of testing. Regarding TB-related practices, there are variants, with a majority expressing intent to seek treatment if needed, yet challenges in accessing health services and facilities persist. In summary, the study highlights the continued need for educational initiatives and improved healthcare accessibility for effective TB management.

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) continua a representar dos maiores desafios para a saúde pública a nível mundial, especialmente nos países em desenvolvimento. É uma doença associada principalmente a duas bactérias altamente adaptadas ao ser humano: *Mycobacterium tuberculosis*, amplamente disseminada, e *Mycobacterium africanum*, sendo esta restrita à região da África Ocidental (Silva et al., 2022). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) referentes a 2022, estima-se que 10,6 milhões de pessoas foram infetadas com TB, resultando em 1,6 milhões de mortes (World Health Organization, 2023). Bissau, capital da Guiné-Bissau, destaca-se como um dos principais focos no controlo da TB, devido à sua densidade populacional e pressão do espaço urbano, apresentando uma das maiores taxas/prevalência de TB em África (Silva et al., 2022).

A disparidade na incidência de TB entre países desenvolvidos e em desenvolvimento é evidente, a pobreza, o acesso limitado aos serviços de saúde e as elevadas taxas de coinfeção com o VIH/SIDA, são fatores que potenciam a disseminação e o impacto da TB (Datiko et al., 2019). São estes mesmos fatores, que demonstram a necessidade da compreensão dos conhecimentos, atitudes e práticas (CAP) entre a população, para que o controlo desta doença seja eficaz.

Esta dissertação de mestrado está integrada num projeto a ser desenvolvido em Bissau, financiado pela Parceria entre a Europa e os Países em Desenvolvimento para a Realização de Ensaios Clínicos (EDCTP). O projeto visa elucidar a trajetória clínica e molecular da TB na África Ocidental, elucidando a sua evolução clínica (doença, latência, controlo) e molecular (transcriptoma de sangue total) nos indivíduos com TB.

Numa primeira fase, foram recolhidas amostras de expetoração dos pacientes incluídos no estudo, para identificar os isolados infecciosos, usando métodos de rotina estabelecidos no laboratório.

Na segunda fase do projeto, pretendeu-se avaliar os CAP dos coabitantes de portadores de tuberculose, de forma a compreender a relação com a taxa de infeção comunitária. Tendo sido efetuados inquéritos de CAP, e colhidas amostras de sangue para efetuar, em paralelo, o teste IGRA (*Interferon Gamma Release Assay*), a todos os contactos dos portadores de TB. Neste estudo, são apresentados e analisados os resultados da segunda fase deste projeto.

2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

2.1. Introdução

A tuberculose (TB) é uma das doenças infetocontagiosas mais desafiantes em termos de saúde pública a nível mundial. A TB é uma doença antiga, com estudos de esqueletos humanos mostrando que afeta os seres humanos desde o neolítico, há cerca de 8000 anos (Hershkovitz et al., 2015). A sua causa permaneceu desconhecida até 1882, data em que Robert Koch anunciou a descoberta do bacilo responsável pela doença, posteriormente designado *Mycobacterium tuberculosis* (Sakula, 1982).

A TB é uma doença infecciosa, de evolução crónica, causada maioritariamente pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch. A transmissão ocorre por via respiratória, por meio de gotículas produzidas pela tosse, fala ou espirro de pessoas contaminadas.

A TB afeta normalmente os pulmões (tuberculose pulmonar), embora possa acometer outros órgãos (tuberculose extrapulmonar). A maioria das pessoas que desenvolvem a doença (cerca de 90%) são adultos, existindo mais casos entre os homens do que entre as mulheres (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

2.2. Aspetos Epidemiológicos da TB

Apesar dos grandes avanços na prevenção, diagnóstico, tratamento e controlo, a TB continua a ser um grave problema de saúde a nível mundial. Anualmente, a OMS publica no seu relatório mundial sobre a Tuberculose dados atualizados sobre os progressos na prevenção, diagnóstico e tratamento de tuberculose, a nível mundial, regional e nacional. O relatório de 2023, inclui dados relativos à tuberculose de 192 países e zonas com mais de 99 % da população mundial.

Segundo a OMS (2023), em 2022 registou-se uma importante recuperação global do número de pessoas diagnosticadas com TB e tratadas em 2022, após 2 anos de perturbações relacionadas com a COVID. No entanto, a tuberculose continuou a ser a

segunda principal causa de morte por um único agente infeccioso em 2022, depois da COVID-19, causando quase o dobro das mortes do que o VIH/SIDA (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

Na Tabela 1, são apresentados os dados epidemiológicos de 2022 recolhidos pela OMS, a nível global, onde são mostrados os dados relativos à incidência de TB, mortalidade por TB, associação com o VIH e dados relativos à resistência a antibióticos.

Tabela 1 – Estimativa da incidência e mortalidade em 2022 no mundo

(Adaptado de *TB Profile*, 2023).

	Número (incerteza)	Taxa por 100 000 habitantes (incerteza)
Incidência de TB	10 600 000 (9 870 000 - 11 400 000)	133 (124 - 143)
Incidência de TB VIH-positivo	671 000 (600 000 - 746 000)	8,4 (7,5 - 9,4)
Incidência de TB-MDR/TB-RR	410 000 (370 000 - 450 000)	5,2 (4,7 - 5,7)
Mortalidade por TB	1 300 000 (1 180 000 - 1 430 000)	133 (124 - 143)
Mortalidade por TB VIH-negativo	1 130 000 (1 020 000 - 1 260 000)	14 (13 - 16)
Mortalidade por TB VIH-positivo	167 000 (139 000 - 198 000)	2,1 (1,7 - 2,5)

Embora o número absoluto de casos de TB a nível mundial seja estável, existem grandes diferenças individuais e regionais na incidência e prevalência. A maioria dos casos de TB ocorre no Sudeste Asiático (46%), em África (23%) e no Pacífico Ocidental (18%), com percentagens mais baixas no Mediterrâneo Oriental, nas Américas e na Europa (Varaine et al., 2024).

A gravidade das epidemias nacionais de TB em termos do número de casos por 100 000 habitantes por ano, varia consideravelmente entre países, desde menos de cinco a mais de 500 casos novos e de recidiva por 100 000 habitantes por ano. Em 2022, 57 países tinham uma baixa incidência de TB (<10 casos por 100 000 habitantes por ano), enquanto na República Centro-Africana, na República Popular Democrática da Coreia, no Gabão, no Lesoto e nas Filipinas foram registados mais de 500 casos por 100 000 habitantes (Figura 1) (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

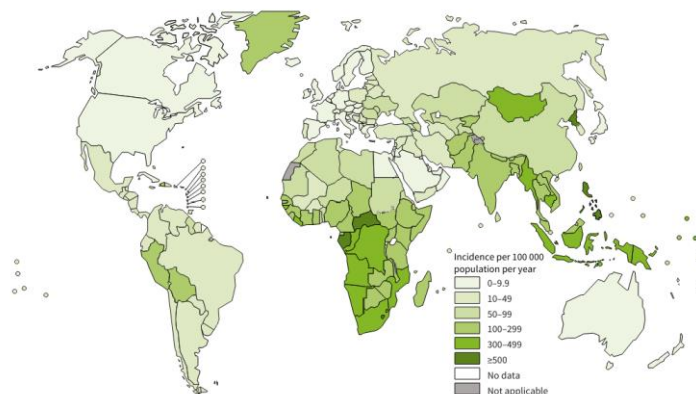


Figura 1- Estimativa das taxas de incidência da tuberculose em 2022

(Adaptado de *Global Tuberculosis Report 2023*, 2023)

Cinco fatores principais influenciam a epidemiologia da TB: condições socioeconômicas, tratamento da TB, infecção pelo VIH, diabetes e vacinação BCG (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023; Varaine et al., 2024). Nos países em desenvolvimento, as precárias condições de vida, são fatores agravantes da doença (Batista, 2021).

2.2.1. Tuberculose na Guiné-Bissau

Na Guiné-Bissau a tuberculose é um considerável problema de saúde pública, exigindo uma atenção especial.

Até à década de 80, as atividades de prevenção e controlo da tuberculose na Guiné-Bissau eram realizadas de forma isolada, não havendo uma coordenação das ações. Em 1986, com ajuda da Associação Italiana Amici di Raoul Follereau (AIFO) de Bologna, foi criado o programa nacional de luta contra tuberculose na Guiné Bissau, tendo sido posteriormente unificado com o programa nacional de luta contra a lepra e tuberculose (PNLT) (Cristóvão et al., 2008). Em 2003 foi elaborado o plano estratégico nacional de luta contra tuberculose, reformulando o PNLT, tendo sido constituído com os seguintes objetivos: reduzir a mortalidade e morbidade da doença, prevenir o surgimento de resistências aos fármacos, aumentar a percentagem de diagnóstico e de cura (Cristóvão et al., 2008). Atualmente, a prevenção e controlo da TB em Guiné-Bissau continua a ser desafiante, sendo a gestão dos casos da tuberculose multirresistente (TB-MDR) um dos maiores desafios do programa de luta contra tuberculose no país.

De acordo com estudo que decorreu entre os anos de 2018 e 2020, a taxa de incidência da tuberculose na Guiné-Bissau variou de 36,8 a 267,7 casos por 100 000 habitantes entre as diversas regiões administrativas, evidenciando um padrão de distribuição espacial heterogéneo da doença no país. A maior parte dos casos reportados ocorreram na capital (Bissau), com cerca de 53% dos casos. A faixa etária dos 25 aos 34 anos de idade correspondeu a 29% dos casos reportados. Relativamente ao tipo de diagnóstico, 83% dos casos foram diagnosticados bacteriologicamente. Quanto ao perfil clínico, 97% dos casos eram de tuberculose pulmonar, sendo que os casos de co-infecção representaram 31% do total (Adelia Roberto Nanque et al., 2023).

Dados recolhidos pela OMS junto do ministério nacional de saúde da Guiné-Bissau, demonstram que comparando 2022 com 2015, a incidência de tuberculose manteve-se estável, no entanto verificou-se um aumento de 12% no número de mortes associadas a tuberculose (World Health Organization, 2023).

Na Tabela 2, são apresentados os dados epidemiológicos de 2022 recolhidos pela OMS, relativos à Guiné-Bissau, onde são mostrados os dados relativos à incidência de TB, mortalidade por TB, associação com o VIH e dados relativos à resistência a antibióticos. A Guiné-Bissau apresenta uma elevada percentagem de incidência e mortalidade por TB associada ao VIH, encontrando-se na lista dos 30 países a nível mundial com maior incidência de TB associada a VIH (World Health Organization, 2023).

Tabela 2 – Estimativa da incidência e mortalidade em 2022 na Guiné-Bissau

(Adaptado de World Health Organization, 2023).

	Número (incerteza)	Taxa por 100 000 habitantes (incerteza)
Incidência de TB	7600 (4900 - 11000)	361 (234 - 516)
Incidência de TB VIH-positivo	2200 (1400 - 3200)	106 (68 - 151)
Incidência de TB-MDR/TB-RR	89 (34 - 140)	4,2 (1,6 - 6,8)
Mortalidade por TB	2600 (1830 - 3510)	124 (87 - 167)
Mortalidade por TB VIH-negativo	1500 (860 - 2200)	70 (41 - 107)
Mortalidade por TB VIH-positivo	1100 (710 - 1600)	54 (34 - 78)

Relativamente ao número de casos notificados em 2022, ainda de acordo com a OMS (2023), foram reportados 2983 casos, com a seguinte distribuição: 4% crianças (até 14 anos), 36% mulheres (≥ 15 anos) e 60% homens (≥ 15 anos). Quanto ao diagnóstico, 97% dos casos eram de tuberculose pulmonar, dos quais 88% foram confirmados por bacteriologia (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

Estudo realizado em Bissau revelou que a pobreza, a aglomeração e elevado número de pessoas por agregado familiar, a prevalência de VIH e imigração de pessoas, são fatores precipitantes de tuberculose, favorecendo um acréscimo no número de casos e dificultando o seu controlo (Gustafson et al., 2004).

2.3. Agentes Causais

O *M. tuberculosis* é o principal agente etiológico de TB em humanos, sendo os casos devidos a outras variantes menos prevalentes. Esta bactéria pertence à família das *Mycobacteriaceae* e ao género *Mycobacterium*, este com mais de 100 espécies diferentes, entre os quais alguns patógenos humanos. O *M. tuberculosis* é um bacilo pequeno (0,2 a 0,3 μm de diâmetro e 3 a 5 μm de comprimento), em forma de bastonete reto ou

ligeiramente curvo, aeróbio, ácido-resistente. Esta bactéria não possui cápsula, nem esporos e não produz toxinas (Arinaminpathy et al., 2019).

Esta bactéria é resistente à luz UV e a desinfetantes fracos, podendo sobreviver em ambiente seco durante várias semanas. Possui uma parede celular rica em lípidos de elevado peso molecular, como os ácidos micólicos, sendo este um dos elementos associados à sua elevada resistência e virulência.

A sequenciação do genoma de *M. tuberculosis* ocorreu em 1998, sendo constituído por cerca de 4000 genes. Possui cerca de 250 genes associados ao metabolismo dos ácidos gordos, conferindo-lhe a capacidade de crescer em tecidos, onde a principal fonte de carbono são os ácidos gordos (Cole et al., 1998; Glickman & Jacobs, 2001).

É um microrganismo intracelular, com capacidade de multiplicação dentro dos fagócitos. Tal como outras micobactérias, tem um crescimento lento (15-20h de replicação), o que resulta num desenvolvimento mais lento da doença quando comparado com outras infeções bacterianas, contribuindo para sua agressividade. Quando cultivada em meio sólido, demora cerca de 3 a 8 semanas para apresentar crescimento visível (Fitzgerald et al., 2015).

2.3.1. Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

Desde a identificação inicial de Robert Koch da TB como uma doença infecciosa, e de *Mycobacterium tuberculosis* como o seu agente causador, a compreensão deste agente patogénico evoluiu muito (Gradmann, 2001). *M. tuberculosis* pertence ao complexo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), que compreende bactérias causadoras de TB filogeneticamente relacionadas que diferem na especificidade do seu hospedeiro (Brites & Gagneux, 2015). Nove linhagens adaptadas ao ser humano (L) pertencem ao MTBC: L1, 2, 3, 4, 7 e 8 são compostas de *M. tuberculosis*; L5, 6, e a recém-descoberta L9 de *Mycobacterium africanum* (Gagneux, 2018; Ngabonziza et al., 2020). Foram também identificadas várias sub-linhagens de L1-L9 (Stucki et al., 2016; Coscolla et al., 2021). Além das nove linhagens adaptadas ao homem, o MTBC também inclui linhagens adaptadas aos animais, nomeadamente *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium suricattae*, *Mycobacterium orygis* e *Mycobacterium mungi* (Brosch et al., 2002).

A análise genética da bactéria causadora da tuberculose adaptada ao homem é sugestiva de coevolução com o hospedeiro humano (Gagneux, 2012). A estrutura

filogeográfica L1-L9 é altamente coincidente com a da população humana, que se pensa ter tido um papel importante na propagação e estabelecimento das diferentes linhagens patogênicas em todo o globo (Gagneux et al., 2006; Comas et al., 2013). As linhagens e sub-linhagens MTBC são classificadas como generalistas, se a sua distribuição for generalizada em todo o globo, ou como especialistas, se apresentarem um nicho geográfico estreito (Figura 2).

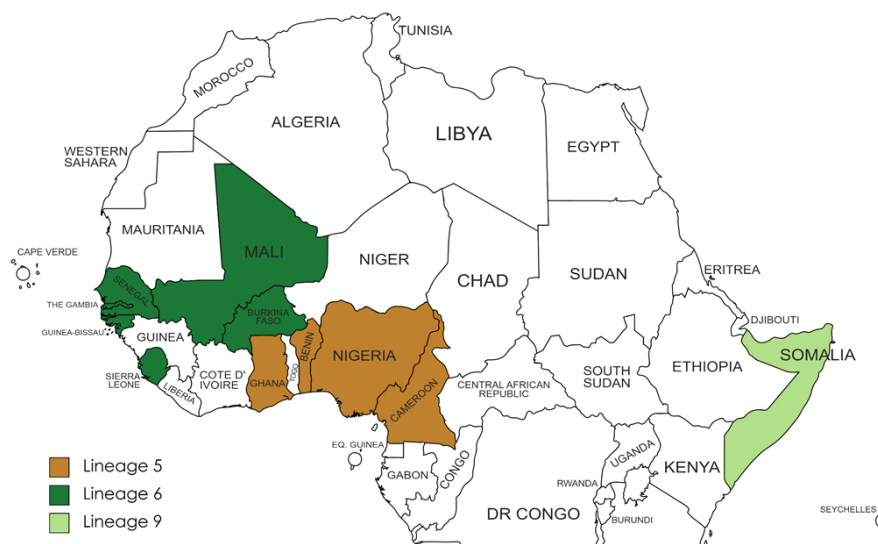


Figura 2- Distribuição de linhagens de *M. africanum* (L5, L6 e L9)

(Adaptado de Marta et al., 2022).

As linhagens de *M. tuberculosis* são na sua maioria classificadas como generalistas, à exceção da L7 que se restringe à Etiópia no Corno de África (Firdessa et al., 2013), e L8 à região africana dos Grandes Lagos (Ngabonziza et al., 2020). L4 é a linhagem de *M. tuberculosis* mais difundida, encontrada especialmente na Europa e América, mas também presente em algumas regiões de África e do Médio Oriente (Gagneux et al., 2006). Embora a L4 seja uma linhagem generalista, algumas sub-linhagens L4 são especialistas (Hershberg, 2016). Em contraste com o *M. tuberculosis*, as três linhagens de *M. africanum* (L5, L6 e L9) estão geograficamente restritas a regiões específicas de África (Figura 3). L5 aparece principalmente no lado oriental da África Ocidental, com uma elevada prevalência em países como o Benim e o Gana, enquanto L6 é mais predominante na parte ocidental da África Ocidental, afetando países como a Guiné-Bissau e a Gâmbia (de Jong et al., 2010). Quanto à L9, a sua prevalência tem sido até agora descrita na Somália (Coscolla et al., 2021). Embora geograficamente restrito, *M.*

africanum é uma causa importante de tuberculose na África Ocidental, onde se estima que cause até metade dos casos de tuberculose (de Jong et al., 2010). Um declínio na incidência de *M. africanum* tem sido relatado ao longo do tempo para alguns países (Dooso et al., 1999; Källenius et al., 1999; Koro Koro et al., 2013), embora não para outros (Yeboah-Manu et al., 2017). Estudos recentes não publicados também sugerem um declínio do *M. africanum* na Guiné-Bissau, em comparação com estudos anteriores (Groenheit et al., 2011). Um estudo recente reforçou a importância das linhagens de *M. africanum* como causa da tuberculose na região de Volta do Gana, particularmente em áreas menos cosmopolitas (Ameke et al., 2021). De notar que, a transmissão de *M. africanum* fora da África Ocidental raramente é descrita (Chakravarti et al., 2019; Rabahi et al., 2020; Ameke et al., 2021).

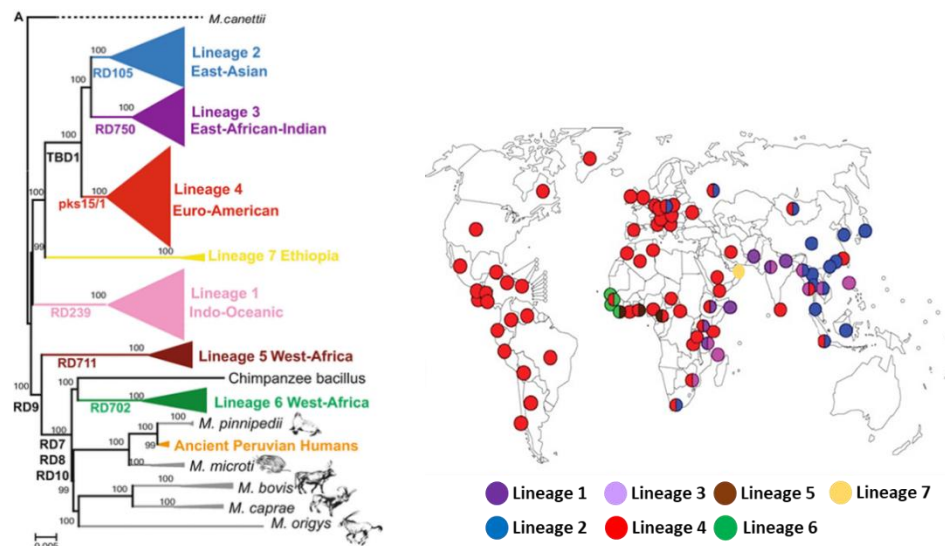


Figura 3 - Distribuição de linhagens do Complexo MTBC

(Adaptada de Comas et al., 2019).

Dada a proximidade filogenómica do *M. tuberculosis* e do *M. africanum*, estes dois agentes patogénicos podem ser considerados como pertencendo à mesma espécie (García-Betancur et al., 2012; Riojas et al., 2018). Contudo, existem importantes diferenças moleculares e fenotípicas entre o *M. tuberculosis* *sensu stricto* e o *M. africanum*. Estudos iniciais mostraram que ao contrário do *M. tuberculosis*, o *M. africanum* é incapaz de usar glicerol como única fonte de carbono, o que implica a necessidade de suplementar o meio de cultura com piruvato em culturas laboratoriais (Grosset et al., 1971). Curiosamente, esta propriedade é partilhada por *M. bovis*, uma linhagem animal do MTBC. Além disso, vários estudos mostram que, em comparação com o *M. tuberculosis*, *M. africanum*

apresenta uma taxa de crescimento mais lenta no meio axénico (Gehre et al., 2013; Sanoussi et al., 2017; Cá et al., 2019; Osei-Wusu et al., 2021). A nível genético, *M. africanum* apresenta variações importantes em alguns fatores "clássicos" de virulência do *M. tuberculosis*. Um exemplo são os genes DosR regulon, que foram ligados à virulência no MTBC (Gonzalo-Asensio et al., 2014), e que se demonstrou estarem desregulados em *M. africanum* L6, isolado de expetoração, em comparação com infeções por *M. tuberculosis* L4 (Ofori-Anyinam et al., 2017). *M. africanum* acumula mutações nos principais genes reguladores dos R, podendo a sua menor expressão explicar porque *M. africanum* apresenta crescimento microaeróbio e se associa com doença extrapulmonar (Ofori-Anyinam et al., 2017). As linhagens de *M. africanum* foram também descritas por acumular mutações em genes que codificam enzimas da cadeia de transporte de eletrões e vias metabólicas do carbono central, em comparação com *M. tuberculosis*, tendo sido sugerido como outra possível adaptação a nichos ecológicos caracterizados por baixa tensão de oxigénio (Ofori-Anyinam et al., 2020). Além disso, o *M. africanum* L6 demonstrou adquirir mutações de perda de função no sistema de regulação de virulência de dois componentes phoP/R (Broset et al., 2015; Gonzalo-Asensio et al., 2014). Como este sistema está envolvido em vários processos patogénicos, como a secreção do factor de virulência ESAT-6, biossíntese de lípidos à base de aciltrealose, e a modulação da exportação de antigénios, tais mutações tornariam o agente patogénico virulento. No entanto, *M. africanum* L6 adquiriu um mecanismo compensatório que restaura a secreção da ESAT-6 de forma independente da PhoPR (Broset et al., 2015; Gonzalo-Asensio et al., 2014). Num outro estudo, isolados *M. africanum* L5 também demonstraram secretar e induzir eficazmente respostas imunitárias contra os substratos de ESX-1 (Ates et al., 2018).

