

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

**POLIMORFISMO NO GENE CODIFICADOR DO FATOR INIBIDOR DA
MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM
TUBERCULOSE PULMONAR ATIVA**

MIRELA GEHLEN

Porto Alegre, 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PNEUMOLÓGICAS

**POLIMORFISMO NO GENE CODIFICADOR DO FATOR INIBIDOR DA
MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM
TUBERCULOSE PULMONAR ATIVA**

MIRELA GEHLEN

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Ciências Pneumológicas

Orientadora: Dra. Denise Rossato Silva

Porto Alegre, 2024

Ficha catalográfica

CIP - Catalogação na Publicação

Gehlen, Mirela
POLIMORFISMO NO GENE CODIFICADOR DO FATOR INIBIDOR
DA MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM
TUBERCULOSE PULMONAR ATIVA / Mirela Gehlen. -- 2024.
61 f.
Orientadora: Denise Rossato Silva.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas, Porto Alegre,
BR-RS, 2024.

1. Tuberculose. 2. Polimorfismo. 3. Fator inibidor
da migração de macrófagos. 4. Genética. I. Rossato
Silva, Denise, orient. II. Título.

Dedico aos os meus filhos, Arthur e Francisco.

Agradecimentos

À minha orientadora, Dra. Denise Rossato da Silva, agradeço por sua orientação, dedicação e constante incentivo ao longo dos últimos anos. Sua expertise e apoio foram essenciais para meu crescimento profissional e pessoal.

À Dra. Maria Rosa Rossetti, expresso minha profunda gratidão pela oportunidade de realizar meu trabalho em seu laboratório, onde descobri minha paixão pela biologia molecular. Agradeço por me permitir contribuir para a pesquisa de tuberculose no Brasil com seu inestimável apoio.

Às minhas colegas de laboratório do CDCT e da Ulbra, em especial à Re e à Grazi, agradeço pelo apoio, amizade e ensinamentos.

À minha família, meu porto seguro, agradeço pelo amor incondicional, incentivo constante e por sempre acreditarem em meus sonhos.

Aos meus filhos, que acompanharam de perto a construção deste projeto, espero que este trabalho sirva como um exemplo de perseverança e dedicação. Sigam seus sonhos com paixão e entusiasmo.

Ao meu namorado, Giuseppe, agradeço pelo apoio, incentivo e por compartilhar comigo tantas horas de leitura.

LISTA DE ABREVIATURAS

BAAR - Bacilo álcool-ácido resistente

HIV - Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)

ILTB - Infecção latente por TB

LBA – Lavado bronco alveolar

LAM – lipoarabinomanan

LF-LAM - (lipoarabinomanano de fluxo lateral)

MTB - *Mycobacterium tuberculosis*

IGRA - (Interferon gamma release assay (Ensaio de liberação de interferon-gama)

OMS - Organização Mundial da Saúde

SNP – Single nucleotide polymorphism (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)

TB - Tuberculose

TB MDR - Multidrug-resistant tuberculosis (TB Multidroga resistente)

TSA – Teste de sensibilidade aos antibióticos

WHO - World Health Organization

XDR TB - Extensively drug-resistant tuberculosis (TB Extensivamente)

MGIT - Mycobacteria Growth Indicator Tube (tubo indicador de crescimento de micobactérias)

TC – Tomografia computadorizada

HLA - Human Leucocyte Antigen (antígeno leucocitário humano)

IL2 - Interleucina 2

IL6 - Interleucina 6

R – Rifampicina

H – isoniazida

Z – Pirazinamina

E – Etambutol

SUS – Sistema único de saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Incidência de TB no mundo	16
Figura 2. Incidência de TB no Brasil.....	18

SUMÁRIO

ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1. Tuberculose	14
2.1.1. <i>Definição.....</i>	14
2.1.2. Epidemiologia	15
2.1.2.1. <i>Epidemiologia no mundo</i>	15
2.1.2.2. <i>Epidemiologia no Brasil</i>	18
2.1.2.3. <i>Epidemiologia no Rio Grande do Sul e Porto Alegre</i>	19
2.1.3. Patogênese.....	20
2.1.4. Diagnóstico de TB	22
2.1.4.1. <i>Sinais e sintomas</i>	22
2.1.4.2. <i>Diagnóstico radiológico.....</i>	23
2.1.4.3. <i>Diagnóstico microbiológico.....</i>	23
• <i>Baciloscopia.....</i>	24
• <i>Cultura</i>	24
2.1.4.4. <i>Diagnóstico Molecular</i>	25
2.1.4.5. <i>Diagnóstico molecular MDR</i>	26
2.1.4.6. <i>Diagnóstico imunológico.....</i>	27
2.1.4.7. <i>Diagnóstico TB Latente</i>	27
2.1.4.8. <i>Futuros diagnósticos.....</i>	28
2.1.5. Tratamento	28
2.1.6. Fatores genéticos e suscetibilidade à TB	29
3. JUSTIFICATIVA.....	32
4. OBJETIVOS.....	33
4.1. OBJETIVO GERAL	33
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5. ARTIGO	44
6. CONCLUSÃO	55
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56

PERSPECTIVAS.....	57
APÊNDICE I – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS	58
APÊNDICE II – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO... 	59

RESUMO

Objetivo: O estabelecimento de genes candidatos associados à suscetibilidade à TB é um desafio, principalmente devido às frequências divergentes entre diferentes populações. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre o fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) -173 G> C, polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) e a susceptibilidade à TB pulmonar em uma população do sul do Brasil. Métodos Estudo caso-controle. Foram incluídos pacientes com idade > 18 anos com diagnóstico de TB pulmonar. O grupo controle foi composto por doadores de sangue e contatos domiciliares, não parentes, saudáveis e com idade > 18 anos. O SNP MIF -173 G> C foi genotipado usando PCR em tempo real usando um ensaio Taq Man. Resultados: 174 pacientes e 166 controles foram incluídos. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre casos e controles em relação à prevalência do genótipo ($p > 0,05$). Comparando pacientes com genótipo normal (GG) com aqueles com pelo menos um alelo C, também não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,135$). Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa comparando os homozigotos para a mutação (CC) com os demais pacientes (GG e GC) ($p = 0,864$). Conclusões: Não encontramos associação entre o polimorfismo MIF -173 G> C e suscetibilidade à TB pulmonar.

ABSTRACT

Purpose: The establishment of candidate genes associated with susceptibility to TB is a challenge especially due to divergent frequencies among different populations. The objective of this study was to evaluate the association between macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173 G>C single nucleotide polymorphism (SNP) and susceptibility to pulmonary TB in a population of southern Brazil. Methods Case-control study. Patients > 18 years old, diagnosed with pulmonary TB were included. The control group consisted of blood donors and household contacts, not relatives, healthy and > 18 years old. MIF -173 G>C SNPs were genotyped using real-time PCR using a TaqMan SNP Genotyping assay. Results: 174 patients and 166 controls were included. There were no statistically significant differences between cases and controls regarding genotype prevalence ($p > 0.05$). Comparing patients with normal genotype (GG) with those with at least one C allele, there was also no statistically significant difference ($p = 0.135$). Also, there was no statistically significant difference comparing the homozygous for the mutation (CC) with the other patients (GG and CG) ($p = 0.864$). Conclusions: We did not find association between MIF -173 G>C polymorphism and susceptibility to pulmonary TB.

1. INTRODUÇÃO

A história natural da Tuberculose (TB) segue um curso variável após a infecção inicial, com apenas 10% dos indivíduos infectados desenvolvendo de fato a doença clínica(1). Fatores de virulência genéticos, ambientais e bacterianos podem influenciar a apresentação clínica da TB (2). Muitos estudos indicam que os fatores genéticos desempenham um papel importante na determinação da suscetibilidade e resistência à TB (3,4). Polimorfismos de genes desempenham um papel importante na ocorrência e no desenvolvimento da TB. Nos últimos anos, muitos genes de susceptibilidade à TB foram detectados (5,6). O fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) é uma citocina com funções semelhantes às quimiocinas pró-inflamatórias que foram reconhecidas por desempenhar um papel central na mediação de uma ampla variedade de respostas imunes contra patógenos invasores e pode estar associada ao início e / ou progressão de TB. De fato, metanálise revelou uma forte associação de um polimorfismo MIF com doenças autoimunes e infecciosas (7). Na TB, o MIF é provavelmente a primeira citocina a aparecer na resposta inflamatória, inibe a migração de macrófagos e promove o acúmulo de macrófagos e a ativação de linfócitos T em lesões inflamadas de TB (8). Quatro polimorfismos foram identificados no gene MIF; entretanto, apenas o MIF-173 e o MIF (CATT5-8) estão relacionados às mudanças nos níveis de MIF (9). Alguns estudos avaliaram esses polimorfismos na TB, em diferentes populações, com resultados controversos (10–12). O estabelecimento de genes candidatos associados à suscetibilidade à TB é um desafio, especialmente devido às frequências divergentes entre diferentes populações (13). Portanto, estudos sobre a relação entre a susceptibilidade à TB e polimorfismos genéticos em várias populações e grupos étnicos são de grande importância.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Tuberculose

2.1.1. Definição

A Tuberculose (TB) é uma doença contagiosa transmitida pelo ar por meio de partículas liberadas durante a fala ou espirro de um indivíduo portador de TB pulmonar ativa. Embora possa ser desencadeada por outros microorganismos do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, o agente mais comumente associado a infecções clinicamente relevantes em humanos é o *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (14).

Este patógeno, primariamente pulmonar, tem a capacidade de afetar qualquer órgão ou sistema do corpo humano. A TB se manifesta como um espectro dinâmico, variando desde uma infecção assintomática até uma condição potencialmente fatal (15). Clinicamente, os pacientes podem ser categorizados como portadores de infecção latente por TB ILTB(16), nos quais não há sintomas e a transmissão da doença não ocorre, ou como portadores de TB ativa, caracterizada pela transmissibilidade e presença de sintomas como febre, fadiga, falta de apetite e perda de peso. Pacientes com TB ativa pulmonar podem, em estágios avançados, apresentar tosse persistente e hemoptise (15,16). Outra classificação inclui a TB subclínica, na qual o paciente tem cultura positiva, mas não manifesta sintomas (17). Após o contato inicial com o MTB, a evolução ou contenção da infecção dependerá da imunidade e das comorbidades individuais (18). A eliminação do patógeno ocorre por meio de respostas inatas ou adquiridas das células T. Pacientes que conseguiram eliminar a infecção através de respostas imunológicas, seja inata ou adquiridas, sem desenvolver células T de memória, podem apresentar resultados negativos nos testes cutâneos de tuberculina (TST) ou nos ensaios de liberação de interferon-gama (IGRA) (16,18).