2.3.1.1. TB causada por *M. africanum* VS *M. tuberculosis*

Não foram encontradas diferenças marcadas na apresentação radiológica do tórax da tuberculose causada por *M. africanum* ou por *M. tuberculosis* (de Jong et al., 2008). Além disso, demonstrou-se que ambos os agentes patogénicos responderam de forma semelhante aos 4 medicamentos padrão de primeira linha no tratamento da tuberculose, embora os doentes com *M. tuberculosis* L4 tenham respondido mais rapidamente ao tratamento da tuberculose do que os doentes com *M. africanum* L6 (Diarra et al., 2018). A lenta recuperação clínica dos doentes infetados com *M. africanum* em comparação com

os infetados com *M. tuberculosis* pode resultar de um conteúdo mais elevado de bacilos de *M. africanum* “persister-like” na expetoração, no momento do diagnóstico (Tientcheu et al., 2016). Apesar desta apresentação clínica semelhante da tuberculose, o *M. africanum* tem sido associado em vários estudos a hospedeiros mais vulneráveis. Estudos realizados na Gâmbia descobriram que *M. africanum* é mais comum em doentes co infetados com VIH, bem como em indivíduos mais velhos e indivíduos que apresentam desnutrição grave (de Jong et al., 2008). Do mesmo modo, foi relatada uma associação entre a infeção por *M. africanum* e doentes idosos no Gana (Acquash et al., 2021) e com indivíduos com índice de massa corporal inferior no Mali (Baya et al., 2020). No entanto, uma associação clara entre o *M. africanum* e a coinfeção por VIH ainda é controversa (de Jong et al., 2008). Um estudo recente no Gana não mostrou diferenças significativas entre a prevalência de *M. tuberculosis* ou *M. africanum* em indivíduos com diabetes, outra comorbidade importante na tuberculose (Asante-Poku et al., 2019). Além disso, é possível que as infeções por *M. africanum* estejam correlacionadas com uma progressão mais lenta até à tuberculose ativa. Um estudo da Gâmbia mostrou que, apesar de taxas de transmissão semelhantes, os indivíduos expostos ao *M. tuberculosis* tinham mais probabilidades de progredir para a doença de tuberculose ativa do que os infetados com *M. africanum* (de Jong et al., 2008). Isto foi apoiado por outro estudo realizado no Mali, mostrando que um período mais longo entre o início dos sintomas e o diagnóstico da TB foi associado a infeções por *M. africanum* (Baya et al., 2020). Em conformidade com estes resultados, a infeção por *M. africanum* em modelos de ratos mostrou uma progressão mais lenta da doença ((Bold et al., 2012; Cá et al., 2019; Wiens & Ernst, 2016).

com patologia pulmonar ligeira mesmo em ratos sem IFN-, que são altamente suscetíveis à infeção por *M. tuberculosis* (Cá et al., 2019). De notar que, se as taxas de transmissão são equivalentes entre o *M. tuberculosis* e o *M. africanum*, não se encontra totalmente esclarecido, como um estudo no Gana associou o *M. africanum* com taxas de transmissão recentes reduzidas (Asare et al., 2018). Assim, no conjunto, o *M. africanum* apresenta várias diferenças quando comparado com o *M. tuberculosis*, sendo geralmente visto como um agente patogénico menos virulento do que o *M. tuberculosis*.

2.4. Transmissão e Mecanismos de Infeção

O *M. tuberculosis* é transmitido principalmente de pessoa para pessoa e a propagação faz-se principalmente por via aérea. A fonte de infeção é geralmente uma pessoa com

tuberculose pulmonar ou tuberculose laríngea. Ao tossir, falar ou espirrar, a pessoa produz pequenas gotículas infecciosas, denominadas de núcleos de gotículas. Estas partículas, com cerca de 1 a 5 microns de diâmetro, podem permanecer suspensas no ar durante várias horas (Churchyard, 2017; Varaine et al., 2024).

A transmissão ocorre quando uma pessoa inala núcleos de gotículas contendo *M. tuberculosis*, e os núcleos de gotículas atravessam a boca ou as passagens nasais, o trato respiratório superior e os brônquios para chegar aos alvéolos pulmonares. Quando o *M. tuberculosis* coloniza o hospedeiro, um infiltrado celular inflamatório nestes locais pode desencadear, mais proeminentemente nos pulmões, a formação de granulomas, os quais são agregados celulares constituídos por macrófagos, células gigantes multinucleadas, células epitelioides e espumosas, granulócitos e linfócitos. Vários tipos de células podem ser infetadas: neutrófilos, macrófagos e células endoteliais. Quando internalizado na célula, a bactéria pode residir em diferentes compartimentos celulares, como os fagossomas e os autofagossomas e, se estes organelos forem rompidos, também pode aceder ao citosol. No hospedeiro serão desencadeados diversos mecanismos celulares e imunológicos para controlar a infecção que competirão com as estratégias de invasão e virulência do *M. tuberculosis*, que se forem bem-sucedidas, permitirão a sobrevivência e a replicação da bactéria (Figura 4) (Bussi & Gutierrez, 2019). Na maioria dos casos a infecção é assintomática, denominando-se de infecção latente.

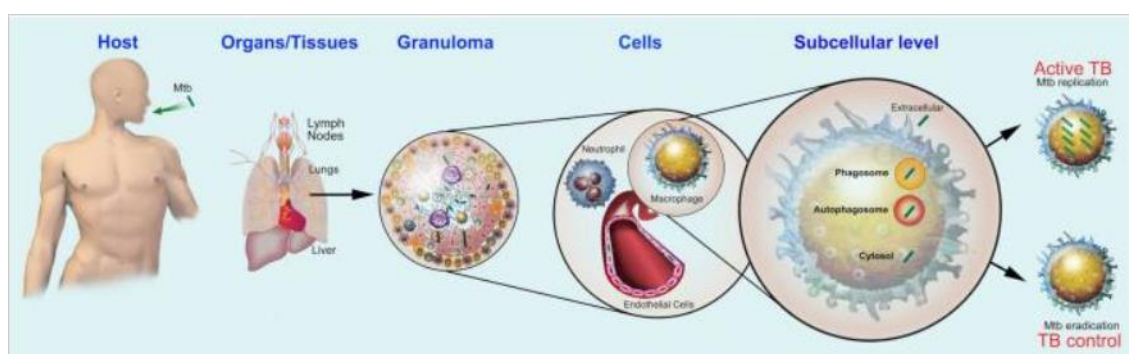


Figura 4 – Mecanismo de infecção por *M. tuberculosis*

(Adaptado de Bussi & Gutierrez, 2019).

Outros modos de transmissão são raros, como a inoculação de membranas cutâneas ou mucosas ou a transmissão trans placentária, entre outros (Varaine et al., 2024).

A infecciosidade e a duração da mesma para uma pessoa com tuberculose, dependem de fatores bacterianos e do hospedeiro. As pessoas com tuberculose pulmonar com

baciloscopia positiva são altamente infecciosas, existindo evidências de que o grau de infecciosidade aumenta com o grau de positividade da baciloscopia. Os doentes que apresentam resultados negativos na baciloscopia são menos infecciosos, mas continuam a contribuir para a transmissão da TB, devido aos atrasos mais frequentes no diagnóstico (Churchyard, 2017). As pessoas infetadas com *M. tuberculosis*, mas que não desenvolveram TB ativa (com infecção latente), não são infecciosas. As pessoas com tuberculose extrapulmonar (EPTB) só são infecciosas em circunstâncias excepcionais.

Nem todas as pessoas expostas a um doente com TB infecciosa ficarão infetadas. A probabilidade de transmissão da TB depende de vários fatores, sendo o fator mais importante a infecciosidade da fonte. O ambiente onde ocorreu a exposição, proximidade da pessoa de contacto e a duração da exposição, são também fatores que influenciam a transmissão (Varaine et al., 2024). Assim, a transmissão ocorre normalmente entre membros da família e contactos próximos, devido à frequência e duração da exposição. Também pode ocorrer entre colegas de trabalho que trabalham em estreita proximidade, sendo menos frequentemente, entre estranhos (Guinn & Rubin, 2017).

O aparecimento de sinais e sintomas de TB variam de acordo com o sistema imunitário da pessoa infetada, bem como de acordo com o órgão afetado, podendo demorar de 4 a 12 semanas para aparecimento dos sintomas (Murray et al., 2006).

Os sinais e sintomas podem variar de indivíduo para indivíduo e evoluem geralmente de forma crónica. A tosse prolongada (mais de 2 semanas), com ou sem produção de expectoração, é um sintoma comum nos doentes com tuberculose pulmonar (PTB). Outros sinais e sintomas frequentes, menos específicos, incluem perda de peso, anorexia, fadiga, hemoptise (sangue na expectoração), falta de ar, dor no peito, febre moderada e suores noturnos. São frequentes as formas avançadas e complicações tais como: insuficiência respiratória, hemoptise maciça e pneumotórax. Caso a doença se desenvolva noutro órgão, os sintomas podem variar (Varaine et al., 2024).

A TB ativa pode desenvolver-se em outras partes do corpo, especificamente nos gânglios linfáticos, meninges, ossos e articulações, rins, órgãos genitais e cavidade abdominal. Devido à imunodeficiência, crianças pequenas, pessoas infetadas pelo VIH e os doentes com má nutrição correm um maior risco de desenvolver tuberculose extrapulmonar (EPTB) (Varaine et al., 2024).

2.5. Aspectos Clínicos da TB

2.5.1. TB Latente

Após a transmissão, o *M. tuberculosis* multiplica-se lentamente, na maioria dos casos nos alvéolos terminais dos pulmões (foco primário) e nos gânglios linfáticos das áreas de drenagem correspondentes. Em um a dois meses, devido à ação dos linfócitos e macrófagos, o foco primário é contido e encapsulado, com uma zona central de necrose do parênquima (lesões caseosas). Normalmente não é detetável na radiografia do tórax, a não ser que calcifique ou cresça substancialmente. A infecção primária é geralmente assintomática. Na maioria dos casos, as lesões pulmonares curam-se gradualmente. Durante a infecção primária, desenvolve-se imunidade específica e observa-se uma reação cutânea positiva à tuberculina. Esta resposta imunitária pode persistir sem sinais clínicos de TB. A pessoa encontra-se infetada, mas não desenvolve a doença. Esta situação é designada por infecção latente da tuberculose (ILTB). Entre as pessoas infetadas, em média 5 a 10% desenvolverão tuberculose ativa ao longo da sua vida. Para as pessoas co infetadas com o VIH, este risco é muito mais elevado. A prevalência global da ILTB é desconhecida devido às dificuldades de diagnóstico. No entanto, estima-se que um quarto da população mundial sofra de ILTB (Varaine et al., 2024).

2.5.2. TB Ativa

Antes de se estabelecer a imunidade, os bacilos do complexo primário podem disseminar-se por todo o corpo através do sistema linfático ou da corrente sanguínea. Desta forma, podem desenvolver-se focos secundários, nomeadamente nos pulmões, gânglios linfáticos, membranas serosas, meninges, ossos e rins. Assim que a resposta imunitária é ativada, a maioria destes focos desaparece espontaneamente. No entanto, alguns bacilos podem permanecer adormecidos nos focos secundários durante meses e, por vezes, anos. Diferentes fatores podem reduzir a resposta imunitária (como a infecção por VIH) e levar à reativação dos bacilos e à sua multiplicação num ou mais destes focos.

Esta reativação ou progressão dos focos primários ou secundários resulta em TB ativa.

Uma lesão de TB ativa contém bacilos de multiplicação ativa, lenta ou esporádica, bem como bacilos dormentes. Embora a TB ativa possa ocorrer meses ou anos após a infecção primária, metade dos casos de TB aparecem no ano seguinte à infecção. Certos fatores aumentam o risco de desenvolver tuberculose ativa nos primeiros dois anos após

a infecção. Estes fatores incluem a imunodepressão, os pulmões danificados e a intensidade e duração da exposição (Varaine et al., 2024).

2.5.3. Resistências a antibióticos

A tuberculose resistente a antibióticos é um problema crescente a nível mundial, com o aparecimento contínuo de estirpes de *M. tuberculosis* multirresistentes, as quais são resistentes não só aos medicamentos de primeira linha: isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida, mas também às fluoroquinolonas e aos aminoglicosídeos (Arrigoni et al., 2022; Pai & Furin, 2017; Prasad et al., 2022).

Os mecanismos de resistência aos antibióticos no *M. tuberculosis* são complexos e multifactoriais, estando principalmente associados a mutações genéticas. A compreensão destes mecanismos é crucial para o desenvolvimento de novos diagnósticos, tratamentos e estratégias de combate ao *M. tuberculosis* resistente aos antibióticos.

As estirpes resistentes possuem diferentes estratégias para resistir aos antibióticos, tais como: Aumento da divisão celular em condições de hipoxia; Utilização da parede celular como barreira impermeável contra o acesso aos antibióticos; Ativação de bombas de efluxo; Formação de biofilme (Arrigoni et al., 2022; Buriánková et al, 2004; Fux et al., 2005; Te Brake et al, 2018).

Os mecanismos específicos dos antibióticos de uso mais comum são os seguintes:

- Isoniazida: A resistência resulta normalmente de mutações no gene *katG* (que codifica a catalase-peroxidase, que ativa a INH) ou no gene *inhA* (que codifica uma enzima envolvida na síntese do ácido micólico);
- Rifampicina: A resistência resulta principalmente de mutações no gene *rpoB*, que codifica a subunidade β da RNA polimerase;
- Etambutol: a resistência resulta de mutações no gene *embB*, que codifica uma arabinosil transferase envolvida na síntese da parede celular;
- Pirazinamida: A resistência é frequentemente devida a mutações no gene *pncA*, que codifica a pirazinamidase, uma enzima que converte a pirazinamida na sua forma ativa, o ácido pirazinóico;
- Estreptomicina: A resistência pode surgir de mutações no gene *rpsL* (que codifica a proteína ribossómica S12) ou no gene *rrs* (que codifica o 16S rRNA), afetando o local de ligação do ribossoma ao antibiótico (Palomino & Martin, 2014).

2.6. Diagnóstico laboratorial

Apesar dos vários avanços no diagnóstico da tuberculose, ainda não existe nenhum teste 100% confiável e simples para diagnosticar definitivamente a doença. Existem uma variedade de métodos de diagnóstico e de detecção de suscetibilidade a antibióticos atualmente aprovados pela OMS (Furin et al., 2019).

A TB ativa pode ser confirmada bacteriologicamente pela detecção do complexo *M. tuberculosis* através de diferentes testes bacteriológicos. Estes testes podem detetar o organismo (baciloscopia e cultura), ou parte do seu material genético (testes genotípicos, testes moleculares rápidos e sequenciação do genoma).

No caso de diagnóstico de TB latente, este baseia-se na exclusão da tuberculose ativa e na demonstração da infecção tuberculosa latente (ILTb). Pode ser efetuado um dos seguintes testes: teste cutâneo da tuberculina, teste IGRA (*Interferon gamma release assay*) (Varaine et al., 2024).

De seguida, são apresentados os princípios dos métodos de diagnóstico utilizados no presente projeto.

2.6.1. Método de Baciloscopia

A coloração microscópica de bacilos álcool-ácido resistentes é um método amplamente utilizado para o diagnóstico de tuberculose em todo mundo, sendo o principal método de rastreio de tuberculose nos países com alta incidência (Barnard et al., 2012; Tierney *et al.*, 2014). Os métodos de coloração comumente usados são Ziehl-Neelsen e coloração fluorescente (Auramina-O / Auramina-rodamina).

A coloração Ziehl-Neelsen baseia-se na capacidade de *M. tuberculosis* reter corante mesmo após a aplicação de um agente descolorante ácido, devido à estrutura única e altamente lipídica da parede celular destas bactérias. Assim, primeiramente é aplicado a corante fucsina em esfregaço de expectoração, de seguida a amostra é tratada com uma solução ácida-alcoólica, causando a descoloração das bactérias não ácido-resistentes, enquanto, as bactérias ácido-resistentes retêm o corante vermelho devido à sua parede celular espessa e rica em ácidos micólicos. Por fim, a amostra é corada com um corante de contraste como o azul de metileno que irá corar as bactérias não ácido-resistentes, permitindo assim a sua distinção. A OMS padronizou este método de forma a garantir a

sua correta execução, incluindo as seguintes etapas: preparação de esfregaço, coloração e leitura da lâmina (Paro Pedro et al., 2011).

Este método apesar de ser barato, rápido e tecnologicamente pouco exigente, apresenta uma baixa taxa de detecção, detetando apenas entre 56 e 68% dos casos de tuberculose, diminuindo a percentagem de detecção no caso de pessoas com co-infecção por VIH (Barnard et al., 2012; Tierney et al., 2014; Dong et al., 2022).

As principais limitações deste método incluem: elevada taxa de falsos negativos; baixa sensibilidade, sendo necessário mais de 10 000 bacilos / ml de amostra para ser detetado; dependência do técnico que analisa a amostra; não distinção entre bactérias vivas e mortas (Tierney *et al.*, 2014; Dong et al., 2022).

2.6.2. GeneXpert®

Xpert, também referido como Xpert MTB/RIF (Cepheid, CA, EUA), é um teste molecular rápido (Cepheid) para a detecção de *M. tuberculosis* e resistência à rifampicina. Este teste é quase totalmente automatizado e usa a tecnologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real para identificar o DNA de *M. tuberculosis* e as mutações associadas à resistência à rifampicina. É um teste altamente sensível e específico para detetar *M. tuberculosis*, mesmo em amostras com baixas cargas bacterianas, detetando bacilos vivos e mortos. O Xpert MTB/RIF é particularmente útil para o diagnóstico de TB em pacientes com VIH, que muitas vezes têm TB paucibacilar (Furin et al., 2019; Coli et al., 2018).

Existe uma versão do teste, denominada Xpert MTB/RIF Ultra, com uma sensibilidade para a detecção de tuberculose semelhante aos ensaios de cultura (conhecidos por serem altamente sensíveis), no entanto, este teste apresenta uma especificidade mais baixa para detectar *M. tuberculosis*. Uma versão expandida do cartucho Xpert, chamada Xpert XDR, permite a detecção de resistência à isoniazida, agentes injetáveis e fluoroquinolonas (Furin et al., 2019; Pilay et al., 2022; Varaine et al., 2024).

2.6.3. Teste IGRA (*Interferon Gamma Release Assay*)

Para o diagnóstico da infeção por tuberculose latente, duas abordagens principais baseadas na imunidade são atualmente utilizadas e incluídas nas orientações da OMS, o

teste cutâneo de tuberculina (TST) e o teste de libertação de interferon-gama (IGRA) (Furin et al., 2019).

O IGRA é um exame de sangue usado para detetar infeção por *M. tuberculosis*, incluindo TB latente e TB ativa, não permitindo, no entanto, a sua distinção. Este teste mede a resposta imune às bactérias da TB quantificando a libertação de interferon-gama (IFN- γ) quando as células T no sangue são expostas a antígenos específicos da TB. Uma vez que são usados antígenos específicos que estão presentes no *M. tuberculosis*, mas não na maioria das micobactérias não-tuberculosas ou na vacina BCG (Bacille Calmette-Guérin), aumenta a especificidade do teste e reduz os resultados falso-positivos devido à vacinação ou exposição a micobactérias não-tuberculosas. Outra vantagem do teste IGRA, quando comparado com a prova da tuberculina, é a necessidade de apenas ser efetuada uma visita para recolha de sangue. As limitações associadas a este teste referem-se ao seu custo e acessibilidade, sendo geralmente mais caro do que a prova da tuberculina. (Brett & Severn, 2021; Furin et al., 2019). Este teste apresenta ainda baixa sensibilidade em uma variedade de populações imunocomprometidas (Furin et al., 2019).

2.7. Tratamento e Prevenção

Sem tratamento, a taxa de mortalidade por tuberculose é alta (cerca de 50%). Tratamentos com medicamentos eficazes foram desenvolvidos pela primeira vez na década de 1940 (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023). Embora, pouco tenha mudado no tratamento da tuberculose sensível aos medicamentos, os dados sobre o aumento da eficácia com medicamentos novos e reposicionados levaram a OMS a recomendar, pela primeira vez em 2018, a terapia totalmente oral para a tuberculose resistente aos medicamentos. Com os tratamentos atualmente recomendados pela OMS (4 a 6 meses de medicamentos anti-TB), cerca de 85% das pessoas com TB podem ser curadas (Furin et al., 2019).

As mais recentes orientações da OMS, recomendam um tratamento de 6 meses: com 2 meses de isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida para pessoas com tuberculose suscetível a estes medicamentos, seguidos de isoniazida e rifampicina, durante 4 meses. Pessoas a partir de 12 anos de idade com tuberculose pulmonar suscetível podem também ser tratadas com um esquema de tratamento de 4 meses de rifapentina, isoniazida, pirazinamida e moxifloxacina. O tratamento para pessoas diagnosticadas com TB rifampicina-resistente (TB-RR) e TB multirresistente (TB-

MDR), requerem outros esquemas de tratamento (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

Estudos demonstram que os regimes mais curtos de prevenção da tuberculose latente que contêm rifampicina ou rifapentina são tão eficazes como os regimes mais longos à base de isoniazida, e existe uma vacina candidata promissora para prevenir a progressão da infecção para a doença (Furin et al., 2019).

Os esforços de prevenção têm-se centrado na vacinação contra a tuberculose e o tratamento da tuberculose latente ou da infecção por tuberculose.

A única vacina autorizada para a prevenção da TB é a vacina de Bacille Calmette-Guérin (BCG). A vacina BCG foi desenvolvida há quase 100 anos, e é conhecida por prevenir formas graves disseminadas de TB em crianças, sendo amplamente utilizada. Potencialmente oferece alguma proteção às populações adultas, não existindo, atualmente, nenhuma vacina licenciada que seja eficaz na prevenção da TB em adultos, quer antes quer depois da exposição à infecção por TB. No entanto, os resultados de um ensaio de Fase II de uma vacina candidata conhecida como M72/AS01E (GlaxoSmithKline, Londres, Reino Unido), apresentam-se promissores, com mais de 50% de proteção contra a progressão para tuberculose ativa entre adultos com infecção por tuberculose (Furin et al, 2019; *Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

O tratamento preventivo está disponível para pessoas com infecção por TB. As opções recomendadas incluem: uma dose semanal de isoniazida e rifapentina durante 3 meses, uma dose diária de isoniazida e rifampicina durante 3 meses, uma dose diária de isoniazida e rifapentina durante 1 mês, uma dose diária de rifampicina durante 4 meses e uma dose diária de isoniazida durante 6 meses ou mais (*Global Tuberculosis Report 2023*, 2023).

2.8. Inquéritos CAP

Os inquéritos sobre conhecimentos, atitudes e práticas (CAP) foram aplicados pela primeira vez na década de 1950, no domínio do planeamento familiar e da investigação populacional (Andrade et al, 2020; Sharma, 2024).