Se, contudo, o patógeno não for eliminado, as bactérias podem permanecer quiescentes ou latentes, sendo detectadas em testes como TST ou

IGRA. Nestes casos, nos quais os pacientes podem não apresentar sintomas, mas têm cultura positiva (geralmente com baciloscopia negativa devido à baixa carga bacilar), regimes terapêuticos preventivos para ILTB podem ser benéficos. Em casos de TB subclínica, nos quais os pacientes não relatam sintomas, mas têm cultura positiva, o diagnóstico muitas vezes é confirmado por meio de baciloscopia de escarro, cultura e testes moleculares (19,20). Os pacientes com TB ativa podem apresentar resultados negativos no TST ou no IGRA devido à anergia induzida pela própria doença ou à imunossupressão causada por condições comórbidas, como infecção por HIV ou desnutrição. Indivíduos com TB subclínica ou ativa devem receber um dos regimes de tratamento recomendados para TB ativa, que consistem em uma fase intensiva com quatro medicamentos, seguida por uma fase de continuação mais longa com dois medicamentos. O tratamento padrão para TB consiste em quatro antibióticos de primeira linha: rifampicina, isoniazida, etambutol e pirazinamida. A resistência do MTB aos antibióticos é um agravante descrito em praticamente todo o mundo, consideramos TB multirresistente (TB-MDR) quando o bacilo é resistente a pelo menos rifampicina e isoniazida. A TB extensivamente resistente (TB-XDR) é considerada quando ocorre resistência à rifampicina e isoniazida concomitante com qualquer fluoroquinolona, betaquilina ou linezolida (21).

2.1.2. Epidemiologia

2.1.2.1. Epidemiologia no mundo

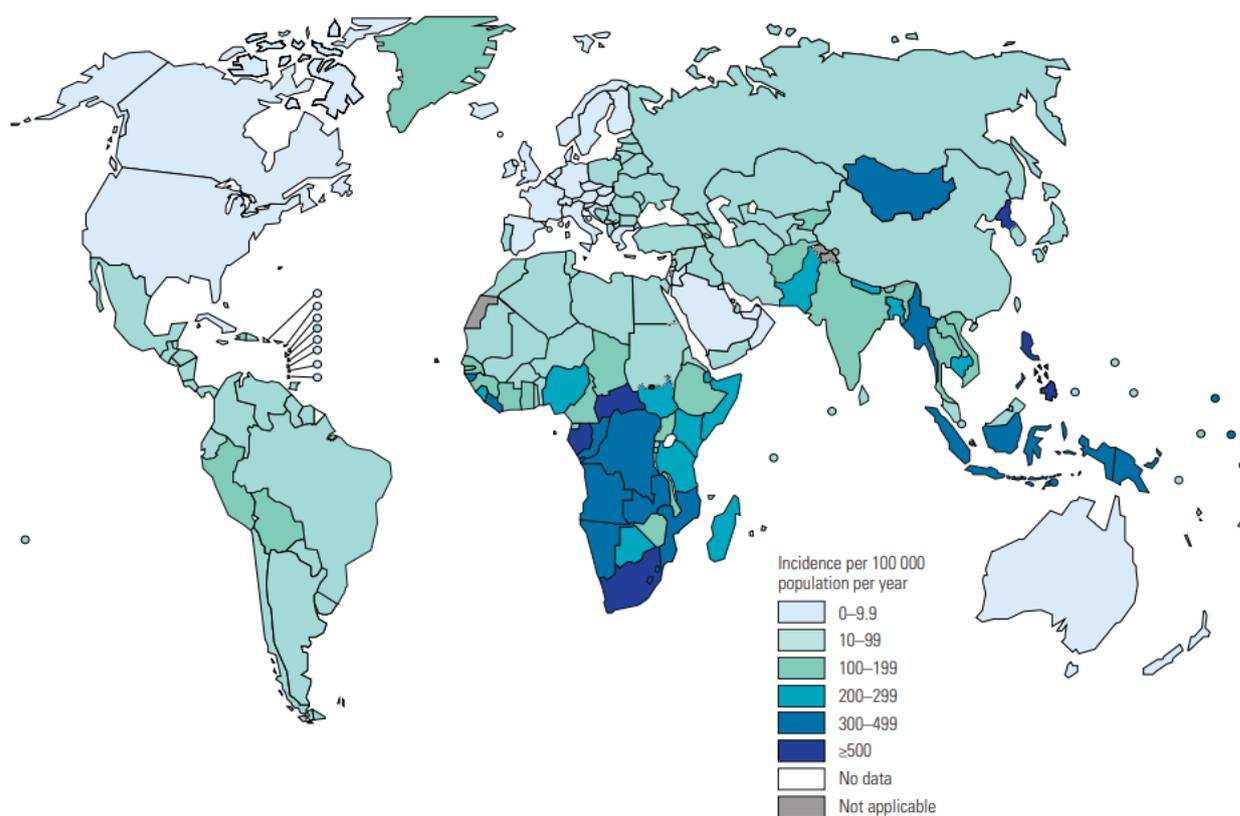
Em 2022, a OMS registrou o maior número de novos casos de tuberculose desde 1995, com alarmantes 7,5 milhões de diagnósticos. Esse aumento, comparado aos 7,1 milhões em 2019, 5,8 milhões em 2020 e 6,4 milhões em 2021, é atribuído ao acúmulo de casos não diagnosticados durante a pandemia de COVID-19, que atrasou o diagnóstico e tratamento da doença. Além disso, em 2022, 1,13 milhões de pessoas HIV-negativas e 167 mil HIV-positivas morreram de tuberculose, reforçando a necessidade de ações urgentes para combater a doença (21,22) Apesar do retorno quase ao nível de 2019, a redução no número total de mortes por TB entre 2015 e 2022 foi de apenas 19%, longe

da meta de 75% da Estratégia Final para a TB até 2025 (21). A tuberculose permanece sendo a segunda causa de morte por um único agente infeccioso em 2022 após o Covid-19 (21).

A distribuição global da carga de tuberculose é heterogênea (figura 1), 60 % dos casos estão concentrados na Índia, Indonésia e Filipinas com incidências de 199 casos por 100 mil habitantes, 385 casos por 100 mil habitantes e 638 casos por 100 mil habitantes respectivamente. Em contraste, os Estados Unidos da América registram uma taxa de incidência significativamente mais baixa, com 2,6 casos por 100 mil habitantes (21).

A incidência de tuberculose varia com a idade. Bebês expostos têm alta probabilidade de adoecer, a incidência diminui dos 2 aos 10 anos(1). Na adolescência, as taxas aumentam novamente, estabilizando-se aos 25 anos e permanecendo elevadas na idade adulta. Os homens são mais afetados do que as mulheres, representando 52% dos casos em 2022, em comparação com 33% em mulheres. Cerca de 12% dos casos ocorrem em crianças entre 0 e 14 anos (21,23).

Figura 1. Incidência de TB no mundo



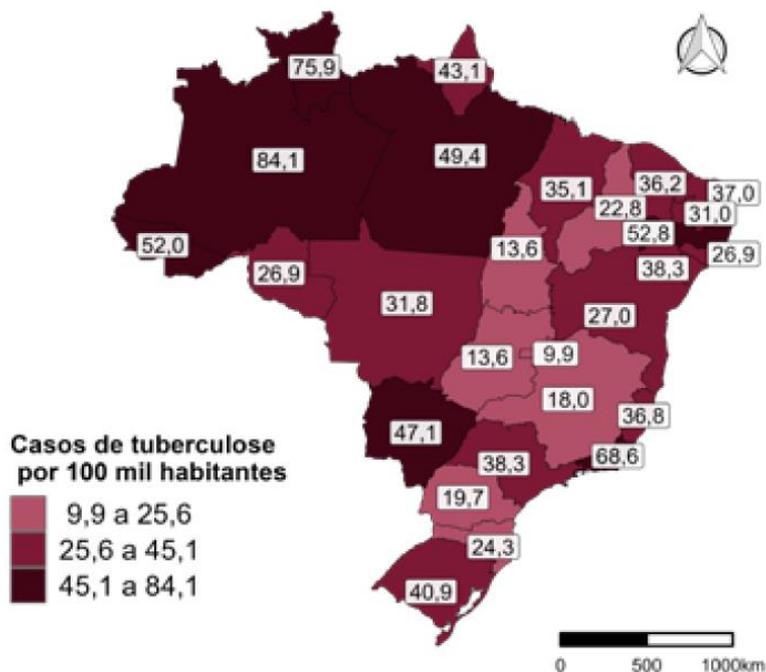
Fonte: WHO Global Tuberculosis Report 2023.

Dentre os principais fatores de risco conhecidos para a tuberculose, a infecção pelo HIV é o mais significativo, contribuindo para 12% de todos os novos casos ativos da doença e 25% das mortes relacionadas a ela (19). A maioria desses casos ocorre na África. A tuberculose ativa é uma das principais causas de hospitalização e mortalidade entre adultos e crianças infectadas pelo HIV(24). Além disso, fatores como desnutrição, poluição do ar, diabetes, consumo excessivo de álcool e tabagismo também desempenham um papel importante(20). Cada um desses fatores desempenha um papel específico no enfraquecimento do sistema imunológico ou na criação de condições favoráveis para o desenvolvimento e progressão da TB (21,23).

2.1.2.2. *Epidemiologia no Brasil*

O Brasil continua entre os 30 países com alta carga para TB e para coinfeção TB-HIV, sendo considerado prioritário para o controle da doença pela Organização Mundial de Saúde (21,22). Durante a pandemia de COVID-19, os serviços de tuberculose no Brasil, assim como em muitos outros países, sofreram impactos significativos. Isso resultou em dificuldades não só para o acompanhamento dos pacientes em tratamento, mas também para a continuidade das atividades de busca ativa de casos na comunidade e rastreamento de contatos. Consequentemente, no primeiro ano da pandemia, houve uma redução de 12,1% na taxa de incidência da doença, caindo de 37,9 casos por 100 mil habitantes em 2019 para 33,3 casos por 100 mil habitantes em 2020. Em 2021, o número de casos registrados foi de 34,9 por 100 mil habitantes e, em 2022, chegou a 36,3 casos, ainda abaixo dos níveis pré-pandêmicos. Treze estados superaram esse coeficiente nacional em 2022. Entre os estados com maior incidência de TB (figura 2), estão Amazonas (84,1 casos por 100 mil habitantes), Roraima (75,9 casos por 100 mil habitantes) e Rio de Janeiro (68,6 por 100 mil habitantes) (22). O coeficiente Brasileiro de incidência de TB aumentou 15% de 2015 até 2022, já o coeficiente global diminuiu 8,7% (21).

Figura 2. Coeficiente de incidência de TB no Brasil (casos por 100 mil habitantes)



Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação/Secretarias Estaduais de Saúde/Ministério da Saúde; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. a Dados extraídos e qualificados em fevereiro de 2023.

2.1.2.3. Epidemiologia no Rio Grande do Sul e Porto Alegre

Foram notificados no Rio Grande do Sul (RS) em 2022 4.769 casos novos que corresponde a um coeficiente de incidência de 41,6 casos/100.000 mil habitantes (25).

Segundo dados de 2022, o RS ocupa atualmente a 7ª colocação entre os estados brasileiros, com coeficiente de incidência de 36,5/100.000 habitantes, ficando atrás de Amazonas (71,3/100.000), Rio de Janeiro (67,4/100.000), Roraima (54,6/100.000), Acre (47,1/100.000) Pernambuco (47,1/100.000), e Pará (42,6/100.000). Entretanto, o coeficiente de incidência de TB em Porto

Alegre foi de 70,7/100.000, ocupando o quarto lugar entre as capitais no Brasil, e ficando atrás apenas de Manaus (100,2/100.000) e Rio de Janeiro (92,5/100.000) e Recife 89,8 (26). O coeficiente de óbitos em 2020 tendo como causa a TB foi de 2,5/100.000 habitantes.

2.1.3. Patogênese

A infecção por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) inicia-se com a inalação do patógeno, que atinge o espaço alveolar nos pulmões e interage com os macrófagos alveolares(27). A entrada do MTB ocorre pelo trato respiratório, sendo transferido para o trato respiratório inferior após a inalação (14,19,27). A internalização das bactérias pelos macrófagos alveolares ocorre por fagocitose mediada por receptores, com a presença de vários receptores contribuindo para esse processo. O microambiente alveolar, incluindo surfactantes presentes no fluido que reveste o epitélio, pode desempenhar um papel importante nessa interação inicial entre hospedeiro e patógeno (19).

Se a primeira linha de defesa não eliminar o MTB, a bactéria invade o tecido intersticial pulmonar, seja por infecção direta do epitélio alveolar ou pela migração de macrófagos alveolares infectados para o parênquima pulmonar. Células dendríticas ou monócitos inflamatórios transportam o MTB para os gânglios linfáticos pulmonares, onde ocorre a preparação das células T, resultando no recrutamento de células imunes para formar granulomas no parênquima pulmonar. Dentro do granuloma, a bactéria se replica, mas se a carga bacteriana aumenta muito, o granuloma pode não conter a infecção, levando à disseminação para outros órgãos (15).

O MTB pode entrar na corrente sanguínea ou reentrar no trato respiratório, tornando o hospedeiro infeccioso, sintomático e portador de TB ativa. Após a internalização pelos macrófagos alveolares, o MTB evita a fusão do fagossoma com o lisossoma e pode romper a membrana, liberando produtos bacterianos no citosol (28,29). A morte celular induzida pelo MTB, seja por apoptose ou necrose, influenciará diretamente na resposta imune inata ou

adaptativa(29,30). O acesso do MTB ao interstício pulmonar e sua transmissão para os gânglios linfáticos são eventos críticos. A infecção pelo HIV, ao reduzir o número de células T CD4+, aumenta o risco de TB ativa, e a compreensão dos mecanismos reguladores é essencial para desenvolver uma defesa eficaz, mantendo a tolerância do hospedeiro (31).

A pesquisa dos mecanismos subjacentes à formação e manutenção dos granulomas é importante, uma vez que essas estruturas estão intimamente ligadas ao controle e, em alguns casos, à persistência do patógeno. Os granulomas ilustram a dualidade da infecção por MTB: do ponto de vista do hospedeiro, eles funcionam como "prisões" bacterianas, com o potencial de isolar a infecção do restante do corpo; no entanto, do ponto de vista bacteriano, representam uma coleção em crescimento de fagócitos para a infecção e reprodução. Marakalala e colaboradores, ao analisar granulomas de pacientes com TB pulmonar, descobriram uma organização espacial singular das vias inflamatórias lipídicas(32). Essa organização, com mediadores pró-inflamatórios e antibacterianos no centro e mediadores anti-inflamatórios e preservadores de tecidos na periferia, exerce um papel crucial no destino do granuloma e no resultado da doença para o hospedeiro (32,33).

A heterogeneidade da resposta imune nos granulomas, com diferenças na densidade de células T, extensão da fibrose e resposta imunológica, está intrinsecamente ligada ao eixo inflamatório. A análise desses granulomas sugere uma interconexão entre as respostas imunológicas locais do hospedeiro, a subsequente alteração da inflamação e a diferenciação na contenção bacteriana, todas influenciando o destino do granuloma (34). A localização anatômica precisa dessas vias inflamatórias durante a formação do granuloma ajusta a resposta patológica à tuberculose, que não é uniforme entre os pacientes, com cada lesão apresentando características distintas (35). Terapias direcionadas ao hospedeiro, como inibidores de ALOX5 e corticosteroides, têm o potencial de modular o sistema imunológico, equilibrando os processos inflamatórios para controlar a infecção e reduzir os danos inflamatórios (33,36,37). Além disso, sugere-se que os granulomas possam ter uma carga bacteriana máxima (ou capacidade de suporte), além da qual a infecção continua a progredir. Se o granuloma conseguir conter a infecção sem causar patologia tecidual

significativa, a pessoa pode ser diagnosticada com infecção latente por TB (ILTb) e ser considerada para tratamento profilático (14).

2.1.4. Diagnóstico de TB

2.1.4.1. Sinais e sintomas

A tosse consiste como um dos principais sintomas em pacientes com TB pulmonar, a duração desse sintoma deve ser avaliada de acordo com a população em questão(38). As diretrizes recomendam a investigação da TB em pessoas em contato com pacientes tuberculosos, indivíduos vivendo com o HIV, população privada de liberdade, pessoas em situação de rua, residentes em albergues ou instituições de longa permanência, indígenas, profissionais de saúde, imigrantes e refugiados (especialmente em situações de maior vulnerabilidade) (39). Para a população em geral que busca atendimento em serviços de saúde e pacientes com diabetes mellitus, a investigação deve ser iniciada se a tosse persistir por duas semanas ou mais, enquanto para profissionais de saúde, a avaliação deve ocorrer se a tosse persistir por três semanas ou mais. Inicialmente, a tosse pode ser seca, evoluindo posteriormente para expectoração, hemoptise (presença de sangue no escarro), dor torácica e dispneia conforme a progressão da doença (39).

No caso da TB extrapulmonar, o diagnóstico frequentemente é presumido devido à natureza paucibacilar dessa forma. A coleta de amostras clínicas depende da localização suspeita da doença e, muitas vezes, envolve procedimentos invasivos. Assim, o diagnóstico clínico por si só não é suficiente, requerendo exames complementares para uma investigação mais detalhada. É fundamental realizar exames bacteriológicos, moleculares e histopatológicos das amostras coletadas, além de exames de imagem. A TB pleural se destaca como a forma mais comum de TB extrapulmonar, exceto em pessoas vivendo com o HIV. Os sintomas podem incluir tosse seca, dor torácica dependente da respiração (dor pleurítica) e dispneia, dependendo do volume de líquido pleural.

A TB ganglionar é mais comum em crianças e mulheres, sendo a forma extrapulmonar predominante em casos de coinfeção com o HIV. A TB meningoencefálica é uma forma grave e desafiadora de diagnóstico. Na forma subaguda, pode apresentar sintomas como cefaleia holocraniana, irritabilidade, alterações de comportamento, sonolência, fotofobia, vômitos, parestesia e rigidez de nuca. A forma crônica pode manifestar-se com cefaleia persistente por semanas. O tuberculoma, uma forma localizada da TB, apresenta sintomas de hipertensão intracraniana, redução da consciência e, em casos extremos, coma. (4,9).

2.1.4.2. Diagnóstico radiológico

A abordagem inicial de pacientes com doenças respiratórias envolve métodos de imagem, como radiografia de tórax e tomografia computadorizada (TC). A radiografia é utilizada na avaliação inicial da TB devido à sua facilidade, acessibilidade e baixo custo, apesar de sua baixa especificidade diagnóstica. Pode ser usada como triagem, especialmente em populações confinadas com alta incidência da doença. As alterações radiográficas na TB primária incluem opacidades parenquimatosas, segmentares ou lobares, e linfonomegalias hilares e/ou mediastinais. Na TB secundária, as manifestações incluem lesões nodulares, pneumônicas, cavitárias, pseudotumorais e extrapulmonares, com comprometimento frequente dos lobos superiores. A TC, mais sensível e específica, é recomendada em casos com radiografia inconclusiva, sintomas persistentes ou para avaliação detalhada. Mostra padrões sugestivos de atividade, como consolidação, nódulos, cavidades e alterações brônquicas. A combinação de radiografia e TC fornece informações abrangentes para o diagnóstico e acompanhamento da TB (20,40).

2.1.4.3. Diagnóstico microbiológico

- Baciloscopia

A pesquisa de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) é um método econômico e rápido para diagnosticar a TB. No entanto, sua sensibilidade varia, atingindo até 80% em lesões cavitadas e extensas, mas em média é de 40-60%, sendo positiva em apenas 20% dos casos com lesões pequenas. Além disso, a sensibilidade é consideravelmente reduzida em pacientes com coinfeção por HIV, variando de 20-60% (40,41).

Recomenda-se a coleta de duas a três amostras de escarro para baciloscopia, de preferência uma delas no início da manhã para melhores resultados. A sensibilidade pode ser aumentada em 10-20% utilizando microscopia de fluorescência ou centrifugação/sedimentação do escarro. A indução de escarro com solução salina hipertônica é útil para pacientes com baciloscopia de escarro negativa ou dificuldade em produzir escarro, sendo mais econômica que a broncoscopia com lavado broncoalveolar (LBA). Se o diagnóstico não for alcançado com escarro espontâneo ou induzido, e a suspeita de tuberculose pulmonar persistir, a broncoscopia com coleta de LBA para baciloscopia e cultura pode ser realizada. A broncoscopia também desempenha um papel importante no diagnóstico de TB pulmonar com baciloscopia negativa, casos de hemoptise por TB e para descartar diagnósticos alternativos(40). A baciloscopia é um exame que pode ser realizado em laboratórios de todos os níveis de complexibilidade, os insumos necessários são de baixo custo e necessita instalações simples. O teste consiste na realização de um esfregaço de amostra clínica preparado e corado seguindo metodologias padronizadas para a pesquisa de bacilo álcool ácido resistente BAAR. A análise é realizada com microscópio óptico ou de fluorescência (40).

- Cultura

A cultura para micobactérias de material respiratório é uma ferramenta importante no diagnóstico de TB, com uma sensibilidade em torno de 80% e especificidade de 98%. Nos casos de TB pulmonar com baciloscopia negativa, a cultura aumenta a detecção da doença em 20-40%. Métodos que utilizam a semeadura em meios sólidos, como o Löwenstein-Jensen e o Ogawa-Kudoh,

são comumente empregados devido ao menor custo e baixo índice de contaminação. No entanto, esses métodos demandam de duas a oito semanas para a detecção do crescimento micobacteriano. Recomenda-se o uso de meios líquidos, como o Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT), em sistemas automatizados não radiométricos, para resultados mais rápidos (10-42 dias) (39,41).

Após o crescimento de micobactérias, é essencial realizar testes de identificação e de sensibilidade a antibióticos (TSA). A identificação da espécie pode ser realizada por métodos bioquímicos, fenotípicos ou técnicas moleculares, distinguindo o complexo *Mycobacterium tuberculosis* de outras micobactérias não tuberculosas (MNT)(41). Os testes de sensibilidade a antimicrobianos, usando o método das proporções em meio sólido ou o método automatizado em meio líquido, avaliam a resposta a fármacos como estreptomicina, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida. Para casos de TB multirresistente (TB-MDR), são testados fármacos de segunda linha. A realização de cultura em meios sólidos e/ou líquidos é considerada o padrão ouro para o diagnóstico de TB pela OMS, sendo indicada também na suspeita de TB extrapulmonar. Na TB pleural, a cultura de micobactérias apresenta baixo rendimento (<15%). No empiema tuberculoso, por outro lado, o rendimento da cultura é elevado. A cultura de escarro induzido pode ser positiva em até 50% dos casos, mesmo na ausência de alterações visíveis na radiografia de tórax, como o derrame pleural. Esses métodos desempenham um papel essencial na confirmação diagnóstica e na avaliação da sensibilidade aos medicamentos, contribuindo para um tratamento eficaz da TB (40).

2.1.4.4. Diagnóstico Molecular

A OMS recomenda a utilização de testes de diagnóstico molecular rápido como teste de diagnóstico inicial em todas as pessoas com sinais e sintomas de TB. Os testes de diagnóstico rápido recomendados pela OMS incluem os ensaios Xpert MTB/RIF® Ultra e Truenat™ TM (21). Estes testes têm elevada

precisão diagnóstica e levarão a grandes melhorias na detecção precoce da TB e da TB resistente aos medicamentos (21).