Atualmente, os inquéritos CAP são um método amplamente utilizado e aceite para a investigação de comportamentos relacionados com a saúde e de práticas de procura de saúde. O objetivo do inquérito CAP é obter informações sobre o que se sabe

(conhecimento), o que se acredita (atitude) e o que se faz (prática) no contexto do tópico de interesse (Andrade et al., 2020; Sharma, 2024; World Health Organization, 2008).

Na maioria dos inquéritos CAP, os dados são recolhidos oralmente por um entrevistador utilizando um questionário estruturado e padronizado. Dependendo dos objetivos e da conceção do estudo, estes dados podem depois ser analisados quantitativa ou qualitativamente. Um inquérito CAP pode ser concebido especificamente para recolher informações sobre tópicos relacionados com um tema específico, mas também pode incluir perguntas sobre práticas gerais de saúde e crenças (Andrade et al., 2020; World Health Organization, 2008).

2.8.1. Conhecimentos

O conhecimento é a capacidade de adquirir, reter e utilizar informação. Isto requer uma mistura de compreensão, experiência, discernimento e habilidade. A natureza do conhecimento depende dos modos de aquisição de ideias: percepção, imaginação, memória, julgamento, abstração e raciocínio. Os critérios de conhecimento centram-se no permite a uma pessoa distinguir entre o certo e o errado. A educação adequada é o pré-requisito do conhecimento (Sharma, 2024; World Health Organization, 2008).

2.8.2. Atitudes

A atitude é uma predisposição aprendida para reagir de forma favorável ou desfavorável em relação a pessoas, um objeto, uma ideia ou uma situação. O conhecimento correto conduz a uma atitude positiva e adequada (Sharma, 2024; World Health Organization, 2008).

2.8.3. Práticas

A prática é a aplicação de regras e conhecimentos que conduzem à ação. Os inquéritos CAP podem revelar as ideias erradas ou os mal-entendidos que podem representar obstáculos às atividades que se pretendem implementar e identificar potenciais barreiras à mudança de comportamento. O inquérito CAP regista essencialmente a opinião dos participantes e baseia-se nas suas declarações, podendo existir lacunas consideráveis entre o que é dito e o que é feito (Sharma, 2024).

2.8.4. Aplicação de Inquéritos CAP na tuberculose

De acordo com dados publicados, os atrasos na detecção, notificação e tratamento de casos de TB estão associados a vários fatores, incluindo: fraco conhecimento sobre os sintomas e sinais da tuberculose, má percepção e confiança nas instalações e no pessoal de saúde disponíveis, bem como conceitos errados sobre transmissão e prevenção de tuberculose (Bashorun et al., 2020).

Dado que os inquéritos CAP são um recurso que permite identificar características importantes de uma população relativamente ao conhecimento, atitude e prática relativos a uma determinada doença, estes têm vindo a ser aplicados para diversas doenças, incluindo TB (Bashorun et al., 2020; Datiko et al., 2019; Harstad et al., 2022; Nubed & Akoachere, 2016; Samuel et al., 2018).

De acordo com a estratégia “*End TB*” da Organização Mundial de Saúde, o envolvimento da comunidade, é uma componente essencial para eliminar a TB, sendo necessárias intervenções para abordar fatores sociais ou a nível comunitário para melhorar ou contribuir para a detecção de casos de tuberculose e o sucesso do tratamento (*Global Tuberculosis Report 2019*, 2019). Os dados recolhidos através dos inquéritos permitem aos gestores de programas definir as prioridades do programa de TB (por exemplo, para os problemas mais comuns ou para identificar subgrupos específicos cujas necessidades podem ser diferentes de outros grupos), estimar os recursos necessários para as várias atividades, selecionar os canais de comunicação e as mensagens mais eficazes, estabelecer níveis de referência e medir as mudanças que resultam das intervenções (World Health Organization, 2008).

3. OBJETIVOS

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar os conhecimentos, atitudes e práticas dos coabitantes de portadores de tuberculose, de forma a compreender a relação com a taxa de infeção comunitária.

Assim, o trabalho foi estruturado de acordo com os seguintes objetivos específicos:

- a) Identificar os principais fatores de risco associados aos indivíduos que coabitam com portadores de tuberculose (ex.: condição de saúde, contacto direto, entre outros);
- b) Avaliar o índice de infeção, através do IGRA entre agregados familiares e possíveis contactos com pacientes portadores de tuberculose;
- c) Identificar o nível de consciencialização e informação da população em relação à TB;
- d) Identificar possíveis lacunas na prevenção, deteção e tratamento da tuberculose.

De uma forma global, este projeto visa melhorar as oportunidades no panorama da investigação científica sobre a tuberculose na Guiné-Bissau.

4. Materiais e Métodos

4.1. Metodologia do estudo

Neste trabalho foram selecionados doentes com diagnóstico de TB confirmado usando as técnicas de Baciloscopia ou GeneXpert®. Detalhes acerca destes procedimentos, realizados de acordo com o protocolo de Laboratório Nacional de Referência de Tuberculose, podem ser encontrados em anexo (Anexo I e Anexo II).

De forma a identificar casos latentes, foi efetuado um estudo transversal descritivo com abordagem qualitativa e quantitativa, através de inquéritos CAP e testes IGRA. A identificação destes contactos permite obter informação do número de pessoas que são infetadas através do contacto com um caso positivo (caso-índice). Os doentes selecionados participaram no estudo de forma voluntária, sendo acompanhados durante 1 ano, de forma a monitorizar a evolução da doença. Este estudo foi desenvolvido em colaboração com o Projeto de Saúde Bandim (PSB).

4.2. Local do Estudo

O estudo foi realizado em Bissau, capital da Guiné-Bissau. Contou com a colaboração do PSB, um local de vigilância demográfica em saúde e parte da rede internacional de avaliação demográfica da população e da sua saúde. O PSB abrange 6 distritos suburbanos de Bissau com cerca de 102.000 pessoas. O processamento das amostras foi efetuado no Laboratório Nacional de Saúde Pública da Guiné-Bissau (LNSP).

4.3. Desenho do Estudo

- Este estudo teve como objetivo avaliar o conhecimento, atitudes e práticas dos coabitantes de portadores de TB, de forma a compreender a relação com a taxa de infeção comunitária. Assim, os objetivos específicos deste projeto são:

Identificar os principais fatores de risco associados aos indivíduos que coabitam com portadores de TB (ex.: condição de saúde, contacto direto, entre outros);

- Avaliar o índice de infecção, através do doseamento do IGRA entre agregados familiares e possíveis contactos com pacientes portadores de TB;
- Realizar atividades de educação em saúde com a comunidade da área de estudo;
- Promover a capacitação dos profissionais de saúde para identificar sintomas ou situações de risco de TB.

4.4. Amostragem e População de Estudo

As amostragens incidiram na população sob a cobertura do PSB e, em colaboração com o Laboratório Nacional de Saúde Pública (LNSP) da Guiné-Bissau, foram recrutados doentes com o diagnóstico de TB confirmado. Este estudo foi executado em parceria com o PSB e LNSP. Os hospitais e centros de saúde da área de estudo foram utilizados para recrutar pacientes, os quais foram incluídos no estudo de forma voluntária, podendo abandonar o estudo sem que fosse comprometido o relacionamento com a equipa de investigação, ou pondo em causa o tratamento *standard* para a sua condição. As suas características sociodemográficas e clínicas foram registadas, nomeadamente, o sexo, etnia, história passada de tuberculose, comorbilidades conhecidas, infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) – VIH-1 e VIH-2, entre outros.

4.5. Critérios de Inclusão e Exclusão

Na primeira parte do projeto foram incluídos pacientes selecionados de ambos os sexos com diagnóstico da tuberculose confirmado e com idade entre os 15 e 65 anos de idade, com e sem comorbilidades associadas, nomeadamente: doença oncológica, doença autoimune, diabetes, infecção por VIH-1 e VIH-2, insuficiência renal crónica, terapêutica imunossupressora, corticoterapia. Foram também incluídos indivíduos que vivem na área de estudo e que apresentem infecção por *M. tuberculosis* latente há pelo menos 2 anos e com a idade compreendida entre os 15 e 65 anos. Foram excluídos todos os doentes que não tinham diagnóstico de tuberculose confirmado.

Na segunda parte do projeto, foram recrutados coabitantes dos doentes com TB confirmada sendo incluídos no estudo para efetuar o questionário e o teste IGRA. A recolha de dados foi efetuada entre Abril de 2022 a dezembro de 2023

4.6. Considerações Éticas

O estudo foi submetido à aprovação do Comité Nacional de Ética na Saúde do Ministério da Saúde da Guiné-Bissau. Um consentimento informado por escrito, ou impressão digital no caso de sujeitos iletrados, foi obtido para todos os intervenientes neste estudo. Informações adicionais foram fornecidas na língua oficial (português) ou na língua nacional da Guiné-Bissau (crioulo). A informação fornecida aos participantes foi simples e clara, e consistiu em clarificar que a sua participação no estudo é voluntária e que têm o direito de decidir livremente aceitar ou recusar a qualquer momento a sua participação no estudo. Foi esclarecido que em caso de recusa de participação, não ocorreria qualquer prejuízo na assistência médica e medicamentosa que lhes é prestada.

4.7. Metodologia de Diagnóstico

4.7.1. Questionários

Os questionários realizados permitem obter informação de cadeias de contágio. Assim, foram efetuadas visitas domiciliárias em cada caso reportado como positivo. Após autorização, por parte do doente, para contactar os familiares e contactos de risco, todos os participantes foram informados do tipo de questionário que iam ser submetidos. Este questionário permite obter informação de fatores que facilitam a transmissão num agregado familiar ou contactos mais próximos. Adicionalmente, permite avaliar o nível de conhecimento dos comportamentos a ter e medidas a tomar estando em contacto com um doente de TB, de forma a evitar contágios.

Foram entrevistados 175 coabitantes dos portadores de TB, com uma equipa de três técnicos capacitados para aplicação de inquéritos. A capacitação da equipa do campo abrange uma compreensão sobre o tema, informação relacionada com a ética, sigilo e confidencialidade e forma de abordagem para entrevista.

O questionário é composto por questões abertas e fechadas, organizado em diferentes seções relacionadas com a TB (Anexo III). Na Figura 5 encontra-se o diagrama com o número de doentes incluídos no estudo. O inquérito foi aprovado pelo Comité Nacional de Ética em Pesquisa na Saúde (CNEPS) de Guiné-Bissau.

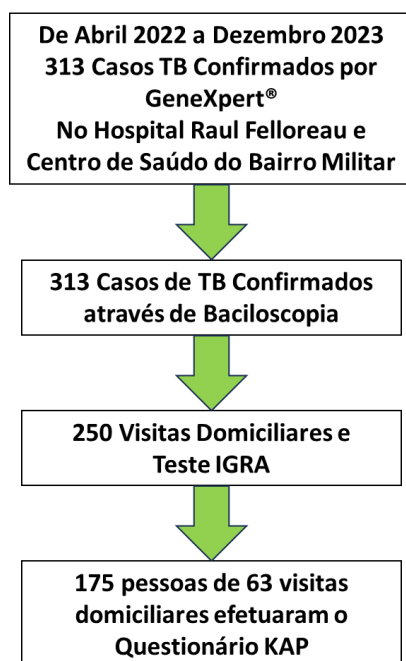


Figura 5 - Número de utentes recrutados para o questionário e teste IGRA.

4.7.2. Teste IGRA

O teste IGRA (rastreamento), tem demonstrado ser uma excelente ferramenta no auxílio do diagnóstico da TB latente. Em paralelo com os inquéritos, este teste foi aplicado a todos os contactos de risco com portadores de TB. Para este teste foi efetuada colheita de sangue em tubos específicos, seguindo o procedimento descrito em baixo:

- Colheita por punção venosa de 1mL de sangue diretamente para cada um dos tubos de colheita QuantiFERON TB Gold LT;
- Misturar o conteúdo do tubo por inversão 8 a 10 vezes ou agitando-os vigorosamente durante 5 segundos para garantir o sangue entra em contacto com toda a superfície do tubo;
- Identificar corretamente os tubos;
- Os tubos devem ser transferidos para uma incubadora a 37°C logo que possível ou até 16 horas após a colheita. Os tubos não devem ser refrigerados ou congelados. Se os tubos não forem incubados imediatamente após a colheita, a agitação dos tubos deve ser repetida imediatamente antes da incubação.
- Incubar os tubos na vertical a 37°C durante 16-24 horas. A incubadora não necessita de humidade ou CO₂.

- f) Após incubação, centrifugar os tubos durante 15 minutos entre 2000-3000 RCF (g). A centrifugação permite a separação do plasma. Caso isso não se verifique, efetuar nova centrifugação a uma velocidade maior.
- g) As amostras de plasma e sangue foram armazenadas até efetuar a identificação.

A identificação através de ELISA do IFN- γ humano foi realizada da seguinte forma:

- a) As amostras de plasma e os reagentes, exceto o conjugado 100x concentrado, devem estar à temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) antes de serem usados;
- b) Retirar as tiras que são necessárias ao procedimento: uma tira para o QuantiFERON[®]-TB Gold Standards e o número suficiente de tiras para as amostras a serem testadas;
- c) Reconstruir o liofilizado com o volume de água desionizada ou destilada indicado na etiqueta. Misturar suavemente para minimizar a formação de espuma e assegurar a completa solubilização. A reconstituição do standard com o volume indicado dá origem a uma solução com concentração 8.0 IU/ml;
- d) Reconstruir o conjugado 100x concentrado liofilizado com 0.3 ml de água desionizada ou destilada. Misture suavemente para minimizar o aparecimento de espuma e assegurar a completa solubilização do conjugado.
- e) Agitar as amostras de plasma antes do ensaio para assegurar que o IFN- γ se distribui uniformemente na amostra;
- f) Adicionar 50 μl da solução do conjugado aos poços ELISA e adicionar 50 μl do plasma de cada uma das amostras nos poços apropriados. Repetir o procedimento para os tubos dos standards 1 a 4;
- g) Usando um agitador de microplacas misturar completamente o conjugado e as amostras de plasma/standards durante 1 min;
- h) Cobrir cada placa com uma tampa e deixe incubar a temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) durante 120 ± 5 min. Evitar a exposição das placas diretamente à luz solar durante a incubação;
- i) Diluir uma parte do tampão de lavagem 20x concentrado e, após terminado o tempo de incubação, lavar os poços com 400 μl de tampão de lavagem pelo menos 6 vezes;
- j) Após a lavagem, bater com as placas invertidas numa toalha absorvente para remover tampão de lavagem residual. Adicionar 100 μl de substrato de enzima para remover o tampão de lavagem residual. Adicionar 100 μl de solução de

substrato da enzima a cada poço e misturar completamente usando um agitador de microplacas;

- k) Cobrir cada placa com tampa e deixe incubar a temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) durante 30 min;
- l) Após 30 min de incubação, adicionar 50 μl de solução de enzima stop a cada poço e misturar.
- m) Medir a densidade ótica (OD) de cada poço, até 5 min depois da adição da enzima stop, usando um leitor de microplacas ajustado com um filtro de 450 nm e com filtro de referência de 620 nm a 650 nm. O software do leitor efetua uma avaliação de controlo de qualidade do ensaio, gera uma curva de calibração e fornece o resultado para cada amostra.

4.8. Recolha e Análise de Dados de Inquéritos

4.8.1. Recolha de dados

A recolha de dados foi feita através de um questionário semiestruturado composto por uma série de questões, organizadas em três blocos relacionada TB (conhecimentos, atitudes e práticas).

No questionário é pedida informação básica do participante, conhecimento de contacto doméstico, perceção e práticas de contacto doméstico relevantes para a investigação de TB. O questionário foi efetuado após consentimento informado, sendo realizado por três técnicos treinados. Os técnicos efetuaram os questionários de forma individual, sendo as questões lidas pelo técnico e as respostas registadas no formulário de acordo com a resposta do participante. Os resultados foram analisados após criação de uma base de dados com os códigos respetivos para cada questão, sendo efetuada uma análise descritiva qualitativa e quantitativa.

4.8.2. Análise Estatística

As variáveis em estudo são variáveis qualitativas, com a exceção da variável nº de elementos do agregado familiar que é uma variável quantitativa discreta, pelo que o seu tratamento estatístico passou por uma análise de estatística descritiva sendo os resultados

apresentados em tabelas de frequências – absoluta (número de respostas em cada uma das categorias da variável) e relativa (percentagem de respostas em cada categoria em relação ao total de respostas).

As tabelas geradas apresentam as categorias de cada variável em linha e as frequências (absoluta e relativa) em coluna. Incluem-se nas tabelas os valores omissos que não puderem ser categorizados em cada uma das variáveis. Foram ainda realizadas tabelas de frequência (absoluta e relativa) relativas ao cruzamento de cada uma das variáveis em estudo com a variável correspondente aos resultados do teste IGRA (positivo, negativo ou indeterminado). Nestas tabelas, apenas foram considerados os valores constantes efetivamente em cada uma das categorias de cada uma das variáveis.

Os dados estatísticos foram sujeitos a classificação e tratamento estatístico com recurso ao software estatístico SPSS (versão 27).

5. Resultados e Discussão

5.1. Características Sociodemográficas da amostra

Após a análise dos 175 questionários, conforme ilustrado na Tabela 3, observaram-se as características sociodemográficas deste grupo de indivíduos. Em algumas variáveis, foi necessário excluir respostas dos participantes devido à não correspondência com as opções para resposta apresentadas, sendo estas identificadas como ‘Omisso’. Todos os resultados percentuais apresentados foram calculados com base no total de 175 participantes.

Tabela 3 - Características sociodemográficas da amostra populacional.

Variáveis	N (175)	%
Gênero		
Feminino	97	54,8
Masculino	78	44,1
Estado civil		
Casado (a)	46	26,3
Divorciado (a)	3	1,7
Solteiro (a)	115	65,7
Viúvo (a)	11	6,3
Relação com o doente com tuberculose		
Pai/mãe	19	10,9
Cônjuge/Filho (s)	28	16,0
Irmão (ã)	31	17,7
Outro parentesco	62	35,4
Outro	35	20,0

Variáveis	N (175)	%
Nível de educação mais elevado concluído		
Primário	37	21,1
Secundário	73	41,7
Universitário	14	8,0
Diplomado	20	11,4
Nenhuma educação formal	23	13,1
Omisso	8	4,6
Ocupação laboral		
Estudante	60	34,3
Desempregado	16	9,1
Funcionário Público	15	8,6
Funcionário Privado	4	8,0
Dona de casa	18	10,3
Conta própria	31	17,7
Outro	21	12,0
Rendimento médio mensal		
<15.000 XOF	75	42,9
20.000- 50.000 XOF	36	20,6
50.000- 100.000 XOF	32	18,3
100.000- 150.000 XOF	11	6,3
>150.000 XOF	5	2,9
Omisso	16	9,1
Espaços de maior aglomeração frequentados		
Bar	8	4,6
Bancada	19	10,9
Escola/Universidade	61	34,9
Show (espetáculo)	9	5,1
Mercado/Feira	68	38,9
Banco	6	3,4
Omisso	4	2,3

Deste grupo, 54,8% identificaram-se como indivíduos do gênero feminino, e 44,1% como indivíduos do gênero masculino. Considerando o estado civil dos participantes, 26,3% são casados, 1,71% são divorciados, 65,7% são solteiros, e 6,29% são viúvos. Relativamente à relação do participante com o paciente portador de TB, 10,9% são pai ou mãe, 16,0% são cônjuge ou filhos, 17,7% são irmãos, 35,4% possuem outro tipo de parentesco, e 20,0% têm outro relacionamento não especificado.

Quanto ao nível de educação mais elevado concluído, 21,1% dos participantes têm o nível primário, 41,7% o nível secundário, 8,00% o nível universitário, 11,4% são diplomados, 13,1% não têm nenhuma educação formal, e 4,57% das respostas nesta categoria foram excluídas. Em relação à ocupação laboral, 34,3% dos participantes são estudantes, 9,14% estão desempregados, 8,57% trabalham na função pública, 8,00% são funcionários privados, 10,3% são donas de casa, 17,7% trabalham por conta própria, e 12,0% têm outra ocupação não especificada.

Considerando o rendimento mensal, 42,9% dos participantes têm um rendimento inferior a 15.000 XOF, 20,6% ganham entre 20.000 e 50.000 XOF, 18,3% entre 50.000 e 100.000 XOF, 6,29% entre 100.000 e 150.000 XOF, e 2,86% têm um rendimento superior a 150.000 XOF. Nesta categoria, 9,14% das respostas foram excluídas. Finalmente, em relação à frequência dos participantes em espaços com maior aglomeração, 4,57% indicaram que o local mais frequentado é o bar, 10,9% a bancada, 34,9% a escola ou universidade, 5,14% os shows (espetáculos), 38,9% os mercados ou feiras, e 3,43% o banco. No total, 2,29% das respostas foram excluídas.

Esta especificidade das características sociodemográficas proporciona uma visão abrangente do perfil dos participantes do estudo, servindo como base para as análises posteriores.

Em paralelo à realização dos questionários, foi realizado o teste IGRA a todos os participantes da segunda fase do projeto. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados do teste IGRA tendo em conta as características sociodemográficas.

Variáveis	N (175)	Resultados do teste IGRA			%		
		Positivo	Negativo	Indeterminado	Positivo	Negativo	Indeterminado
Género							
Feminino	97	47	7	43	48,5	44,3	7,2
Masculino	78	29	8	41	37,2	52,6	10,3
Estado civil							
Casado (a)	46	20	21	5	43,5	45,7	10,9
Divorciado (a)	3	1	2	-	33,3	66,7	0,0
Solteiro (a)	115	50	55	10	43,5	47,8	8,7
Viúvo (a)	11	5	6	-	45,5	54,5	0,0
Relação com o doente com tuberculose							
Pai/mãe	19	8	9	2	42,1	47,4	10,5
Cônjuge/Filho (s)	28	14	9	5	50,0	32,1	17,9
Irmão (ã)	31	11	20	-	35,5	64,5	0,0
Outro parentesco	62	25	32	5	40,3	51,6	8,1
Outro	35	18	14	3	51,4	40,0	8,6
Nível de educação mais elevado concluído							
Primário	37	17	15	5	45,9	40,5	13,5
Secundário	73	30	38	5	41,1	52,1	6,8
Universitário	14	5	9	0	35,7	64,3	0,0
Diplomado	20	11	7	2	55,0	35,0	10,0
Nenhuma educação formal	23	10	11	2	43,5	47,8	8,7
Ocupação laboral							
Estudante	60	23	28	9	38,3	46,7	15,0
Desempregado	16	9	7	0	56,3	43,8	0,0
Funcionário Público	15	7	6	2	46,7	40,0	13,3
Funcionário Privado	4	5	9	0	35,7	64,3	0,0
Dona de casa	18	9	8	1	50,0	44,4	5,6

Variáveis	N (175)	Resultados do teste IGRA			%		
		Positivo	Negativo	Indeterminado	Positivo	Negativo	Indeterminado
Conta própria	31	11	19	1	35,5	61,3	3,2
Outro	21	12	7	2	57,1	33,3	9,5
Rendimento médio mensal							
<15.000 XOF	75	35	31	9	46,7	41,3	12,0
20.000 - 50.000 XOF	36	15	20	1	41,7	55,6	2,8
50.000 - 100.000 XOF	32	12	18	2	37,5	56,3	6,3
100.000 - 150.000 XOF	11	5	5	1	45,5	45,5	9,1
>150.000 XOF	5	3	2	0	60,0	40,0	0,0
Espaços de maior aglomeração frequentados							
Bar	8	3	5	0	37,5	62,5	0,0
Bancada	19	6	13	0	31,6	68,4	0,0
Escola/ Universidade	61	26	28	7	42,6	45,9	11,5
Show (espetáculo)	9	4	5	0	44,4	55,6	0,0
Mercado/Feira	68	33	27	8	48,5	39,7	11,8
Banco	6	3	3	0	50,0	50,0	0,0

O teste IGRA foi concebido para quantificar a resposta imunitária a antígenos exclusivos do organismo, sendo considerado um marcador indireto de exposição à TB (Pagaduan & Ghaith Altawallbeh, 2023). Dos 175 participantes, 43,4% testaram positivo, indicando que 76 indivíduos foram expostos à bactéria *M. tuberculosis*. Por outro lado, 48,0% dos indivíduos testaram negativo, e 8,57% dos resultados foram indeterminados, possivelmente devido a uma resposta insuficiente do sistema imunitário dos indivíduos testados.