O teste molecular Xpert MTB/RIF® Ultra utiliza a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real para a amplificação de ácidos nucleicos, possibilitando a detecção do DNA do MTB e a triagem de cepas resistentes à rifampicina. Esse teste é conduzido em uma única etapa e fornece resultados em aproximadamente 2 horas, requerendo apenas uma amostra de escarro. O Xpert MTB/RIF® Ultra é indicado para diversas amostras, como escarro espontâneo, escarro induzido, lavado broncoalveolar (LBA) e lavado gástrico. Além disso, é utilizado no diagnóstico de TB extrapulmonar, na triagem de resistência à rifampicina em casos de retratamento e em situações de suspeita de falência do tratamento (20).

2.1.4.5. Diagnóstico molecular MDR

O *line probe assay* (LIPA) é um método que utiliza hibridização reversa para identificar o complexo MTB, resistência à rifampicina e isoniazida versão MTBDRplus 2.0 e a versão MTBDRsl avalia a resistência a fluoroquinolonas, drogas injetáveis de segunda linha e etambutol. Essa técnica auxilia na detecção de resistência a múltiplos medicamentos e na seleção de regimes terapêuticos apropriados, substituindo, em grandes centros, o teste de sensibilidade a antibióticos (TSA) para rifampicina (19). Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) incorporou o teste Truenat™ em suas recomendações. O teste Truenat™ TB consiste em reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real baseada em chip para a detecção semiquantitativa e diagnóstico da bactéria do MTB em amostras de escarro humano. O teste é conduzido em dois passos com equipamentos separados. O primeiro passo inclui três etapas: tratamento, extração e purificação das amostras, seguido pelo segundo passo com a detecção do patógeno e da resistência à rifampicina (20).

2.1.4.6. Diagnóstico imunológico

O teste de lipoarabinomanano de fluxo lateral na urina (LF-LAM) detecta o antígeno lipoarabinomanano (LAM), presente na parede celular da micobactéria causadora da tuberculose, na urina de indivíduos infectados com TB(19). Embora o teste LF-LAM urinário tenha uma sensibilidade abaixo do ideal para o diagnóstico geral de TB, ele demonstra maior sensibilidade em pacientes coinfectados com HIV, especialmente aqueles com contagens baixas de células CD4(42,43). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o uso do LF-LAM para auxiliar no diagnóstico de TB ativa em adultos, adolescentes e crianças com HIV, especialmente em casos de doença avançada por HIV ou gravemente doentes (20).

2.1.4.7. Diagnóstico TB Latente

Os testes para detecta TB latente não incluem métodos microbiológicos diretos. Em vez disso, são utilizados testes indiretos, como os testes de liberação de interferon- γ (IGRAs) e o teste cutâneo de tuberculina. Estes avaliam a resposta imune mediada por células à estimulação por antígenos de Mtb. No entanto, esses testes não conseguem distinguir entre infecção latente por tuberculose (ILTb) e tuberculose ativa, e não são adequados para monitorar a eficácia do tratamento, pois as respostas imunológicas detectadas persistem mesmo após o tratamento eficaz. Os IGRAs e os testes cutâneos de tuberculina diferem em termos de praticidade, leitura e precisão. Os IGRAs são ensaios *in vitro* que exigem coleta de sangue, oferecem resultados objetivos, mas dependem de conhecimento laboratorial, equipamentos e reagentes. Por outro lado, o teste cutâneo de tuberculina requer duas visitas clínicas e interpretação por um profissional treinado (16).

2.1.4.8. Futuros diagnósticos

O desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico para tuberculose é essencial, embora várias ferramentas estejam em desenvolvimento, a maioria delas é projetada para uso em laboratórios e se baseia exclusivamente em DNA do hospedeiro como biomarcador.

O objetivo é desenvolver um teste rápido, de baixo custo e não baseado na expectoração para uso em unidades de saúde básicas. Isso requer a identificação de biomarcadores adequados, como antígenos, anticorpos ou compostos orgânicos voláteis(44). A longo prazo, o objetivo é identificar biomarcadores que possam prever o risco de progressão da infecção latente para a doença ativa e permitir o tratamento preventivo. Outro objetivo é desenvolver testes baseados em biomarcadores para monitorar a eficácia do tratamento estudos já publicaram biomarcadores candidato, entretanto investimentos são necessários para a validação e implementação de biomarcadores em ferramentas clínicas (45).

1.1.5. Tratamento

O tratamento da tuberculose ativa segue um esquema padronizado em duas fases: intensiva e de manutenção, conforme as recomendações do Ministério da Saúde. A fase intensiva visa reduzir rapidamente a população bacilar e a transmissibilidade, usando medicamentos bactericidas. A fase de manutenção tem o objetivo de eliminar os bacilos latentes e prevenir recidivas, com medicamentos bactericidas e esterilizantes. No Brasil, o esquema básico para adultos e adolescentes inclui quatro medicamentos na fase intensiva, R– Rifampicina; H - isoniazida; Z - Pirazinamina; E - Etambutol (RHZE) e dois na fase de manutenção (RH). Para crianças (<10 anos), o esquema básico consiste em três medicamentos na fase intensiva (RHZ) e dois na fase de manutenção (RH), com apresentações farmacológicas individualizadas. Esquemas especiais são recomendados para diferentes populações, diferentes tipos de tuberculose, e para pacientes que desenvolvem intolerância, alergia ou toxicidade (38).

O tratamento da ILTB é uma estratégia adotada para prevenir o desenvolvimento da doença em populações de alto risco, como contatos de casos de TB pulmonar bacilífera (paciente com teste de baciloscopia positivo), pessoas vivendo com HIV e outras situações com comprometimento imunológico. As projeções da OMS indicam que a prevenção da tuberculose ativa por meio do tratamento da ILTB é uma das principais estratégias para reduzir a taxa de incidência da doença e alcançar as metas da Estratégia pelo Fim da Tuberculose. Atualmente estão disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS) três esquemas de tratamentos para a ILTB tratamento consiste em isoniazida por 6 meses (6H) ou 9 meses (9H) (preferencialmente 9 meses pela maior eficácia); rifampicina por 4 meses (4R); rifapentina associada à isoniazida por 3 meses (3HP) (38).

1.1.6. Fatores genéticos e suscetibilidade à TB

A trajetória da infecção pelo MTB segue um curso variável após a infecção inicial, com apenas 10% das pessoas infectadas realmente desenvolvendo doença clínica(46,47). Embora as doenças associadas, tratamentos médicos e o estado nutricional possam aumentar o risco de desenvolver a doença, estas condições, exceto o HIV, são responsáveis por apenas uma pequena proporção de casos de TB hoje. Não se sabe no momento quais fatores genéticos do hospedeiro, fatores ambientais e fatores de virulência da bactéria que podem influenciar as diferentes apresentações clínicas da TB (48).

Muitos estudos, especialmente em gêmeos monozigóticos e dizigóticos, indicam que fatores genéticos desempenham um papel fundamental na determinação da suscetibilidade e resistência à TB manifesta após a infecção ((3,49,50). As interações imunes entre o hospedeiro e a estrutura molecular do MTB são multifatoriais. Muitos dos genes envolvidos nestes processos têm sido identificados, nomeadamente o e HLA-DQB1, que determinam quais antígenos microbianos são apresentados a células T auxiliares (51).

Polimorfismos de genes exercem papel importante na ocorrência e desenvolvimento de TB. Nos últimos anos, muitos genes de suscetibilidade à TB

foram recuperados, incluindo o gene do antígeno leucocitário humano (HLA) (5), gene da proteína-1 dos macrófagos associada à resistência natural (NRAMP-1) (52), gene do receptor toll-like (53), o gene do receptor da vitamina D (VDR) (54), gene da lecitina de ligação a manose (MBL) (55), gene da proteína do corpo nuclear (SP110)(56), gene da óxido nítrico sintase 2 (NOS2A) (57) gene do IFN-gama (58) e o fator inibidor da migração de macrófagos (MIF)(59).

O fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) foi descrito pela primeira vez em 1966 como um fator solúvel que é liberado por linfócitos T ativados(60), Em 1989, o MIF humano foi clonado, possibilitando a caracterização de suas atividades biológicas (61). Em 1993, foi descoberto que o MIF é uma proteína pró-inflamatória (62), posteriormente os papéis fisiológicos e patológicos do MIF e de seus receptores foram elucidados (63). MIF é uma citocina pró-inflamatória com funções semelhantes à quimiocina que tem sido reconhecida por desempenhar um papel central em diversas doenças inflamatórias agudas e crônicas, através da promoção de recrutamento de leucócitos (64–67). Inicialmente, o MIF foi reconhecido como linfocina de células T, atualmente acredita-se que o MIF é amplamente expresso em vários tipos de células e tecidos, incluindo células dos sistemas imunológico e nervoso(68), células da hipófise (62), células epiteliais (69), células endoteliais (70), células musculares lisas (71), fibroblastos sinoviais (72) e células mesenquimais (73).

Atualmente, acredita-se que o MIF controle o ponto de ajuste inflamatório, regulando a liberação de outros mediadores pró-inflamatórios (64,74). Evidências experimentais têm demonstrado que o MIF desempenha um papel crítico nas doenças imunes e inflamatórias incluindo choque séptico (29) , diabete (75,76), lúpus (77), artrite reumatoide (78–81), câncer gástrico (69,82).

O MIF é uma citocina com múltiplas funções, em condições patológicas pode exercer efeitos protetores e prejudiciais. É um componente importante em respostas inflamatórias, ele é liberado pelas células imunes ao entrar em contato com agentes microbianos através das citocinas pró- inflamatórias ou pela ativação específica de um antígeno (83).

O gene MIF apresenta regiões com três exons (107, 172 e 66 pb) e dois íntrons (188 e 94 pb), a região regulatória possui várias sequências de ligação

de DNA de consenso para fatores de transcrição(84,85). Contudo, ainda temos pouco conhecimento sobre a função destes sítios de ligação de DNA na regulação da expressão do gene MIF humano(80). Até o momento, quatro polimorfismos foram identificados no gene MIF: três polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) nas posições -173 (rs755622), +254 (rs2096525) e +656 (rs2070766) e uma repetição de tetranucleotídeo em -794 (CATT5-8). Contudo, apenas o MIF-173 e o MIF (CATT5-8) estão relacionados com alteração dos níveis basais e induzidos por estímulo do MIF (80).

Uma vez que a proteína MIF parece desempenhar um papel central na mediação de uma grande variedade de respostas imunes contra patógenos invasores, polimorfismos no gene MIF podem estar associados com o aparecimento e/ou a progressão da TB. O aumento dos níveis séricos de MIF já foi observado em doentes com TB (86). Num estudo caso-controle (87), foi investigada a associação entre os polimorfismos do MIF e a ocorrência de TB na população chinesa. Os resultados indicaram que o SNP MIF-173 (CC GC +) e o microssatélite -794CATT (7/X + 8/X) estão associados com um aumento do risco de tuberculose na população chinesa(88). Outro estudo numa população colombiana, descobriu que o alelo MIF-173C foi associado com TB, mas nenhum alelo no microssatélite MIF-794CATT foi associado com risco de TB. Khalid Sadki e colaboradores encontraram um aumento estatisticamente significativo da frequência do genótipo homozigoto MIF-173CC e do alelo MIF-173*C em pacientes com TB em comparação com controles saudáveis na população marroquina (89). Boisson-Dupuis e colaboradores demonstraram informações genéticas e imunológicas sobre a TB infantil, pela descoberta de erros inatos de um único gene da imunidade ao IFN- γ subjacentes a casos graves de TB (90).

3. JUSTIFICATIVA

Desafios no estabelecimento de genes candidatos para identificar a susceptibilidade à TB (TB) e a gravidade da doença surgem de lacunas na funcionalidade ou na compreensão mecanística de alguns polimorfismos, juntamente com a falta de reprodutibilidade entre diversas populações. A variação nas frequências de alguns polimorfismos em populações étnicas distintas, aliada à heterogeneidade na fenotipagem clínica em coortes, adiciona complexidade a esse desafio. Portanto, a investigação da relação entre a susceptibilidade à TB e o polimorfismo -173 G/C no gene MIF em uma população do Sul do Brasil, notavelmente miscigenada, assume importância significativa. Essa pesquisa visa elucidar se esse polimorfismo está associado à TB em nossa população. A identificação de genes relacionados à suscetibilidade ou resistência à TB pode contribuir substancialmente para uma compreensão mais aprofundada da imunopatogênese, com implicações práticas para aprimorar o tratamento e as medidas preventivas. É crucial ressaltar que estudos genéticos sobre a suscetibilidade e a proteção contra a TB desempenham um papel fundamental nos estudos epidemiológicos voltados para a incidência da doença na região em análise. Além disso, essas pesquisas são essenciais para embasar novos estudos relacionados à suscetibilidade e futuramente tratamento personalizado da TB.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar num estudo de caso-controle a associação entre polimorfismos MIF e a suscetibilidade à TB pulmonar em uma população da região Sul do Brasil.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a frequência do polimorfismo MIF-173 em uma amostra de pacientes com TB pulmonar
- Avaliar a frequência do polimorfismo MIF-173 em uma amostra de controles saudáveis

Referências

1. Vynnycky E, Fine PEM. Lifetime Risks, Incubation Period, and Serial Interval of Tuberculosis [Internet]. Vol. 152, *American Journal of Epidemiology*. 2000. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article/152/3/247/73190>
2. Raviglione MC, Snider DE, Kochi A. Global Epidemiology of Tuberculosis Morbidity and Mortality of a Worldwide Epidemic. *JAMA J Am Med Assoc* [Internet]. 1995;220–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7807661/>
3. van de Vosse E, Hoeve M, Ottenhoff THM. Human genetics of intracellular infectious diseases: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2004 Oct 21 [cited 2023 Dec 3];4(12):739–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15567123> [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)01203-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)01203-4)
4. Comstock Summary GW. Tuberculosis in Twins: A Re-Analysis of the Proffit Survey. *American Review of Respiratory Disease* [Internet]. 1978 [cited 2023 Dec 4];117(4):621–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/565607/>
5. Vasilca V, Oana R, Munteanu D, Zugun F, Constantinescu D, Carasevici E. HLA-A and -B phenotypes associated with tuberculosis in population from north-eastern Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2004 Jun;63(3–4):209–21.
6. Velez DR, Hulme WF, Myers JL, Weinberg JB, Levesque MC, Stryjewski ME, et al. NOS2A, TLR4, and IFNGR1 interactions influence pulmonary tuberculosis susceptibility in African-Americans. *Hum Genet* [Internet]. 2009 [cited 2023 Dec 4];126(5):643–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19575238/>
7. Illescas O, Gomez-Verjan JC, García-Velázquez L, Govezensky T, Rodriguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor -173 G/C polymorphism: A global meta-analysis across the disease spectrum. *Front Genet* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2023 Dec 4];9(MAR). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5839154/>
8. Nishihira J. Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF): Its Essential Role in the Immune System and Cell Growth. *Journal of Interferon & Cytokine Research* [Internet]. 2000 Sep;20(9):751–62. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/epdf/10.1089/10799900050151012>

9. Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: Positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2023 Dec 4];46(9):2402–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12355488/>
10. Gómez LM, Sánchez E, Ruiz-Narvaez EA, López-Nevot MA, Anaya JM, Martín J. Macrophage migration inhibitory factor gene influences the risk of developing tuberculosis in northwestern Colombian population. *Tissue Antigens*. 2007 Jul;70(1):28–33.
11. Hashemi M, Sharifi-Mood B, Rasouli A, Amininia S, Naderi M, Taheri M. Macrophage migration inhibitory factor -173 G/C polymorphism is associated with an increased risk of pulmonary tuberculosis in Zahedan, Southeast Iran. *EXCLI J* [Internet]. 2015 Jan 21 [cited 2023 Dec 4];14:117–22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822305/>
12. Li Y, Yuan T, Lu W, Chen M, Cheng X, Deng S. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine* [Internet]. 2012 Oct [cited 2023 Dec 4];60(1):64–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22742858/>
13. Vannberg FO, Chapman SJ, Hill AVS. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens. *Immunol Rev* [Internet]. 2011 [cited 2023 Dec 4];240:105–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21349089/>
14. Pai M, Behr MA, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme CC, et al. Tuberculosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2.
15. Barry CE, Boshoff HI, Dartois V, Dick T, Ehrt S, Flynn JA, et al. The spectrum of latent tuberculosis: Rethinking the biology and intervention strategies. Vol. 7, *Nature Reviews Microbiology*. 2009. p. 845–55.
16. Shah M, Dorman SE. Latent tuberculosis infection. *The New England Journal of Medicine* . 2021 Aug;385(24):2271–80.
17. Barry CE. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2009;7. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2236>
18. Esmail H, Barry CE, Young DB, Wilkinson RJ. The ongoing challenge of latent tuberculosis. Vol. 369, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Royal Society; 2014.

19. Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. *The Lancet*. 2019;393(10181):1642–56.
20. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 2021 update. World Health Organization [Internet]. Geneva; [cited 2024 Feb 13]. Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/342331>
21. World Health Organization. Global tuberculosis report 2023 [Internet]. Geneva; 2023. Available from: <https://iris.who.int/>.
22. Cleuton M. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2023. Available from: www.gov.br/saude
23. Raviglione MC, Snider Jr DE, Kochi A. Global Epidemiology of Tuberculosis: Morbidity and Mortality of a Worldwide Epidemic. *JAMA* [Internet]. 1995 Jan 18;273(3):220–6. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03520270054031>
24. Gupta-Wright A, Corbett EL, van Oosterhout JJ, Wilson D, Grint D, Alufandika-Moyo M, et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2018 Jul 28;392(10144):292–301.
25. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2023. Available from: www.gov.br/saude
26. Brasil. Boletim Epidemiológico de Tuberculose. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. 2020;1:40. Available from: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/marco/24/Boletim-tuberculose-2020-marcas--1-.pdf>
27. Bo H, Moure UAE, Yang Y, Pan J, Li L, Wang M, et al. Mycobacterium tuberculosis-macrophage interaction: Molecular updates [Internet]. Vol. 13, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2023 [cited 2024 Feb 26]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36936766/>
28. Zhai W, Wu F, Zhang Y, Fu Y, Liu Z. The Immune Escape Mechanisms of Mycobacterium Tuberculosis. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan 15;20(2):340.
29. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003 Oct;3(10):791–800.

30. Behar SM, Divangahi M, Remold HG. Evasion of innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*: is death an exit strategy? *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2010;8. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2387>
31. Barber DL, Mayer-Barber KD, Feng CG, Sharpe AH, Sher A. CD4 T cells promote rather than control tuberculosis in the absence of PD-1-mediated inhibition. *J Immunol* [Internet]. 2011;186. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003304>
32. Marakalala MJ. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized. *Nat Med* [Internet]. 2016;22. Available from: <https://doi.org/10.1038/nm.4073>
33. Lalvani A, Behr MA, Sridhar S. Innate immunity to TB: a druggable balancing act. *Cell* [Internet]. 2012;148. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.026>
34. Marakalala MJ, Raju RM, Sharma K, Zhang YJ, Eugenin EA, Prideaux B, et al. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized. *Nat Med*. 2016 May 1;22(5):531–8.
35. Ramakrishnan L. Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2012;12(5):352–66. Available from: <https://doi.org/10.1038/nri3211>
36. Marakalala MJ, Raju RM, Sharma K, Zhang YJ, Eugenin EA, Prideaux B, et al. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized. *Nat Med*. 2016 May 1;22(5):531–8.
37. Divangahi M, Desjardins D, Nunes-Alves C, Remold HG, Behar SM. Eicosanoid pathways regulate adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Immunol*. 2010 Aug;11(8):751–8.
38. BRASIL M da Saúde S de V em SD de V das DT. Manual de Recomendações e Controle da Tuberculose no Brasil [Internet]. Brasília; 2019 [cited 2024 Mar 19]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/tuberculose/manual-de-recomendacoes-e-controle-da-tuberculose-no-brasil-2a-ed.pdf/view>
39. Rossato D, Fouad M, Couto C, Anna S. Consenso sobre o diagnóstico da tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Bras Pneumol*. 2021;47(2):1–13.
40. Silva DR, Rabahi MF, Sant'Anna CC, Da Silva-Junior JLR, Capone D, Bombarda S, et al. Consenso sobre o diagnóstico da tuberculose da sociedade brasileira de pneumologia e tisiologia. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. 2021;47(2).

41. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de recomendações para o diagnóstico laboratorial de tuberculose e micobactérias não tuberculosas de interesse em Saúde Pública no Brasil [Internet]. Brasil. Brasília ; 2022 [cited 2023 Dec 4]. p. 1–494. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/tuberculose/manual-de-recomendacoes-e-para-diagnostico-laboratorial-de-tuberculose-e-micobacterias-nao-tuberculosas-de-interesse-em-saude-publica-no-brasil.pdf/view>
42. Gupta-Wright A, Corbett EL, van Oosterhout JJ, Wilson D, Grint D, Alufandika-Moyo M, et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2018 Jul 28;392(10144):292–301.
43. Bjerrum S, Schiller I, Dendukuri N, Kohli M, Nathavitharana RR, Zwerling AA, et al. Lateral flow urine lipoarabinomannan assay for detecting active tuberculosis in people living with HIV. Vol. 2019, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2019.
44. Sweeney TE, Braviak L, Tato CM, Khatri P. Genome-wide expression for diagnosis of pulmonary tuberculosis: a multicohort analysis. *Lancet Respir Med*. 2016 Mar;4(3):213–24.
45. Schiff HF, Walker NF, Ugarte-Gil C, Tebruegge M, Manousopoulou A, Garbis SD, et al. Integrated plasma proteomics identifies tuberculosis-specific diagnostic biomarkers. *JCI Insight*. 2024 Mar 21;
46. Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science* (1979). 1966;153(3731):80–2.
47. Vynnycky E, Fine PE. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. *Epidemiol Infect* [Internet]. 1997;119. Available from: <https://doi.org/10.1017/S0950268897007917>
48. Cobat A. Two loci control tuberculin skin test reactivity in an area hyperendemic for tuberculosis. *J Exp Med* [Internet]. 2009;206. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20090892>
49. Bellamy R. Susceptibility to mycobacterial infections: The importance of host genetics. Vol. 4, *Genes and Immunity*. 2003. p. 4–11.
50. Hill AVS. The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2001 [cited 2023 Dec 4];373–400. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11701655/>