Relativamente à diferença entre géneros, os resultados revelaram uma percentagem superior de casos positivos em indivíduos do género feminino em comparação aos do género masculino. Este fato pode sugerir potenciais diferenças relacionadas com o género na resposta imunitária medida pelo teste IGRA. Será necessário aprofundar a investigação para compreender as causas subjacentes a estas diferenças.

Dos 76 participantes que testaram positivo para TB, a maioria tem como estado civil solteiro (65,8%), seguido de casado (26,3%), viúvo (6,58%) e divorciado (1,32%). Quanto ao relacionamento com o doente, a maioria que testou positivo é outro parente não especificado (32,9%), seguido da categoria “outro” (23,7%), cônjuge ou filhos (18,4%), irmãos (14,5%) e pai ou mãe (10,2%).

Observa-se que os participantes com nível de educação secundário são os que apresentam maior percentagem de casos positivos (39,5%), seguidos pelos indivíduos com nível escolar primário (18,4%), os diplomados (14,5%), os que não têm nenhum nível de educação formal (13,2%) e, por fim, os com nível universitário (6,58%).

Em relação à ocupação laboral, os participantes estudantes têm maior percentagem de resultados positivos (30,3%), seguidos pela categoria 'outro' não especificado (15,8%), indivíduos por conta própria (14,5%), com a mesma percentagem os participantes desempregados e donas de casa (11,8%), funcionário público (9,21%) e, finalmente, funcionário do privado (6,58%).

Quanto ao rendimento mensal, os participantes que recebem um valor inferior a 15.000 XOF são os que têm maior percentagem de casos positivos (46,1%), seguidos dos que recebem entre 20.000 e 50.000 XOF (19,7%), entre 50.000 e 100.000 XOF (15,8%), entre 100.000 e 150.000 XOF (6,58%) e, por último, o grupo com menor número de casos positivos é o dos indivíduos que recebem um valor superior a 150.000 XOF (3,95%).

Analisando os resultados em relação à variável dos espaços de maior aglomeração frequentados pelos 76 participantes que testaram positivo para TB, o mercado ou feira é o mais frequentemente visitado (43,4%), seguido pela escola ou universidade (34,2%), a bancada (7,89%), os shows (espetáculos) (5,26%) e, por fim, com a mesma percentagem, o bar e o banco (3,95%).

5.2. Conhecimentos, Atitudes e Práticas

Após a análise da segunda parte, relacionados à CAP (conhecimento, atitudes e prática) dos 175 questionários, foram identificadas várias variáveis relacionadas ao conhecimento, percepção e prática sobre a tuberculose entre os participantes. A Tabela 5 resume esses resultados.

Tabela 5 - Resumo da segunda parte dos resultados dos inquéritos CAP.

Conhecimento do contacto doméstico (Conhecimento)						
Variáveis	N (175)			%		
Q.2.1. - Vou ler uma lista de possíveis sintomas da tuberculose. Para cada opção diga sim ou não. (assinale uma ou mais opção).						
Tosse	159			90,9		
Fadiga	142			84,6		
Dores nas pernas	114			65,1		
Perda de peso	159			90,9		
Sudorese noturna	113			64,6		
Falta de apetite	131			74,8		
Tosse com sangue	91			52,0		
Dor no peito	148			84,6		
Febre	148			84,6		
Variáveis	Sim (N)	Não (N)	Não sei (N)	Sim (%)	Não (%)	Não sei (%)
Q.2.2. - Qual das seguintes atividades faz com que uma pessoa com tuberculose espalhe a infeção a outras pessoas? Para cada opção indique (sim/não/não sei).						
Quando a pessoa espirra?	156	-	13	89,1	-	7,4
Quando o paciente fala?	156	4	13	89,1	2,3	7,4
Quando comer e beber usando os mesmos utensílios (tais como prato, copo, talher) que a pessoa com tuberculose?	157	7	9	89,7	4,0	5,1
Quando dorme no mesmo quarto com a pessoa com tuberculose?	146	2	16	83,4	1,1	9,1
Ao utilizar os mesmos pertences (toalhas, roupas, guardanapos)?	141	12	21	80,6	6,9	12,0
Ao abraçar ou beijar uma pessoa com tuberculose?	145	8	20	82,9	4,6	11,4

Ao utilizar a mesma casa de banho?	115	1	30	65,7	0,6	17,1
Ao ter relações sexuais com a pessoa com tuberculose?	129	-	36	73,7	-	20,6
Variáveis	Verdadeiro (N)	Falso (N)	Não sabe (N)	Verdadeiro (%)	Falso (%)	Não sabe (%)
Q.2.3. - Agora vou ler algumas declarações sobre a história natural da tuberculose. Algumas são verdadeiras e outras não. Para cada opção, digas se é (verdadeira/ falso/não sabe).						
A tuberculose é causada por uma infeção bacteriana	86	1	82	49,1	0,6	46,9
A tuberculose é causada por viver num ambiente pouco higiénico	114	4	44	65,1	2,3	25,1
Algumas pessoas têm tuberculose extrapulmonar que não pode ser disseminada de pessoa para pessoa	85	4	47	48,6	2,3	26,9
O tabagismo aumenta à suscetibilidade a tuberculose	96	0	60	54,9	0	34,3
As crianças correm um risco maior de desenvolver a tuberculose do que os adultos	99	3	38	56,6	1,7	21,7
As pessoas com VIH/SIDA têm um risco mais elevado de desenvolver tuberculose do que uma pessoa sem VIH	113	6	52	64,6	3,4	29,7
As mulheres grávidas correm um risco maior de desenvolver tuberculose do que as pessoas que não estão grávidas	106	14	51	60,6	8,0	29,1
Pessoas com o sistema imunitário enfraquecido devido a doenças crónicas, como a diabetes, correm um	122	6	43	69,7	3,4	24,6

risco mais elevado de desenvolver tuberculose						
As pessoas com má nutrição têm um risco mais elevado de desenvolver tuberculose	133	1	28	76,0	0,6	16,0
A tuberculose pode ser completamente curada se um paciente fizer o tratamento.	152	2	9	86,9	1,1	5,1
A medicina tradicional pode ser usada para curar a tuberculose	53	79	43	30,3	45,1	24,6
Perceção do contacto doméstico para a investigação do contacto TB (Atitude)						
Variáveis	N (175)			%		
Q.3.1.- Pensa que existe discriminação contra as pessoas com tuberculose? (Marque uma opção)	129			73,7		
Q.3.2.- Como classificaria o seu risco de desenvolver tuberculose em comparação com um membro da população em geral? (Marque uma opção)	75			42,9		
Q.3.3. - Apenas para inadimplentes: Indique se concorda ou não com cada uma das seguintes declarações (assinale uma ou mais opções)						
Não assisti à minha consulta na clínica porque:						
A distância a percorrer desde a minha casa ao centro de saúde distrital preventivo é demasiado longe	103			58,9		
Preocupo-me com o efeito nocivo de um raio X	100			57,1		
Eu queria ser examinado numa clínica privada de saúde em vez disso	129			73,7		

Estou preocupado com a discriminação de outras pessoas em relação a mim e a minha família	133	76,0
O paciente na minha casa recuperada, pelo que é desnecessário continuar o rastreio	108	61,7
Não me lembrava da marcação da data	128	73,1
É demorado. Foi difícil obter tempo para sair do trabalho ou estudar	84	48,0
Eu estava grávida	-	0,0
Q.3.4. - O rastreio da tuberculose é benéfico para mim e a minha família".	77 + 60 (concordo + concordo plenamente)	78,3
Prática de contactos domésticos na investigação de contactos TB (Prática)		
Variáveis	N (175)	%
Q.4.1. - Com quem falaria sobre a sua doença se tivesse tuberculose		
Profissional de saúde	63	36,0
Cônjuge	11	6,3
Filhos(s) / mãe(s)	63	36,0
Outro membro da família amigo íntimo	20	11,4
Ninguém	14	8,0
Outros	4	2,3
Q.4.2. - O que faria se pensasse que tinha sintomas de tuberculose?		
Ir para unidade de saúde	149	85,1
Ir para a farmácia	8	4,6
Ir para curandeiro tradicional	13	7,4
Prosseguir outras opções de auto tratamento (Ex. erva)	3	1,7
Outros	2	1,1
Q.4.3. - Se tivesse sintomas de tuberculose, quando iria para a unidade de saúde?		

Quando o tratamento por me não funciona	29	16,6
Quando os sintomas que sinto parece com os da tuberculose	28	16,0
Quando os sintomas que se parecem com sinais da tuberculose dura 3-4 semanas	29	16,6
Assim que me percebo que os meus sintomas podem estar relacionados a tuberculose	55	31,4
Eu não iria ao médico	34	19,4
Acessibilidade dos contactos domésticos à investigação de contactos TB		
Variáveis	N (175)	%
Q.5.1. - Como é que o profissional de saúde o informou sobre a sua consulta de rastreio de contacto?		
Telefone	68	38,9
Visita a minha casa	104	59,4
Eles não contactaram	2	1,1
Outros	1	0,6
Q.5.2. - A que distância vive do centro de saúde ou hospital?		
A menos de 2 Km do centro de saúde	114	65,1
Entre 2 a 9 Km	53	30,3
Entre 10 a 15 Km	6	3,4
16 Km ou mais	1	0,6
Q.5.3. - Como chegaria normalmente à centro de saúde ou hospital?		
A pé	104	59,4
Toca Toca	51	29,1
Táxi	19	10,9

5.2.1. Conhecimentos

A falta de conhecimento pode gerar estigma em relação à TB e atrasar a procura pelo diagnóstico e tratamento, dando continuidade à cadeia de transmissão e agravando o quadro de morbimortalidade associado à doença (Vericat-Ferrer et al., 2022). Com este inquérito, e apesar do grupo populacional entrevistado ser reduzido, é possível entender pelas respostas obtidas que a maioria dos entrevistados reconhece os sintomas associados à TB. Sendo, a tosse e perda de peso os dois sintomas maioritariamente reconhecidos (90,9%). Seguidos, da febre e dor no peito (84,6%), fadiga (81,1%), perda de apetite (74,8%), e suores noturnos (64,6%), estes são os sintomas chave associados à doença da TB (Pagaduan & Ghath Altawallbeh, 2023). Porém ainda há uma certa confusão com os sintomas da tosse com sangue e dores nas pernas que 65,1% e 52,0% dos participantes, respetivamente, identificou também como sintomas chave da TB.

Relativamente às formas de contágio por TB, observa-se que há uma compreensão significativa, mas não total entre os participantes. A maioria dos participantes (89,1%) reconhece espirrar e falar são formas de transmissão da TB. Também entendem a potencial transmissão através do uso de utensílios de comer e beber (89,7%). Além disso, 83,4% dos participantes reconhecem o risco de contágio ao dormir no mesmo quarto que uma pessoa com TB, e 80,6% associam o uso de pertences pessoais como toalhas e roupas à transmissão da doença. Contudo, apenas 65,7% acreditam que a TB pode ser espalhada ao utilizar a mesma casa de banho, enquanto 73,7% reconhecem a possibilidade de transmissão através de relações sexuais.

Em relação à história natural da tuberculose, 49,1% dos participantes sabem que a causa da TB é por infeção bacteriana, enquanto 46,9% desconhecem essa informação. Uma percentagem significativa de participantes acredita de forma equivocada que a TB é causada por viver num ambiente pouco higiénico (65,1%). Existe um entendimento por parte dos participantes, sobre o que é a tuberculose extrapulmonar (48,6%) e os riscos aumentados para pessoas com HIV/AIDS (64,6%) e má nutrição (76,0%). Além de que, a maioria reconhece que a tuberculose pode ser completamente curada com o tratamento adequado (86,9%). Comparativamente a outros trabalhos, o nível de conhecimentos sobre a TB varia significativamente consoante as regiões e as populações. No presente estudo não foram comparados a tipologia da região nem da população, tendo sido os participantes recrutados de 6 áreas suburbanas de Bissau. Na Tanzânia, existe uma clara disparidade entre as zonas rurais e urbanas, com os residentes rurais a demonstrarem

frequentemente níveis mais baixos de conhecimento sobre os sintomas da TB e as vias de transmissão. Esta lacuna no conhecimento é atribuída ao acesso limitado à educação sanitária e aos recursos nas zonas rurais (Malangu & Adebajo, 2015). Do mesmo modo, na cidade de Shinile, na Etiópia, prevalecem ideias erradas sobre a TB, com uma parte significativa dos participantes a atribuir erradamente a TB à falta de higiene, em vez de a entenderem como uma infeção bacteriana (Gebremariam, Bjune, & Frich, 2010). No presente estudo há uma compreensão por parte dos participantes sobre a doença ser uma infeção bacteriana, existindo também uma associação à falta de higiene.

Por outro lado, um estudo na Nigéria demonstra, que apesar se existir um grande número de indivíduos que sabe que a TB é uma doença curável, ainda existe alguma falta de conhecimento quanto às suas vias de transmissão (Agho, Hall, & Ewald, 2014), neste caso, menos de metade dos inquiridos sabia que a TB é uma doença transmitida pelo ar através da tosse ou dos espirros. Além disso, persistiram concepções erradas, com alguns inquiridos a acreditarem que a TB se pode transmitir através do contacto sexual, dos alimentos ou das picadas de mosquito. Este conhecimento ou falta dele, é muito influenciado por fatores como o sexo, a idade, o nível de escolaridade e a exposição aos meios de comunicação social (Agho et al., 2014).

5.2.2. Atitudes

No que diz respeito à perceção, que neste caso incorporamos na categoria de atitude, do contato doméstico para a investigação do contato com TB, 73,7% dos participantes percebem que existe discriminação contra pessoas com TB. Além disso, 42,9% dos participantes, considera-se em risco de desenvolver tuberculose em comparação com a população em geral. Entre os motivos para não comparecer às consultas, destacam-se a distância até o centro de saúde (58,9%), preocupações com os efeitos nocivos de um raio X (57,1%) e discriminação (76,0%). A maioria acredita que o rastreio da TB é benéfico para si e para a sua família (78,3%). Tendo em conta os resultados obtidos do Inquérito CAP, é possível perceber, que o cenário de isolamento sociocultural e da privação económica é um contexto que pode afetar negativamente os resultados por meio de atrasos no tratamento e/ou adesão inadequada ao tratamento, o que aumenta o risco de resistência aos medicamentos, da morbilidade e da mortalidade. O estigma para o diagnóstico da TB em si também impede a busca de ajuda médica no início

da doença, ficando o paciente sujeito a doença crónica ou ineficácia do tratamento clínico (Naidoo et al., 2016).

Comparando com a Etiópia, o estigma associado à TB continua a ser uma barreira importante, com muitos indivíduos a encararem os doentes de TB de forma negativa, o que desencoraja o diagnóstico e o tratamento precoces (Gebremariam et al., 2010). O mesmo se verifica na Nigéria, onde apesar de existir o conhecimento generalizado sobre TB e do seu tratamento, ainda existe a reticência por parte de um número considerável de participantes, quanto ao revelar o diagnóstico positivo de TB a um membro da família (Agho et al., 2014), voltando a reforçar a ideia da enorme discriminação relacionada à doença.

5.2.3. Práticas

Em termos de prática de contactos domésticos na investigação de contactos com TB, 36,0% dos participantes falariam com um profissional de saúde sobre sua doença, ou com filhos/mãe. Apenas 11,4% não falariam com ninguém sobre a doença. A grande maioria (85,1%) procuraria uma unidade de saúde se pensasse ter sintomas de tuberculose. Quando se trata do tempo para procurar tratamento, 31,4% procurariam uma unidade de saúde assim que percebessem que os seus sintomas possam ser indicação de TB, enquanto 16,6% esperariam de três a quatro semanas, tendo sintomas antes de procurar auxílio médico. As práticas em torno da gestão da TB são influenciadas pelos níveis de conhecimento, atitudes e acessibilidade aos serviços de saúde. Na Tanzânia, embora exista uma consciência da necessidade de intervenção médica, as práticas efetivas são dificultadas por desafios logísticos, como a distância até às unidades de saúde, sobretudo nas zonas rurais (Malangu & Adebajo, 2015). Os participantes da Etiópia recorrem frequentemente a curandeiros tradicionais em vez de procurarem o tratamento médico moderno, o que reflete práticas culturais profundamente enraizadas e ideias erradas sobre a eficácia do tratamento da TB (Gebremariam et al., 2010).

Finalmente, no que diz respeito à acessibilidade dos contatos domésticos à investigação de contatos com TB, a maioria dos participantes (65,1%) vive a menos de 2 km de um centro de saúde. Para chegar ao centro de saúde, 59,4% dos participantes vão a pé, enquanto 29,1% usam o Toca Toca (transporte local). A acessibilidade aos serviços de saúde é um fator crítico que influencia as práticas de gestão da TB, no entanto não foi verificado neste estudo. Porém, é uma questão importante na Tanzânia, onde os residentes

rurais enfrentam barreiras substanciais no acesso aos cuidados de saúde, sublinhando a necessidade de melhorar as infraestruturas e os transportes (Malangu & Adebajo, 2015).

Tendo em conta os resultados obtidos e os estudos analisados, percebe-se uma necessidade urgente de intervenções educativas e de uma melhor acessibilidade aos cuidados de saúde para que o controlo da TB seja eficaz. A perceção errada sobre a TB, o estigma e as barreiras logísticas são questões recorrentes que dificultam os esforços de controlo da TB. Para fazer face a estes desafios, são necessárias campanhas educativas específicas para dissipar os mitos, reduzir o estigma e promover o diagnóstico e o tratamento precoces. Além disso, é essencial melhorar as infraestruturas dos cuidados de saúde, para garantir que as pessoas tenham acesso aos serviços médicos necessários. Esta é uma abordagem crucial para se poder combater a TB e melhorar a qualidade de vida dos que sofrem desta doença.

6. Considerações Finais

Com base na análise detalhada das características sociodemográficas da amostra e dos conhecimentos, atitudes e práticas relacionadas à TB, fica evidente a complexidade dos desafios na abordagem e controlo eficazes desta doença. Em 175 participantes no estudo que tiveram contacto com indivíduos infetados, 76 foram expostos à bactéria *M. tuberculosis* (43,4%) e poderão vir a ser bacilíferos e consequentemente uma fonte de contágio. Estes dados permitem-nos concluir que quase metade dos indivíduos que tiveram contacto com doentes bacilíferos possuem IGRA positivo. Os resultados revelam uma compreensão variada sobre a TB, destacando a necessidade urgente de intervenções educativas. Embora a maioria dos participantes reconheça os sintomas associados à TB, persistem conceções erradas e lacunas no conhecimento, especialmente no que diz respeito às causas da doença e à sua transmissão.

Além disso, o estigma em relação à TB ainda é uma das maiores limitações, quando se trata da procura pelo diagnóstico e tratamento adequados à doença. Ainda é muito visível na sociedade, as atitudes negativas e a discriminação para com um doente de TB, e isto leva a que haja atrasos no cuidado médico e, consequentemente, um aumento na propagação da própria doença. Analisando as práticas dos participantes, é perceptível uma variedade de comportamentos, influenciados por fatores como conhecimento, atitudes e acessibilidade aos serviços de saúde. Perante estes desafios, é essencial implementar estratégias que visem dissipar mitos, reduzir o estigma e promover o diagnóstico precoce, assim como o acesso ao tratamento. Além disso, melhorias nas infraestruturas de saúde são importantíssimas para garantir uma resposta eficaz à TB. Para combater esta realidade terá de ocorrer coordenação de esforços para combater a TB e melhorar a qualidade de vida das pessoas afetadas por esta doença.

Este estudo é um ponto de partida para desenvolver estratégias mais eficazes de educação em saúde, promover a prevenção da tuberculose e garantir um melhor atendimento aos pacientes diagnosticados com a doença. Além disso, a avaliação pode contribuir para a elaboração de políticas públicas mais eficientes no combate à tuberculose. Outros estudos semelhantes com uma amostra mais robusta deverão ser efetuados.

7. Referências bibliográficas

Acquah, S. K. E., Asare, P., Osei-Wusu, S., Morgan, P., Afum, T., Asandem, D. A., Danso, E. K., Otchere, I. D., Ofori, L. A., Obiri-Danso, K., Kock, R., Asante-Poku, A., & Yeboah-Manu, D. (2021). Molecular epidemiology and drug susceptibility profiles of Mycobacterium tuberculosis complex isolates from Northern Ghana. *International Journal of Infectious Diseases*, *109*, 294–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.07.020>

Adelia Roberto Nanque, Vieira, C., Dias, S., Thaís Zamboni Berra, Vaz, B., Aline Aparecida Monroe, Ione Carvalho Pinto, & Ricardo Alexandre Arcêncio. (2023). Spatial and temporal analysis of tuberculosis incidence in Guinea-Bissau, 2018 to 2020. *Revista Brasileira de Enfermagem*, *76*(4). <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2022-0481>

Agho, K. E., Hall, J., & Ewald, B. (2014). Determinants of the knowledge of and attitude towards tuberculosis in Nigeria. *Journal of health, population, and nutrition*, *32*(3), 520–538.