51. Goldfeld AE, Delgado JC, Thim S, Bozon ; M Viviana, Ugliodoro AM, Turbay D, et al. Association of an HLA-DQ Allele With Clinical Tuberculosis [Internet]. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/>
52. Malik S, Abel L, Tooker H, Poon A, Simkin L, Girard M, et al. Alleles of the NRAMP1 gene are risk factors for pediatric tuberculosis disease [Internet]. 2005. Available from: www.broad.mit.edu/dump
53. Dissanayake SR, Levin S, Pienaar S, Wood K, Eley B, Beatty D, et al. Polymorphic variation in TIRAP is not associated with susceptibility to childhood TB but may determine susceptibility to TBM in some ethnic groups. *PLoS One*. 2009 Aug 20;4(8).
54. Liu W, Cao WC, Zhang CY, Tian L, Wu XM, Habbema JDF, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. Vol. 8, *INT J TUBERC LUNG DIS*. 2004.
55. El Sahly HM, Reich RA, Dou SJ, Musser JM, Graviss EA. The effect of mannose binding lectin gene polymorphisms on susceptibility to tuberculosis in different ethnic groups. *Scand J Infect Dis*. 2004 Feb 8;36(2):106–8.
56. Tosh K, Campbell SJ, Fielding K, Sillah J, Bah B, Gustafson P, et al. Variants in the SP110 gene are associated with genetic susceptibility to tuberculosis in West Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 Jul 5 [cited 2023 Dec 4];103(27):10364–8. Available from: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0603340103>
57. Velez DR, Hulme WF, Myers JL, Weinberg JB, Levesque MC, Stryjewski ME, et al. NOS2A, TLR4, and IFNGR1 interactions influence pulmonary tuberculosis susceptibility in African-Americans. *Hum Genet*. 2009;126(5):643–53.
58. Yim JJ, Selvaraj P. Genetic susceptibility in tuberculosis. Vol. 15, *Respirology*. 2010. p. 241–56.
59. Liu A, Li J, Bao F, Zhu Z, Feng S, Yang J, et al. Single nucleotide polymorphisms in cytokine MIF gene promoter region are closely associated with human susceptibility to tuberculosis in a southwestern province of China. *Infection, Genetics and Evolution* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2023 Dec 4];39:219–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26656832/>
60. Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a Reaction in Vitro Associated with Delayed-Type Hypersensitivity. Vol. 153, *Source: Science, New Series*. 1966.

61. Weiser WY, Pozzi LAM, David JR. Human recombinant migration inhibitory factor activates human macrophages to kill *Leishmania donovani*. *Journal of Immunology*. 1991;147(6):2006–11.
62. Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelter W, et al. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature*. 1993;365(6448):756–9.
63. Leng L, Metz CN, Fang Y, Xu J, Donnelly S, Baugh J, et al. MIF signal transduction initiated by binding to CD74. *Journal of Experimental Medicine*. 2003;197(11):1467–76.
64. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: A regulator of innate immunity. Vol. 3, *Nature Reviews Immunology*. European Association for Cardio-Thoracic Surgery; 2003. p. 791–800.
65. Gregory JL, Morand EF, McKeown SJ, Ralph JA, Hall P, Yang YH, et al. Macrophage Migration Inhibitory Factor Induces Macrophage Recruitment via CC Chemokine Ligand 2. *The Journal of Immunology*. 2006 Dec 1;177(11):8072–9.
66. Morand EF, Leech M, Bernhagen J. MIF: A new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis. Vol. 5, *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006. p. 399–411.
67. Santos LL, Morand EF. Macrophage migration inhibitory factor: A key cytokine in RA, SLE and atherosclerosis. Vol. 399, *Clinica Chimica Acta*. 2009. p. 1–7.
68. Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(19):11383–8.
69. He XX, Yang J, Ding YW, Liu W, Shen QY, Xia HHX. Increased epithelial and serum expression of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in gastric cancer: Potential role of MIF in gastric carcinogenesis. *Gut*. 2006;55(6):797–802.
70. Pellowe AS, Sauler M, Hou Y, Merola J, Liu R, Calderon B, et al. Endothelial cell-secreted MIF reduces pericyte contractility and enhances neutrophil extravasation. *FASEB Journal*. 2019;33(2):2171–86.
71. Fan Y, Zhang J, Chen CY, Xiao YB, Asico LD, Jose PA, et al. Macrophage migration inhibitory factor triggers vascular smooth muscle cell dedifferentiation by a p68-serum response factor axis. *Cardiovasc*

- Res [Internet]. 2017 Apr 1;113(5):519–30. Available from: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx025>
72. Abe R, Shimizu T, Ohkawara A, Nishihira J. Enhancement of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression in injured epidermis and cultured fibroblasts. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2000;1500(1):1–9.
 73. Park CW, Kim KS, Bae S, Son HK, Myung PK, Hong HJ, et al. Cytokine secretion profiling of human mesenchymal stem cells by antibody array. *Int J Stem Cells*. 2009;2(1):59–68.
 74. Hoi AY, Iskander MN, Morand EF. Macrophage Migration Inhibitory Factor: A Therapeutic Target Across Inflammatory Diseases. Vol. 6, *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 2007.
 75. Makino A, Nakamura T, Hirano M, Kitta Y, Sano K, Kobayashi T, et al. High plasma levels of macrophage migration inhibitory factor are associated with adverse long-term outcome in patients with stable coronary artery disease and impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2010 Dec;213(2):573–8.
 76. Bojunga J, Kusterer K, Bacher M, Kurek R, Usadel KH, Renneberg H. Macrophage migration inhibitory factor and development of type-1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Cytokine*. 2003 Feb 21;21(4):179–86.
 77. Sánchez E, Gómez LM, Lopez-Nevot MA, González-Gay MA, Sabio JM, Ortego-Centeno N, et al. Evidence of association of macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*. 2006 Jul;7(5):433–6.
 78. Morand EF, Leech M, Bernhagen J. MIF: A new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis. Vol. 5, *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006. p. 399–411.
 79. Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: Positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2002 Sep 1;46(9):2402–9.
 80. Baugh JA, Chitnis S, Donnelly SC, Monteiro J, Lin X, Plant BJ, et al. A functional promoter polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun* [Internet]. 2002;3:170–6. Available from: www.nature.com/gene

81. Baugh JA, Chitnis S, Donnelly SC, Monteiro J, Lin X, Plant BJ, et al. A functional promoter polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun* [Internet]. 2002;3:170–6. Available from: www.nature.com/gene
82. Tong X, Zheng B, Tong Q, Liu S, Peng S, Yang X, et al. The MIF-173G/C gene polymorphism increase gastrointestinal cancer and hematological malignancy risk: evidence from a meta-analysis and FPRP test. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(9):15949–57.
83. Kang I, Bucala R. The immunobiology of MIF: function, genetics and prospects for precision medicine. Vol. 15, *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Publishing Group; 2019. p. 427–37.
84. Rigante D, Flex A, Federico G, Pola R, Candelli M, Manna R, et al. Serum macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the intercritical phase of hereditary periodic fevers and its relationship with the MIF-173G/C polymorphism. *Scand J Rheumatol*. 2007;36(4):307–10.
85. Sumaiya K, Langford D, Natarajaseenivasan K, Shanmughapriya S. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A multifaceted cytokine regulated by genetic and physiological strategies. Vol. 233, *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc.; 2022.
86. Yamada G, Shijubo N, Takagi-Takahashi Y, Nishihira J, Mizue Y, Kikuchi K, et al. Elevated levels of serum macrophage migration inhibitory factor in patients with pulmonary tuberculosis. *Clinical Immunology*. 2002;104(2):123–7.
87. Li Y, Yuan T, Lu W, Chen M, Cheng X, Deng S. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine*. 2012 Oct;60(1):64–7.
88. Liu A, Bao F, Voravuthikunchai SP. CATT polymorphism in MIF gene promoter is closely related to human pulmonary tuberculosis in a southwestern China population. Vol. 32, *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. SAGE Publications Inc.; 2018.
89. Sadek KH, Ezzat S, Abdel-Aziz SA, Alaraby H, Mosbeh A, Abdel-Rahman MH. Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Gene Promotor Polymorphism Is Associated with Increased Fibrosis in Biliary Atresia Patients, but Not with Disease Susceptibility. *Ann Hum Genet*. 2017 Sep 1;81(5):177–83.

90. Boisson-Dupuis S. Inherited and acquired immunodeficiencies underlying tuberculosis in childhood. *Immunol Rev* [Internet]. 2015 Mar [cited 2024 Feb 25]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25703555/>

5. ARTIGO

Title: Macrophage migration inhibitory factor -173 G>C single nucleotide polymorphism and its association with active pulmonary tuberculosis

Authors: Mirela Gehlen, Elis Regina Dalla Costa, Maria Lucia Rosa Rossetti, Denise Rossato Silva

Published: June 11, 2020 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234565>

Abstract

Purpose: The establishment of candidate genes associated with susceptibility to TB is a challenge especially due to divergent frequencies among different populations. The objective of this study was to evaluate the association between macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173 G>C single nucleotide polymorphism (SNP) and susceptibility to pulmonary TB in a population of southern Brazil.

Methods: Case-control study. Patients > 18 years old, diagnosed with pulmonary TB were included. The control group consisted of blood donors and household contacts, not relatives, healthy and > 18 years old. MIF -173 G>C SNPs were genotyped using real-time PCR using a TaqMan SNP Genotyping assay.

Results: 174 patients and 166 controls were included. There were no statistically significant differences between cases and controls regarding genotype prevalence ($p > 0.05$). Comparing patients with normal genotype (GG) with those with at least one C allele, there was also no statistically significant difference ($p = 0.135$). Also, there was no statistically significant difference comparing the homozygous for the mutation (CC) with the other patients (GG and CG) ($p = 0.864$).

Conclusions: We did not find association between MIF -173 G>C polymorphism and susceptibility to pulmonary TB.

Introduction

The natural history of tuberculosis (TB) follows a variable course after the initial infection, with only 10% of infected individuals actually developing clinical disease. Genetic, environmental and bacterial virulence factors can influence the clinical presentation of TB [1]. Many studies indicate that genetic factors play a major role in determining the susceptibility and resistance to TB [2–5].

Polymorphisms of genes play an important role in the occurrence and development of TB. In recent years, many TB susceptibility genes have been detected [6–13]. The macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a cytokine with proinflammatory chemokine-like functions that have been recognized to play a central role in mediating a wide variety of immune responses against invading pathogens, and may be associated with the onset and / or progression of TB. In fact, a meta-analysis revealed a strong association of a MIF polymorphism with autoimmune and infectious diseases [14]. In TB, MIF is probably the first cytokine to appear in inflammatory response, inhibits macrophage migration, and promotes macrophage accumulation and T lymphocytes activation in inflamed TB lesions [15,16]. Four polymorphisms were identified in the MIF gene; however, only the MIF-173 and MIF (CATT5-8) are related to changes on MIF levels [17]. A few studies had evaluated these polymorphisms in TB, in different populations, with controversial results [16,18–22]

The establishment of candidate genes associated with susceptibility to TB is a challenge especially due to divergent frequencies among different populations [23]. Therefore, studies on the relationship between the susceptibility to TB and genetic polymorphisms in various populations and ethnic groups are of great importance. The objective of this study was to evaluate, in a case-control study, the association between MIF -173 G>C single nucleotide polymorphism (SNP) and susceptibility to pulmonary TB in a population of southern Brazil.