Ameke, S., Asare, P., Aboagye, S. Y., Otchere, I. D., Osei-Wusu, S., Yeboah-Manu, D., & Asante-Poku, A. (2021). Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis complex in the Volta Region of Ghana. *PLOS ONE*, *16*(3), e0238898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238898>

Andrade, C., Menon, V., Ameen, S., & Kumar Praharaj, S. (2020). Designing and Conducting Knowledge, Attitude, and Practice Surveys in Psychiatry: Practical Guidance. *Indian journal of psychological medicine*, *42*(5), 478–481. <https://doi.org/10.1177/0253717620946111>

Arinaminpathy, N., Deo, S., Singh, S., Khaparde, S., Rao, R., Vadera, B., Kulshrestha, N., Gupta, D., Rade, K., Nair, S. A., & Dewan, P. (2019). Modelling the impact of effective private provider engagement on tuberculosis control in urban India. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39799-7>

Arrigoni, R., Ballini, A., Topi, S., Bottalico, L., Jirillo, E., & Santacroce, L. (2022). Antibiotic Resistance to Mycobacterium tuberculosis and Potential Use of Natural and Biological Products as Alternative Anti-Mycobacterial Agents. *Antibiotics*, 11(10), 1431. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101431>

Asante-Poku, A., Asare, P., Baddoo, N. A., Forson, A., Klevor, P., Otchere, I. D., Aboagye, S. Y., Osei-Wusu, S., Danso, E. K., Koram, K., Gagneux, S., & Yeboah-Manu, D. (2019). TB-diabetes co-morbidity in Ghana: The importance of Mycobacterium africanum infection. *PLOS ONE*, 14(2), e0211822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211822>

Asare, P., Asante-Poku, A., Prah, D. A., Borrell, S., Osei-Wusu, S., Otchere, I. D., Forson, A., Adjapong, G., Koram, K. A., Gagneux, S., & Yeboah-Manu, D. (2018). Reduced transmission of Mycobacterium africanum compared to Mycobacterium tuberculosis in urban West Africa. *International Journal of Infectious Diseases*, 73, 30–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.05.014>

Ates, L. S., Dippenaar, A., Sayes, F., Pawlik, A., Bouchier, C., Ma, L., Warren, R. M., Sougakoff, W., Majlessi, L., van Heijst, J. W. J., Brossier, F., & Brosch, R. (2018). Unexpected Genomic and Phenotypic Diversity of Mycobacterium africanum Lineage 5 Affects Drug Resistance, Protein Secretion, and Immunogenicity. *Genome Biology and Evolution*, 10(8), 1858–1874. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy145>

Barnard, M., Pittius, van, Paul, Bosman, M., Coetzee, G., & Warren, R. B. (2012). *The Diagnostic Performance of the GenoType MTBDR plus Version 2 Line Probe Assay Is Equivalent to That of the Xpert MTB/RIF Assay*. 50(11), 3712–3716. <https://doi.org/10.1128/jcm.01958-12>

Bashorun, A. O., Linda, C., Omoleke, S., Kendall, L., Donkor, S. D., Kinteh, M.-A., Danso, B., Leigh, L., Kandeh, S., D'Alessandro, U., & Adetifa, I. M. O. (2020). Knowledge, attitude, and practice towards tuberculosis in Gambia: a nation-wide cross-

sectional survey. *BMC Public Health*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09685-3>

Batista, C. P. (2021). A EPIDEMIOLOGIA DA TUBERCULOSE HUMANA NO MUNDO. *Revista Científica FESA*, 1(2), 19–37. <https://doi.org/10.29327/232022.1.2-2>

Baya, B., Diarra, B., Diabate, S., Kone, B., Goita, D., Sarro, Y. dit S., Cohen, K., Holl, J. L., Achenbach, C. J., Tolofoudie, M., Togo, A. C. G., Sanogo, M., Kone, A., Kodio, O., Dabita, D., Coulibaly, N., Siddiqui, S., Diop, S., Bishai, W., & Dao, S. (2020b). Association of Mycobacterium africanum Infection with Slower Disease Progression Compared with Mycobacterium tuberculosis in Malian Patients with Tuberculosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(1), 36–41. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0264>

Bold, T. D., Davis, D. C., Penberthy, K. K., Cox, L. M., Ernst, J. D., & de Jong, B. C. (2012). Impaired Fitness of Mycobacterium africanum Despite Secretion of ESAT-6. *The Journal of Infectious Diseases*, 205(6), 984–990. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir883>

Brett, K., & Severn, M. (2021). Interferon Gamma Release Assay for the Identification of Latent Tuberculosis Infection in Rural and Remote Settings. In *PubMed*. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK571919/>

Brites, D., & Gagneux, S. (2015). Co-evolution of Mycobacterium tuberculosis and Homo sapiens. *Immunological Reviews*, 264(1), 6–24. <https://doi.org/10.1111/imr.12264>

Brosch, R., Gordon, S. V., Marmiesse, M., Brodin, P., Buchrieser, C., Eiglmeier, K., Garnier, T., Gutierrez, C., Hewinson, G., Kremer, K., Parsons, L. M., Pym, A. S., Samper, S., van Soolingen, D., & Cole, S. T. (2002). A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(6), 3684–3689. <https://doi.org/10.1073/pnas.052548299>

Broset, E., Martín, C., & Gonzalo-Asensio, J. (2015). Evolutionary Landscape of the Mycobacterium tuberculosis Complex from the Viewpoint of PhoPR: Implications for Virulence Regulation and Application to Vaccine Development. *MBio*, 6(5). <https://doi.org/10.1128/mbio.01289-15>

Buriankova, K., Doucet-Populaire, F., Dorson, O., Gondran, A., Ghnassia, J.-C., Weiser, J., & Pernodet, J.-L.,(2003). Molecular Basis of Intrinsic Macrolide Resistance in the Mycobacterium tuberculosis Complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), 143–150. <https://doi.org/10.1128/aac.48.1.143-150.2004>

Bussi, C., & Gutierrez, M. G. (2019). Mycobacterium tuberculosis infection of host cells in space and time. *FEMS microbiology reviews*, 43(4), 341–361. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz006bussi>

Cá, B., Fonseca, K. L., Sousa, J., Maceiras, A. R., Machado, D., Sanca, L., Rabna, P., Rodrigues, P. N. S., Viveiros, M., & Saraiva, M. (2019). Experimental Evidence for Limited in vivo Virulence of Mycobacterium africanum. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02102>

Chakravarti, A., Soualhine, H., Sharma, M., Rivest, P., Poirier, L., & Lavallée, C. (2019). Indigenous Transmission of Mycobacterium africanum in Canada: A Case Series and Cluster Analysis. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(4). <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz088>

Churchyard, G., Kim, P., Shah, N. S., Rustomjee, R., Gandhi, N., Mathema, B., Dowdy, D., Kasmar, A., & Cardenas, V. (2017). What We Know About Tuberculosis Transmission: An Overview. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(suppl_6), S629–S635. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix362>

Cole, S. T., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C. E., Tekaia, F., Badcock, K., Basham, D., Brown, D., Chillingworth, T., Connor, R., Davies, R., Devlin, K., Feltwell, T., & Gentles, S. (1998). Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*, 393(6685), 537–544. <https://doi.org/10.1038/31159>

Comas, I., Coscolla, M., Luo, T., Borrell, S., Holt, K. E., Kato-Maeda, M., Parkhill, J., Malla, B., Berg, S., Thwaites, G., Yeboah-Manu, D., Bothamley, G., Mei, J., Wei, L., Bentley, S., Harris, S. R., Niemann, S., Diel, R., Aseffa, A., & Gao, Q. (2013). Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of Mycobacterium tuberculosis with modern humans. *Nature Genetics*, 45(10), 1176–1182. <https://doi.org/10.1038/ng.2744>

Coscolla, M., Gagneux, S., Menardo, F., Loiseau, C., Ruiz-Rodriguez, P., Borrell, S., Otchere, I. D., Asante-Poku, A., Asare, P., Sánchez-Busó, L., Gehre, F., Sanoussi, C. N., Antonio, M., Affolabi, D., Fyfe, J., Beckert, P., Niemann, S., Alabi, A. S., Grobusch, M. P., & Kobbe, R. (2021). Phylogenomics of *Mycobacterium africanum* reveals a new lineage and a complex evolutionary history. *Microbial Genomics*, 7(2). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000477>

Datiko, D. G., Habte, D., Jerene, D., & Suarez, P. (2019). Knowledge, attitudes, and practices related to TB among the general population of Ethiopia: Findings from a national cross-sectional survey. *PLOS ONE*, 14(10), e0224196. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224196>

de Jong, B. C., Hill, P. C., Aiken, A., Awine, T., Antonio, M., Adetifa, I. M., Jackson-Sillah, D. J., Fox, A., Deriemer, K., Gagneux, S., Borgdorff, M. W., McAdam, K. P., Corrah, T., Small, P. M., & Adegbola, R. A. (2008). Progression to active tuberculosis, but not transmission, varies by *Mycobacterium tuberculosis* lineage in The Gambia. *The Journal of infectious diseases*, 198(7), 1037–1043. <https://doi.org/10.1086/591504>

de Jong, B. C., Adetifa, I., Walther, B., Hill, P. C., Antonio, M., Ota, M., & Adegbola, R. A. (2010a). Differences between tuberculosis cases infected with *Mycobacterium africanum*, West African type 2, relative to Euro-American *Mycobacterium tuberculosis*: an update. *FEMS immunology and medical microbiology*, 58(1), 102–105. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2009.00628.x>

de Jong, B. C., Antonio, M., & Gagneux, S. (2010b). *Mycobacterium africanum*—Review of an Important Cause of Human Tuberculosis in West Africa. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(9), e744. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000744>

Diarra, B., Kone, M., Togo, A. C. G., Sarro, Y. dit S., Cisse, A. B., Somboro, A., Degoga, B., Tolofoudie, M., Kone, B., Sanogo, M., Baya, B., Kodio, O., Maiga, M., Belson, M., Orsega, S., Krit, M., Dao, S., Maiga, I. I., Murphy, R. L., & Rigouts, L. (2018). *Mycobacterium africanum* (Lineage 6) shows slower sputum smear conversion on tuberculosis treatment than *Mycobacterium tuberculosis* (Lineage 4) in Bamako, Mali. *PLOS ONE*, 13(12), e0208603. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208603>

Dong, B., He, Z., Li, Y., Xu, X., Wang, C., & Zeng, J. (2022). Improved Conventional and New Approaches in the Diagnosis of Tuberculosis. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.924410>

Dosso, M., Bonard, D., Msellati, P., Bamba, A., Douhourou, C., Vincent, V., Peyre, M., Traore, M., Koffi, K., & Coulibaly, I. M. (1999). Primary resistance to antituberculosis drugs: a national survey conducted in Côte d'Ivoire in 1995-1996. Ivoirian Study Group on Tuberculosis Resistance. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, *3*(9), 805–809.

Firdessa, R., Berg, S., Hailu, E., Schelling, E., Gumi, B., Erenso, G., Gadisa, E., Kiros, T., Habtamu, M., Hussein, J., Zinsstag, J., Robertson, B. D., Ameni, G., Lohan, A. J., Loftus, B., Comas, I., Gagneux, S., Tschopp, R., Yamuah, L., Hewinson, G., ... Aseffa, A. (2013). Mycobacterial lineages causing pulmonary and extrapulmonary tuberculosis, Ethiopia. *Emerging infectious diseases*, *19*(3), 460–463. <https://doi.org/10.3201/eid1903.120256>

Furin, J., Cox, H., & Pai, M. (2019). Tuberculosis. *The Lancet*, *393*(10181), 1642–1656. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)30308-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)30308-3)

Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Stoodley, P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in Microbiology*, *13*(1), 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.010>

Gagneux, S., DeRiemer, K., Van, T., Kato-Maeda, M., de Jong, B. C., Narayanan, S., Nicol, M., Niemann, S., Kremer, K., Gutierrez, M. C., Hilty, M., Hopewell, P. C., & Small, P. M. (2006). Variable host-pathogen compatibility in Mycobacterium tuberculosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(8), 2869–2873. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511240103>

Gagneux, S. (2012). Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1590), 850–859. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0316>

Gagneux, S. (2018). Ecology and evolution of Mycobacterium tuberculosis. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(4), 202–213. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.8>

Garcia-Betancur, J. C., Menendez, M. C., Del Portillo, P., & Garcia, M. J. (2012). Alignment of multiple complete genomes suggests that gene rearrangements may contribute towards the speciation of Mycobacteria. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(4), 819–826. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.09.024>

Gebremariam, M. K., Bjune, G. A., & Frich, J. C. (2010). Barriers and facilitators of adherence to TB treatment in patients on concomitant TB and HIV treatment: a qualitative study. *BMC Public Health*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-651>

Gehre, F., Otu, J., DeRiemer, K., de Sessions, P. F., Hibberd, M. L., Mulders, W., Corrah, T., de Jong, B. C., & Antonio, M. (2013). Deciphering the Growth Behaviour of Mycobacterium africanum. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(5), e2220. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002220>

Glickman, M. S., & Jacobs, W. R. (2001). Microbial Pathogenesis of Mycobacterium tuberculosis: Dawn of a Discipline. *Cell*, 104(4), 477–485. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00236-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00236-7)

Global tuberculosis report 2019. (2019). World Health Organization. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714.eng.pdf?sequence=19>

Global tuberculosis report 2023. (2023). World Health Organization. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373828/9789240083851.eng.pdf?sequence=1>

Gonzalo-Asensio J, Malaga W, Pawlik A, Astarie-Dequeker C, Passemar C, Moreau F, et al. (2014). Evolutionary history of tuberculosis shaped by conserved mutations in the PhoPR virulence regulator. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111, 11491–11496. doi:10.1073/pnas.1406693111

Gradmann, C. (2001). Robert Koch and the Pressures of Scientific Research: Tuberculosis and Tuberculin. *Medical History*, 45(1), 1–32. <https://doi.org/10.1017/s0025727300000028>

Groenheit, R., Ghebremichael, S., Svensson, J., Rabna, P., Colombatti, R., Riccardi, F., Couvin, D., Hill, V., Rastogi, N., Koivula, T., & Källenius, G. (2011). The Guinea-Bissau

Family of Mycobacterium tuberculosis Complex Revisited. *PLoS ONE*, 6(4), e18601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018601>

Grosset, J., Decroix, G., & Sors, C. (1971). Tuberculosis due to *Mycobacterium africanum* in African negroes in the Paris area. *Rev Tuberc Pneumol (Paris)*, 35, 430–436.

Guinn, K. M., & Rubin, E. J. (2017). Tuberculosis: Just the FAQs. *MBio*, 8(6). <https://doi.org/10.1128/mbio.01910-17>

Gustafson, P. (2004). Tuberculosis in Bissau: incidence and risk factors in an urban community in sub-Saharan Africa. *International Journal of Epidemiology*, 33(1), 163–172. <https://doi.org/10.1093/ije/dyh026>

Harstad, I., Raen, A. R., Selseng, S., & Sagvik, E. (2022). Knowledge, attitudes and practices on tuberculosis among screened immigrants in Norway. A cross-sectional study. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, 28, 100326. <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2022.100326>

Hershberg, R. (2016). Human host range of Mycobacterium tuberculosis. *Nature Genetics*, 48(12), 1453–1454. <https://doi.org/10.1038/ng.3724>

Hershkovitz, I., Donoghue, H. D., Minnikin, D. E., May, H., Lee, O. Y.-C., Feldman, M., Galili, E., Spigelman, M., Rothschild, B. M., & Bar-Gal, G. K. (2015). Tuberculosis origin: The Neolithic scenario. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 95 Suppl 1, S122–126. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.021>

KälleniusG., Koivula, T., Ghebremichael, S., Hoffner, S. E., NorbergR., Svensson, E., Dias, F., Marklund, B.-I., & Svenson, S. B. (1999). Evolution and Clonal Traits of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Guinea-Bissau. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 3872–3878. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.12.3872-3878.1999>

Kohli, M., Schiller, I., Dendukuri, N., Dheda, K., Denkinger, C. M., Schumacher, S. G., & Steingart, K. R. (2018). Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd012768.pub2>

Koro Koro, F., Kamdem Simo, Y., Piam, F. F., Noeske, J., Gutierrez, C., Kuaban, C., & Eyangoh, S. I. (2013). Population Dynamics of Tuberculous Bacilli in Cameroon as Assessed by Spoligotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, *51*(1), 299–302. <https://doi.org/10.1128/jcm.01196-12>

Malangu, N., & Adebajo, O. D. (2015). Knowledge and practices about multidrug-resistant tuberculosis amongst healthcare workers in Maseru. *African Journal of Primary Health Care & Family Medicine*, *7*(1). <https://doi.org/10.4102/phcfm.v7i1.774>

Manjuba, C., Nogueira, P. A., & Abrahão, R. M. C. de M. (2008). A situação epidemiológica da tuberculose na República da Guiné-Bissau, 2000 - 2005. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, *11*(1), 97–105. <https://doi.org/10.1590/s1415-790x2008000100009>

Murray, S. (2006). Challenges of tuberculosis control. *Canadian Medical Association Journal*, *174*(1), 33–34. <https://doi.org/10.1503/cmaj.051504>

Naidoo, P., Simbayi, L., Labadarios, D., Ntsepe, Y., Bikitsha, N., Khan, G., Sewpaul, R., Moyo, S., & Rehle, T. (2016). Predictors of knowledge about tuberculosis: results from SANHANES I, a national, cross-sectional household survey in South Africa. *BMC Public Health*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-016-2951-y>

Ngabonziza, J. C. S., Loiseau, C., Marceau, M., Jouet, A., Menardo, F., Tzfidia, O., Antoine, R., Niyigena, E. B., Mulders, W., Fissette, K., Diels, M., Gaudin, C., Duthoy, S., Ssenooba, W., André, E., Kaswa, M. K., Habimana, Y. M., Brites, D., Affolabi, D., & Mazarati, J. B. (2020). A sister lineage of the Mycobacterium tuberculosis complex discovered in the African Great Lakes region. *Nature Communications*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16626-6>

Nubed, C. K., & Akoachere, J.-F. T. K. (2016). Knowledge, attitudes and practices regarding HIV/AIDS among senior secondary school students in Fako Division, Southwest Region, Cameroon. *BMC Public Health*, *16*(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3516-9>

Ofori-Anyinam, B., Dolganov, G., Van, T., Davis, J. L., Walter, N. D., Garcia, B. J., Voskuil, M., Fissette, K., Diels, M., Driesen, M., Meehan, C. J., Yeboah-Manu, D., Coscolla, M., Gagneux, S., Antonio, M., Schoolnik, G., Gehre, F., & de Jong, B. C.

(2017). Significant under expression of the DosR regulon in *M. tuberculosis* complex lineage 6 in sputum. *Tuberculosis*, 104, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.03.001>

Ofori-Anyinam, B., Riley, A. J., Jobarteh, T., Gitteh, E., Sarr, B., Faal-Jawara, T. I., Rigouts, L., Senghore, M., Kehinde, A., Onyejebu, N., Antonio, M., de Jong, B. C., Gehre, F., & Meehan, C. J. (2020). Comparative genomics shows differences in the electron transport and carbon metabolic pathways of *Mycobacterium africanum* relative to *Mycobacterium tuberculosis* and suggests an adaptation to low oxygen tension. *Tuberculosis*, 120, 101899. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.101899>

Osei-Wusu, S., Morgan, P., Asare, P., Adams, G., Musah, A. B., Siam, I. M., Gillespie, S. H., Sabiiti, W., & Yeboah-Manu, D. (2021). Bacterial Load Comparison of the Three Main Lineages of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in West Africa. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.719531>

Pagaduan, J. V., & Ghaith Altawallbeh. (2023). Advances in TB testing. *Advances in Clinical Chemistry*, 33–62. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2023.03.003>

Pai, M., & Furin, J. (2017). Tuberculosis innovations mean little if they cannot save lives. *ELife*, 6. <https://doi.org/10.7554/elife.25956>

Palomino, J., & Martin, A. (2014). Drug Resistance Mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics*, 3(3), 317–340. <https://doi.org/10.3390/antibiotics3030317>

Paro Pedro, H. D. S., Tonelli Nardi, S. M., Pereira Ferreira, M. I., Assad Goloni, M. D. R., Ferro e Silva, R. R., Girello Aily, D. C., Vieira Coelho, A. G., Leite, A. R., Galle, L. C., M. Shikama, M. D. L., Cardoso da Silva, C. R., & Yoko Mizuka Ueki, S. Y. M. (2011). Baciloscopia para Tuberculose pulmonar. Estudo multicêntrico do esfregaço para baciloscopia de escarro no diagnóstico da tuberculose pulmonar segundo a Organização Mundial da Saúde e o Ministério da Saúde. *Revista de Patologia Tropical*, 39(4). <https://doi.org/10.5216/rpt.v39i4.13062>

Pillay, S., Steingart, K. R., Davies, G. R., Chaplin, M., De Vos, M., Schumacher, S. G., Warren, R., & Theron, G. (2022). Xpert MTB/XDR for detection of pulmonary tuberculosis and resistance to isoniazid, fluoroquinolones, ethionamide, and

amikacin. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2022(5).
<https://doi.org/10.1002/14651858.cd014841.pub2>

Prasad, S., Shilpa V P, Abbas, H. S., & Kotakonda, M. (2022). Mechanisms of Antimicrobial Resistance: Highlights on Current Advance Methods for Detection of Drug Resistance and Current Pipeline Antitubercular Agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 23. <https://doi.org/10.2174/1389201023666220318104042>

Rabahi, M. F., Conceição, E. C., de Paiva, L. O., Souto, M. V. M. L., Sisco, M. C., de Waard, J., de Souza Caldas, P. C., Fandinho, F., Ramos, J. P., de Carvalho, L. D., Campos, C. E. D., Lima, K. V. B., da Silva, S. P., Sharma, A., Robledo, J., Paez, U. A. H., Duarte, R. S., da Silva, M. G., Gomes, L. L., & Vasconcelos, S. E. G. (2020). Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* var. *africanum* isolated from a patient with pulmonary tuberculosis in Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 85, 104550. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104550>

Riojas, M. A., McGough, K. J., Rider-Riojas, C. J., Rastogi, N., & Hazbón, M. H. (2018). Phylogenomic analysis of the species of the *Mycobacterium tuberculosis* complex demonstrates that *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* and *Mycobacterium pinnipedii* are later heterotypic synonyms of *Mycobacterium tuberculosis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 324–332. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002507>

Sakula, A. (1982). Robert Koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus, 1882. *Thorax*, 37(4), 246–251. <https://doi.org/10.1136/thx.37.4.246>

Samuel, G., DiBartolo-Cordovano, R., Taj, I., Merriam, A., Lopez, J. M., Torres, C., Lantigua, R. A., Morse, S., Chang, B. P., Gyamfi-Bannerman, C., & Thakur, K. T. (2018). A survey of the knowledge, attitudes, and practices on Zika virus in New York City. *BMC Public Health*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4991-3>

Sanoussi, C. N., Affolabi, D., Rigouts, L., Anagonou, S., & de Jong, B. (2017). Genotypic characterization directly applied to sputum improves the detection of *Mycobacterium africanum* West African 1, under-represented in positive cultures. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(9), e0005900. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005900>

Sharma, M. V. (2024). Knowledge, Attitude, and Practice Survey in Health Care – How Does it Matter? *Journal of Advanced Lung Health*, 4(1), 2–3.