Materials and methods

Study design and location

This study was a case-control study done on 174 patients and 166 controls and conducted in two hospitals in a city in Southern Brazil with high incidence of TB (80.4 cases/100,000 inhabitants) [24]: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, a tertiary hospital, university-affiliated, with 750 beds and about 300 cases of TB treated per year, and Hospital Sanatório Partenon, a referral hospital for TB treatment. The study was conducted between 2016 and 2019. The study was approved by the Research Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (number 16–0599), and all research was in accordance with regulations. All cases and controls signed Informed Consent Form prior to inclusion in the study.

Patients

We included patients > 18 years old, diagnosed with pulmonary TB, during any time between the diagnosis and completion of treatment. Patients with concomitant extrapulmonary TB were excluded. The control group consisted of blood donors and household contacts, not relatives, healthy and > 18 years old. Cases and controls were negative for human immunodeficiency virus (HIV), and hepatitis B and C virus (HBV and HCV).

Data collection

Patients were interviewed using a standardized questionnaire. The following data were recorded: demographic data (gender, age, race, years of schooling); presence of symptoms; smoking history; alcohol and drug abuse, and comorbidities. The racial and ethnic composition of Brazilian society is the result of a confluence of people from many different ethnic backgrounds: the original indigenous people, black Africans, Portuguese settlers, and later, European, Arab and Japanese immigrants, as well as other Asian people and from South American countries [25]. We collected data on race and classified patients in white and non-white. The diagnosis of pulmonary TB was accomplished through chest radiography, sputum smear and culture for mycobacteria, and based on

consensus criteria [26]. All patients used the same treatment (the standard treatment in Brazil: rifampicin, isoniazid, ethambutol, and pyrazinamide).

DNA extraction

Whole blood samples were collected in EDTA tubes. Total genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by the salting out method [27] and stored at -20°C until analysis.

MIF Genotyping-173 G> C

The MIF -173 G>C polymorphism (rs755622) was genotyped by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) using a TaqMan SNP Genotyping assay (part number C_2213785_10; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), according to a protocol of Gomez et al [16], using StepOne™ Real-Time PCR Systems. The PCR was carried out with mixes consisting of 8 ng of genomic DNA, 2.5 ml of Taqman master mix, 0.125 µl of 20 X assay mix and ddH₂O up to 5 µl of final volume. The amplification protocol used was 50°C for 2 min and initial denaturation at 95°C for 10 min followed by 50 cycles of denaturation at 92°C for 15 s and annealing/extension at 60°C for 1 min [16].

Statistical analysis

Data analysis was performed using SPSS 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, Illinois). Genotypic frequencies were tested for Hardy-Weinberg using the chi-square test. Frequencies of genotypes and alleles were compared between cases and controls by logistic regression with adjustment for gender and age. Odds ratio (OR) was used as the point estimates of risk and was calculated along with their 95% confidence intervals (95% CI). P value less than 0.05 was considered as statistically significant. Considering data of a previous study [20], with confidence interval of 95% and a power of 80%, at least 83 cases and 83 controls will be needed.

Results

During the study period, 174 patients and 166 controls met the inclusion criteria and were included in the analysis. The age range was 18–78 years (cases) and 18–61 years (controls). There were 120 (69.0%) males and 54 (31.0%) females among cases and 105 (63.3%) males and 61 (36.7%) females among controls. One hundred and fifteen patients were white (66.1%) and 59 (33.9%) were non-white among cases and 114 (68.7%) were white and 52 (31.3%) were non-white among controls.

Genetic model	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR (95% CI)	P value
Codominant				
GG	94 (54.0)	103 (62.1)	1.00 (reference)	
GC	72 (41.4)	56 (33.7)	0.71 (0.45–1.11)	0.133
CC	8 (4.6)	7 (4.2)	0.79 (0.28–2.29)	0.675
Dominant				
GG	94 (54.0)	103 (62.1)	1.00 (reference)	
GC + CC	80 (46.0)	63 (37.9)	0.72 (0.47–1.11)	0.135
Recessive				
GG + GC	166 (95.4)	159 (95.8)	1.00 (reference)	
CC	8 (4.6)	7 (4.2)	1.09 (0.39–3.09)	0.864
Allele				
C	88 (25.3)	70 (21.1)	-	0.195
G	260 (74.7)	262 (78.9)	-	0.195

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234565.t001>

The prevalence of genotypes GG (normal), GC (heterozygous), and CC (homozygous for mutation) among cases was 94 (54.0%), 72 (41.4%), and 8 (4.6%), respectively. In controls, the frequencies of genotypes GG (normal), GC (heterozygous), and CC (homozygous for mutation) among cases were 103 (62.1%), 56 (33.7%), and 7 (4.2%), respectively. The genotype frequencies were not found to be significantly different from those predicted by the Hardy–Weinberg equilibrium. There were no statistically significant differences between cases and controls regarding genotype prevalence, controlled for age and sex ([Table 1](#)).

Discussion

In the present study, we did not find association between MIF -173 G>C polymorphism and susceptibility to pulmonary TB. There were no statistically significant differences between cases and controls regarding genotype prevalence. In addition, there was no statistically significant difference comparing patients with normal genotype (GG) with those with at least one C allele, and comparing the homozygous for the mutation (CC) with the other patients (GG and CG).

There is increasing evidence that host genetic factors are implicated in susceptibility to TB, corroborated by monozygotic and dizygotic twin studies [5,28], genome-wide linkage studies [29–31], and genome-wide association studies [32,33]. Polymorphisms in candidate genes have shown influence on this TB susceptibility. MIF -173 G>C gene polymorphism has been shown to play a role in TB risk in several studies [16,18–22]. MIF gene is located at chromosome22q11.2 and encodes a T-cell-derived cytokine that plays an important role activating macrophage functions, regulating Th1/Th2 balance, and also is involved in delayed-type hypersensitivity reaction [34–36]. MIF is expressed by epithelial cells of the bronchi and alveolar macrophages, which have substantial influence on defense against tubercle bacilli [37]. In a Ugandan cohort, it was showed that genetic low expressers of MIF were 2.4-times more frequently identified among patients with Mycobacterium tuberculosis bacteremia than those without. Also, MIF deficient mice have an inadequate innate immune response and, consequently, are more susceptible to mycobacterial pathology [38].

We did not find differences in MIF -173 G>C genotype prevalence comparing patients with TB and the control group. Gomez et al [16] studied 230 northwestern Colombian patients with pulmonary TB, negative for HIV, and 235 matched healthy individuals, and found on multivariate analysis that MIF -173C allele was associated with disease (odds ratio = 1.64) in a dominant pattern. In a Moroccan population, the authors demonstrated a statistically significant increase of the MIF –173CC homozygote genotype and MIF –173*C allele frequencies in PTB patients compared with healthy controls [21]. Hashemi et al [18], showed in an Iranian population that the MIF -173 G/C polymorphism increased the risk of PTB in codominant (GC vs GG, OR = 1.76) and dominant (GC+CC vs GG, OR = 1.78) tested models. Three studies were conducted in Chinese population. One of them [19] evidenced that distribution of MIF -173 genotypes (GC + CC) was significantly higher in TB cases than in controls, and the frequencies for MIF -173 (GG vs. GC+CC) were statistically significant different comparing total cases of TB, new cases of TB, and retreatment cases of TB to controls, respectively. Yanlin et al [22] demonstrated that the frequency of MIF -173 (GC + CC) was higher in TB patients than in controls (OR = 2.12). Last, Kuai et al [20] found a

significant association of MIF -173 C alleles with susceptibility to active TB. Since polymorphisms occur at different frequencies in populations of different ethnicities, the high prevalence of miscegenation in our country may have contributed to these results [25]. In addition, one should also consider the fact that the population of southern Brazil (study setting) has Italian and German descent, and that these polymorphisms have not been demonstrated in these populations, only in Chinese [19,20,22], Moroccan [21], Colombian [16], and Iranian [18] populations. In addition, the sample size could be small to come to a conclusion at this point; however, we calculated a priori sample size, and it is bigger than 3 out of 6 studies conducted on this topic.

One limitation of this study is that we recruited patients from a single region of Brazil, and, as stated above, it is well known that Brazil is an extensive country with a varied ethnic and racial composition. Therefore, this may have prevented us from finding differences in genotype frequency.

This study has been conducted in mixed population, as both cases and control study subjects consists of peoples from various ethnic origin. An elaborated study with a larger sample size is required to bring enough power to analyse the data from different ethnic groups. In addition, we didn't collect data on body mass index (BMI), and it is well known that low BMI could contribute to TB disease establishment. Also, the patients were not followed-up after the treatment for relapse. Furthermore, we know that a cohort study including patients with MIF polymorphism and evaluating the development of TB would bring better scientific evidence; however, this kind of study is expensive and take a lot of time to get results. Moreover, MIF levels were not quantified; a correlation study between different genotypes and MIF levels in patients and controls might help to explain the association between MIF -173 G>C gene polymorphism and susceptibility/resistance to tuberculosis. In spite of these concerns, this is the first study to evaluate the association between MIF -173 G>C polymorphism and susceptibility to pulmonary TB in Brazil.

In conclusion, in the present study, there were no differences in MIF -173 G>C genotype prevalence when comparing TB cases and controls. Further studies, including patients from various regions of Brazil are necessary to better

evaluate the association between MIF -173 G>C polymorphism and susceptibility to pulmonary TB.

References

1. Raviglione MC, Kochi A, Snider DE. Global Epidemiology of Tuberculosis: Morbidity and Mortality of a Worldwide Epidemic. *JAMA J Am Med Assoc.* 1995;273:220–6.
2. van de Vosse E, Hoeve MA, Ottenhoff THM. Human genetics of intracellular infectious diseases: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect Dis [Internet].* 2004 [cited 2019 Oct 21];4:739–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15567123> pmid:15567123
3. Hill A. The genomics and genetics of human infectious disease susceptibility.—PubMed—NCBI [Internet]. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2001 [cited 2019 Oct 21]. p. 373–400. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11701655> pmid:11701655
4. Bellamy R. Genetic susceptibility to tuberculosis. *Clin Chest Med [Internet].* 2005 [cited 2019 Oct 21];26:233–46, vi. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15837108> pmid:15837108
5. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis [Internet].* 1978 [cited 2019 Oct 21];117:621–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/565607> pmid:565607
6. Vasilca V, Oana R, Munteanu D, Zugun F, Constantinescu D, Carasevici E. HLA-A and -B phenotypes associated with tuberculosis in population from north-eastern Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol [Internet].* [cited 2019 Oct 21];63:209–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17240790>
7. Yim J-J, Selvaraj P. Genetic susceptibility in tuberculosis. *Respirology [Internet].* 2010 [cited 2019 Oct 21];15:241–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20199642> pmid:20199642
8. Malik S, Abel L, Tooker H, Poon A, Simkin L, Girard M, et al. Alleles of the NRAMP1 gene are risk factors for pediatric tuberculosis disease. *Proc Natl Acad Sci U S A [Internet].* 2005 [cited 2019 Oct 21];102:12183–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16103355> pmid:16103355
9. Dissanayake SR, Levin S, Pienaar S, Wood K, Eley B, Beatty D, et al. Polymorphic variation in TIRAP is not associated with susceptibility to childhood TB but may determine susceptibility to TBM in some ethnic groups. *PLoS One [Internet].* 2009 [cited 2019 Oct 21];4:e6698. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19693265> pmid:19693265
10. Liu W, Cao WC, Zhang CY, Tian L, Wu XM, Habbema JDF, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. *Int J Tuberc Lung Dis*