Silva, M. L., Cá, B., Osório, N. S., Rodrigues, P. N. S., Maceiras, A. R., & Saraiva, M. (2022). Tuberculosis caused by *Mycobacterium africanum*: Knowns and unknowns. *PLOS Pathogens*, 18(5), e1010490. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010490>

Stucki, D., Brites, D., Jeljeli, L., Coscolla, M., Liu, Q., Trauner, A., Fenner, L., Rutaihwa, L., Borrell, S., Luo, T., Gao, Q., Kato-Maeda, M., Ballif, M., Egger, M., Macedo, R., Mardassi, H., Moreno, M., Vilanova, G. T., Fyfe, J., & Globan, M. (2016). *Mycobacterium tuberculosis* lineage 4 comprises globally distributed and geographically restricted sublineages. *Nature Genetics*, 48(12), 1535–1543. <https://doi.org/10.1038/ng.3704>

TB profile. (2023). World health org.shinyapps.io. https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&group_code=%22global%22&entity_type=%22group%22&lan=%22EN%22

Te Brake, L. H. M., de Knecht, G. J., de Steenwinkel, J. E., van Dam, T. J. P., Burger, D. M., Russel, F. G. M., van Crevel, R., Koenderink, J. B., & Aarnoutse, R. E. (2018). The Role of Efflux Pumps in Tuberculosis Treatment and Their Promise as a Target in Drug Development: Unraveling the Black Box. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 58, 271–291. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010617-052438>

Tientcheu, L. D., Bell, A., Secka, O., Ayorinde, A., Otu, J., Garton, N. J., Sutherland, J. S., Ota, M. O., Antonio, M., Dockrell, H. M., Kampmann, B., & Barer, M. R. (2016). Association of slow recovery of *Mycobacterium africanum*-infected patients posttreatment with high content of Persister-Like bacilli in pretreatment sputum. *International Journal of Mycobacteriology*, 5, S99–S100. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.09.033>

Tierney, D. B., Franke, M. F., Becerra, M. C., Alcántara Virú, F. A., Bonilla, C. A., Sánchez, E., Guerra, D., Muñoz, M., Llaro, K., Palacios, E., Mestanza, L., Hurtado, R. M., Furin, J. J., Shin, S., & Mitnick, C. D. (2014). Time to Culture Conversion and Regimen Composition in Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment. *PLoS ONE*, 9(9), e108035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108035>

Varaine, F., Hewison, C., & Rich, M. L. (2024). *Tuberculosis Practical guide for clinicians, nurses, laboratory technicians and medical auxiliaries* (V. Grouzard, Ed.). Médecins Sans Frontières and Partners in Health. <https://medicalguidelines.msf.org/en/viewport/TUB/english/tuberculosis-20321086.html>

Vericat-Ferrer, M., Ayala, A., Ncogo, P., Eyene-Acuresila, J., García, B., Benito, A., & Romay-Barja, M. (2022). Knowledge, Attitudes, and Stigma: The Perceptions of Tuberculosis in Equatorial Guinea. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(14), 8227. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148227>

Wiens, K. E., & Ernst, J. D. (2016). Type I Interferon is Pathogenic During Chronic Mycobacterium africanum Infection. *Journal of Infectious Diseases*, 214(12), 1893–1896. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw519>

World Health Organization. (2008). *Advocacy, communication and social mobilization for TB control: a guide to developing knowledge, attitude and practice surveys*. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241596176>

World Health Organization. (2023). World Health Organization. Retrieved May 31, 2024, from https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&iso2=%22GW%22&lan=%22EN%22

Yeboah-Manu, D., de Jong, B. C., & Gehre, F. (2017). The Biology and Epidemiology of Mycobacterium africanum. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 117–133. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64371-7_6

ANEXO I

Procedimento Operacionais Padrão de Baciloscopia

Descrever o procedimento operacional padrão para preparação de esfregaços, a sua coloração e leitura pelo método Fluorescência LED para pesquisa de BAAR (bacilos álcool-acido resistentes) no diagnóstico laboratorial da Tuberculose.

1. Definições e Siglas

Baciloscopia

A baciloscopia é o exame complementar de maior utilidade no diagnóstico, sendo realizada através do método de Ziehl- Neelsen. Entretanto, existem dificuldades, como a detecção de bacilos nos casos paucibacilares e o tempo considerável de leitura, que podem resultar em fadiga e erro. A microscopia de fluorescência tem-se mostrado promissora na detecção de BAAR, em especial, nos casos com escassez de bacilos.

Coloração ácido-resistente

É uma coloração diferencial que mede a resistência das células coradas à descoloração por ácidos. Esta propriedade está relacionada com o conteúdo lipídico das células. As paredes celulares dos microrganismos ácidos resistentes contêm ácido micólico que torna a parede celular impermeável à maioria dos corantes.

Coloração LED- neste tipo de coloração as células são coradas com Auramina, descoradas com solução de álcool-acido, e coradas com um segundo corante como

exemplo o azul-de-metileno ou Permanganato de Potássio. As bactérias ácidas – resistentes retêm a coloração do primeiro corante, como é o caso de bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*.

Coloração ZN- neste tipo de coloração as células são coradas com Fucsina básica, descoradas com solução de álcool-acido, e coradas com um segundo corante, o azul-de-

metileno. As bactérias ácidas – resistentes retêm a coloração do primeiro corante, como é o caso de bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*.

BAAR- Bacilos Álcool-Acido Resistentes

BPM - Boa prática microbiológica

CS- Cabine de segurança biológica

CQ – Controlo de Qualidade

EPI– Equipamento de proteção individual

LNR-TB – Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose

MF–MicroscópioFluorescente

TB – Tuberculose

LED – Light- Emitting Diode

ZN - Ziehl Neelsen

1. Campo de Aplicação / Abrangência

Este POP aplica-se ao LNR-TB e aos laboratórios da rede de Tuberculose.

2. Responsabilidade

O responsável do laboratório e o gestor de qualidade devem garantir a aplicação e cumprimento deste documento.

2. Amostra

2.1. Preparação do Paciente

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de colheitas.

2.2. Tipo de Amostras

O rendimento do exame de Baciloscopia de material patológico para a pesquisa de bacilos álcool-ácido-resistentes (BAAR) depende da natureza e qualidade da amostra. A amostra de sputo deve ser avaliada, e a sua consistência e aparência deve ser anotada como mucopurulento, purulento, saliva e hemoptise. Amostras de saliva devem ser registadas como insatisfatória e processadas, mas, solicitando nova amostra. As amostras satisfatórias são preparadas diretamente na lâmina ou concentradas primeiramente pela

centrifugação (ex. líquido pleural, cerebrospinal e urina). As amostras são depois coradas pelo método de Microscopia fluorescente.

O líquido pleural é uma amostra pouco ideal para a confirmação bacteriana da TB pleural, usando qualquer método. Para o diagnóstico da tuberculose pleural a biópsia da pleura é a amostra preferida.

Nota: Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

2.3. Volume Mínimo de Amostra

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

2.4. Frascos adequados

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

2.5. Preparação da Amostra

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

2.6. Estabilidade e Armazenamento

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas. Amostras Inadequadas

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

3. Reagentes

4. Preparação de reagentes

4.1.1. Método de Ziehl Neelsen

Descritos nas tabelas (A, B, C) com as quantidades necessárias para preparação de 1L de reagente.

Tabela A. **Reagentes para preparação de Carbol Fucsina de Zihel.**

A – Carbol Fucsina de Ziehl a 0,3%.	
Fucsina básica (C ₂₀ H ₁₉ N ₃ .HCL).	3.0g

95% etanol, (C ₂ H ₅ OH)	100 ml
Cristais de fenol, (C ₆ H ₆ O)	50g
Água destilada, (H ₂ O)	900 ml

Tabela B. Reagentes para preparação de acido-álcool.

B – Reagente descolorante: Álcool-Ácido a 3%	
Álcool etílico 95%, (C ₂ H ₅ OH)	680 ml
Ácido clorídrico 37%, (HCL)	30 ml
Água destilada, (H ₂ O)	290 ml

Tabela C. Reagentes para preparação de Azul-de-metileno

C – Solução de contraste: Azul de metileno a 0,3%	
Azul de metileno, (C ₁₆ H ₁₈ ClN ₃ S)	3.0g
Água destilada	1000 ml

4.1.2. Método de Fluorescência

Descritos nas tabelas (1,2,3) com as quantidades necessárias para preparação de 1L de reagente.

Tabela 1. Reagente preparação de Auramina fenicada.

1.Auramina fenicada 0,1%	
Auramina 0 (C ₁₇ H ₂₂ N ₃ CL)	1 g
Etanol a 95% (C ₂ H ₅ OH)	100 ml
Fenol (C ₆ H ₆ O)	30 g
Água destilada (H ₂ O)	900 ml

Tabela 2. Reagentes para preparação de acido-álcool.

2. Álcool-Ácido 0.5%	
Ácido clorídrico (HCL)	5 ml
Etanol a 90% (C ₂ H ₅ OH)	995 ml

Tabela 3. Reagentes para preparação de permanganato de potássio.

3.Permanganato de Potássio 0,5%	
Permanganato de Potássio (KMnO ₄)	5 g
Água destilada	1000 ml

NOTA: O Azul-de-metileno pode ser substituído por Permanganato de Potássio 0,5% no caso do azul não estiver disponível.

4.2. Equipamento e material

- Balança de precisão;
- Cabine de segurança biológica,
- Frascos de 1L limpos e estéreis;
- Frascos de vidros escuros de 1L ou mais;
- Provetas de 1L, 100 ml, limpos e estéreis;
- Funil;
- Papel de Filtros;
- Equipamento Banho-maria
- Cabine de segurança biológica (aplicável no LNR-TB e HRF);
- Bico de Bunsen/lamparina de álcool
- Lâminas de vidro novas;

- Aplicador de madeira/Inóculo;
- Varetas de coloração/ Tina de coloração;
- Desinfetante (lixívia 5% e álcool 70%);
- Recipiente de descarte de lixo;
- Pinças;
- Lápis/marcador/ponta de diamante;

- Centrifuga com copos de segurança
- Caixa de lâminas para a conservação de lâminas;
- Microscópio fluorescente (Iluminação ultravioleta);

4.3. Estabilidade e Armazenamento

- Conservar os reagentes assim como microscópio no local seco e ao abrigo da luz do sol, à temperatura indicada pelo fabricante.

- Não utilizar reagentes fora do prazo de validade.

- Conservar a solução de Auramina num frasco de vidro escuro ou protegido com papel de alumínio.

-As soluções de coloração são estáveis 6 meses depois de preparados.

- Conservar as amostras de acordo com o POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-02) e Manual de colheitas.

4.4. Grau de Toxicidade dos Reagentes

O ácido clorídrico é irritante e pode causar queimaduras graves e deve ser manipulada só dentro de cabine de segurança biológica. O fenol é um agente carcinogéneo. O permanganato de potássio é explosivo. Todos os químicos devem ser manuseados de acordo com as regras de segurança para manipulação de produtos químicos.

4.5. Ação em Caso de Acidente

Lavar abundantemente a zona afetada com água corrente.

Derrames no interior da CSB

No caso de um derrame dentro da CSB, os técnicos do laboratório estão protegidos de inalar as partículas infecciosas já que os aerossóis produzidos vão

ficar aprisionados nos filtros HEPA. **Nunca desligar a CSB** quando ocorre um derrame.

Nada deve ser removido e toda a zona do derrame deve ser coberta com papel absorvente. O papel deve ser bem embebido com desinfetante (lixívia diluída a 10%) e **deixado a atuar durante pelo menos 2 horas**. Ao fim deste tempo, remover todo o papel e material partido para o contentor de resíduos existente dentro da CSB. Limpar muito bem a CSB para eliminar todos os resíduos de desinfetante.

Derrames no exterior da CSB

Se o derrame acontecer fora da CSB é **obrigatório evacuar o laboratório** (ninguém pode permanecer no interior do laboratório). Aguardar no exterior do laboratório, com a porta fechada, pelo menos **30 minutos**, para que os aerossóis depositem. Colocar na porta do laboratório um aviso para que ninguém entre.

O responsável do laboratório deve ser de imediato avisado do acidente e devem ser-lhe dadas todas as informações disponíveis, como local exato do acidente, extensão do derrame e possível contaminação de equipamento.

Após os 30 minutos, e usando os EPI necessários, incluindo máscara de proteção, entrar no laboratório e cobrir toda a zona do derrame, sem retirar nada, com papel absorvente. Embeber bem o papel com desinfetante, e caso tenha salpicado para as paredes ou bancadas, humedecer bem todas as superfícies com desinfetante e cobrir com papel absorvente. Sair do laboratório e aguardar pelo menos **2 horas para descontaminação**.

Após este tempo, reentrar no laboratório para remover todo o papel e material partido, que deve ser colocado no contentor de resíduos para autoclavar. Esta limpeza deve ser feita por uma equipa de 2 pessoas.

4.6. Preparação dos Reagentes

- Rotular os frascos que vão conter a solução final com nomes das soluções (colorantes), concentração, data da preparação e data de expiração e iniciais do preparador;

- Pesar as quantidades de reagentes indicadas nas tabelas acima (tabelas A, B e C para Ziehl Neelsen e tabelas 1, 2 e 3 para Fluorescência).

- Aquecer cristais de fenol no banho-maria a 45 °C até a completa dissolução
- Medir com ajuda de provetas os reagentes líquidos e água destilada esterilizada (as quantidades também estão indicadas nas tabelas acima mencionadas).

4.6.1. Método de Ziehl Neelsen

A – Carbol Fucsina de Ziehl á 0,3%.

Solução A: Fucsina

➤ Adicionar 100 ml de álcool (desnaturado) num litro de frasco cónico.

- Adicionar 3.0 g de fucsina básica e misturar bem até que a fucsina em pó se dissolve completamente.
- Caso os precipitados forem observados, filtrar a fucsina.
- Filtrar o carbol fucsina de novo em cada coloração.

Solução B: Fenol

- Adicionar 50 g de fenol em 50 ml de água destilada e aquecer suavemente e agitando sempre até liquidificar e dissolver.
- Adicionar 850 ml de água destilada na solução de 50 ml de fenol.

Solução final: Carbol Fucsina

- Finalmente. Adicionar a solução A e B

B – Reagente descolorante: Álcool-Ácido a 3%

- Transferir 680 ml de álcool num frasco cônico de 2 litros.
- Adicionar 290 ml de água destilada no frasco.
- Adicionar o ácido à solução (álcool e água destilada) muito lentamente deixando o ácido escorrer pelas paredes do frasco.
- Agitar sempre.

C – Solução de contraste: Azul-de-metileno a 0,3%

- Dissolver o azul-de-metileno pesado na 0,5 L de água destilada num frasco cônico.
- Agitar o frasco para dissolver o corante.
- Adicionar 0,5 L de água e misturar de novo.

Nota: Guardar num frasco escuro.

4.6.2. Método de Fluorescência

1. Auramina fenicada 0,1%

- Dissolver bem Auramina 0 no etanol e adicionar a solução de fenol.
- Guardar num frasco de vidro escuro.

2. Reagente descolorante: Álcool-Ácido, 0.5%

- Adicionar 1000 ml de álcool num frasco cónico.
- Adicionar 5 ml do ácido ao álcool muito lentamente deixando o ácido escorrer pelas paredes do frasco.
- Agitar sempre.

3. Solução de contraste: Permanganato de Potássio 0,5%

- Dissolver o permanganato de potássio pesado na 0,5 L de água destilada num frasco cónico.
- Agitar o frasco para dissolver o corante.
- Adicionar 0,5 L de água e misturar de novo.

4.6.3. Realizar a limpeza da bancada, do CSB e o descarte do material utilizado segundo a regrada Biossegurança.

5. Segurança e Saúde

- Utilizar os EPI's e a CSB conforme a regra de biossegurança para a realização dos procedimentos.
- Implementar boas práticas de laboratório durante a manipulação de amostras e considerar todas as amostras como altamente contagiosa.
- Evitar sempre o contacto direto com os químicos, exposição dos olhos a pele ou inalação e nunca pipetar esses produtos e nem a amostra biológica com a boca.
- Trabalhar sempre sobre papel absorvente embebido em desinfetante (lixívia doméstica diluída a 5%).
- Usar centrífuga refrigerada com copos de segurança.
- Abrir os copos de segurança dentro da CSB.
- Minimizar a produção de aerossóis abrindo o tubo com amostra lentamente.

6. Calibração

Não aplicável.

7. Controle de Qualidade

7.1. Tipo de Controlo Interno

Depois da preparação de reagentes de coloração:

-Colorar sempre 3 lâminas positivas (1+) e 3 negativas para cada lote de corante preparado.

- As 3 lâminas negativas devem ser coradas por três vezes repetidas antes da leitura para se assegurar da esterilidade da Fucsina ou Auramina e da água usada.

Durante a coloração das amostras de rotina:

-Inserir sempre 1 lâmina preparada a partir de amostra positiva (1+) e 1 preparada a partir de amostra negativa na coloração de esfregaços preparados do dia.

- Essas lâminas (negativas e positivas) devem ser coradas e observados juntamente com os esfregaços do dia, para se assegurar da estabilidade dos reagentes (caso de Auramina na lâmina positiva) e da esterilidade da água destilada usada na coloração (não contaminação da lamina negativa).

7.2. Frequência de Utilização

- Testara esterilidade de cada lote de solução de coloração preparado.

-Inserir as duas lâminas de controlo de qualidade (negativa e positiva) uma vez por dia (em cada manipulação das amostras de rotina).

7.3. Limites aceitáveis

Nenhum resultado discordante é aceitável.

7.4. Ação em caso de não conformidade

- Caso os resultados forem discordantes:
- Registrar a ocorrência no Registo de Controlo de qualidade.
- Confirmar a classificação das amostras usadas na preparação de controlos (amostra usada no controlo negativo é realmente negativo e do positivo também é realmente positivo), se não houve troca de amostras.
- Substituir os corantes e verificar a esterilidade da água usada na coloração ou trocar também a água.

8. Procedimento Técnico

8.1. Equipamento Utilizado

Para a realização deste procedimento é necessário os equipamentos citados acima (Vide o ponto 4.2 deste documento).

8.2. Procedimentos de organização

- Limpar a bancada de trabalho ou CSB (no caso que seja aplicável);
- Dispor das amostras e materiais necessário como lâminas, lápis ou bico de diamante, aplicador de madeira ou inoculo;
- **Registrar as amostras no livro de registo de baciloscopia** (Vide POP Preenchimento do livro de registo de laboratório da TB (POP-LNR-TB-02)
- Preparar bico de bunsen ou lamparina e acender.

8.3. Procedimentos de realização

8.3.1. Preparação de esfregaços para a coloração de MF LED

- 8.3.2. USAR lápis de carvão ou bico de diamante para marcar o fundo fosco da lâmina com o número de serie de laboratório escrito no frasco do esputo durante o registo.
- 8.3.3. Abrir com cuidado o frasco de esputo e colocar a tampa com a boca voltada para cima na superfície do trabalho.
- 8.3.4. Examinar a amostra para seleccionar a melhor parte e escolher as partes amarelas (purulentas) ou partículas de sangue caso existirem.

- 8.3.5. Usar um aplicador de madeira ou inoculo para selecionar o material mais purulento do recipiente de amostra e transferir para a lâmina de vidro marcada com o número de registo.
- 8.3.6. Preparar o esfregaço numa superfície de 1 x 2 cm de largura e 2 x 3 cm de comprimento no centro da lâmina fazendo pequenos movimentos circulares para distribuir as amostras de modo igual com ajuda do aplicador de madeira ou inoculo, para moer, separar e espalhar as partículas na lâmina.
- 8.3.7. Descartar o aplicador ou inóculo num recipiente com desinfetante.
- 8.3.8. Para as amostras concentradas (depois da centrifugação em 3000 rpm durante 20 minutos, com ajuda de pipeta Pasteur colocar uma ou duas gotas de sedimento na lâmina para a preparação de esfregaço.
- 8.3.9. Tapar bem o frasco de esputo e arrumá-lo.
- 8.3.10. Deixar as lâminas ao ar livre até secar completamente (nunca usar o calor para reduzir o tempo de secagem do esfregaço).**
- 8.3.11. Depois da lamina ter secada completamente, manter a lâmina na posição em que o esfregaço esteja voltado para cima com a pinça. Passar a lâmina na chama de bico de bunsen ou lamparina 2-3 vezes, cerca de 2-3 segundos em cada passagem para fixá-lo.
- 8.3.12. Avaliar a espessura apropriada do esfregaço fixado. É importante que o esfregaço não seja muito espesso nem muito fino para evitar falsos resultados com a fluorescência.**
- 8.3.13. Limpar a bancada ou CSB com papel absorvente embebida na solução de Lixivia 5%, deixar atuar por 5 minutos e voltar a limpar com papel absorvente embebida no álcool 70%.**
- 8.4. A coloração fluorescente**

- 8.4.1. Arrumar as lâminas. Coloca-los em ordem numérica na vareta de coloração com o esfregão virado para cima. Deixar espaço suficiente entre as lâminas (1 cm ou um dedo) para prevenir a transferência de material e ou solução de coloração de um esfregão para outro.
- 8.4.2. Cobrir o esfregão inteiro com a solução de Auramina fenicada e deixar atuar durante **20 minutos**. Não aquecer.
- 8.4.3. Lavar com água destilada. **A água da torneira contém cloro que pode interferir com a fluorescência.**
- 8.4.4. Cobrir a lâmina com o álcool-ácido durante **2 minutos**.
- 8.4.5. Lavar com água destilada.
- 8.4.6. Cobrir a lâmina com a solução de azul-de-metileno 1% durante **2 minutos**.
- 8.4.7. Lavar com água destilada.
- 8.4.8. Deixar secar ao ar livre e ao abrigo do sol.
- 8.4.9. Limpar e arrumar o local de coloração.
 - Observar o mais rápido *possível depois da coloração (dentro de 24 horas)*.
- 8.5. Observação de esfregões de esputo corados pelo método de fluorescência.
 - 8.5.1. Usar o microscópio binocular de fluorescência com objetiva de aumento de 20X para triagem e 40X para confirmação (em caso de dúvida) oculares de aumento moderado (10X).
 - 8.5.2 Colocar os esfregões corados no estágio mecânico debaixo de lente de objetiva
 - 8.5.3 Observar sistematicamente para evitar a coincidência.
 - 8.5.4. Guardar as laminas observadas imediatamente na caixa de conservação.
- 8.6. Registo e relatório

Os BAAR aparecem corados fluorescentes (amarelos ou esverdeados), isolados contra um fundo escuro.

Quando os bacilos fluorescentes forem observados reportar **“OBSERVARAM-SE BAAR”**. A tabela de quantificação de BAAR se encontra em anexo (Tabela-1 **quantificação de BAAR no método fluorescente**).

Quando os bacilos não forem observados reportar **“NÃO SE OBSERVARAM OS BAAR”**.

Método de relatório:

- Escrever os resultados no livro de registo dentro de 24 horas da receção de amostra. Completar o formulário de pedido de exame com os resultados, assinar e datar.
- Enviar o resultado ao médico solicitante, Centro de diagnóstico, tratamento ou ao doente.

Histórico de Emendas

Data	Revisão atual	Modificações
Atual	0.0	
11/12/2014	0.1	Substituição de permanganato potássio por azul-de-metileno.
24/07/2015	0.2	
14/05/2018	0.3	Fusão de POP de preparação de reagentes e POP de realização de baciloscopia
20/05/2021	0.4	

9. Referências Bibliográficas

- Antigo POP de Baciloscopia.
- Manual de formação internacional sobre Microscópio a Fluorescência, Cotonon, Benim.
- Isabel Couto, Diana Machado, Marta Martins, Jorge Ramos, Liliana Rodrigues e Miguel Viveiros (2012). Manual de Formação em Diagnóstico Laboratorial de Tuberculose.

10. Anexo

Tabela1. Quantificação de BAAR.