- [Internet]. 2004 [cited 2019 Oct 21];8:428–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15141734> pmid:15141734
- 11.El Sahly HM, Reich RA, Dou SJ, Musser JM, Graviss EA. The effect of mannose binding lectin gene polymorphisms on susceptibility to tuberculosis in different ethnic groups. *Scand J Infect Dis* [Internet]. 2004 [cited 2019 Oct 21];36:106–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15061663> pmid:15061663
- 12.Tosh K, Campbell SJ, Fielding K, Sillah J, Bah B, Gustafson P, et al. Variants in the SP110 gene are associated with genetic susceptibility to tuberculosis in West Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 [cited 2019 Oct 21];103:10364–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16803959> pmid:16803959
- 13.Velez DR, Hulme WF, Myers JL, Weinberg JB, Levesque MC, Stryjewski ME, et al. NOS2A, TLR4, and IFNGR1 interactions influence pulmonary tuberculosis susceptibility in African-Americans. *Hum Genet* [Internet]. 2009 [cited 2019 Oct 21];126:643–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19575238> pmid:19575238
- 14.Illescas O, Gomez-Verjan JC, García-Velázquez L, Govezensky T, Rodriguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor -173 G/C polymorphism: A global meta-analysis across the disease spectrum. *Front Genet*. 2018;9:1–14.
- 15.Nishihira J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): Its essential role in the immune system and cell growth. *J. Interf. Cytokine Res*. 2000. p. 751–62.
- 16.Gómez LM, Sánchez E, Ruiz-Narvaez EA, López-Nevot MA, Anaya JM, Martín J. Macrophage migration inhibitory factor gene influences the risk of developing tuberculosis in northwestern Colombian population. *Tissue Antigens*. 2007;70:28–33. pmid:17559578
- 17.Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2002 [cited 2019 Oct 21];46:2402–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12355488> pmid:12355488
- 18.Hashemi M, Sharifi-Mood B, Rasouli A, Amininia S, Naderi M, Taheri M. Macrophage migration inhibitory factor -173 G/C polymorphism is associated with an increased risk of pulmonary tuberculosis in Zahedan, Southeast Iran. *EXCLI J*. 2015;14:117–22. pmid:27065766
- 19.Liu A, Li J, Bao F, Zhu Z, Feng S, Yang J, et al. Single nucleotide polymorphisms in cytokine MIF gene promoter region are closely associated with human susceptibility to tuberculosis in a southwestern province of China. *Infect Genet Evol*. Elsevier B.V.; 2016;39:219–24. pmid:26656832
- 20.Kuai SG, Ou QF, You DH, Shang ZB, Wang J, Liu J, et al. Functional polymorphisms in the gene encoding macrophage migration inhibitory factor

(MIF) are associated with active pulmonary tuberculosis. *Infect Dis (Auckl)*. 2016;48:222–8.

21.Sadki K, Lamsyah H, Rueda B, Akil El, Sadak A, Martin J, et al. Analysis of MIF, FCGR2A and FCGR3A gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Moroccan population. *J Genet Genomics [Internet]*. Institute of Genetics and Developmental Biology and the Genetics Society of China; 2010;37:257–64. Available from: [pmid:20439102](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20439102/)

22.Li Y, Yuan T, Lu W, Chen M, Cheng X, Deng S. Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population. *Cytokine [Internet]*. Elsevier Ltd; 2012;60:64–7. Available from: [pmid:22742858](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22742858/)

23.Vannberg FO, Chapman SJ, Hill AVS. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens. *Immunol Rev [Internet]*. 2011 [cited 2019 Oct 21];240:105–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21349089> [pmid:21349089](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21349089/)

24.Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2018. Available from: www.saude.gov.br

25.Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo 2010 [Internet]. 2010. Available from: www.ibge.gov.br

26.Conde MB, Melo FAF de, Marques AMC, Cardoso NC, Pinheiro VGF, Dalcin P de TR, et al. III Brazilian Thoracic Association Guidelines on tuberculosis. *J Bras Pneumol [Internet]*. 2009 [cited 2019 Oct 21];35:1018–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19918635> [pmid:19918635](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19918635/)

27.Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215. [pmid:3344216](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3344216/)

28.Möller M, Hoal EG. Current findings, challenges and novel approaches in human genetic susceptibility to tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb) [Internet]*. 2010 [cited 2019 Oct 21];90:71–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20206579>

29.Cooke GS, Campbell SJ, Bennett S, Lienhardt C, McAdam KPWJ, Sirugo G, et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178:203–7. [pmid:18420963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18420963/)

30.Bellamy R, Beyers N, McAdam KPWJ, Ruwende C, Gie R, Samaai P, et al. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: A genome-wide scan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:8005–9. [pmid:10859364](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10859364/)

31.Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, Ridruechai C, Matsushita I, Ohashi J, et al. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun [Internet]*. 2009 [cited 2019 Oct 21];10:77–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18843276> [pmid:18843276](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18843276/)

32. Mahasirimongkol S, Yanai H, Mushiroda T, Promphittayarat W, Wattanapokayakit S, Phromjai J, et al. Genome-wide association studies of tuberculosis in Asians identify distinct at-risk locus for young tuberculosis. *J Hum Genet* [Internet]. 2012 [cited 2019 Oct 21];57:363–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22551897> pmid:22551897
33. Png E, Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Marzuki S, Nelwan R, Balabanova Y, et al. A genome wide association study of pulmonary tuberculosis susceptibility in Indonesians. *BMC Med Genet*. 2012;13.
34. Calandra T, Froidevaux C, Martin C, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor and host innate immune defenses against bacterial sepsis. *J Infect Dis* [Internet]. 2003 [cited 2019 Oct 21];187 Suppl 2:S385–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12792855>
35. Bacher M, Metz CN, Calandra T, Mayer K, Chesney J, Lohoff M, et al. An essential regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in T-cell activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:7849–54. pmid:8755565
36. Martínez A, Orozco G, Varadé J, Sánchez López M, Pascual D, Balsa A, et al. Macrophage migration inhibitory factor gene: influence on rheumatoid arthritis susceptibility. *Hum Immunol* [Internet]. 2007 [cited 2019 Oct 21];68:744–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17869648> pmid:17869648
37. Kibiki GS, van der Ven AJAM, Geurts-Moespot A, Shao J, Calandra T, Sweep FCGJ, et al. Serum and BAL macrophage migration inhibitory factor levels in HIV infected Tanzanians with pulmonary tuberculosis or other lung diseases. *Clin Immunol*. 2007;123:60–5. pmid:17275414
38. Das R, Koo MS, Kim BH, Jacob ST, Subbian S, Yao J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a critical mediator of the innate immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110

6. CONCLUSÃO

Os resultados desta tese, juntamente com dados de outras publicações, sugerem que o SNP GC pode ter efeitos distintos na infecção por MTB em diferentes populações. Apesar de não haver uma associação direta entre o SNP GC e o resultado da TB pulmonar na população analisada, não podemos descartar a importância desses SNPs nos genes em questão no contexto da infecção por MTB. É possível que esses SNPs desempenhem um papel em conjunto com outros marcadores, como a gravidade da doença ou fatores ambientais. O gene MIF desempenha um papel crucial na resposta imune à TB, e os polimorfismos nesse gene podem influenciar a suscetibilidade à doença. São necessárias mais pesquisas para compreender os mecanismos moleculares e as implicações clínicas das variações no gene MIF na TB.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas, o tratamento da tuberculose (TB) tem seguido terapias padronizadas, sem considerar variações na imunidade, farmacocinética, patogênese ou no MTB. No entanto, avanços recentes prometem personalizar o tratamento da TB, utilizando técnicas como o sequenciamento de nova geração do DNA microbiano para prever rapidamente a suscetibilidade a medicamentos, modulação da imunidade do hospedeiro, administração de doses personalizadas de medicamentos e biomarcadores para prever a cura sem recidiva, orientando a duração da terapia. Apesar da proximidade dessas terapias estratificadas com a disponibilidade clínica, sua implementação depende da intensificação das pesquisas na área. A resposta imune ao MTB é complexa e diversificada, com fatores do hospedeiro interagindo de forma intrincada para determinar a contenção ou a progressão da infecção. Dada a importância do fator inibidor da migração de macrófagos (MIF) em vários sistemas do corpo humano, incluindo processos inflamatórios, autoimunidade e doenças, ele emerge como um alvo promissor para intervenções terapêuticas. Portanto, é crucial intensificar as pesquisas para compreender melhor a interação entre o MTB e o hospedeiro, visando o desenvolvimento de novas terapias com efeitos colaterais reduzidos. Essa abordagem é fundamental para reduzir o abandono do tratamento e a propagação da tuberculose multirresistente, permitindo-nos combater eficazmente o avanço da doença.

PERSPECTIVAS

- Quantificar a expressão gênica do gene MIF nos casos e controles utilizando PCR em tempo real através de sonda Taqman.
- Detectar a concentração de MIF no sangue periférico dos casos e controles através da espectrometria de massas.
- Correlacionar as dosagens futuras com desfecho de tratamento dos pacientes.

APÊNDICE I – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

Nome: _____ **Prontuário:** _____

Endereço: _____ **Telefone:** _____

Data de Nascimento: _____ **Sexo:** (1) Masculino (2) Feminino

Cor: (1) Branca (2) Não-branca **Escolaridade:** _____

Tabagismo: (1) Não-tabagista (2) Ex-tabagista (3) Tabagista ativo

Sintomas: (1) tosse (2) produção de escarro (3) emagrecimento (4) sudorese noturna
(5) dispnéia (6) dor torácica (7) febre (8) hemoptise.

Há quanto tempo? _____

TB prévia: (1) sim (2) não **História de TB na família:** (1) sim (2) não

Uso abusivo de álcool: (1) sim (2) não (3) passado

Uso de drogas: (1) sim (2) não (3) passado Qual? _____

Institucionalização (prisão, casa de repouso, abrigo) nos últimos 3 anos:(1) sim (2) não

Comorbidades: (1) HIV (2) HCV (3) HBV (4) Diabete (5) Uso crônico de corticóide (6)
Outra imunossupressão, Qual: _____

Baciloscopia: (1) + (2) ++ (3) +++ (4) negativa (5) não realizada

Cultura de escarro: (1) M.tuberculosis (2) Mycobacterium sp. (3) negativa (4)
não realizada (5) Outro. Qual? _____

RX de tórax: (1) normal (2) cavitação (3) infiltrados reticulares (4) consolidação (5)
alterações fibróticas (6) padrão miliar.

APÊNDICE II – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto GPPG ou CAAE: 56502916.9.0000.5327

Título do Projeto: Polimorfismos no gene codificador do fator inibidor da migração de macrófagos e sua associação com TB pulmonar ativa.

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é identificar se há fatores presentes no seu sangue que identificam uma maior probabilidade de desenvolver TB. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: nós pediremos que você responda a algumas perguntas e precisamos fazer uma coleta de sangue (cerca de 8,5ml de sangue serão retirados de sua veia (em três pequenos tubos de sangue) com seringas plásticas e agulhas descartáveis.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: a retirada de sangue pode causar algum desconforto no local da picada da agulha. Além disso, para responder ao questionário será necessário cerca de 5 a 10 minutos.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são: embora não traga benefícios diretos a você, a sua participação nesta pesquisa contribuirá para ajudar a conhecer como o seu corpo se defende quando o germe da TB entra em contato com o seu sistema de defesa. Os resultados dessa pesquisa poderão beneficiar futuros pacientes.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Denise Rossato Silva, pelo telefone 3359-8241, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____