0 BAAR / 30 Campos	Negativo
1 – 29 BAAR / 30 Campos (1BAAR / Campo)	(±) Raros
30 – 299 BAAR / 30 Campos (1 – 9 BAAR / Campo)	1+
10 – 99 BAAR / Campo	2+
>100 BAAR / Campo	3+

NB: Dar sempre o número exato de BAAR por comprimento de esfregaço ou por campo

OBS: Em 2cm de esfregaço pode-se observar 30 campos porque o microscópio fluorescente mostra um campo 10X maior

Laboratório Nacional de Saúde Pública
LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA DA TUBERCULOSE (LNR-TB)

TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE AURAMINA FENICADA 0.1%

- 1- Cobrir esfregaço com Auramina fenicada 0.1 % e deixar atuar durante 20 minutos.
- 2- Lavar com água destilada e escorrer água no esfregaço.
- 3- Cobrir esfregaço com Ácido álcool 0.3% deixar atuar Duarte 2-3 minutos.
- 4- Lavar com água destilada e escorrer água no esfregaço.
- 5- Cobrir esfregaço com Azul de metileno 0.3% deixar atuar durante 1 minutos.
- 6- Lavar com água destilada e escorrer água no esfregaço.
- 7- Secar ao abrigo de sol após observar.

Laboratório Nacional de Saúde Pública
LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA DA TUBERCULOSE (LNR-TB)

TÉCNICA DE COLORAÇÃO DE ZIEHL-NEELSEN

- 1- Cobrir esfregaço com fucsina Safranina 0.3% deixar atuar durante 5 minutos.
- 2- Lavar com água corrente e escorrer a água no esfregaço.
- 3- Cobrir esfregaço com Ácido álcool 0.3% deixar atuar durante 2-3 mimitos.
- 4- Lavar com água corrente e escorrer a água no esfregaço.
- 5- Cobrir esfregaço com Azul de metileno 0.3% deixar atuar durante 1 minutos.
- 6- Lavar com água corrente e escorrer a água no esfregaço.
- 7- Deixar secar e observar.

ANEXO II

Procedimentos Operacionais Padrões (POP) de GeneXpert

QUADRO DAS ASSINATURAS					
	Elaborado/Compilado por	Examinado por	Aprovado por	Substituído	Nova versão
Nome				Código: POP-LNR- TB-11	Código: POP-LNR- TB-06
Cargo					
Data					
Assinatura					
Motivo de mudança:					
Área de laboratório:		Nº de cópias: Atualização das informações			

3. Objectivo

Descrever o procedimento do uso e manutenção do GeneXpert MTB/RIF para a detecção do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) e resistência a rifampicina (RIF).

4. Definições e Siglas

O sistema GeneXpert® MTB/RIF, produzido pela companhia Cepheid, é um teste de diagnóstico *in vitro*, semi-quantitativo de *nested* PCR em tempo real, desenvolvido para: 1) diagnosticar a tuberculose através da detecção do ADN de micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de expetoração espontâneas ou induzidas e alguns fluídos corporais; e 2) detectar a resistência a rifampicina através da detecção de mutações do gene *rpoB*. Este teste é utilizado somente para o diagnóstico de pacientes com suspeita clínica de tuberculose, não sendo usado para casos de controlo de tratamentos.

CI – Ciclo limiar

CSB – Cabine de Segurança Biológica

ID – Identificação

LNRT – Laboratório Nacional de Referência da Tuberculose

°C – Graus célsius

PCC – Controlo de Verificação da Sonda

POP – Procedimento Operacional Padrão

QC – Controlo de Qualidade

SPC – Controlo de Processamento da Amostra

5. Campo de Aplicação / Abrangência

Este POP aplica-se ao Laboratório de Micobactérias do LNRT.

6. Responsabilidade

O responsável do laboratório e o gestor de qualidade, devem garantir a aplicação e cumprimento deste documento.

7. Amostra

7.1. Preparação do Paciente

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.2. Tipo de Amostras

Para amostras do líquido cefalorraquidiano (LCR), se o volume da amostra for pouco ou caso não seja possível obter outras amostras complementares, o GeneXpert MTB/RIF deve ser usado preferencialmente em substituição da cultura, a fim de alcançar um diagnóstico rápido. Caso haja volume suficiente de amostra, deve-se usar métodos de concentração para aumentar o rendimento.

Os indivíduos que se presume que tenham TB extrapulmonar, mas com um único resultado de GeneXpert MTB/RIF negativo devem ser submetidos a novos testes de diagnóstico e, portanto, o processamento de amostras de tecido (gânglios linfáticos e outros tecidos) para GeneXpert MTB/RIF deve incluir a descontaminação para permitir que as amostras sejam cultivadas.

O líquido pleural é uma amostra pouco ideal para a confirmação bacteriana da TB pleural, usando qualquer método. Para o diagnóstico da tuberculose pleural a biópsia da pleura é a amostra preferida.

A realização do GeneXpert em amostras de fezes, urina ou sangue não é recomendada dada a falta de dados sobre a sensibilidade da técnica nessas amostras.

Nota: Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.3. Volume Mínimo de Amostra

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.4. Frascos adequados /Recipientes, adequados

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.5. Preparação da Amostra

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.6. Estabilidade e Armazenamento

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

7.7. Amostras Inadequadas

Vide POP de Colheita, Conservação e Transporte de amostras (POP-LNR-TB-03) e Manual de Baciloscopia.

Equipamento

O sistema GeneXpert® DX é constituído por: (1) instrumento GeneXpert, (2) computador, (3) leitor de códigos de barras (figura 1).

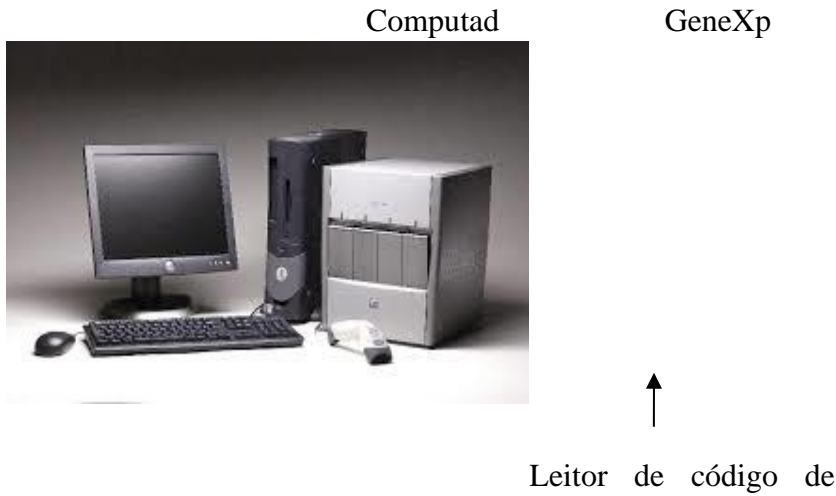


Figura 1. Sistema GeneXpert da Cepheid.

8. Reagentes

O kit Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras.

O kit contém os seguintes itens:

Cartuchos do ensaio Xpert MTB/RIF com tubos de reacção integrados;

- Reagente 1 (Tampão Tris, EDTA e tensoactivos): 4 ml por cartucho
- Reagente 2 (Tampão Tris, EDTA e tensoactivos): 4 ml por cartucho

Figura 2. Cartucho de Frascos de 8 ml do reagente de isopropanol);



GeneXpert. amostra (Hidróxido de sódio e



Figura 3. Frasco de 8 ml com

reagente de amostras.

Pipetas esterilizadas e descartáveis.



Figura 4. Pipeta.

8.1. Estabilidade e Armazenamento

- Conservar os cartuchos e reagentes do GeneXpert MTB/RIF de 2 – 28 °C.
- Não utilizar reagentes ou cartuchos fora do prazo de validade.
- Não abrir um cartucho antes de estar pronto para realizar o teste.
- Usar o cartucho nos 30 minutos seguintes após a abertura da tampa do cartucho.
- O cartucho mantém-se estável até 7 dias, após a abertura da embalagem.

8.2. Grau de Toxicidade do Reagente

Não Aplicável

8.3. Ação em Caso de Acidente

Não Aplicável

8.4. Preparação dos Reagentes

Não Aplicável

9. Segurança e Saúde

- Utilizar os EPI's adequados (luvas, respiradores N95, batas e calçados fechados) para a realização dos procedimentos.
- Implementar boas práticas de laboratório durante a execução da cultura de micobactérias.
- Fazer a verificação diária da CSB antes do seu uso (controlo da pressão)
- Executar todo o procedimento dentro da CSB.
- Efetuar a manipulação de amostras dentro da CSB.
- Trabalhar sempre sobre papel absorvente embebido em desinfetante (lixívia doméstica diluída a10%).
- Registrar no Control de Não Conformidades todos os acidentes e lesões e informe ao seu supervisor ou gestor de biossegurança.

10. Calibração

A calibração do aparelho GeneXpert DX, deve ser efetuada pelo serviço de apoio da Cepheid.

10.1. Tipo de Calibrador

Kit de Cartuchos e CD.

10.2. Periodicidade

Após um ano ou após 2000 testes efectuados pelo aparelho, tal contactar o serviço de apoio da Cepheid. Registrar as operações de calibração no Histórico do Equipamento.

10.3. Limites Aceitáveis

Não aplicável

10.4. Manutenção

Diária

1. Desligar o aparelho GeneXpert DX;
2. Fechar o software e desligar o computador;
3. Registrar a operação de manutenção no formulário de manutenção diário.

Semanal

1. Humedecer o papel toalha com lixívia diluída a 10%;
2. Esfregar a superfície do aparelho com papel toalha;
3. Descartar o papel usado no saco plástico de descarte;
4. Deixar actuar por 10 minutos;
5. Humedecer um papel toalha com a solução de álcool a 70%;
6. Repetir os procedimentos 2 e 3 (ponto 10.1);
7. Registrar a operação de manutenção.

Mensal

10.3.1. Desinfecção do interior do módulo (região de colocação do cartucho)

1. Embeber uma zaragatoa ou gaze com lixívia diluída a 10%; espremer na parede do tubo da solução desinfetante;
2. Abrir a porta do módulo;
3. Esfregar a superfície interna do módulo. Não tocar a ranhura do módulo I-CORE, na qual o tubo de reacção do cartucho é inserido.
4. Descartar a zaragatoa ou gaze usado no saco plástico de descarte;
5. Deixar actuar por 10 minutos;
6. Humedecer uma zaragatoa ou gaze com a solução de álcool a 70%, espremer na parede do tubo da solução desinfetante;
7. Repetir os procedimentos 3 a 5 (ponto 10.3);
8. Fechar a porta do módulo;
9. Repetir os procedimentos 1 a 8, para os outros módulos;

10. Registrar a operação de manutenção.

10.3.2. Desinfecção do *Plunger Rod* (êmbolo)

1. Remover os cartuchos dos módulos;
2. Na área de trabalho de GeneXpert, clicar a função *Maintenances* (manutenção). É apresentado o *Maintenance window* (área de manutenção) (figura 5).

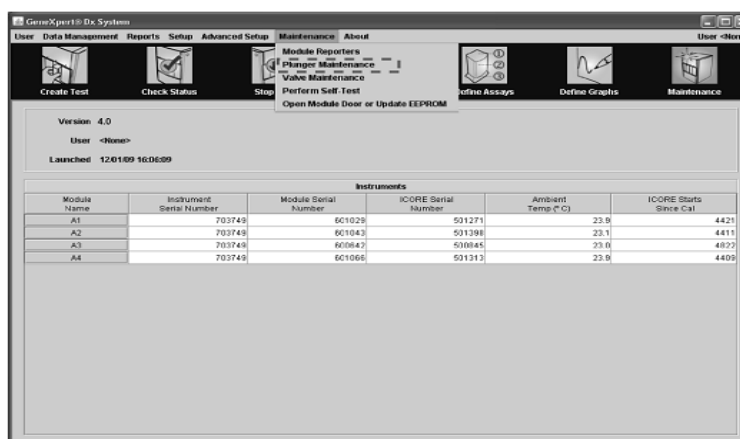


Figura 5. Área de manutenção.

3. No menu de manutenção, clicar na opção *Plunger Maintenances* (manutenção do êmbolo). É apresentado o diálogo de manutenção (figura 6).

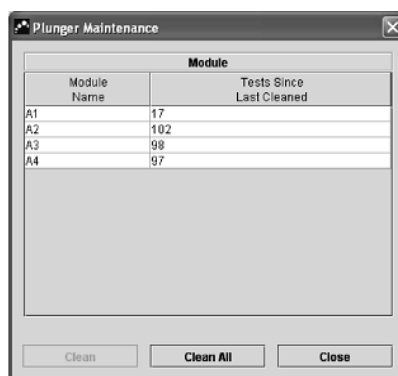


Figura 6. Área de diálogo do *Plunger Maintenances*.

4. Na área do **Módulo** seleccionar o módulo que deseja desinfetar e clicar a função *Clean* (limpar) ou seleccione a função *Clean All* (limpar tudo), para desinfetar todos os êmbolos simultaneamente. É apresentada a opção *Plunger Cleaning* (limpeza do êmbolo) (figura 7);

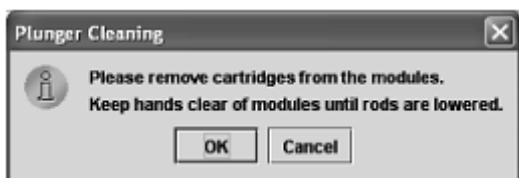


Figura 7. Opção *Plunger Cleaning*.

5. Seguir as indicações da área do diálogo *Plunger Cleaning* e clicar a opção OK. No diálogo *Plunger Maintenance*, a função *Clean* muda para *Move Up* (mover para cima), caso tenha seleccionado a função *Clean All*, muda para *Move Up All* (mover para cima todos). No aparelho GeneXpert o êmbolo ou os êmbolos descem em direcção a área dos cartuchos (figura 9).

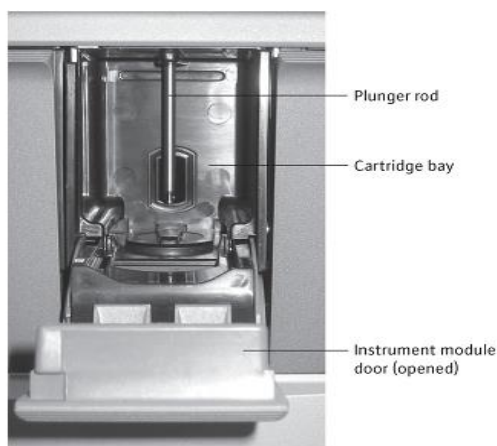


Figura 9. Êmbolo em direcção ao cartucho.

6. Repetir o procedimento 1 descrito no ponto 10.3.1;
 7. Esfregar todo êmbolo ou todos os êmbolos.
- NOTA:** usar uma zaragatoa por cada êmbolo;
8. Deixar actuar durante 5 minutos;
 9. Humedecer uma zaragatoa ou gaze com a solução de álcool a 70%, espremer na parede do tubo da solução desinfectante;
 10. Repetir o procedimento 7 descrito no ponto 10.3.2;
 11. Repetir duas vezes os procedimentos 9 e 10 descritos no ponto 10.3.2;
 12. No diálogo *Plunger Maintenance*, clicar na função *Move Up* (ou *Move Up All*). O êmbolo ou os êmbolos movem-se de volta as suas posições de repouso;
- Clicar na função *Close* (fechar) para terminar a secção.

10.5. Ação em Caso de não Conformidade

No caso de não conformidade (temperatura fora dos limites, etc.), registar no Controlo de Não Conformidades e, no caso de avaria, registar na Notificação de Avaria de Equipamento. Notificar o gestor de qualidade ou o chefe do laboratório.

11. Controlo de Qualidade

11.1. Preparação dos Materiais

Não aplicável

11.2. Tipo de Controlo Interno/Externo

Não Aplicável

11.3. Frequência de Utilização

Não Aplicável

11.4. Limites Aceitáveis

Não Aplicável

11.5. Ação em Caso de não Conformidade

Não Aplicável

12. Procedimento Técnico

12.1. Amostras de expetoração

NOTA: Não usar amostras contaminadas com partículas de alimentos ou de outros sólidos. Processar apenas as amostras suficientes para os módulos disponíveis para a execução do teste no GeneXpert MTB/RIF.

1. Identificar cada cartucho Xpert MTB/RIF com ID da amostra (escrever nos lados do cartucho ou afixar uma etiqueta de ID).

NOTA: Não colocar a etiqueta na tampa do cartucho nem obstrua o código de barras 2D que existe no cartucho.

2. Deixar a amostra no frasco de colheita.
3. Para cada amostra, abrir a tampa do frasco, adicionar o reagente na proporção do volume 1:2 (amostra/reagente) e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.

NOTA: Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

4. Marcar 15 minutos e incubar a temperatura ambiente.

5. Passados 10 minutos da incubação, agitar vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes e deixar incubar por 5 min. As amostras devem estar liquefeitas sem qualquer agregado de expectoração visível. Podem existir partículas de matéria que não fazem parte da amostra.

12.2. Amostras concentradas

Requisitos do volume: Os sedimentos preparados de acordo com o método de Kent e Kubica e ressuspensos em tampão fosfato/H₂O 67 mM podem ser testados com o ensaio GeneXpert MTB/RIF. Uma vez preparada a ressuspensão a partir de sedimentos certifique-se de que tem pelo menos 0,5 ml de sedimento ressuspendido para realizar o teste Xpert MTB/RIF.

1. Seguir o procedimento 1 do ponto 10.1.
2. Transferir pelo menos 0,5 ml do sedimento total da ressuspensão para um tubo de fundo cónico e com tampa, usando uma pipeta esterilizada. Alternativamente, toda a amostra pode ser processada no tubo original.
3. Conservar os sedimentos RE suspensos entre 2 – 8°C no caso de não serem imediatamente processados com o GeneXpert MTB/RIF.
4. Adicionar 1,5 ml do reagente de Xpert MTB/RIF aos 0,5 ml de amostra de sedimento RE suspenso usando uma pipeta esterilizada e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.
5. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

12.3. Amostras extrapulmonares

O ensaio XpertMTB/RIF pode ser usado diretamente para amostras de líquido cefalorraquidiano e amostras extrapulmonares homogeneizadas (biópsias de nódulos linfáticos e outros tecidos) ou em amostras descontaminadas se a cultura é efetuada simultaneamente. Sempre que possível, as amostras devem ser transportadas e armazenadas de 2 a 8 °C antes de processamento (um máximo de 7 dias).

12.3.1. Gânglios linfáticos e outros tecidos (para XpertMTB/RIF apenas)

1. Cortar amostra de tecido em pequenos pedaços num almofariz estéril (ou homogeneizador/moedor de tecido) usando um par de pinça limpo, estéril e tesouras.
2. Adicionar cerca de 2 ml de tampão fosfato estéril (PBS).
3. Moer tecido/PBS-solução com um almofariz e pilão (ou homogeneizador/tecido moedor) até obter uma suspensão homogénea.

4. Transferir cerca de 0,7ml de amostra de tecido homogeneizada para um tubo estéril, com tampa de rosca com uma pipeta de transferência.

NOTA: Evitar transferir qualquer aglomerado de tecido que não tenham sido correctamente homogeneizados.

5. Adicionar 1,4 ml do reagente de GeneXpert MTB/RIF aos 0,7 ml de amostra usando uma pipeta esterilizada e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.
6. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

12.3.2. Linfonodos e outros tecidos (XpertMTB/RIFe cultura)

1. Cortar a amostra de tecido em pequenos pedaços num almofariz estéril (ou homogeneizador/moedor de tecido) usando um par de pinça limpo, estéril e tesouras.
2. Adicionar cerca de 2 ml de tampão fosfato estéril (PBS).
3. Moer tecido/PBS- solução com um almofariz e pilão (ou homogeneizador/tecido moedor) até obter uma suspensão homogénea.
4. Usar uma pipeta de transferência estéril para adicionar a suspensão para um tubo de 50 ml cónico.
5. Fazer a descontaminação pelo método do N-Acetyl Cysteina como descrito no procedimento de descontaminação das amostras para a cultura POP-LNR-TB-07
6. Adicionar 1,4 ml do reagente de Xpert MTB/RIF aos 0,7 ml de amostra usando uma pipeta esterilizada e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.
7. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

12.3.3. Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

O método preferido para o processamento de LCR em XpertMTB/RIF depende do volume de amostra disponível para teste.

NOTA: Amostras xantocrómicas ou com presença de sangue em LCR pode causar resultados falso negativo no GeneXpertMTB/RIF.

Amostras de LCR com mais de 5 ml

1. Transferir toda a amostra para um tubo de centrifuga cónico e concentrar amostra 3000 rpm durante 15 minutos.
2. Com cuidado, decantar o sobrenadante num copo de descarte contendo lixívia diluída a 10%.

NOTA: A decantação do sobrenadante do LCR deve ser realizada dentro de uma cabine de segurança biológica.

3. RE suspender o sedimento para um volume final de 2 ml como reagente XpertMTB/RIF e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.

4. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

Amostras de LCR de 1 – 5 ml

1. Adicionar um volume equivalente (1:1) à amostra com o reagente GeneXpertMTB/RIF e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.

2. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

Amostras de LCR de 0.1 – 1 ml

3. RE suspender a amostra até volume final de 2 ml com o reagente GeneXpertMTB/RIF e agitar vigorosamente 10 a 20 vezes.

1. Seguir o procedimento 4 e 5 do ponto 10.1.

Amostras de LCR inferiores a 0.1 ml

1. Insuficientes para o teste no GeneXpertMTB/RIF.

12.4. Preparação de cartucho

NOTA: Iniciar o teste nos 30 minutos seguintes após a adição da amostra no cartucho.

1. Usando uma pipeta esterilizada fornecida com o *kit*, aspirar a amostra liquefeita até o menisco da marca de volume mínimo da pipeta.

2. Abrir a tampa do cartucho. Transferir a amostra através da porta aberta do cartucho Xpert MTB/RIF (figura 9). Dispersar lentamente a amostra para minimizar o risco de formação de aerossóis.

3. Fechar a tampa do cartucho. Certificar-se de que a tampa está bem encaixada. A restante amostra liquefeita pode ser conservada até no máximo 12 horas de tempo entre 2–8°C, no caso de ser necessário repetir o teste.

NOTA: Inserir o cartucho no instrumento GeneXpert DX e iniciar o teste nos 30 minutos após a preparação do cartucho.

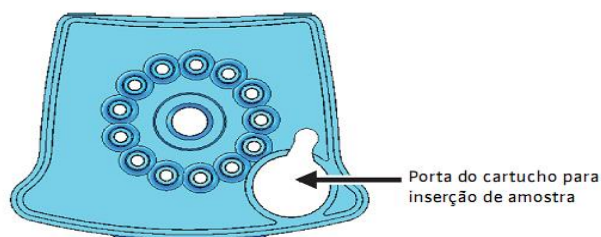


Figura 9. Cartucho Xpert MTB/RIF (vista de cima).

12.5. Início do teste

1. Ligar o computador e, em seguida, o instrumento GeneXpert DX;
Inserir a palavra-passe: cphd - para o computador abrir a área do trabalho.
2. No ambiente de trabalho Windows®, faça duplo clique no ícone de atalho do GeneXpert DX (figura 10);



Figura 10. Ícone do atalho GeneXpert DX.

3. Iniciar sessão no software do sistema GeneXpert DX utilizando o nome de utilizador e a palavra-passe (figura 11);

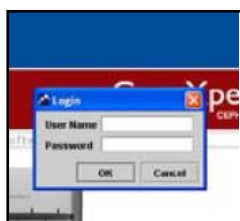


Figura 11. Painel do utilizador.

4. Na janela do sistema GeneXpert DX, fazer duplo clique em **Create Test** (Criar teste) (figura 12). É apresentada a caixa de diálogo *Scan SampleID* (Ler código de barras da ID da amostra), leia ou introduza a ID da amostra. Certifique-se de que introduziu a ID da amostra corretamente. A ID da amostra está associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **View Results** (Ver resultados) em todos os relatórios;



Figura 12. Janela para criar o teste

5. Após a leitura da ID da amostra é apresentada a opção *Scan Cartridge Barcode* (Ler código de barras do cartucho). Ler o código de barras do cartucho Xpert MTB/RIF (figura 13). Utilizando as informações do código de barras, o software vai preencher automaticamente as caixas dos campos seguintes: *Select Assay* (Selecionar ensaio), *Reagent Lot ID* (ID do lote de reagente), *Cartridge SN* (N.º série do cartucho) e *Expiration Date* (Prazo de validade).



Figura 13. Leitura de código de barras.

6. Clique em *Start Test* (Iniciar teste).
7. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e coloque o cartucho (figura 14).

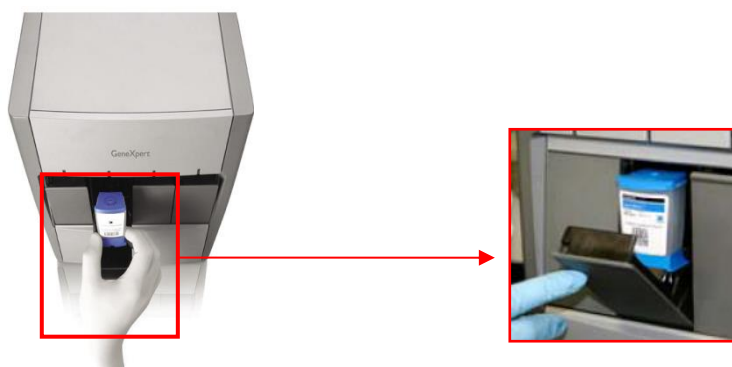


Figura 14. Introdução do cartucho.

8. Fechar a porta. O teste inicia assim que a luz verde deixa de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
9. Antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho, aguardar até o sistema desbloquear a porta.

Descartar os cartuchos usados no saco plástico para resíduos biológicos e autoclavar antes de deitar fora.

12.6. Visualização dos resultados

1. Para visualizar os resultados clique na janela *View Results* (Ver resultados). É apresentado o resultado automaticamente pelo aparelho com os respectivos intervalos de variação. Para ver os resultados de outros módulos, clique na área *Check Status* (ver o estado) e serão apresentados os resultados de todos os módulos. Para visualizar o resultado de cada um dos módulos, clique em cada área e automaticamente o resultado será apresentado.
2. Para criar o relatório clique na janela *Report* (relatório). É apresentado o resultado em formato de PDF. Imprimir duas cópias usando a função *Print* (imprimir) no PDF.
3. As duas cópias do resultado devem ser assinadas pelo técnico que fez a manipulação e pelo responsável do laboratório.
4. Arquivar uma cópia na pasta do arquivo de GeneXpert.
5. Enviar a outra cópia do resultado para a recepção do LNSP.

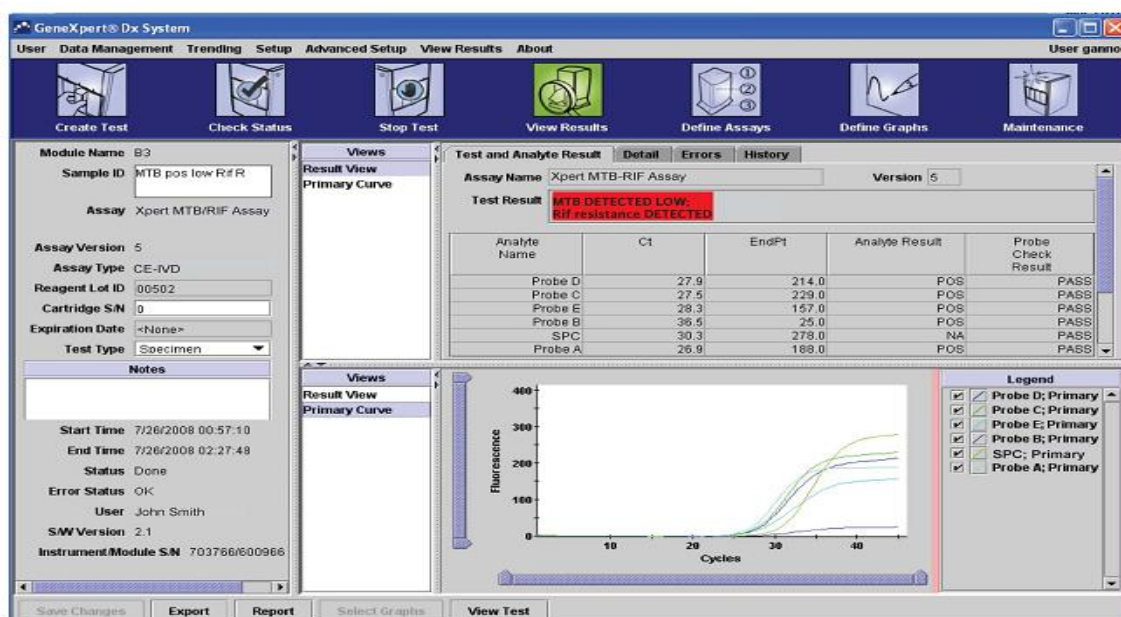


Figura 15. Sistema GeneXpert DX: Janela View Results (Ver resultados), MTB Detected Low (MTB detetado baixo), Rif Resistance DETECTED (Resistência à RIF DETECTADA).

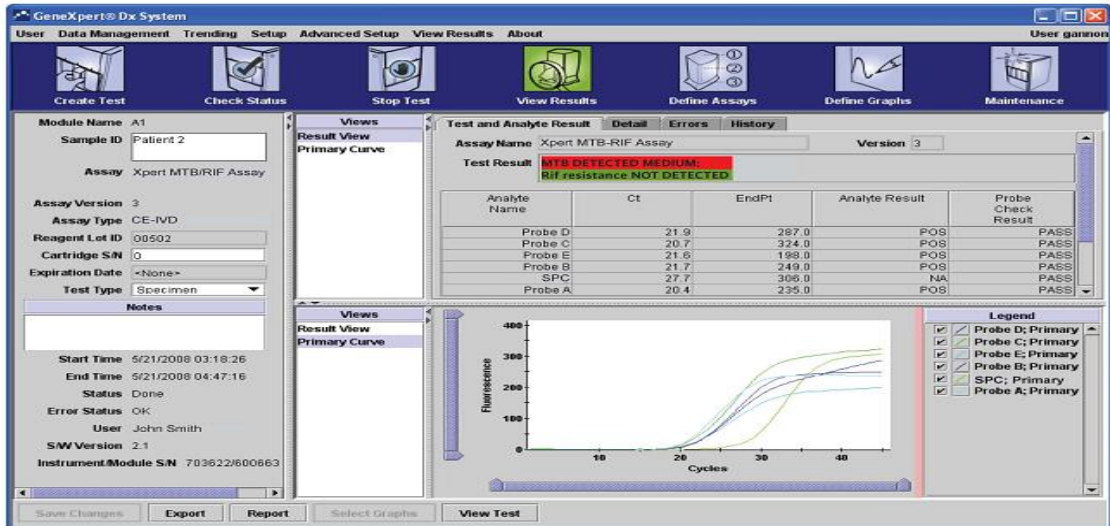


Figura 16. Sistema GeneXpert DX: Janela View Results (Ver resultados), MTB Detected Medium (MTB detetado médio), Rif Resistance NOT DETECTED (Resistência à RIF NÃO DETECTADA).

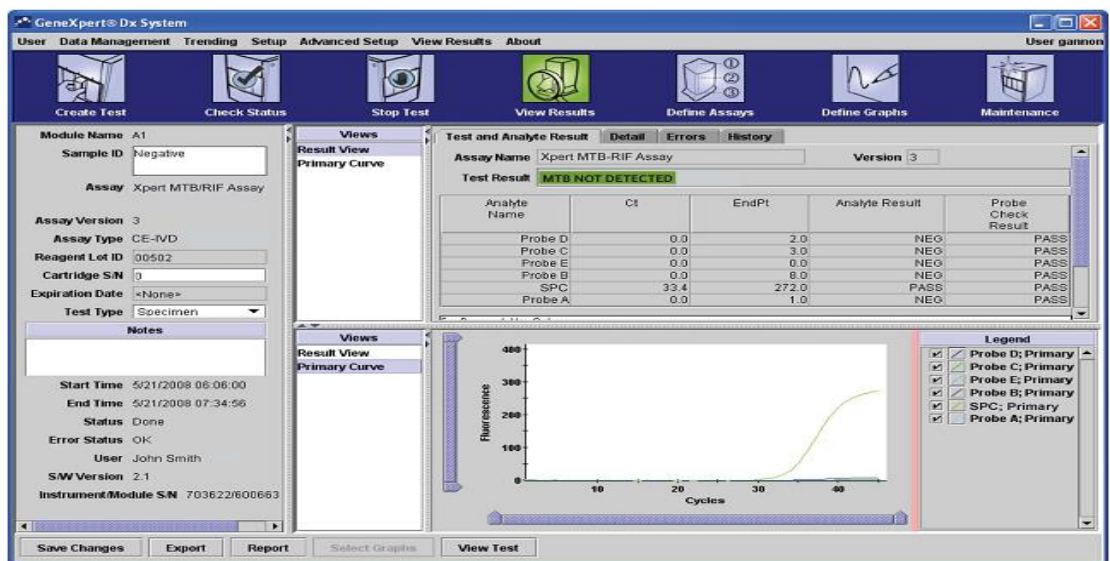


Figura 17. Sistema GeneXpert DX: Janela View Results (Ver resultados) do utilizador privilegiado, MTB NOT DETECTED (MTB NÃO DETECTADO).

13. Critérios de Adequação dos Resultados

11.1. Validação

Não aplicável

14. Valores de Referência

Não aplicável

15. Interpretação

Os resultados são interpretados pelo sistema GeneXpert DX a partir dos sinais de fluorescência medidos e dos algoritmos de cálculo incorporados, sendo apresentados na janela "View Results" (Ver resultados). Valores de Ct (limite de ciclo) mais baixos representam uma concentração inicial de modelo de ADN mais elevada; valores de Ct mais altos representam uma concentração inicial de modelo de ADN mais baixa (tabela 1).

Tabela 1. Resultado MTB e intervalo dos valores do Ct.

Resultado MTB	Intervalo do Ct
Alto	<16
Médio	16-22
Baixo	22-28
Muito baixo	>28

Os possíveis resultados obtidos em cada teste estão representados pela tabela 2.

Tabela 2. Representação dos resultados.

MTB Detected (MTB detetado)					Rif Resistance (Resistência à Rif)			MTB Not Detected (MTB não detetado)	Invalid (inválido)
High (alto)	Medium (médio)	Low (baixo)	Very Low (muito baixo)	Trace (traços detetado)	Detected (detetada)	Not Detected (Não detetada)	Indetermin ated (indetermi nada)		Error (erro) No result (s/resultado)

16. Notificação Especial

Não aplicável

17. Significado do Diagnóstico

Não aplicável

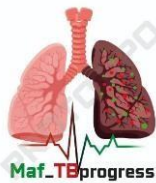
18. Interferentes

Não aplicável

19. Histórico de emendas

Data	Revisão atual	Modificações
11/12/2014	0.1	-
20/05/2021	0.2	Código e algumas descrições técnicas

ANEXO III



Maf_TBprogre



Questionário de Conhecimento, Atitude e Prática (CAP)

O estudo está a ser conduzido pelo Projeto MAF-TB Progress em colaboração com o Projeto Saúde Bandim (BHP). Está convidado a preencher um questionário sobre conhecimentos, perceção e práticas de TB dentro de contactos estreitos de pacientes infetados com TB. O objetivo deste questionário é conhecer a sua opinião sobre o rastreio da tuberculose. Também queremos saber quais os fatores que podem dificultar a sua participação no rastreio, e o que pode ser feito para melhorar o seu acesso ao rastreio da tuberculose. Esta informação será utilizada para ajudar a melhorar a forma como o Programa Nacional de Tuberculose conduz o rastreio de contactos de doentes de tuberculose no futuro. Isto demorará cerca de 10 minutos. Obrigado por completar este inquérito!

Instalação de saúde	
Data da entrevista/...../.....
Nome completo do entrevistador	
Nome completo do entrevistado	
Número do estudo do entrevistado	
O contacto concordou-se em participar do estudo?	<input type="checkbox"/> Concordar <input type="checkbox"/> Discordo <input type="checkbox"/> Não posso contactar

I. INFORMAÇÃO BÁSICA

#	Pergunta	Resposta	Código
Q1.1	Qual é a sua relação com doente com tuberculose? <i>(Marque uma opção)</i>	<input type="checkbox"/> Pai/mãe	1
		<input type="checkbox"/> Conjugue filhos	2
		<input type="checkbox"/> Irmãos	3
		<input type="checkbox"/> Outros parentes	4
		<input type="checkbox"/> Outros (especificar.)	5
Q1.2	Género	<input type="checkbox"/> Masculino	1
		<input type="checkbox"/> Feminino	2

Q1.3	Qual é o nível da educação mais alto que terminou? <i>(Marque uma opção)</i>	<input type="checkbox"/>	Nível primário	1
		<input type="checkbox"/>	Nível secundário	2
		<input type="checkbox"/>	Universitário	3
		<input type="checkbox"/>	Diplomado	4
		<input type="checkbox"/>	Nenhuma educação formal	5
Q1.4	Atualmente qual dos seguintes itens descreve melhor o seu trabalho principal? <i>(Marque uma opção)</i>	<input type="checkbox"/>	Estudante	1
		<input type="checkbox"/>	Desempregado	2
		<input type="checkbox"/>	Funcionário Público	3
		<input type="checkbox"/>	Funcionário Privado	4
		<input type="checkbox"/>	Dona de casa	5
		<input type="checkbox"/>	Por conta própria	6
		<input type="checkbox"/>	Outros (especificar.....)	7
Q1.5	Qual era o rendimento medio que ganhava mensalmente (incluindo as fontes oficiais e outros)?	<input type="checkbox"/>	<15.000 XOF	1
		<input type="checkbox"/>	20.000- 50.000 XOF	2
		<input type="checkbox"/>	50.000- 100.000 XOF	3
		<input type="checkbox"/>	100.000- 150.000 XOF	4
		<input type="checkbox"/>	>150.000 XOF	5
Q1.6	Frequenta espaço de maior aglomeração de pessoas?	<input type="checkbox"/>	Bar	1
		<input type="checkbox"/>	Bancada	2
		<input type="checkbox"/>	Escola/Universidade	3
		<input type="checkbox"/>	Show	4
		<input type="checkbox"/>	Mercado/Feira	5
		<input type="checkbox"/>	Banco	6
Q1.7	Estado civil	<input type="checkbox"/>	Casado	1
		<input type="checkbox"/>	Divorciado	2
		<input type="checkbox"/>	Solteiro	3
		<input type="checkbox"/>	Viúvo/a	4
Q1.8	Número de membros de agregados familiares	Especifica (-----)		

II. CONHECIMENTO DO CONTACTO DOMÉSTICO

#	Pergunta	Resposta	Código
Q2.1	Vou ler uma lista de possíveis sintomas da tuberculose. Para cada opção diga sim ou não. <i>(assinale uma ou mais opção).</i>	Tosse <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
		Fadiga <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
		Dores nas pernas <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
			1-Sim 0-Não

	Perda de peso <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
	Sudorese noturna <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
	Falta de apetite <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
	Tosse com sangue <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
	Dor no peito <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não
	Febre <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1-Sim 0-Não

Q2.2	Qual das seguintes atividades faz com que uma pessoa com tuberculose espalhe a infeção a outras pessoas? Para cada opção indique (sim/não/não sei). <i>(assinale uma ou mais opção)</i>	Resposta	Código
	Quando a pessoa espira	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3
	Quando o paciente fala	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3
	Quando comer e beber usando os mesmos utensílios (tais como prato, copo, talher) que a pessoa com tuberculose	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3
	Quando dorme no mesmo quarto com a pessoa com tuberculose	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3
	Ao utilizar os mesmos pertences (toalhas, roupas, guardanapos)	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3
	Ao abraçar ou beijar uma pessoa com tuberculose	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sei	1 2 3

	Ao utilizar a mesma casa de banho	<input type="checkbox"/>	Sim	1
		<input type="checkbox"/>	Não	2
		<input type="checkbox"/>	Não sei	3
	Ao ter relações sexuais com a pessoa com tuberculose	<input type="checkbox"/>	Sim	1
		<input type="checkbox"/>	Não	2
		<input type="checkbox"/>	Não sei	3
Q2.3	Agora vou ler algumas declarações sobre a história natural da tuberculose. Algumas são verdadeiras e outras não. Para cada opção, digas se é (verdadeira/ falso/não sabe). (Assinale uma ou mais opções)		Resposta	Código
	A tuberculose é causada por uma infeção bacteriana	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	A tuberculose é causada por viver num ambiente pouco higiénico	<input type="checkbox"/>	Verdadeira	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	A tuberculose é adquirida por ser herdada dos seus pais	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	Algumas pessoas têm tuberculose extrapulmonar que não pode ser disseminada de pessoa para pessoa	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	O tabagismo aumenta a suscetibilidade a tuberculose	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	As crianças correm um risco maior de desenvolver a tuberculose do que os adultos	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	As pessoas com VIH/SIDA têm um risco mais elevado de desenvolver tuberculose do que uma pessoa sem VIH	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	As mulheres grávidas correm um risco maior de desenvolver tuberculose do que as pessoas que não estão grávidas	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	Pessoas com o sistema imunitário enfraquecido devido a doenças crónicas, como a diabetes, correm um risco mais elevado de desenvolver tuberculose	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
	As pessoas com má nutrição têm um risco mais elevado de desenvolver tuberculose	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
		<input type="checkbox"/>	Falsa	2
		<input type="checkbox"/>	Não sabe	3

A tuberculose pode ser completamente curada se um paciente fizer o tratamento.	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
	<input type="checkbox"/>	Falsa	2
	<input type="checkbox"/>	Não sabe	3
A medicina tradicional pode ser usada para curar a tuberculose	<input type="checkbox"/>	Verdadeiro	1
	<input type="checkbox"/>	Falsa	2
	<input type="checkbox"/>	Não sabe	3

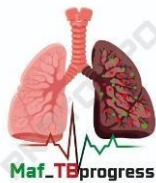
III. PERCEÇÃO DO CONTACTO DOMÉSTICO PARA A INVESTIGAÇÃO DO CONTACTO TB

#	Pergunta	Resposta	Código
Q3.1	Pensa que existe discriminação contra as pessoas com tuberculose? (Marque uma opção)	<input type="checkbox"/> Sim	1
		<input type="checkbox"/> Não	2
		<input type="checkbox"/> Não sabe	3
Q3.2	Como classificaria o seu risco de desenvolver tuberculose em comparação com um membro da população em geral? (Marque uma opção)	<input type="checkbox"/> Sem o risco	1
		<input type="checkbox"/> Risco baixo	2
		<input type="checkbox"/> Risco moderado	3
		<input type="checkbox"/> Risco alto	4
		<input type="checkbox"/> Risco muito alto	5
Q3.3	Apenas para inadimplentes: Indique se concorda ou não com cada uma das seguintes declarações (assinale uma ou mais opções)	Resposta	Código
	Não assisti à minha consulta na clínica porque:	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2
	A distância a percorrer desde a minha casa ao centro de saúde distrital preventivo é demasiado longe		
	Preocupo-me com o efeito nocivo de um raio X	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2
	Eu queria ser examinado numa clínica privada de saúde em vez disso	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2
	Estou preocupado com a discriminação de outras pessoas em relação a mim e a minha família	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2
	O paciente na minha casa recuperada, pelo que é desnecessário continuar o rastreio	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2
	Não me lembrava da nomeação data	<input type="checkbox"/> Concorda	1
		<input type="checkbox"/> Discorda	2

	É demorado. Foi difícil obter tempo para sair do trabalho ou estudar	<input type="checkbox"/>	Concorda	1
		<input type="checkbox"/>	Discorda	2
	Eu estava grávida	<input type="checkbox"/>	Concorda	1
		<input type="checkbox"/>	Discorda	2
	Outros, especificar por favor:			
Q3.4	O rastreio da tuberculose é benéfico para mim e a minha família".	<input type="checkbox"/>	Discorda fortemente	1
		<input type="checkbox"/>	discorda	2
		<input type="checkbox"/>	Não concorda e nem discorda	3
		<input type="checkbox"/>	Concorda	4
		<input type="checkbox"/>	Concordo plenamente	5

IV. PRÁTICA DE CONTACTOS DOMÉSTICOS NA INVESTIGAÇÃO DE CONTACTOS TB

Q4.1	Com quem falaria sobre a sua doença se tivesse tuberculose?	<input type="checkbox"/>	Profissional de saúde	1
		<input type="checkbox"/>	conjugue	2
		<input type="checkbox"/>	Filhos(s) mãe(s)	3
		<input type="checkbox"/>	Outro membro da família amigo íntimo	3
		<input type="checkbox"/>	Ninguem	5
		<input type="checkbox"/>	Outros	6
Q4.2	O que faria se pensasse que tinha sintomas de tuberculose?	<input type="checkbox"/>	Ir para unidade de saúde	1
		<input type="checkbox"/>	Ir para a farmácia	2
		<input type="checkbox"/>	Ir para curandeiro tradicional	3
		<input type="checkbox"/>	Prosseguir outras opções de auto-tratamento (Ex. erva)	4
		<input type="checkbox"/>	Outros	5
Q4.3	Se tivesse sintomas de tuberculose, quando iria para a unidade de saúde?	<input type="checkbox"/>	Quando o tratamento por me não funciona	1
		<input type="checkbox"/>	Quando os sintomas que sinto parece com os da tuberculose	2
		<input type="checkbox"/>	Quando os sintomas que se parecem com sinais da tuberculose dura 3-4 semanas	3
		<input type="checkbox"/>	Assim que me percebo que os meus sintomas	4
		<input type="checkbox"/>		



Maf_TBprogre



		podem estar relacionados a tuberculose	5
		Eu não iria ao médico	

V. ACESSIBILIDADE DOS CONTACTOS DOMÉSTICOS À INVESTIGAÇÃO DE CONTACTOS TB

#	Pergunta	Resposta	Código
Q5.1	Como é que o profissional de saúde o informou sobre a sua consulta de rastreio de contacto?	<input type="checkbox"/> Telefone	1
		<input type="checkbox"/> Visita a minha casa.	2
		<input type="checkbox"/> Eles não contactaram	3
		<input type="checkbox"/> Outros	4
Q5.2	A que distância vive do centro de saúde ou hospital?	<input type="checkbox"/> A menos de 2 Km do centro de saúde	1
		<input type="checkbox"/> Entre 2 a 9 Km	2
		<input type="checkbox"/> Entre 10 a 15 Km	3
		<input type="checkbox"/> 16 Km ou mais	4
Q5.3	Como chegaria normalmente à centro de saúde ou hospital?	<input type="checkbox"/> A pé	1
		<input type="checkbox"/> Toca Toca	2
		<input type="checkbox"/> Táxi	3
		<input type="checkbox"/> Moto	4
		<input type="checkbox"/> Bicicleta	5
		<input type="checkbox"/> Autocarro	6